

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO



INFLUENCIA DE LA BIOFORTIFICACIÓN CON SELENITO DE SODIO  
EN LOS COMPUESTOS BIOACTIVOS EN TOMATE

**Tesis**

Que presenta VÍCTOR GARCÍA MÁRQUEZ  
como requisito parcial para obtener el Grado de  
MAESTRO EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

Saltillo, Coahuila

Diciembre 2020

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

SUBDIRECCIÓN DE POSGRADO



INFLUENCIA DE LA BIOFORTIFICACIÓN CON SELENITO DE SODIO  
EN LOS COMPUESTOS BIOACTIVOS EN TOMATE

**Tesis**

Que presenta VÍCTOR GARCÍA MÁRQUEZ  
como requisito parcial para obtener el Grado de  
MAESTRO EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

Firma manuscrita en azul del Dr. Álvaro Morelos Moreno.

Dr. Álvaro Morelos Moreno  
Director UAAAN

Firma manuscrita en azul de la Dra. Julia Medrano Macías.

Dra. Julia Medrano Macías  
Director Externo

Saltillo, Coahuila

Diciembre 2020

INFLUENCIA DE LA BIOFORTIFICACIÓN CON SELENITO DE SODIO  
EN LOS COMPUESTOS BIOACTIVOS EN TOMATE

**Tesis**

Elaborada por VÍCTOR GARCÍA MÁRQUEZ como requisito parcial para obtener el  
Grado de Maestro en Ciencias en Horticultura con la supervisión y aprobación del  
Comité de Asesoría

Dr. Alvaro Morelos Moreno  
Asesor principal

Dr. Marcelino Cabrera De la Fuente  
Asesor

Dr. Antonio Juárez Maldonado  
Asesor

Dra. Julia Medrano Macías  
Asesor

Dra. América B. Morales Díaz  
Asesor

Dr. Marcelino Cabrera De la Fuente  
Subdirector de Postgrado

Saltillo, Coahuila

Diciembre 2020

## **Agradecimientos**

Al Dr. Álvaro Morelos Moreno. Gracias por brindarme la oportunidad de trabajar con usted, gracias también, por facilitarme todo lo necesario en la realización de este trabajo de investigación, pero, sobre todo, gracias por su amistad.

A la Dra. Julia Medrano Macías. Gracias por su amistad. Gracias por su disponibilidad e interés en todo momento para con mi proyecto; y sobre todo, muchas gracias por el conocimiento compartido durante la realización del mismo.

Al Dr. Marcelino Cabrera de la Fuente. Gracias por el conocimiento compartido, interés y sus consejos en campo.

A mis familias, Márquez Montes y García Galindo. Abuelo, tíos y primos, gracias a cada uno de ustedes por el apoyo de siempre, gracias por no dejarme caer, pero sobre todo por alentar mis sueños.

A mis amigos de toda la vida: Efrén, Sergio, Javier, Roberto, Hugo, Juan José, Gerardo, Sabdiel, Miguel, Manuel, Rafael. Gracias por su apoyo incondicional de siempre, por sus consejos y las buenas aventuras. Gracias por impulsar mis sueños.

A mis amigos de Maestría. “Pepe” (José Antonio), Perla, “Rafa” (Rafael), “Kuko” (Refugio). Gracias por su apoyo en la realización de mi proyecto. Gracias por el conocimiento compartido y muchas gracias por su valiosa amistad. Muy especialmente, a “Liz” (Lizbeth), amiga, simplemente, ¡gracias por todo!

De manera muy especial, para mi amigo “Avi” (Avimael Díaz). Avi, amigo gracias por el apoyo incondicional y de todo momento en la ejecución del proyecto, por compartir conmigo, las largas jornadas que algunas veces se presentaron en el invernadero. Amigo, ¡muchas gracias!

De manera no menos especial al Dr. Rubén López Cervantes y al Dr. Emilio Rascón Alvarado. Gracias por facilitarme el invernadero donde realicé el presente proyecto. Pero sobre todo gracias por su conocimiento compartido y su valiosa amistad.

A Mario Alberto Flores H. Mario, gracias por sus sabios consejos y su valiosa amistad. Gracias por no dejarme rendir ante las dificultades que se presentaran durante el proyecto. Pero, sobre todo, gracias por su optimismo que me recargaba siempre de energía.

A mi Terra Mater, la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Gracias por forjarme primero como Ingeniero y ahora como Maestro en Ciencias. Gracias por inculcarme el amor a la agricultura y el respeto a nuestro planeta. No cambio por nada el orgullo de ser un Buitre de la “Narro”.

## **Dedicatoria**

A Dios:

Gracias por el don de la vida y ésta dicha de concluir un sueño más en mi vida. Gracias Padre.

A mis Padres:

Emilia Márquez Montes y Víctor Manuel García Galindo; sin ustedes éste proyecto de vida no hubiese sido posible.

Mamá, gracias por inculcarme la fe y la humildad, por no dejarme caer ante las adversidades y ser mi brazo fuerte ante la vida. Gracias por tu amor. Papá, gracias por tus esfuerzos que me sacan adelante, gracias por alentar mis sueños y nunca dejarme rendir. A los dos, muchas gracias por nunca dejarme solo en la vida, por ser mis cómplices, pero, sobre todo, gracias por luchar por mi vida, ¡No los voy a defraudar!

A mis hermanas:

Alison, Karen y Emilia. Son el motor central de querer salir adelante. Gracias por su amor y apoyo que me dan todos los días. Gracias por luchar conmigo en la realización de mis proyectos. Son lo que más amo en esta vida. Emilia, sé que desde allá arriba me cuidas y me alientas. Va para ti con mucho amor hasta el cielo, siempre te llevo en mi corazón.

A mi sobrino:

Víctor, espero en algún futuro, te inspiren mis metas alcanzadas hasta hora, espero ser y que veas en mí, un ejemplo de vida. Con tu niñez, llenas de alegría mi corazón.

## ÍNDICE GENERAL

Agradecimientos .....	iii
Dedicatoria .....	vi
RESUMEN.....	x
ABSTRACT .....	xiii
INTRODUCCIÓN .....	1
OBJETIVOS.....	3
HIPÓTESIS .....	3
REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
Selenio y salud humana .....	4
Requerimientos de la ingesta diaria de Selenio.....	5
Alimentos ricos en Selenio.....	6
El Selenio en el metabolismo humano .....	6
Selenio en el suelo.....	8
Selenio en las plantas .....	8
Ruta de asimilación del Selenio en las plantas.....	9
Funciones del Selenio en las plantas .....	10
Biofortificación mineral .....	12
Biofortificación de especies hortícolas con Selenio.....	12
Aplicación mineral de Se por imbibición en la semilla.....	14
Compuestos bioactivos.....	15
Licopeno .....	16
Proteínas totales y Capacidad Antioxidante .....	16
Fenoles.....	17
Glutación Reducido (GSH).....	17
Catalasa (CAT).....	18
Glutación Peroxidasa (GPX).....	18
Súper Óxido Dismutasa (SOD).....	19
Importancia del tomate .....	19

MATERIALES Y MÉTODOS .....	22
Ubicación del experimento.....	22
Imbibición de semillas con Se.....	22
Determinación del tiempo de imbibición .....	22
Prueba de germinación .....	22
Establecimiento de cultivo .....	23
Distribución de los tratamientos.....	23
Aplicación de Selenio por imbibición en la semilla (Experimento 1).....	24
Aplicación de Selenio por aspersión foliar (Experimento 2) .....	25
Fertilización y riego.....	25
Calidad de frutos .....	25
Firmeza .....	26
Sólidos Solubles Totales (SST).....	26
Vida de anaquel .....	26
Compuestos Bioactivos .....	26
Compuestos No Enzimáticos.....	27
Ácido Ascórbico (AsA).....	27
Licopeno.....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
Proteínas Totales .....	28
Capacidad Antioxidante .....	28
Fenoles Totales.....	29
Glutación Reducido (GSH).....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
Compuestos Enzimáticos (Actividad Enzimática) .....	30
Extracción de enzimas.....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
Catalasa (CAT).....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
Ascorbato Peroxidasa (APX) .....	31
Glutación Peroxidasa (GPX).....	32
Súper Óxido Dismutasa (SOD).....	32
RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	33

Aplicación de Se en la semilla por imbibición.....	33
Determinación del tiempo de imbibición y peso de las semillas.....	33
Prueba de germinación .....	33
Variables morfológicas.....	36
Biomasa fresca de hojas .....	36
Biomasa seca de hojas.....	36
Número de hojas.....	36
Calidad de fruto .....	38
Firmeza .....	38
Sólidos Solubles Totales (SST).....	39
Vida de anaquel .....	39
Compuestos bioactivos.....	40
Antioxidantes no enzimáticos .....	40
Ácido Ascórbico (AsA).....	40
Licopeno.....	42
Proteínas Totales .....	43
Capacidad Antioxidante .....	44
Fenoles Totales.....	45
Glutación Reducido (GSH).....	46
Antioxidantes enzimáticos .....	47
Catalasa (CAT).....	47
Ascorbato Peroxidasa (APX) .....	49
Glutación Peroxidasa (GPX).....	49
Superóxido Dismutasa (SOD).....	51
CONCLUSIONES .....	53
LITERATURA CITADA.....	55
ANEXO. Análisis de varianza. ....	64

**RESUMEN**

INFLUENCIA DE LA BIOFORTIFICACIÓN CON SELENITO DE SODIO  
EN LOS COMPUESTOS BIOACTIVOS EN TOMATE

POR

VÍCTOR GARCÍA MÁRQUEZ  
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
DR. ÁLVARO MORELOS MORENO - ASESOR

Saltillo, Coahuila

Diciembre 2020

El selenio (Se) es un elemento esencial para los animales y los seres humanos, y está presente en cantidades traza en los tejidos vegetales, que lo absorben en forma inorgánica del suelo y el agua, principalmente como selenito de sodio ( $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ ) y selenato de sodio ( $\text{Na}_2\text{SeO}_4$ ). En determinadas concentraciones de Se en las plantas aumenta la actividad enzimática antioxidante. La aplicación exógena de Se en los cultivos aumenta su concentración en las partes comestibles, y activa en las plantas la síntesis de inductores de tolerancia al estrés, lo que modifica positivamente la concentración de compuestos antioxidantes. La baja disponibilidad de Se en los suelos agrícolas exige su abastecimiento a la fertilización convencional utilizada en un cultivo específico mediante técnicas de biofortificación. El objetivo de este trabajo fue evaluar la concentración de compuestos bioactivos en frutos maduros de tomate del segundo racimo de plantas biofortificadas con selenito de sodio en concentraciones de 0, 0.5, 1, 2 y 4  $\text{mg L}^{-1}$ , por imbibición de las semillas y aspersión foliar en el dosel de la planta. Las semillas se sumergieron en el Se por un tiempo de imbibición de 24 h para una sola aplicación, mientras que las aplicaciones foliares se realizaron una vez a la semana desde el primer botón floral. Se utilizó un diseño completamente al azar con cinco repeticiones. Los compuestos bioactivos consistieron en ácido ascórbico, licopeno, capacidad antioxidante, fenoles totales, catalasa, ascorbato peroxidasa, glutatión reducido, glutatión peroxidasa, proteínas totales y superóxido dismutasa. Además, se evaluó la calidad de los frutos (firmeza, sólidos solubles totales y vida de anaquel) y la morfología de las plantas (peso fresco y seco de las hojas, y número de hojas). Se realizó una prueba de germinación de las semillas embebidas en Se, donde se evaluó el porcentaje de germinación y la longitud de radícula e hipocótilo. A 10 días después de la siembra, la germinación acumulada de las semillas de tomate fue de 96 y 94%, con mayor germinación al 4to día (45%) y 6to día (30%), en las aplicaciones de 2 y 4  $\text{mg L}^{-1}$ , respectivamente. La aplicación de Se afectó negativamente las longitudes de radícula e hipocótilo, desde 20 y 11%, respectivamente. La aplicación foliar de 0.5  $\text{mg L}^{-1}$  aumentó el peso seco de hojas en 40% y la concentración de proteínas totales en 43%. La aplicación foliar de 2 y 4  $\text{mg L}^{-1}$  favoreció la acumulación de glutatión reducido en 20 y 18%, respectivamente. La aplicación foliar de 2  $\text{mg L}^{-1}$  disminuyó la concentración de glutatión peroxidasa en más del 100%, mientras que las aplicaciones foliares en 0.5, 1 y

4 mg L<sup>-1</sup> redujeron la concentración de superóxido dismutasa en 72, 55 y 64%, respectivamente. La imbibición en 0.5 mg L<sup>-1</sup> mejoró la concentración de la superóxido dismutasa en 51%. Sin embargo, las aplicaciones de Se vía imbibición y aspersion foliar, no modificaron significativamente el peso fresco de hojas, la calidad de los frutos (firmeza, concentración de sólidos solubles totales, vida de anaquel), ni la mayoría de los compuestos antioxidantes (ácido ascórbico, licopeno, capacidad antioxidante, fenoles totales, catalasa, y ascorbato peroxidasa).

**Palabras clave:** Biofortificación, estimulante, oligoelemento, germinación, calidad de fruto, compuestos bioactivos, *Solanum lycopersicon* L.

**ABSTRACT**

INFLUENCE OF BIOFORTIFICATION WITH SODIUM SELENITE  
IN THE BIOACTIVE COMPOUNDS IN TOMATO

BY

VÍCTOR GARCÍA MÁRQUEZ  
MASTER OF SCIENCE IN HORTICULTURE

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
DR. ÁLVARO MORELOS MORENO - ADVISOR

Saltillo, Coahuila

December 2020

Selenium (Se) is an essential element for animals and humans, and it is found in trace amounts in the plant tissues, which absorb it in inorganic form from soil and water, mainly as sodium selenite ( $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ ) and sodium selenate ( $\text{Na}_2\text{SeO}_4$ ). In determined Se concentrations in the plants the antioxidant enzymatic activity is increased. The exogenous Se application to the crops increases its concentration in the edible parts, and activates into the plants the synthesis of stress tolerance inducers, which positively modifies the concentration of antioxidant compounds. The low Se availability in agricultural soils demands its supplying to the conventional fertilization used in a specific crop by biofortification techniques. This research aims to evaluate the concentration of bioactive compounds in the second-bud ripen fruits of tomato of plants biofortified with sodium selenite in concentrations of 0, 0.5, 1, 2 and 4  $\text{mg L}^{-1}$ , by seed imbibition and foliar spraying in the plant canopy. The seeds were submerged in the Se for a 24-h imbibition time for a single application, while the foliar applications were performed once a week from the first flower bud. A completely randomized design with five replications was used. Bioactive compounds consisted in ascorbic acid, lycopene, antioxidant capacity, total phenols, catalase, ascorbate peroxidase, reduced glutathione, glutathione peroxidase, total proteins and superoxide dismutase. Also, the fruits quality (firmness, total soluble solids and shelf life) and the plants morphology (fresh and dry weight of leaves, and leaves number) were evaluated. A germination test of the Se imbibed seeds was performed, where the germination percent, and the radicle and hypocotyl length were evaluated. At the 10 days after sowing, the cumulative germination of the tomato seeds were 96 and 94%, with the highest germination on the 4th day (45%) and 6th day (30%), in the 2 and 4  $\text{mg L}^{-1}$  applications, respectively. The Se application negatively affected the radicle and hypocotyl lengths, from 20 y 11%, respectively. The foliar application in 0.5  $\text{mg L}^{-1}$  increased the leaves dry weight by 40% and the total proteins concentration by 43%. The foliar applications in 2 and 4  $\text{mg L}^{-1}$  favored the reduced glutathione accumulation by 20 and 18%, respectively. The foliar application in 2  $\text{mg L}^{-1}$  affected the glutathione peroxidase accumulation by more than 100%, while the foliar application in 0.5, 1, and 4  $\text{mg L}^{-1}$  reduced the superoxide dismutase concentration by 72, 55, and 64%, respectively. The imbibition in 0.5  $\text{mg L}^{-1}$

improved the superoxide dismutase concentration by 51%. However, the Se applications by imbibition and foliar spraying did not significantly modify the leaves fresh weight and the fruits quality (firmness, total soluble solids concentration, shelf life), nor the most the antioxidant compounds (ascorbic acid, lycopene, antioxidant capacity, total phenols, catalase, and ascorbate peroxidase).

**Keywords:** Biofortification, stimulant, trace element, germination, fruit quality, bioactive compounds, *Solanum lycopersicon* L.

## INTRODUCCIÓN

El Selenio (Se) es un elemento benéfico en humanos, ya que desempeña funciones importantes en el metabolismo humano, principalmente en la síntesis de seleno-proteínas (García-Márquez *et al.*, 2020), que incluye efectos antioxidantes, antiinflamatorios y antivirales sobre el sistema inmune, prevención de cáncer, desarrollo cerebral, y aspectos cognitivos. La deficiencia de Se en la población mundial oscila entre un 15% (Sida-Arreola *et al.*, 2020), y según la OMS más del 50% de la población mundial es deficiente en al menos un micronutriente incluidos el hierro (Fe), yodo (I) y zinc (Zn) y Se, debido principalmente a la baja ingesta de alimentos ricos en estos minerales y su distribución irregular en los suelos agrícolas (Garduño-Zepeda y Márquez-Quiroz, 2018).

Diversas técnicas de biofortificación con Se, a decir, imbibición de semillas, fertirriego y aspersión foliar, han sido empleadas en diversas especies vegetales para incrementar su concentración en las partes comestibles (Morales-Morales, 2019). Hoy en día la biofortificación mineral ha sido implementada principalmente en los cultivos básicos de la dieta humana, tales como cereales y las hortalizas, siendo el tomate de gran importancia, cuya producción mundial en 2017 fue de 177 millones de toneladas, con un incremento anual entre 1 y 3%, así como su consumo en el mundo (FAOSTAT, 2020), por lo cual se busca biofortificar cultivos de alta ingesta mundial, como los cereales y las hortalizas.

El Se no es considerado un elemento esencial para las plantas, sin embargo en determinadas concentraciones estimula positivamente el metabolismo vegetal, por lo cual, mejora el desarrollo vegetal, la producción de moléculas implicadas en la defensa, y la tolerancia al estrés (D'Amato *et al.*, 2020). Garduño-Zepeda y Márquez-Quiroz (2018), relacionan el efecto positivo del Se en las plantas, principalmente por su estrecha relación con el metabolismo del azufre (S) y por consiguiente con el metabolismo del nitrógeno (N), y la síntesis de seleno-aminoácidos y seleno-proteínas, tales como la Selenocisteína (SeCys) y la Selenometionina (SeMet). Sors *et al.*, (2005), mencionan que el Se es químicamente similar al azufre (S), y después de entrar a la planta se metaboliza a través de la vía de asimilación del S a SeCys y SeMet, sin embargo, estos

aminoácidos son más frecuentes en plantas hiperacumuladoras de Se (Brummell *et al.*, 2011). La aplicación de dosis bajas de Se protege a las plantas de diferentes tipos de estrés, mientras que altas concentraciones de Se en las plantas producen especies volátiles como el dimetil seleniuro (DMSe) que funciona como repelente natural para los cultivos contra algunos insectos (Bañuelos *et al.*, 2007), sin embargo puede llegar a ser contraproducente para la polinización de los cultivos al repeler a los insectos benéficos (INTAGRI, 2018).

La biofortificación con Se para un cultivo específico o familia de cultivos aún no está bien definida, en relación a la especie química, la vía de aplicación y la concentración. El Se realiza funciones importantes en el metabolismo vegetal, a decir, en la síntesis de enzimas con poder reductor como la glutatión peroxidasa (GPX), catalasa (CAT), ascorbato peroxidasa (APX), y antioxidantes no enzimáticos como compuestos fenólicos, vitamina C, y glucosinolatos (García-Márquez *et al.*, 2020).

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo General**

- Evaluar la concentración de compuestos bioactivos en frutos de tomate biofortificado con selenito de sodio vía imbibición en la semilla y vía foliar en la planta.

### **Objetivos Específicos**

- Determinar el porcentaje de germinación y el vigor de la semilla de tomate.
- Determinar la morfología de la planta.
- Determinar la acumulación de compuestos antioxidantes, vitaminas y enzimas en frutos maduros de tomate.

## **HIPÓTESIS**

La biofortificación con selenito de sodio en tomate modificará significativamente la acumulación de compuestos bioactivos en los frutos en al menos un tratamiento.

## REVISIÓN DE LITERATURA

En los últimos años, la producción de alimentos ha evolucionado de tal forma que ha pasado de una demanda de producción a una demanda de la calidad de los productos producidos, y en este contexto se han realizado estudios enfocados a mejorar la calidad nutricional, organoléptica y sensorial de los alimentos de consumo humano. En la nutrición del ser humano, más de 22 elementos minerales son esenciales (White y Broadley, 2009), y muchos de ellos son requeridos en pequeñas concentraciones.

### **Selenio y salud humana.**

El selenio (Se) desde su descubrimiento en 1817 por Berzelius, se le ha considerado un elemento altamente tóxico y contaminante. Hasta después de la década de 1950 se le atribuyeron funciones esenciales para la salud humana, a decir, efectos anticancerígenos, funciones antioxidantes y de regulación hormonal como la tiroides. Sin embargo el margen de toxicidad y deficiencia del Se es muy reducido, lo cual supone un riesgo en el establecimiento de un aporte adecuado para la población. Aun cuando el Se es un microelemento esencial para el hombre y el ganado, su extracción es fortuita debido a que las plantas lo extraen del suelo, y por consiguiente la deficiencia de Se en los suelos producirá a su vez deficiencias en las plantas, ganado y el ser humano, a través de la cadena trófica (López-Bellido Garrido y López Bellido, 2013).

Según la Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades del Departamento de Salud de los Estados Unidos de América (ATSDR, 2020), el Se está presente en todas las células del cuerpo humano en una concentración aproximada de 10 mg/60 kg de peso corporal, encontrando los valores más altos en el hígado, riñones, músculos, nódulos linfáticos y el vaso sanguíneo, en comparación con el resto de los tejidos, además, consideran que es un elemento nutritivo esencial para seres humanos y animales, lo cual concuerda con Vinchira y Muñoz-Ramírez (2010), quienes consideran que dicho mineral es de vital importancia en el metabolismo humano.

De acuerdo al Instituto Nacional de Salud de los Estados Unidos de América (NIH 2019), el consumo excesivo del Se puede provocar dificultad para respirar, falla renal y ataques cardiacos. Algunos estudios de cáncer en seres humanos (Vinchira y Muñoz-

Ramírez, 2010), sugieren que la ingesta inadecuada de Se, en niveles bajos como excesivos en la dieta, representan un riesgo de desarrollar cáncer.

### **Requerimientos de la ingesta diaria de Selenio.**

En humanos el Se es importante para la salud, reproducción, buen funcionamiento de la glándula tiroidea, reproducción de ADN, protección del cuerpo contra infecciones y prevención del daño causado por radicales libres (NIH, 2019). El Instituto Nacional de la Salud de los Estados Unidos de América (NIH, 2019), recomienda la ingesta diaria del Se en las concentraciones apropiadas para mantener el cuerpo sano y en buen funcionamiento, de acuerdo a la edad (Tabla 1).

Tabla 1. Recomendación de la ingesta de Se en humanos (NIH, 2019).

Etapa, edad	Cantidad recomendada ( $\mu\text{g día}^{-1}$ )	Límite máximo recomendado ( $\mu\text{g día}^{-1}$ )
Bebés de 0 a 6 meses	15	45
“ de 7 a 12 meses	20	60
Niños de 1 a 3 años	20	90
“ de 4 a 8 años	30	150
“ de 9 a 13 años	40	280
Adolescentes y adultos, 14 a 70 años	55	400
Mujeres embarazadas	60	400
“ en periodo de lactancia	70	400

A diferencia de la recomendación diaria en la ingesta de Se en Estados Unidos de América (Tabla 1), Werner (1992) menciona que los requerimientos de Se en Nueva Zelanda, Holanda y Venezuela son 24, 33 y 47  $\mu\text{g día}^{-1}$ , y una ingesta promedio de 10 a 40  $\mu\text{g día}^{-1}$  para niños y de 50 a 200  $\mu\text{g día}^{-1}$  para adultos. Werner (1992) también indica que México tiene suelos, vegetales y leche ricos en Se, y la población no presenta casos extremos por deficiencia de Se.

### **Alimentos ricos en Selenio.**

El contenido de Se depende del contenido de selenoproteínas en los alimentos. De esta forma los productos de origen animal y en específico el pescado, suelen ser más ricos en Se que los alimentos de origen vegetal (Tabla 2), por lo que las personas vegetarianas y lacto-vegetarianas suelen tener un mayor riesgo de presentar deficiencias de Se (Vinchira y Muñoz-Ramírez, 2010).

Tabla 2. Aporte diario de Se de los alimentos de consumo.

Alimento	Aporte de Se ( $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ )
Nueces de Brasil	1.917
Carnes	141-311
Semillas de mostaza y girasol	78.2-208
Ajo	14.2
Mariscos	154
Pan (trigo)	16.4
Huevo	192

### **El Selenio en el metabolismo humano.**

El Se es un nutriente esencial para el humano, interviene principalmente en los procesos metabólicos en asociación con proteínas (González-Morales *et al.*, 2017). Además, la óptima actividad de la enzima glutatión peroxidasa (GPX) está relacionada con la incorporación apropiada de Se al organismo, donde este actúa como cofactor de la enzima GSH-PX en forma de selenocisteína, cuya función principal es proteger del daño oxidativo celular y subcelular (Vinchira y Muñoz-Ramírez, 2010).

Además de la acción antioxidante, Vinchira y Muñoz-Ramírez (2010), le atribuyen al Se algunas otras importantes propiedades benéficas, como el funcionamiento adecuado del sistema inmunológico, prevención de enfermedades cardiovasculares, fertilidad, desarrollo cognitivo, combate al asma, infecciones virales y bacterianas, así como el mejoramiento a la respuesta de los efectos cancerígenos, siendo este último uno de los más estudiados (Capone *et al.*, 2020; Das y Sen, 2020; Gharbavi *et al.*, 2020; Guo *et al.*, 2020; Hariharan y Dharmaraj, 2020; Kadkol y Diamond, 2020; Kang *et al.*, 2020;

Kuršvietienė *et al.*, 2020; Laali *et al.*, 2020; Lendvai *et al.*, 2020; Liu *et al.*, 2020; Luo *et al.*, 2020; Mao *et al.*, 2020; Outzen *et al.*, 2020; Subburayan *et al.*, 2020; Zhang *et al.*, 2020; Gandin *et al.*, 2018; Peters *et al.*, 2018; Short *et al.*, 2018; Waters y Chiang, 2018; Zhang *et al.*, 2018; Zeng *et al.*, 2008; Zhu y Jiang, 2008).

- **Deficiencia de Selenio.** Según el Instituto Nacional de la Salud de Estados Unidos de América, las enfermedades más representativas por deficiencia de Se son Keshan (enfermedad del corazón), infertilidad en hombres y Kashin-Beck (un tipo de artritis). Otras enfermedades relacionadas con la deficiencia del Se son el cáncer de próstata, de pulmón, vejiga, piel, esófago, estómago, enfermedades cardiovasculares, deterioro cognitivo (niveles bajos de Se en la sangre) y problemas de la glándula tiroidea, sobre todo en mujeres (NIH, 2019).

- **Toxicidad.** La toxicidad por Se también conocida como selenosis, es provocada por la ingesta excesiva de Se a partir del consumo de alimentos altamente selenoacumuladores. La selenosis se caracteriza principalmente por la pérdida de cabello, cambios en la morfología de las uñas, trastornos gastrointestinales, salpullido, aliento con olor a ajo, funcionamiento anormal del sistema nervioso y alteraciones endocrinas (Vinchira y Muñoz-Ramírez, 2010).

El consumo excesivo de Se puede llegar a causar problemas graves en la salud, a decir, dificultad para respirar, temblores, falla renal, ataques cardiacos e insuficiencia cardiaca, náuseas, irritabilidad, entre otros (NIH, 2019), y dichas alteraciones se hacen notar en personas con una ingesta de Se mayor a los valores máximos recomendados de  $400 \mu\text{g día}^{-1}$  en la Tabla 1 (Vinchira y Muñoz-Ramírez, 2010).

El rango de deficiencia y toxicidad del Se es muy estrecho (Werner, 1992), por lo cual es necesario realizar más estudios e investigaciones específicos, para poder establecer y hacer una recomendación óptima y puntual en la ingesta diaria de este mineral, ya que el efecto benéfico, deficiente y/o tóxico del Se es muy similar en cuanto a la prevención y/o susceptibilidad de algunas enfermedades relacionadas directamente con la concentración de Se presente en el organismo.

### Selenio en el suelo

Se estima que en la corteza terrestre existe entre 0.05 y 0.09  $\mu\text{g kg}^{-1}$  de selenio (Se), sin embargo, la distribución geográfica de este elemento es muy variada (López-Bellido Garrido y López Bellido, 2013). Aunque este mineral es poco abundante en la mayoría de los suelos, también existen suelos seleníferos (Tabla 3), que son aquellos cuyas concentraciones de Se oscilan entre 4 a 100 ppm (INTAGRI, 2018).

Tabla 3. Concentración de Se en el suelo (Trejo-Téllez *et al.*, 2007).

Clasificación del suelo	Se total (ppm)	Se en la solución del suelo (ppm)	Se en la planta (ppm)
No selenífero	$\leq 2$	$< 50$	$< 1$
Selenífero	$> 2$	$\geq 50$	$\geq 1$

El Selenio se encuentra distribuido de forma variable en la corteza terrestre (Vinchira y Muñoz-Ramírez, 2010). El Se en el suelo puede encontrarse tanto en forma orgánica como en forma inorgánica. De manera orgánica el Se está presente en proteínas tales como la seleno-cisteína (SeCys) y seleno-metionina (SeMet), y de forma inorgánica en cuatro estados de oxidación natural: seleniuro ( $\text{Se}^{2-}$ ), Se elemental ( $\text{Se}^0$ ), selenito ( $\text{SeO}_3^{2-}$ ) y selenato ( $\text{SeO}_4^{2-}$ ) (Gupta y Gupta, 2017; Mora *et al.*, 2015; Barceloux, 1999). Aun cuando la mayor proporción de este mineral está asociada a la materia orgánica, existe poca biodisponibilidad del Se para los cultivos, la cual también depende del pH y textura del suelo, así como de algunas condiciones ambientales que afectan la extracción de Se por los cultivos (Moreno-Rodríguez *et al.*, 1998).

### Selenio en las plantas

El selenato de sodio ( $\text{Na}_2\text{SeO}_4$ ) y el selenito de sodio ( $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ ) son las formas inorgánicas del Se más comunes que las plantas absorben del suelo (Yu *et al.*, 2019; do Nascimento-da Silva *et al.*, 2018). Las formas orgánicas de Se disponibles en las plantas son seleno cisteína (SeCys) y seleno metionina (SeMet) (Mora *et al.*, 2015; Barceloux, 1999), y de acuerdo a la especie cultivada, además de SeCys y SeMet, las plantas acumulan diversas formas orgánicas de Se, a decir, seleno cisteína (SeCys), seleno

metionina (SeMet), metil seleno cisteína (Me-SeCys), seleno metil seleno cisteína (Se-MeSeCys), seleno homo cisteína (Se-Homocysteine), seleno cistationina (Se-Cystathionine), seleno metil seleno óxido hidratos (SeMetSeOxide hydrates), y  $\gamma$ -glutamil seleno metil seleno cisteína ( $\gamma$ -glu-Se-MeSeCys) (Gupta y Gupta, 2017).

El metabolismo del Se presenta un comportamiento similar al metabolismo del S, por lo cual el S ayuda a la absorción de Se, llegando el Se a sustituir al S en muchas proteínas y enzimas de las plantas, por consiguiente las plantas con altos requerimientos de S tienden también a acumular cantidades altas de Se, principalmente en los brotes, flores, hojas jóvenes y raíces (INTAGRI, 2018).

### Ruta de asimilación del Selenio en las plantas.

Cuando el Se es incorporado por la planta pueden ocurrir dos funciones: el Se es transportado a los plástidos, o bien, el Se puede permanecer en el citoplasma y ser asimilado por la vía del S. En ésta última ruta el Se es activado por la enzima ATP sulfurilasa para formar Adenosin fosfoselenato, que se reduce a selenito gracias a la enzima Adenosin fosfosulfato, para después convertirse en seleniuro a través de una vía no enzimática. El seleniuro es asimilado en forma de seleno-aminoácidos (SeCys y SeMet), que se incorporan a las proteínas. Sin embargo, las plantas también pueden eliminar a éstos seleno-aminoácidos vía volatilización, pues puede convertirse en dimetilseleniuro (DMse), principal producto de la fitovolatilización (Figura 1).

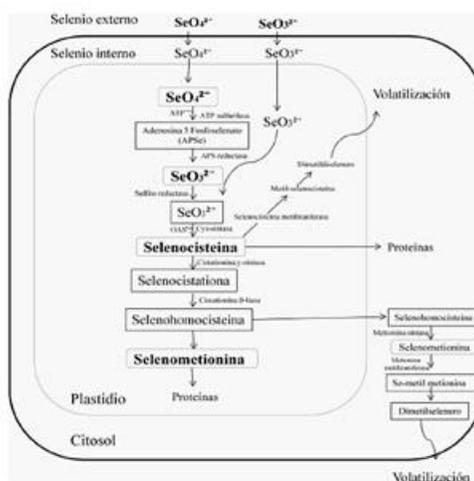


Figura 1. Ruta de asimilación y volatilización del Se en las plantas (Terry *et al.*, 2000; Sors *et al.*, 2005)

### Funciones del Selenio en las plantas.

Cuando existe un suministro adecuado de Se en las plantas, los beneficios suelen ser importantes. En concentraciones adecuadas de Se, la ruta de asimilación no tiende a volatilizar este nutriente, sino que la planta suele asimilarlo y aprovecharlo en forma de seleno-proteínas (SeCys y SeMet), las cuales cumplen con algunas tareas muy específicas dentro de la planta. La volatilización del Se por la planta en forma de dimetilselenuro (DMSe) tiene efectos repelentes, lo cual ayuda a una menor necesidad de plaguicidas y fungicidas por parte del cultivo, y por consiguiente una mayor productividad general (Sors *et al.*, 2005).

a) **Estrés abiótico.** Otra función del Se en las plantas es la resistencia de estas al estrés abiótico, puesto que el Se permite que las plantas muestren bajos niveles de peroxidación lipídica y mayor actividad de enzimas antioxidantes (Zapata *et al.*, 2007), en las que resaltan el glutatión peroxidasa (GPX) y ascorbato peroxidasa (APX), así como una mayor resistencia al estrés oxidativo causado principalmente por la radiación ultravioleta (Machín-Suárez *et al.*, 2017). El Se también protege a las plantas del estrés hídrico, salino, térmico y por metales pesados (Figura 2).



Figura 2. Ciclo metabólico de Se en las plantas y su implicación ecológica (Pilon-Smits *et al.*, 2009).

b) **Polinización.** El papel del Se en la polinización aún es poco claro, sin embargo, algunos estudios han demostrado que niveles altos de Se afectan negativamente las

funciones reproductivas de las plantas (germinación del polen, nulo crecimiento del tubo polínico, el número y tamaño de las semillas, entre otros); y dosis bajas del nutriente mejoran la reproducción y producción de semillas (INTAGRI, 2018). El fenómeno de la volatilización, probablemente sea un mecanismo de defensa, que afecte a los polinizadores poco tolerantes al Se, pero también se han identificado algunas especies polinizadoras tolerantes a niveles altos del micronutriente, lo cual podría indicar una selección entre los polinizadores para que polinicen este grupo de plantas específicas.

**c) Producción.** Las plantas que acumulan Se enriquecen los suelos circundantes con este nutriente al caer sus hojas y desintegrarse en el suelo. Y aunque las concentraciones no son altas, el Se evita que germinen las plantas y se desarrollen plantas no deseadas sensibles al Se. También se ha demostrado que plantas vecinas suelen tener un mejor desarrollo cuando crecen junto a plantas acumuladoras de Se, además de la poca presencia y daños por herbívoros, además, el Se estimula la producción de reguladores de crecimiento (fitohormonas) como el jasmonato y el etileno, importantes para la buena producción agrícola.

**d) Toxicidad.** Retraso en el crecimiento, clorosis, marchitez y secado de las hojas, disminución en la síntesis de proteínas, entre otros, son algunos de los síntomas que la planta presenta cuando sufre por la toxicidad que causa el Se (Hermosillo-Cereceres, 2012). La toxicidad por Se es originada principalmente por la generación de radicales superóxido, la sustitución del Se por el S en las proteínas. La toxicidad de Se en las plantas se debe a las interacciones con el metabolismo del S, donde el Se reemplaza al S en los aminoácidos, dando lugar a las seleno-proteínas SeCys y SeMet. Las seleno-proteínas pueden alterar las reacciones bioquímicas y las funciones enzimáticas de las células, y un exceso de Se en la planta provocará la poca síntesis de GPX, y por consecuencia una disminución de las defensas de las plantas contra el estrés oxidativo (Machín-Suárez *et al.*, 2017; Hermosillo-Cereceres, 2012).

### **Biofortificación mineral**

La biofortificación es una intervención agronómica cuyo objetivo es incrementar la concentración de elementos esenciales, principalmente microelementos y oligoelementos en las partes comestibles de las plantas cultivadas, mediante la fertilización y fitomejoramiento (White y Broadley, 2009). La biofortificación es una estrategia biológica que usa técnicas de biotecnología (Yin y Yuan, 2012), y es una manera segura y eficaz para aliviar la malnutrición en áreas deficientes (Garduño-Zepeda y Márquez-Quiroz, 2018). La biofortificación con micronutrientes en los cultivos básicos es una herramienta útil para combatir la deficiencia de micronutrientes en los cultivos (Welch y Graham (2004).

#### **Biofortificación de especies hortícolas con Selenio.**

Las formas de aplicación a los cultivos pueden ser 1) a la semilla por imbibición, 2) a la raíz a través del agua de riego, en forma granular al suelo, y por imbibición a la raíz desnuda, y 3) al dosel y hojas por aspersión foliar. Las investigaciones relacionadas con la biofortificación con Se, cada vez son más comunes debido a su efecto positivo en la acumulación de biocompuestos benéficos en la salud humana, (Tabla 4).

Tabla 4. Efectos benéficos en los cultivos de la biofortificación con Se iónico.

Cultivo	Dosis de Se iónico	Efecto	Autor
Tomate	10 a 20 mg L <sup>-1</sup>	Mayor rendimiento del fruto, con mayor acumulación del mineral, conjuntamente con la biomasa. Efecto positivo de la capacidad antioxidante total en el fruto.	Becvort-Azurra <i>et al.</i> (2012)
Tomate	2 a 5 mg L <sup>-1</sup>	Aumento del ácido ascórbico y el licopeno. Efecto positivo en la actividad de las enzimas antioxidantes CAT, GPX y SOD. Mejor expresión génica, con una mayor transcripción de los genes gpx, sod y apx. Aumentó la capacidad antioxidante y el rendimiento.	Castillo-Godina (2015), Foroughbakhch <i>et al.</i> (2018)
Tomate Cherry	5 mg L <sup>-1</sup>	Mejor y mayor síntesis de enzimas antioxidantes, de compuestos fenólicos y licopeno. Mayor rendimiento.	Acalco-Hernández (2018)
Semillas y plántulas de melón, lechuga y tomate	0.1 a 1, 0 a 2 y 0 a 5 mg L <sup>-1</sup> , en semilla, solución nutritiva, y foliar, respectivamente	Efecto positivo en el estado antioxidante y el contenido de vitamina C	De los Santos-Vázquez (2014)
Lechuga	5 a 10 mg L <sup>-1</sup>	Aumento en el potencial óxido-reducción y de la enzima catalasa.	López-Gutiérrez <i>et al.</i> (2015)
Guisante forrajero	10 g ha <sup>-1</sup>	Efecto positivo en el rendimiento y calidad de biomasa	Riaño Salas (2019)
Brocoli	100 g ha <sup>-1</sup>	Incremento en el contenido de materia seca. Aumento de antioxidantes y contenido nutracéutico.	Borghese y Stoffel (2017)
Frijol	40 μM	Favoreció el incremento de biomasa y mejoró la concentración de Se en la semilla. Incrementó el contenido de Ca.	Hermosillo-Ceseres (2012)
Trigo	Hidroponía	El Se en bajas concentraciones actúa como estimulante de crecimiento, mientras que en altas concentraciones reduce la longitud de las raíces y la producción de biomasa, alterando la absorción y movimiento de los nutrientes.	Guerrero <i>et al.</i> (2014)

Existen diferentes factores a considerar en la estrategia de biofortificación mineral, a decir, el tipo de cultivo, la especie de Se, la concentración y la vía de aplicación. Las condiciones ambientales también afectan los resultados de la biofortificación, por ejemplo, a medio día y en la tarde, los valores altos de temperatura, irradiación y transpiración, incrementan la volatilización del Se cuando se aplica por aspersión foliar. La concentración a aplicar debe estar en el rango apropiado para cada cultivo, el cual es muy reducido entre los límites de deficiencia y toxicidad del Se. La incorporación mineral realizada de manera eficiente y con la estrategia adecuada, ha tenido efectos positivos en los cultivos, y por consecuencia en animales y seres humanos.

### **Aplicación mineral de Se por imbibición en la semilla**

Para que una semilla genere plántula debe ocurrir la germinación, lo cual involucra mecanismos metabólicos y morfogénéticos, los cuales se pueden resumir en tres fases: 1) absorción de agua por la semilla, 2) activación del metabolismo y síntesis de proteínas, 3) elongación del embrión, ruptura de la testa a través de la radícula (Suárez y Melgarejo, 2010). No obstante, algunas semillas, se caracterizan principalmente por la presencia de una testa dura y gruesa, lo que dificulta su germinación (Barraza *et al.*, 2016). Ante la problemática, se han hecho múltiples estudios con numerosos tratamientos pre-germinativos antes de la siembra, con el fin de superar dichas limitaciones impuestas por la testa de las semillas (Rahman *et al.*, 2014). Entre algunos de estos tratamientos fisicoquímicos de pre-germinación utilizados se encuentran: golpe y perforación de semillas, refrigeración, corte de embriones en mitades, además, la imbibición de semillas en diferentes sustancias como: Si, KNO<sub>3</sub>, KCl, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, MgSO<sub>4</sub>, AG<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>, agua destilada, agua desionizada y agua caliente (Rahman *et al.*, 2014; Barraza *et al.*, 2016).

Por otra parte, la imbibición de semillas ha demostrado contrarrestar los efectos negativos del proceso degenerativo y de dormancia en semillas, mejorar la movilización de nutrientes en el embrión y aumentar el vigor y la capacidad germinativa en algunas especies de semillas. Es por eso, que gracias al proceso de imbibición de semilla en agua y/o diferentes soluciones, es factible mejorar su calidad fisiológica a través de la uniformidad en el porcentaje de germinación. (Contreras *et al.*, 2008).

En la actualidad, se realizan diferentes estudios de imbibición con micronutrientes y minerales traza, como Se, I, Fe etc., ya que, además de producir los efectos positivos descritos anteriormente, su uso aumenta la síntesis de proteínas, el potencial REDOX y el contenido de vitamina C en las plántulas (De los Santos-Vázquez, 2014).

### **Compuestos bioactivos**

La mayoría de las principales enfermedades en las personas que deterioran su calidad de vida son los radicales libres. Diversos estudios han demostrado que el consumo de tomate y de sus productos derivados, reduce el riesgo de contraer enfermedades cardiovasculares y cáncer, debido a sus propiedades antioxidantes no enzimáticas como el licopeno, los flavonoides, el ácido ascórbico (vitamina C), etc., (Herrera-Flores *et al.*, 2014), y distintas proteínas enzimáticas como la glutatión peroxidasa (GPX), catalasa (CAT), superóxido dismutasa (SOD), ascorbato peroxidasa (APX), entre otras, que cumplen con diferentes funciones benéficas y de protección dentro del sistema humano. (León-Calvario, 2018; Ciruelos-Calvo *et al.*, 2008).

#### **Ácido Ascórbico (AsA).**

La vitamina C es necesaria para el crecimiento y reparación de tejidos en todas las partes del cuerpo, forma parte de la producción de la piel, los tendones, ligamentos y vasos sanguíneos, además, dentro de sus múltiples funciones, se encuentran las de sanar heridas y formar tejido cicatricial, así como ayudar en la absorción del hierro, (Castillo-Godina, 2015; Foroughbakhch *et al.*, 2018).

Aunque la vitamina C, es uno de los muchos antioxidantes, el cuerpo humano no es capaz de producir dicha vitamina por sí solo, mucho menos almacenarla, por lo que es importante incluir alimentos que contengan este nutriente en la dieta diaria. Los tomates son una fuente importante de ácido ascórbico (12%), sin embargo, la variación de las condiciones climáticas entre las diferentes estaciones, podría influir significativamente en la composición nutricional de los tomates.

Smirnoff (2000) menciona que el ascorbato es el antioxidante más predominante dentro de las células de las plantas, en concentraciones de entre 2 a 25 micromolar ( $\mu\text{M}$ ). El ácido ascórbico (AsA) desarrolla funciones indispensables en los vegetales, ya que está

relacionado con la regulación de la fotosíntesis. Noctor y Foyer (1998) mencionan que el AsA está relacionado en la elongación de raíz, el óptimo funcionamiento de los estomas y la optimización de los mecanismos vegetales para los cambios ambientales (Herrera-Martínez *et al.*, 2013).

### **Licopeno.**

El licopeno se encuentra en la naturaleza como pigmento natural liposoluble, responsable del color rojo y naranja de algunas frutas y verduras, y es el carotenoide predominante en el tomate (Hadley *et al.*, 2003).

Sí bien, es sabido que el cuerpo humano no sintetiza carotenoides, sino que más bien, la presencia de éstos depende de la dieta, en general la ingesta de tomate y de productos derivados, proveen alrededor del 85% de licopeno, el 15% restante, es aportado por frutas como la sandía, papaya y uvas rosadas (Levy y Sharon, 2004). El licopeno es uno de los principales carotenoides distribuidos en mayores cantidades en el ser humano (21 a 43% de los carotenoides totales), específicamente en el hígado, glándulas renales, testículos, ovarios y próstata (Waliszewski y Blasco, 2010).

De forma general, se ha demostrado la capacidad antioxidante del licopeno, al cual se le atribuyen funciones específicas, como la inhibición de la proliferación celular y su importante capacidad de eliminar el singlete de oxígeno y los radicales peroxilo, derivados del estrés oxidativo (Machín-Suárez *et al.*, 2017; Cruz-Bojórquez *et al.*, 2013).

### **Proteínas totales y Capacidad Antioxidante.**

Las frutas y hortalizas son parte fundamental en la alimentación humana, ya que estos aportan nutrientes, vitaminas y minerales, por lo que en la actualidad existe un gran interés por el estudio y la búsqueda de los nutrientes que incorporan al metabolismo humano los vegetales (Cámara-Hurtado *et al.*, 2008). Aunque las frutas y las hortalizas son productos ricos en agua, y bajos en proteínas (1 a 4% en general en hortalizas), estudios epidemiológicos refieren una gran asociación entre el consumo de vegetales, frutas, y granos, con la prevención de enfermedades crónico degenerativas (Ilow *et al.*, 2008).

La actividad antioxidante total, va de la mano con el contenido de proteínas totales, ya que la capacidad antioxidante de un alimento depende de la naturaleza y concentración de los antioxidantes y/ proteínas naturales presentes en el alimento, además, la capacidad antioxidante, está ligada directamente con la prevención de enfermedades relacionadas con el sistema oxidativo, como el cáncer (Barrientos Ramírez *et al.*, 2019)

### **Fenoles.**

Los compuestos fenólicos, son considerados antioxidantes no nutrientes, reducen la permeabilidad capilar, y evitan la formación de radicales libres, ya que pueden quelatar iones metálicos, evitando que éstos actúen como catalizadores en las reacciones de formación de dichos radicales (Shindo *et al.*, 1994). Además de evitar el estrés oxidativo, los compuestos fenólicos ayudan en la actividad anticancerígena y aumentan las comunicaciones intercelulares (Cárdenas-Álvarez, 2019).

### **Glutación Reducido (GSH).**

El glutatión se encuentra en concentraciones promedio de 12 mmol en células de mamíferos y es un importante antioxidante, además es esencial para la proliferación celular y es importante, para mantener el potencial de óxido-reducción de la célula (Franco y Cidlowski, 2009).

Aunque el cuerpo produce GSH, el ser humano a menudo no logra mantener lo niveles saludables debido al continuo ataque del estrés oxidativo. Sin embargo, diversos estudios han demostrado beneficios a la salud humana, entre los que destacan la importancia del GSH a la hora de apoyar y proteger la salud cerebral, ya que algunas enfermedades cerebrales (Parkinson, Alzheimer) y algunos trastornos cerebrales (esquizofrenia, depresión, trastornos del sueño) pueden ir acompañador de un estrés oxidativo y una disminución considerable en los niveles de GSH. Además el GSH tiene funciones esenciales en el sistema inmunológico, en pulmones, hígado, en la salud ocular y celular (Levy y Sharoni, 2004).

La mayoría de las enfermedades asociadas al envejecimiento, como la artritis, cataratas y algunos tipos de cáncer, empeoran más rápidamente ante una deficiencia significativa

de GSH, es decir, conforme el cuerpo envejece los niveles de GSH disminuyen, por lo que es importante consumir alimentos ricos en éste metabolito (Levy y Sharoni, 2004).

#### **Catalasa (CAT).**

La catalasa es una de las enzimas más abundante en la naturaleza (Castillo-Godina, 2015). La catalasa está involucrada en la reducción del peróxido de hidrogeno ( $H_2O_2$ ) generado durante el metabolismo celular, sin embargo, tiene una baja afinidad por el sustrato, lo que la hace poco eficiente en la eliminación de  $H_2O_2$ , cuando éste se encuentra en concentraciones bajas. En las plantas, la mayoría de la catalasa se localiza en los peroxisomas, donde la concentración del  $H_2O_2$  es muy alta (Foroughbakhch *et al.*, 2018).

#### **Ascorbato Peroxidasa (APX).**

La enzima APX dentro del sistema antioxidante, interviene directamente en el control de las concentraciones de  $H_2O_2$  en las células. El proceso utiliza a la enzima ascorbato peroxidasa como donador de electrones, ya que, reduce el peróxido de hidrogeno ( $H_2O_2$ ) oxidando una molécula de ascorbato. Sin embargo, la alta afinidad por el ascorbato, en algunas ocasiones puede ser contraproducente, puesto que en un medio donde existan pocas concentraciones de dicho sustrato (ascorbato), la APX pierde estabilidad y por consiguiente, disminuye su actividad catalítica. No obstante, un aumento en la actividad de APX, es un indicador de estrés oxidativo en células vegetales (Estay-Ubilla, 2013).

#### **Glutación Peroxidasa (GPX).**

La enzima GPX elimina los peróxidos utilizando glutati3n reducido (GSH) como un agente reductor, donde los peróxidos son transformados en agua y alcoholes, respectivamente, y el glutati3n en su forma oxidada (GSSG) es reducido nuevamente por la enzima glutati3n reductasa, la cual utiliza NADPH como donador de electrones (Figura 3):

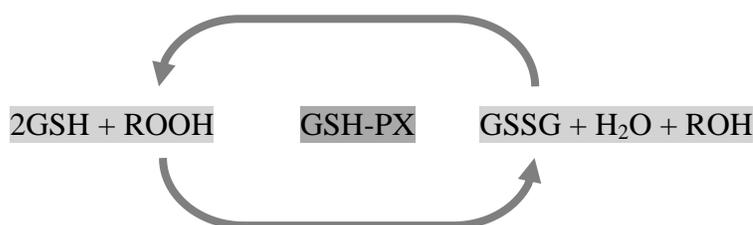


Figura 3. Funcionamiento de la enzima GSH-PX en el metabolismo humano (Ogawa, 2005).

Se ha demostrado que la enzima GPX está involucrada en los diferentes procesos vegetales, como la diferenciación, muerte programada, regulación del ciclo celular, acumulación de algunos pigmentos, floración, así como en la regulación del crecimiento, y como inductora de genes de defensa (Ogawa, 2005).

### **Súper Óxido Dismutasa (SOD).**

La enzima SOD fue descubierta por Joe McCord e Irwin Fridovich (1969) y la clasificaron en cuatro tipos diferentes, los cuales se diferencian de acuerdo a su centro activo y al metal que tiene en su grupo prostético (Cu/Zn, Ni, Fe o Mn). La enzima SOD es uno de los antioxidantes más potentes del cuerpo humano, su reacción inactiva el radical libre superóxido y lo transforma en especies químicas menos reactivas como el  $\text{O}_3$  y el  $\text{H}_2\text{O}_2$  (Martínez *et al.*, 2018).

La SOD convierte el radical superóxido ( $\text{O}_2^-$ ) en  $\text{H}_2\text{O}_2$  y  $\text{O}_2$ , y la catalasa o la GPX convierten el peróxido ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), en oxígeno y agua ( $\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$ ) (Cuadra-Crespo y del Amor, 2010). SOD es la enzima que determina las concentraciones de  $\text{H}_2\text{O}_2$  y  $\text{O}_2$ , en vegetales y en humanos, y es la responsable de eliminar a los radicales superóxido presentes (Betancourt Velázquez 2003).

### **Importancia del tomate**

La superficie cosechada de tomate a nivel mundial creció a una tasa promedio anual de 1.4% entre 2007 y 2017, para ubicarse en 4.8 millones de hectáreas, mientras en el 2017 la producción mundial de tomate se ubicó en un máximo histórico de 177 millones de toneladas (FAOSTAT, 2020). México representa el 25.11% del valor total de las

exportaciones mundiales y en países como Estados Unidos y Canadá, el tomate mexicano cubre el 90.67% y el 65.31% de las importaciones para dichos países respectivamente (SIAP, 2019).

Si bien, la calidad de un tomate depende fundamentalmente de su aroma, su consistencia y sabor, su importancia se representa por ser una fuente principal de nutrientes esenciales para los seres humanos, es rico en vitaminas C y A, y del grupo B, K y B3, también, contiene una buena colección de minerales, en especial el hierro (Fe), fósforo (P), calcio (Ca), magnesio (Mg), cobre (Cu), potasio (K), zinc (Zn), etc.

Aunque, el concepto de calidad para un producto alimenticio es muy variado e interpretado de diferentes maneras por los consumidores, Ciruelos-Calvo *et al.* (2008) consideran que dentro de los principales controles para evaluar la calidad del tomate, se encuentran: color, sólidos solubles totales (SST), pH, consistencia y textura, además de evaluaciones bioquímicas como carotenoides y licopeno. Reina (1998), sugiere que además, se debe evaluar el tamaño y forma de los tomates, así como el índice de madurez y la firmeza; sin dejar de lado las labores culturales pre y postcosecha, que, a su parecer, infieren directamente en la calidad del tomate.

Santiago *et al.* (1998), consideran que además de las mediciones descritas anteriormente, mencionan que también se debe contemplar el rendimiento de los cultivos como un factor importante para determinar su calidad, entre las mediciones de rendimiento se encuentran: peso por fruto, número de frutos, días al primer corte y días de cosecha; además fotosíntesis, transpiración y SST, esto debido a que el estudio del rendimiento del cultivo, reflejaría algún tipo de estrés, que a su vez, sería el resultado de una buena o mala calidad de los tomates.

La vida de anaquel también es un indicativo que representa la buena o mala calidad del tomate, ya que hoy en día, existen diferentes métodos para combatir el deterioro de los tomates y conservar su calidad, entre los cuales se encuentran: el uso de bajas temperaturas, tratamientos químicos y atmósferas modificadas (Ruíz-Martínez *et al.*, 2012). Casierra-Posada y Aguilar-Avenidaño (2008) mencionan que el almacenamiento a bajas temperaturas es el método más eficiente para mantener la calidad en frutas y hortalizas, por su efecto sobre la reducción de la tasa de respiración, transpiración, producción de etileno, maduración y desarrollo de pudriciones. La temperatura juega un

papel importante en el mantenimiento de la calidad de cosecha en tomates, además que la cantidad de cambios fisicoquímicos en frutos de tomate es altamente dependiente del cultivar, el tiempo de exposición y las condiciones de cosecha. Luna-Fletes *et al.*, (2018) mencionan que valores altos de firmeza permiten alargar la vida de anaquel del tomate Cherry, lo cual también aplica para el tomate saladette de la presente investigación.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Ubicación del experimento

La presente investigación, se realizó en un invernadero tipo túnel con cubierta de polietileno semitransparente y ventilación natural con ventilas laterales, del área experimental del Departamento de Ciencias del Suelo, de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, en Saltillo Coah., México (25° 21' Latitud Norte y 101° 02' Longitud Oeste, altitud 1742 m).

Se utilizaron semillas de tomate saladette híbrido “El Cid F1” de habito de crecimiento indeterminado (Harris Moran®). Como Mineral biofortificante se utilizó Selenio (Se) iónico en forma de selenito de sodio ( $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ ) en concentraciones de 0, 0.5, 1, 2 y 4 mg  $\text{L}^{-1}$ , aplicado por imbibición en la semilla y aspersion foliar.

### Imbibición de semillas con Se

#### Determinación del tiempo de imbibición.

Se pesaron 25 semillas por tratamiento (0, 0.5, 1, 2 y 4 mg  $\text{L}^{-1}$ ) y se registraron los pesos correspondientes al tiempo 0. Las semillas de cada tratamiento se depositaron en vasos de plástico etiquetados y se les agregaron 10 mL con las soluciones correspondientes, asegurándose que todas las semillas quedaran totalmente sumergidas en las soluciones. Transcurrida la primera hora de imbibición las semillas se colocaron en papel filtro para drenar el exceso y se pesaron, y nuevamente las semillas fueron embebidas hasta el siguiente tiempo de medición. Se continuó con la medición del peso en los tiempos de imbibición de 2, 3, 4, 5, 12 y 24 h. Se graficó la hidratación o ganancia de peso de las semillas en función del tiempo de imbibición.

#### Prueba de germinación.

Se colocaron 25 semillas por tratamiento (0, 0.5, 1, 2 y 4 mg  $\text{L}^{-1}$ ) con cinco repeticiones, en vasos de plástico etiquetados, a los cuales se les agregó 10 mL a cada uno de su solución correspondiente, por un tiempo de imbibición de 24 h, asegurándose que todas las semillas quedaran sumergidas en las soluciones.

Transcurridas las 24 h, se colocaron todas las semillas de todos los tratamientos con sus respectivas repeticiones en cajas Petri con papel filtro y se les agregó 5 mL de solución de su tratamiento correspondiente y se colocaron en una cámara de germinación (temperatura 27 °C, humedad 75%) del Departamento de Fitomejoramiento de la UAAAN. En la cámara de germinación se registró diariamente el número de semillas germinadas durante 10 días.

Pasados los 10 días, las semillas ya germinadas se extrajeron de la cámara de germinación y se determinó el porcentaje de germinación, el número de semillas duras y plántulas muertas, la longitud del hipocótilo y la radícula, y los pesos fresco y seco. Para obtener el peso seco las muestras frescas se deshidrataron en una estufa de secado (VULCAN 3-550) a una temperatura de 55 °C durante 24 h.

## **Establecimiento de cultivo**

### **Distribución de los tratamientos**

En las dos formas de aplicación, por imbibición en la semilla (tratamientos T<sub>1</sub>-T<sub>5</sub>) y por aspersión foliar en el dosel de la planta (tratamientos T<sub>6</sub>-T<sub>10</sub>), se utilizó Se iónico en forma de selenito de sodio (Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>) en las mismas concentraciones (Tabla 5).

Tabla 5. Distribución de los tratamientos.

Forma de aplicación	Tratamiento	Se (mg L <sup>-1</sup> )
En la semilla de tomate por imbibición	T1	0
	T2	0.5
	T3	1
	T4	2
	T5	4
En el dosel de la planta por aspersión foliar	T6	0
	T7	0.5
	T8	1
	T9	2
	T10	4

La aplicación de Se por imbibición en la semilla se realizó una única vez, mientras que la aplicación vía aspersión foliar en el dosel de la planta se realizó una vez por semana a partir del primer brote floral, hasta el final de la cosecha. T<sub>1</sub> y T<sub>6</sub> son los tratamientos control de la aplicación por imbibición y vía foliar, respectivamente.

Para la aplicación de Se vía imbibición en la semilla se preparó una solución madre de selenito de sodio (Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>) a 40 ppm, para lo cual, se pesaron 8.8 mg de Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> (Sigma Aldrich ®) y se aforaron a 100 mL con agua desionizada. Se prepararon las diluciones con 1.25, 2.5, 5 y 10 mL de solución madre, y se aforaron a 100 mL con agua desionizada para obtener los tratamientos de 0.5, 1, 2 y 4 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente.

Para la aplicación de Se vía foliar en el dosel de la planta se preparó una solución madre de Selenito de Sodio (Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>) a 40 ppm, para lo cual, se pesaron 88 µg de Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> y se aforaron a 1 L con agua desionizada. Se prepararon las diluciones con 12.5, 25, 50 y 100 mL de solución madre, y se aforaron a 1 L con agua desionizada para obtener los tratamientos de 0.5, 1, 2 y 4 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente.

Como sustrato se utilizó una mezcla de turba-perlita en una relación 1:1 (v/v) para la siembra en charolas de poliestireno y el trasplante en bolsas de polietileno de color negro con capacidad de 10 L.

### **Aplicación de Selenio por imbibición en la semilla (Experimento 1)**

Se colocaron 25 semillas por tratamiento (0, 0.5, 1, 2 y 4 mg L<sup>-1</sup>) en vasos de plástico etiquetados y se les agregaron 10 mL con las soluciones diluidas correspondientes, por un tiempo de imbibición de 24 h, asegurándose que todas las semillas quedaran sumergidas en las soluciones.

Transcurridas las 24 h las semillas se sembraron en una charola de poliestireno con una mezcla de turba - perlita en una relación 1:1 (v/v). El riego consistió de un evento por día con agua pura. Las plántulas se trasplantaron a los 35 días después de la siembra en bolsas de polietileno de color negro con capacidad de 10 L con una mezcla de turba - perlita en una relación 1:1 (v/v). A partir del trasplante hasta la cosecha se realizaron los riegos y la fertilización (2 L día<sup>-1</sup>), así como el tutoreo a un solo tallo y las podas de cultivo.

### **Aplicación de Selenio por aspersión foliar (Experimento 2)**

Se sembraron 125 semillas (sin embeber) en una charola de poliestireno con una mezcla de turba - perlita en una relación 1:1 (v/v). El trasplante de las plántulas, los riegos, la fertilización, el tutoreo y las podas de cultivo fueron realizados de forma similar al establecimiento del cultivo con la aplicación de Se vía imbibición.

La aplicación foliar de soluciones de Se fue de 0, 0.5, 1, 2 y 4 mg L<sup>-1</sup>, y fue realizada a partir del primer brote floral una vez por semana, hasta el tercer racimo frutal. Un volumen de 1 L de la dilución de cada tratamiento fue rociado equitativamente al dosel de las plantas con una mochila aspersora.

A partir del tercer racimo ya con fruto y hasta el final de producción, se aplicó un volumen de 2 L por planta por cada tratamiento.

Durante la cosecha, se contabilizó el número de frutos y el peso de los tomates por racimo para obtener el rendimiento por planta por tratamiento, donde una planta representó una repetición. Las mediciones de rendimiento, se llevaron a cabo durante toda la etapa de cosecha del cultivo, concluyendo en el octavo racimo.

### **Fertilización y riego**

La fertilización consistió en una solución nutritiva tipo Steiner (Steiner, 1961) diluida en el agua de riego al 25, 50, 75 y 100% de concentración de acuerdo a la etapa fenológica del cultivo. Se realizaron aplicaciones de ácido fosfórico (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) y nitrato de potasio (KNO<sub>3</sub>), a partir de los 20 días después del trasplante, cada tercer día por tres semanas, para fortalecer el desarrollo del tallo y el follaje en la temporada invernal. Las aplicaciones de H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> y KNO<sub>3</sub> consistieron en agregar 100 mL de solución a la base de la raíz (independientemente de las aplicaciones de la solución nutritiva), para lo cual se diluían 2.5 mL y 2.5 g de cada fórmula química por cada litro de agua.

### **Calidad de frutos**

Durante la etapa de producción, se cosecharon del segundo racimo tres frutos maduros con cinco repeticiones por cada tratamiento, según la escala de BBCH (Meier, 2018), que sirvieron para obtener las variables bioquímicas, de calidad y vida de anaquel

(Alarcón Zayas, 2013), a decir, 50 frutos para las variables bioquímicas, 50 para calidad de fruto y 50 para vida de anaquel.

### **Firmeza**

A los frutos de tomate cosechados se les midió la firmeza de forma manual con un penetrómetro FT327 (QA Suplies LCC). Se selecciona el “vial” que marca el instructivo del penetrómetro que depende del fruto de estudio, se coloca el vial y se procede a ejercer fuerza sobre el fruto hasta que el vial lo penetre, por último, se registra la firmeza en  $\text{kg cm}^{-2}$ . El fruto fue punzado una sola vez.

### **Sólidos Solubles Totales (SST)**

Los frutos tomate utilizados para medir firmeza, se les midió los sólidos solubles totales (SST) expresados en °Brix con un refractómetro digital HI 96801 (HANNA Inc.). La medición de los SST consiste en calibrar el refractómetro colocando agua destilada en el lector (la lectura debe ser cero), limpiar el lector con papel, colocar algunas gotas del fruto sobre el lector y tomar la lectura del refractómetro. El proceso de limpieza se realiza con cada una de las muestras.

### **Vida de anaquel**

Se tomaron cinco frutos por tratamiento y se dejaron en el laboratorio a temperatura ambiente los días necesarios, es decir, hasta considerar que los frutos han perdido algunas de sus propiedades físicas (Alarcón Zayas, 2013), como firmeza, color, textura, olor, etc., y por último, se les evaluó la pérdida de firmeza, considerado el método para evaluar la vida de anaquel del fruto.

### **Compuestos Bioactivos**

Los frutos cosechados fueron pesados e inmediatamente cortados en cubos pequeños que se vaciaban en cilindros de plástico con capacidad de 50 mL. Los cilindros se colocan dentro de una hielera a una temperatura de 0 °C y se almacenan en el ultra congelador (Sanyo®) a -80 °C, 5 muestras por tratamiento para un total de 50 muestras.

Posteriormente las muestras se extrajeron del ultra congelador y fueron colocadas en el liofilizador (LABCONCO) a  $-83\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 5 días. Las muestras extraídas del liofilizador fueron maceradas y colocadas en bolsas de plástico con cierre estilo zipper.

### **Compuestos No Enzimáticos**

#### **Ácido Ascórbico (AsA).**

La cuantificación de AsA de la curva de calibración y de las muestras, se realizó con un cromatógrafo de líquidos de alta resolución HPLC P4000<sup>®</sup> (Thermo Spectra system), bajo las siguientes condiciones: longitud de onda 230 nm, fase móvil  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  50 mM pH 2.8, acetonitrilo en una proporción 80:20, flujo de  $1.0\text{ mL min}^{-1}$ , la columna utilizada fue una aquasil C-18 a una temperatura de  $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

La curva de calibración se realizó con AsA a 200 ppm como solución madre, de la cual, se hicieron las disoluciones correspondientes para obtener cada uno de los estándares de la curva a 5, 10, 20, 30, 50, 75, 100 y 200 ppm.

En cuanto a la cuantificación de AsA de las muestras, primero se extrajeron las biomoléculas de las muestras, para lo cual se pesaron 100 mg de tejido liofilizado y macerado. Posteriormente, se la agregaron 2 mL de la mezcla agua-acetona (1:1), se sometió a Vortex por 30 s, se centrifugó por 10 min a 12000 rpm a  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ , se extrajo el sobrenadante, que se filtró con pirinola de  $0.45\text{ }\mu\text{m}$  de diámetro (Yu y Dahlgren, 2000). La muestra filtrada se colocó en los viales para ser leída en el HPLC. Las unidades fueron reportadas en  $\text{g kg}^{-1}$ .

#### **Licopeno.**

La concentración de licopeno se cuantificó en dos pasos: 1) se trazó una curva de calibración con estándar de licopeno (Sigma-Aldrich<sup>®</sup>) con pureza de 98%, se obtuvo una solución madre de 25 ppm, y se hicieron las diluciones para obtener las concentraciones de cada estándar de la curva a 2, 5, 10, 15, 20 y 25 ppm.

2) Se realizó la extracción de sus biomoléculas, donde, se pesaron 100 mg de la muestra liofilizada y macerada, que se colocó en tubos Eppendorf de 2 mL, posteriormente, se agregaron 1.5 mL de hexano, se llevó a Vortex por 30 s, se sónico por 5 min y

centrifugo a 4 °C por 10 min a 10000 rpm. Con una jeringa, se extrajo el sobrenadante y se filtró con pirinolas de 0.45  $\mu\text{m}$  de diámetro (Yu y Dahlgren, 2000). La muestra se diluyó en la proporción 1:10 (muestra/hexano), para poder ser leída mediante el espectrofotómetro UV-VIS a una longitud de onda de 472 nm, usando como blanco hexano (Bunghuez *et al.*, 2011). Los resultados se expresaron en  $\text{mg kg}^{-1}$ .

### **Proteínas Totales.**

La determinación de proteínas totales se realizó por el método de Bradford (Bradford, 1976). Se elaboró una curva de calibración con una solución madre de 500 ppm de Albúmina Sérica Bovina (ASB) y se diluyó a 5, 10, 30, 50, 75, 100, 150 y 200 ppm.

Para la extracción de las biomoléculas de cada muestra, se pesaron 100 mg de tejido vegetal liofilizado y macerado, y se agregaron 10 mg de polivinilpirrolidona (pvp), las muestras se colocaron en tubos Eppendorf de 2 mL, se agregaron 2.0 mL de buffer de fosfatos 0.1 M. Se llevó a Vortex por 10 s, la muestra se sónico durante 5 min, se centrifugó a 12500 rpm durante 10 min a 4 °C. Se extrajo el sobrenadante y se filtró con una membrana de nylon (Ramos *et al.*, 2010), y la muestra se diluyó con buffer de fosfatos (1:15).

Para la cuantificación de las muestras, se tomó 0.1 mL de muestra y se mezcló con 1 mL del reactivo de Bradford (Bradford, 1976). Se depositó la mezcla en una celdilla de plástico para obtener la lectura (absorbancia). Las absorbancias de la curva de calibración y de las muestras, se obtuvieron mediante un espectrofotómetro a una longitud de onda de 595 nm, utilizando una solución tampón (buffer de fosfatos) como blanco.

### **Capacidad Antioxidante.**

Se trazó una curva de calibración, se utilizó el trolox 3 mM como solución madre (estándar), se le hicieron las diluciones para obtener los estándares de la curva a 0.05, 0.1, 0.2 y 3 mM. Se agregaron 750  $\mu\text{L}$  de cada punto de trolox (estándar), se dejaron reposar por 15 min. Se realizó la lectura de las absorbancias de los estándares mediante espectrofotómetro UV-VIS a una longitud de onda de 530 nm.

Para la extracción de los metabolitos se pesaron 100 mg de tejido vegetal liofilizado y macerado, se colocó en tubos Eppendorf de 2 mL, se agregaron 1.5 mL de metanol. Se llevó a Vortex por 20 s, la muestra se sónico durante 10 min, se centrifugó a 12000 rpm durante 10 min a 4 °C, se extrajo el sobrenadante y se filtró con pirinolas de 0.45 µm de diámetro (Yu y Dahlgren, 2000).

Para la cuantificación de la capacidad antioxidante, se tomaron 750 µL de cada muestra, se colocaron en tubos de ensayo, se agregaron 750 µL del DPPH 0.1 mM y se dejó reposar por 15 min. Se tomó la lectura mediante el espectrofotómetro UV-VIS a una longitud de onda de 530 nm.

### **Fenoles Totales.**

Se trazó una curva de calibración, usando como solución madre un estándar de ácido gálico a 1000 ppm, y se hicieron las diluciones para obtener las concentraciones de cada estándar de la curva a 100, 250, 500, 750 y 1000 ppm.

Para la extracción de las biomoléculas de cada muestra, se pesaron 100 mg de tejido vegetal liofilizado y macerado, se colocaron en tubos Eppendorf de 2 mL y se les agregó 2 mL de la mezcla agua-acetona (1:1). Se llevó a Vortex por 10 s, la muestra se sonicó durante 5 min, se centrifugó a 12000 rpm durante 10 min a 4 °C, se extrajo el sobrenadante y se filtró con pirinolas de 0.45 µm de diámetro (Yu y Dahlgren, 2000).

La cuantificación se realizó mediante espectrofotometría UV-VIS a una longitud de onda de 750 nm (Susana *et al.*, 2009), para lo cual se agregó 50 µL de muestra, 200 µL del reactivo Folin Ciocalteu 1 M, 500 µL de NaCO<sub>3</sub> al 20% y 5 mL de agua destilada. Los resultados fueron expresados en %.

### **Glutación Reducido (GSH).**

Se trazó una curva de calibración, usando como solución madre un estándar de glutatión 0.1 mM, y se hicieron las diluciones pertinentes para obtener las concentraciones de cada estándar de la curva a 0.005, 0.01, 0.02, 0.06, 0.08 y 0.1 mM.

Para la extracción de las biomoléculas de cada muestra, se pesaron 100 mg de tejido vegetal liofilizado y macerado, se agregaron 10 mg de polivinilpirrolidona (pvp), las muestras se colocaron en tubos Eppendorf de 2 mL, y se agregaron 2 mL de buffer de

fosfatos al 0.1 M. Se llevó a Vortex por 10 s, la muestra se sónico durante 5 min, se centrifugó a 12500 rpm durante 10 min a 4 °C. Se extrajo el sobrenadante y se filtró con una membrana de nylon (Ramos *et al.*, 2010), y se diluyó con buffer de fosfatos (1:15). Para la cuantificación de GSH de las muestras, se preparó el blanco, se vertieron 0.48 mL del buffer de fosfatos en un tubo de ensaye, se agregaron 2.2 mL de Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.32 M y 0.32 mL del colorante 5,5 ditio-bis-2 ácido nitro benzoico (DTNB) 1 mM, y se dejó reaccionar por 15 min. Para la lectura de las muestras, se realizó el mismo procedimiento que el blanco, solo se cambió el buffer por el extracto obtenido, es decir se agregaron 0.48 mL de muestra. Las muestras fueron colocadas en celdillas de plástico y la reacción fue leída en el espectrofotómetro UV-VIS a 412 nm (Sahoo *et al.*, 2017; Xue *et al.*, 2001). Los resultados fueron expresados en mM.

### **Compuestos Enzimáticos (Actividad Enzimática)**

#### **Extracción de enzimas.**

Se preparó un buffer de fosfatos a partir de dos soluciones. En la primera solución (solución A), se pesaron 27.6 g de fosfato monopotásico (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) 0.2 M y se aforaron a 1 L con agua destilada. Para la solución B, se pesaron 53.65 g de fosfato dipotásico (K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O) 0.2 M y se disolvieron en 1 L de agua destilada. Se obtuvo la solución amortiguadora con pH de 7.2, para lo cual, se tomaron 140 mL de la solución A y 360 mL de la solución B, y esta mezcla fue aforada a 1 L con agua destilada.

Se extrajeron 100 mg de muestra macerada, se agregaron 10 mg de polivinilpirrolidona (pvp), se colocó en tubos Eppendorf de 2 mL, se agregaron 2 mL de buffer de fosfatos de pH 7.2 y se sonicaron las muestras por 10 min, se sometieron a microcentrifugación a 12000 rpm por 10 min a 4 °C, el sobrenadante se recolectó y se filtró con una membrana de nylon (Ramos *et al.*, 2010). El sobrenadante filtrado, se diluyó con buffer de fosfatos (1:15) y se colocó en tubos cónicos. Se extrajo la dilución de los tubos cónicos, se colocó en cinco tubos Eppendorf de 2 mL, y se almacenó en el ultra congelador, posteriormente, se iban extrayendo de una en una, según el día en que se requerían para hacer las distintas mediciones. Con las diluciones hechas, cada una de las cinco repeticiones se fraccionó en siete sub-muestras, quedando un total de 350 muestras.

### **Catalasa (CAT).**

La actividad de la catalasa fue cuantificada mediante espectrofotometría UV-VIS. Se realizó una curva de calibración de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 30%, a partir de una solución madre de 100 mM, y sus diferentes disoluciones a 20, 40, 60, 80 y 10 mM.

La cuantificación catalítica se llevó a cabo en dos tiempos, tiempo 0 min (T0) y tiempo 1 min (T1). La mezcla de reacción para el blanco se preparó agregando 0.1 mL del extracto de biomoléculas (muestra), 1 mL de buffer de fosfatos pH 7.2 y 0.4 mL de ácido tricloroacético al 5%. Para preparar la mezcla de reacción para el T0 se agregaron 0.1 mL de extracto de biomoléculas, 1 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 100 mM y se añadieron 0.5 mL de ácido tricloroacético al 5%. Para preparar la mezcla de reacción para el T1 fue similar a la de T0, solo que los 0.5 mL del ácido tricloroacético al 5% fueron aplicados después de 1 min de reacción entre el extracto y el peróxido. La reacción se efectuó a una temperatura de 20 °C con agitación constante. El consumo de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> se leyó a 270 nm en el espectro de UV-VIS. Las unidades de la actividad (UI) fueron expresadas en mM de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> min<sup>-1</sup> de proteínas totales (Cansev *et al.*, 2011).

### **Ascorbato Peroxidasa (APX).**

La actividad de la enzima APX fue cuantificada mediante espectrofotometría UV-VIS (Nakano y Asada, 1981) a temperatura ambiente (25 °C). Se realizó una curva de calibración de Ácido Ascórbico con una solución madre de 10 ppm y sus diferentes disoluciones a 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1, 2, 4 y 10 ppm.

Para la cuantificación de la actividad enzimática APX de las muestras de tomate, se agregó en un tubo para centrífugar 0.1 mL del extracto de biomoléculas, 0.5 mL de ascorbato a 10 ppm de concentración y 1 mL a 100 mM de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, después de 5 min la reacción fue detenida con 0.4 mL de ácido tricloroacético al 5%. La tasa de consumo del ascorbato se cuantificó por espectrofotometría a 266 nm. Las unidades de la actividad (UI) fueron expresadas en mM de ascorbato min<sup>-1</sup> de proteínas totales.

### **Glutación Peroxidasa (GPX).**

Se realizó una curva de calibración, utilizando glutación reducido (GSH) 0.1 mM como solución madre, y se hicieron diferentes disoluciones para los diferentes puntos de calibración de la curva a 0.005, 0.01, 0.02, 0.06, 0.08 y 0.1 mM.

Utilizando el método modificado por Flohé y Günzler (1984) para la cuantificación de la actividad enzimática de GPX, se utilizó H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> como sustrato. Se colocaron 0.2 mL del extracto en un tubo de ensaye y 0.5 mL de glutación reducido 1 mM y 0.2 mL de Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> a 0.067 M, se agregaron 0.2 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 1.3 mM para iniciar la reacción catalítica. Se dejó reaccionar por 10 min y se detuvo mediante la adición de 1 mL de ácido tricloroacético al 1%. La mezcla se centrifugó a 3000 rpm por 10 min. Un volumen de 0.48 mL del sobrenadante se colocó en la celdilla, se agregó 2.2 mL de Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> a 0.32 M y 0.32 mL del colorante 5,5 diti@o-bis-2 ácido nitro benzoico 1 mM. Se leyó en el espectrofotómetro DTNB UV-VIS a 412 nm (Xue *et al.*, 2001).

### **Súper Óxido Dismutasa (SOD).**

La actividad enzimática SOD, se determinó mediante el Kit Cayman®. Se realizó una curva de calibración (estándar). Se tomaron 20 µL del estándar SOD y se mezclaron en 1.98 mL de buffer de muestra que sirvió de solución madre, y se hicieron las disoluciones para obtener la curva de calibración a 20, 40, 60, 80, 120, 160 y 200 µL.

Para la cuantificación del estándar y actividad enzimática (muestras), se realizó en un lector de microplaca (lector de absorbancia). Se utilizaron 10 µL de buffer para el blanco, 10 µL de cada uno de los estándares para la curva de calibración, y 10 µL de extracto enzimático para la medición de las muestras. Para la medición de las muestras se agregaron 200 µL de muestra y 20 µL de Xantina oxidasa a cada pocillo de la microplaca, se agitó 10 s y se cubrió en obscuridad para dejar incubar durante 30 min a temperatura ambiente, y se leyeron las absorbancias a 450 nm en el lector de placa.

Los resultados de SOD, se expresan en U mL<sup>-1</sup> de proteínas totales, donde una unidad U se define como la cantidad de enzima SOD que necesita para realizar la dismutación del radical superóxido (Xantina).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Aplicación de Se en la semilla por imbibición

#### Determinación del tiempo de imbibición y peso de las semillas

A partir de las 12 h de imbibición, las semillas incrementaron su masa promedio en 55%. Un tiempo de imbibición de 12 h de semillas de tomate en Se es suficiente para alcanzar una absorción promedio del 96% de la hidratación máxima (Figura 4).

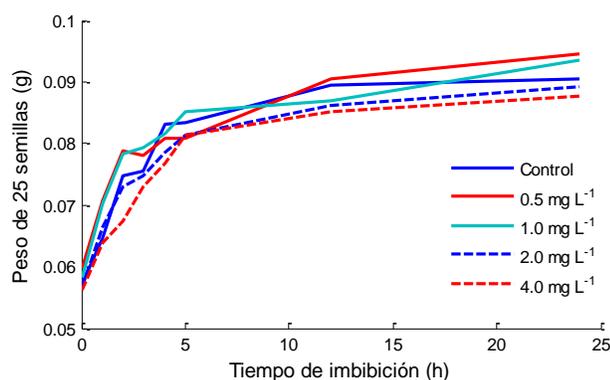


Figura 4. Peso de semillas de tomate embebidas en Se. Valores promedio. n = 5 (los análisis de varianza se muestran en el Anexo).

#### Prueba de germinación

La Figura 5 muestra el cambio en la germinación diaria (a) y la germinación acumulada (b) de las semillas de tomate tratadas con Se. A los 10 días, el tratamiento de 2 mg L<sup>-1</sup> mostró el mayor porcentaje de germinación acumulada (96%), con la mayor germinación en el 4to día (45%), mientras que la germinación acumulada del tratamiento de 4 mg L<sup>-1</sup> fue 94%, con la mayor germinación en el 6to día (30%). De acuerdo a la concentración de Se aplicada en las semillas de tomate vía imbibición, el mayor porcentaje de germinación se presenta del 4to al 6to día, lo cual asegura una germinación acumulada del 95%. Bajo condiciones óptimas del sustrato (temperatura 27 °C, humedad 60%), la semilla de tomate germina de 8-15 días, y la aplicación de Se vía imbibición puede reducir el tiempo promedio de germinación hasta en un 48%.

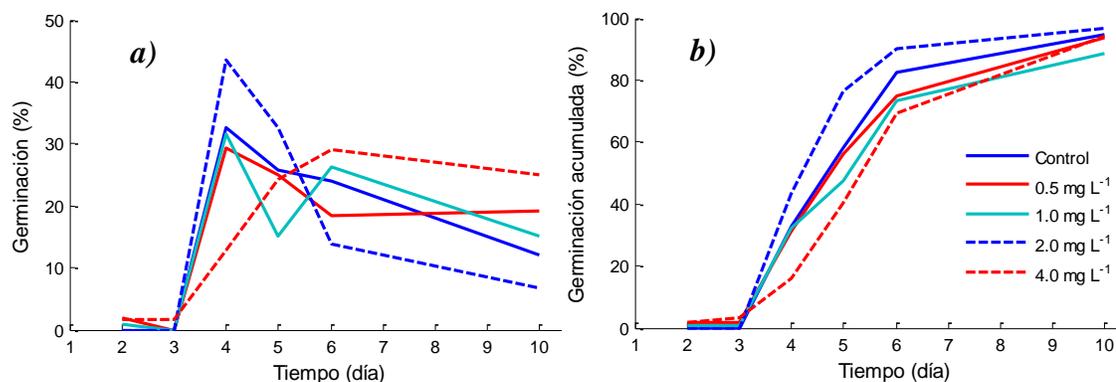


Figura 5. Germinación diaria (a) y acumulada (b) de semillas de tomate embebidas en Se. Valores promedio.  $n = 5$ .

La Figura 6 muestra el cambio en la longitud de radícula (a) y la longitud del hipocótilo (b) a los 10 días después de la imbibición. La aplicación de Se disminuyó significativamente entre 20-43% la longitud de radícula, y en 18 y 31% la longitud del hipocótilo en los tratamientos con 1 y 4 mg L<sup>-1</sup> de Se, respectivamente. Los tratamientos con 0.5 y 2 mg L<sup>-1</sup> de Se presentaron el mejor desempeño tanto en longitud de radícula como en longitud del hipocótilo.

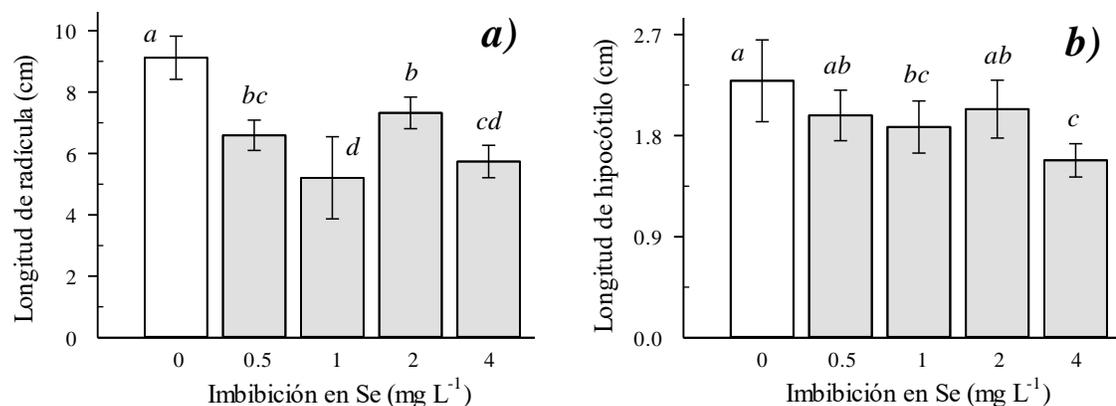


Figura 6. Longitud de radícula (a) e hipocótilo (b) de semillas germinadas, embebidas en Se. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos en cada vía de aplicación (Tukey,  $P \leq 0.05$ ). Valores promedio  $\pm$  desviación estándar.  $n = 25$ .

En cuanto al tiempo de imbibición, Monroy-Vázquez *et al.* (2017) encontró que al embeber semillas de *Opuntia*, la mayor ganancia en peso la obtuvieron en las primeras 8 h, lo cual concuerda con Méndez Natera *et al.* (2008), que al embeber semillas de maíz

en agua, las mayores tasas de absorción de ocurrieron entre las 8 y 10 h. Dichos estudios concuerdan con lo obtenido en la presente investigación, ya que la mayor ganancia en peso de las semillas de tomate evaluadas la encontramos en las primeras 12 h, sin embargo, el tiempo de imbibición de las semillas de tomate fue superior hasta por cuatro horas a lo reportado por dichos autores. Esto puede deberse a las diferencias en tamaño de las semillas, ya que aunque la mayor ganancia en peso es reportada en las primeras horas, las semillas de maíz y *opuntia* tienen un volumen superior a las de tomate, lo cual pudo haber ayudado a una captación más rápida de la solución (imbibición).

Por otra parte, para la prueba de germinación, Pérez-Mendoza *et al.* (2016) embebieron semillas de tomate por 20 h en agua destilada y encontraron que la germinación inició más rápido, viéndose reflejado en el porcentaje y vigor de germinación. Balaguera-López *et al.* (2009), por su parte al embeber semillas de tomate en ácido giberélico (AG<sub>3</sub>), encontró el mejor y mayor desarrollo de raíz en una concentración de 600 mg L<sup>-1</sup> y un tiempo de imbibición de 24 h, y la mayor altura (longitud de hipocótilo) a una concentración de 300 mg L<sup>-1</sup> y un tiempo de imbibición de 36 h. Lo cual casi concuerda con el presente trabajo, que aunque la germinación también comenzó más rápido (entre el 4to y 6to día), con una germinación acumulada en 10 días del 96% y 94% para los tratamientos de 2 y 4 mg L<sup>-1</sup> respectivamente, y obtuvimos también, un mayor vigor del hipocótilo en los tratamientos de 1 y 2 mg L<sup>-1</sup> de hasta el 25% con respecto al control, la radícula obtuvo una diferencia significativa negativa en los mismo tratamientos que el hipocótilo de entre el 20 y 30% con respecto al control. Esto puede deberse a que según Matilla (2008), una semilla seca (5-10% de contenido de agua) tiene un potencial hídrico ( $\Psi$ ) muy negativo, por lo que tiende a embeberse muy rápido, sin embargo, esa absorción de agua rápida, puede provocar alteraciones en las semillas, aunado a esto, dicho autor también menciona que dentro de los procesos metabólicos involucrados para una germinación normal de una semilla, el ácido giberélico, el ácido abscísico, el etileno etc., cumplen funciones importantes, sin embargo el Se puede llegar a inhibir la producción de etileno, lo que desencadenaría una germinación anormal de la semilla, reflejada en algunos de sus órganos. Esto podría explicar la diferencia negativa de las radículas evaluadas.

## Variables morfológicas

### Biomasa fresca de hojas

Las aplicaciones de Se vía imbibición y foliar no modificaron significativamente ( $P > 0.05$ ) el peso fresco de hojas de tomate (Figura 7).

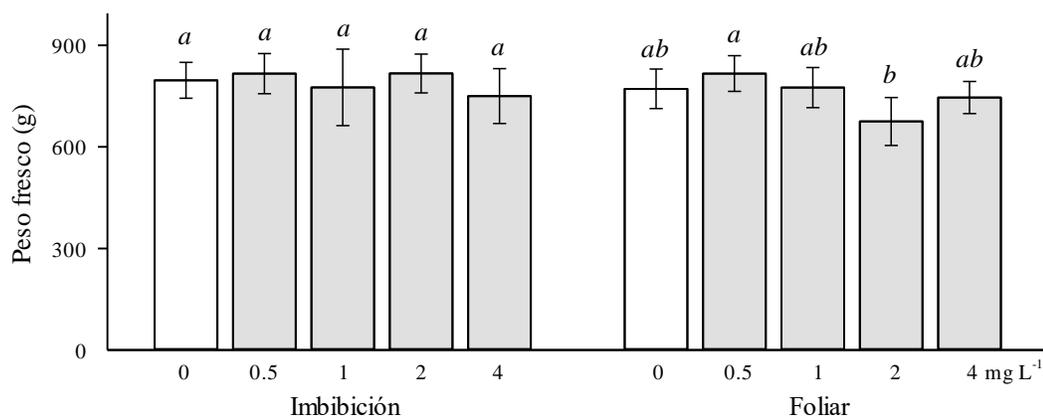


Figura 7. Peso fresco de hojas de tomate biofortificado con Se. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos de la misma vía de aplicación (Tukey,  $P \leq 0.05$ ). Valores promedio  $\pm$  desviación estándar.  $n = 12$ .

### Biomasa seca de hojas

La aplicación de Se vía imbibición no modificó significativamente ( $P > 0.05$ ) el peso seco de hojas de tomate, mientras que la aplicación foliar en  $0.5 \text{ mg L}^{-1}$  incrementó significativamente ( $P \leq 0.05$ ) el peso seco de hojas de tomate en 40% (Figura 8).

### Número de hojas

La aplicación de Se vía imbibición no modificó significativamente ( $P > 0.05$ ) la cantidad de hojas de tomate, mientras que la aplicación foliar en  $2 \text{ mg L}^{-1}$  disminuyó significativamente ( $P \leq 0.05$ ) la cantidad de hojas en 12% (Figura 9).

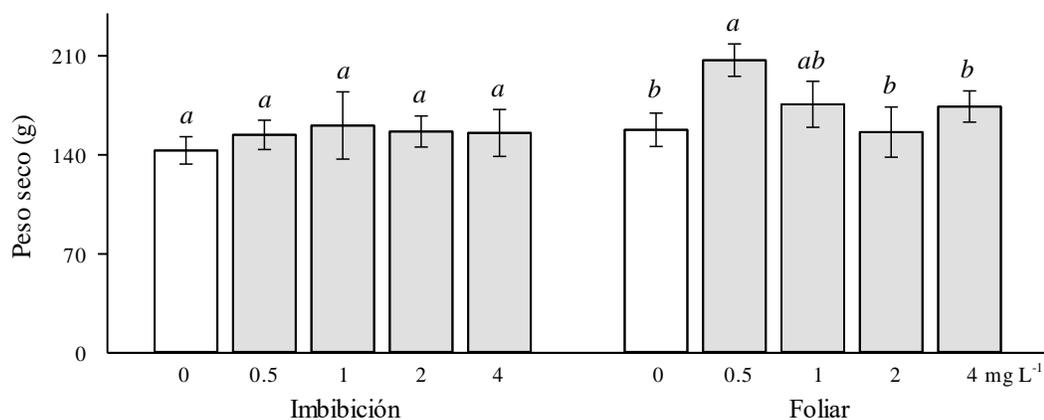


Figura 8. Peso seco de hojas de tomate biofortificado con Se. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos de la misma vía de aplicación (Tukey,  $P \leq 0.05$ ). Valores promedio  $\pm$  desviación estándar.  $n = 12$ .

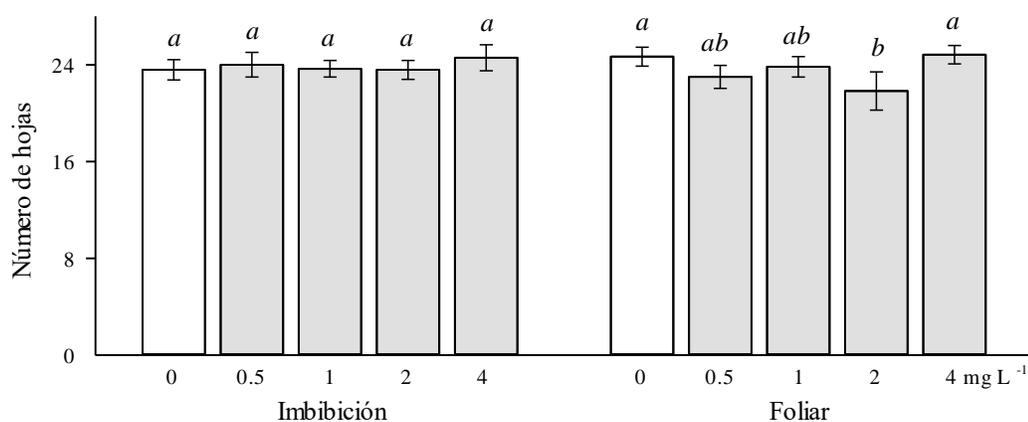


Figura 9. Número de hojas de tomate biofortificado con Se. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos de la misma vía de aplicación (Tukey,  $P \leq 0.05$ ). Valores promedio  $\pm$  desviación estándar.  $n = 12$ .

Riaño Salas (2019), encontró diferencias significativas de biomasa en el cultivo de guisante forrajero en aplicaciones vía foliar de  $10 \text{ g Se ha}^{-1}$  en forma de selenato de sodio ( $\text{Na}_2\text{SeO}_4$ ) diluido en 800 L. No así Hermosillo-Cereceres (2012) que encontró un decremento en la biomasa total de plántulas de frijol, al aplicar una concentración de  $160 \mu\text{M}$  (28 ppm) de  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  en la solución nutritiva, por su parte, Zúñiga (2019), también encontró una disminución del 5.05% de biomasa en pepino en aplicaciones de  $10 \text{ mg L}^{-1}$  de nanopartículas de Se (nSe), adjudicando que el Se como nanopartícula causó un

ligero estrés en la planta, lo cual concuerda con este experimento, donde hubo una disminución del número de hojas con la aplicación foliar de Se de hasta 12% respecto al control con el tratamiento de  $2 \text{ mg L}^{-1}$ .

Por otra parte Morales-Morales (2019) no encontró diferencias significativas en su experimento, donde aplicó dosis diferentes de  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  en plántulas de tomate bajo un sistema hidropónico en 2, 4, 6 y  $8 \text{ mg L}^{-1}$ , atribuyendo dicho resultado, a que el Se al no ser considerado un elemento esencial para los cultivos y al ser aplicado en dosis bajas, no causa efecto benéfico, ni contraproducente. Lo reportado por dicho autor, concuerda con lo encontrado en este experimento para el tratamiento de imbibición, ya que tampoco encontramos diferencias significativas para dicho tratamiento, lo que reforzaría más la idea de que el Se aplicado de manera foliar provoca un estrés en la planta lo que se ve representado en hojas más pequeñas en los foliolos, caso observado durante este experimento.

## Calidad de fruto

### Firmeza

Las aplicaciones de Se vía imbibición y foliar no modificaron significativamente ( $P > 0.05$ ) la firmeza de frutos de tomate (Figura 10).

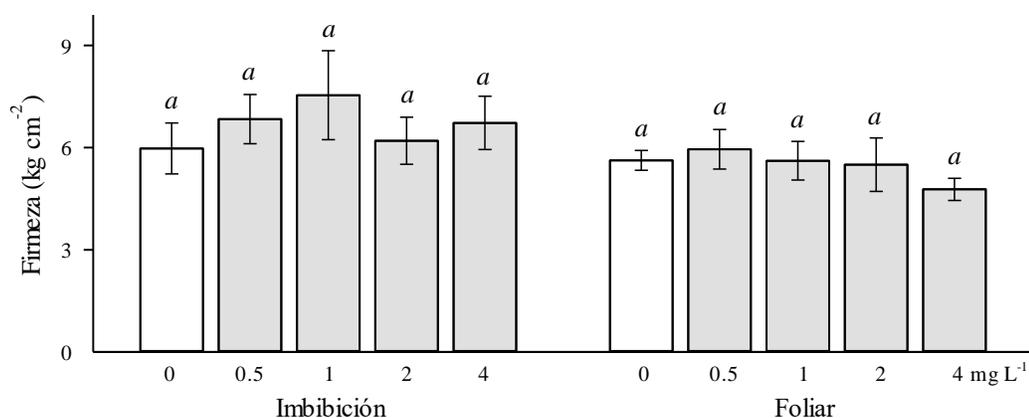


Figura 10. Firmeza de frutos de tomate biofortificado con Se. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos de la misma vía de aplicación (Tukey,  $P \leq 0.05$ ). Valores promedio  $\pm$  desviación estándar.  $n = 4$ .

### Sólidos Solubles Totales (SST)

Las aplicaciones de Se vía imbibición y foliar no modificaron significativamente ( $P > 0.05$ ) la concentración de sólidos solubles totales en los frutos de tomate (Figura 11).

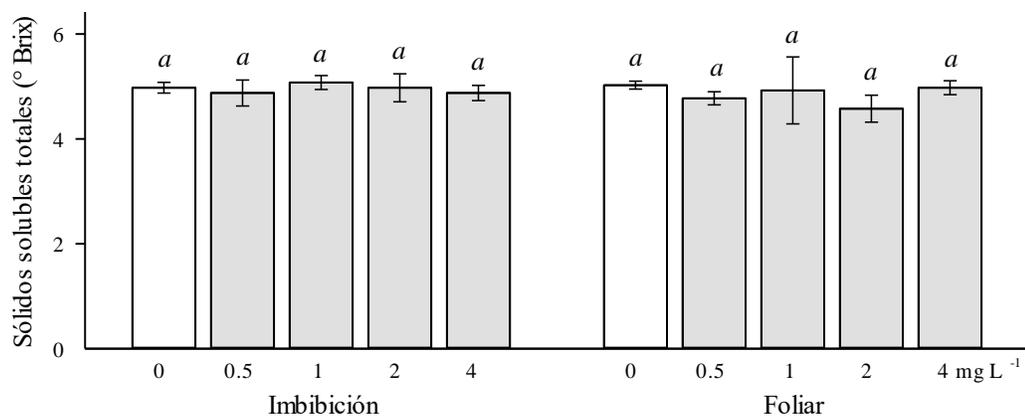


Figura 11. Sólidos solubles totales de frutos de tomate biofortificado con Se. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos de la misma vía de aplicación (Tukey,  $P \leq 0.05$ ). Valores promedio  $\pm$  desviación estándar.  $n = 4$ .

### Vida de anaquel

Las aplicaciones de Se vía imbibición y foliar no modificaron significativamente ( $P > 0.05$ ) la vida de anaquel de los frutos de tomate (Figura 12).

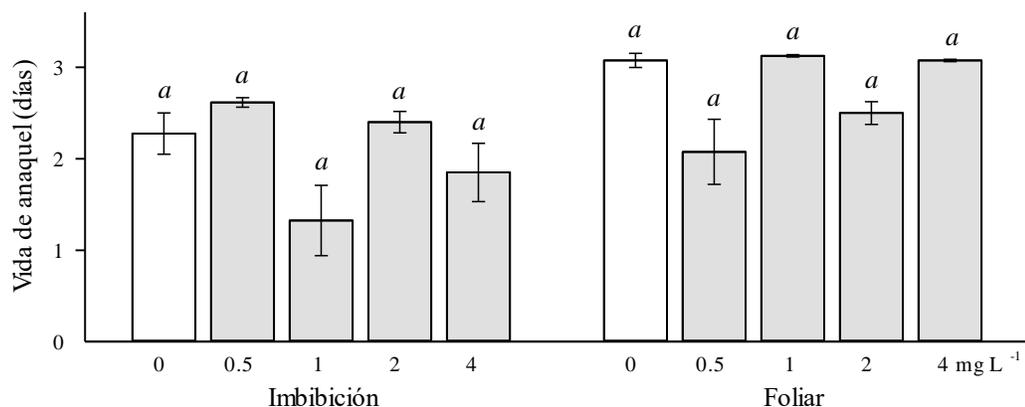


Figura 12. Vida de anaquel de frutos de tomate biofortificado con Se. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos de la misma vía de aplicación (Tukey,  $P \leq 0.05$ ). Valores promedio  $\pm$  desviación estándar.  $n = 4$ .

Aunque no se encontraron diferencias significativas en los parámetros de calidad del fruto, podemos considerar que son frutos de calidad, esto, según Ciruelos Calvo *et al.* (2008), que consideran que para que un tomate pueda ser considerado de calidad, además del buen color, olor, textura etc., la concentración de los sólidos solubles totales (SST) deben oscilar entre 4 y 5 °Brix, mientras que Reina *et al.*, (1998) consideran que a partir de 4 °Brix el tomate debe considerarse un fruto de calidad.

Por su parte, Morales-Morales (2019), tampoco encontró diferencias significativas en la calidad de frutos (firmeza, SST), de tomate, al que aplicó  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  en concentraciones de 2, 4, 6 y 8  $\text{mg L}^{-1}$ , sin embargo, sus resultados fueron mayores comparados con el testigo, de la misma manera que en la presente investigación. Pliego-Zúñiga (2019), encontró diferencia significativa en la firmeza y SST en frutos de pepino, al aplicar NPsSe a una concentración de 1 y 10  $\text{mg L}^{-1}$  respectivamente; encontrando en la dosis alta una disminución en el pH y el potencial oxidación-reducción. Los efectos positivos encontrados por Zúñiga-Pliego (2019), los adjudica a que los cultivos enriquecidos con Se tienen un estado antioxidante mejorado y una biosíntesis reducida de etileno que disminuye drásticamente la senescencia en los frutos; lo cual puede ser corroborado con la vida de anaquel de esta investigación, que aunque tampoco presentó diferencias significativas entre los tratamientos, podemos observar un leve aumento de esta propiedad en los tratamientos foliares, a comparación de los tratamientos embebidos. Cabe mencionar, los frutos de tomate duraron más de 20 días expuestos a temperatura ambiente.

## **Compuestos bioactivos**

### **Antioxidantes no enzimáticos**

#### **Ácido Ascórbico (AsA)**

Las aplicaciones de Se vía imbibición y foliar no modificaron significativamente ( $P > 0.05$ ) la concentración de ácido ascórbico en los frutos de tomate (Figura 13).

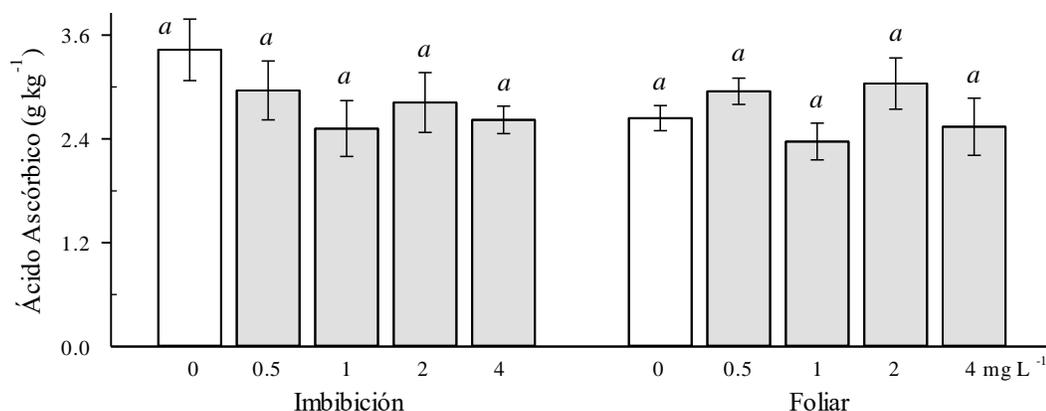


Figura 13. Concentración de ácido ascórbico en frutos de tomate biofortificado con Se. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos de la misma vía de aplicación (Tukey,  $P \leq 0.05$ ). Valores promedio  $\pm$  desviación estándar.  $n = 5$ .

El ácido ascórbico no presentó diferencias significativas en ningún tratamiento, sin embargo en la aplicación foliar, las concentraciones de 0.5 y 2 mg L<sup>-1</sup> aumentaron el ácido ascórbico en 10.5 y 13.1% respecto al tratamiento control, no para Pliego-Zúñiga (2019), que al aplicar NPsSe en concentraciones de 1, 10, y 20 mg L<sup>-1</sup> en pepino, no encontró diferencias significativas de AsA entre sus tratamientos, además, ninguno de éstos tratamientos, superó su contenido de dicho metabolito, con respecto al control; lo cual coincide con Cárdenas-Álvarez (2019), que al aplicar NPsSe a concentraciones de 10 y 50 mg L<sup>-1</sup> en el cultivo de chile pimiento morrón, sometido a estrés salino (NaCl) a 25 y 50 mM, tampoco encontró diferencias significativas, aunado a esto, la aplicación de Se por NPs disminuyó el contenido de vitamina C respecto al tratamiento testigo.

Por otra parte, De los Santos-Vásquez (2014) encontró diferencias significativas en el contenido de vitamina C en plántulas de tomate, lechuga y melón, al aplicar 0.1 y 1 mg L<sup>-1</sup> de Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> por imbibición de las semillas, encontrando resultados positivos en el contenido de dicho metabolito en los tres cultivos, además De los Santos-Vásquez (2014) reportó también efectos positivos en el contenido de ácido ascórbico en plántulas de tomate y melón, al aplicar Se en el riego y vía foliar en concentraciones de 2 y 5 mg L<sup>-1</sup> respectivamente, no así para las plantas de lechuga, dónde sólo encontró efectos positivos al aplicar Se vía riego.

En las investigaciones citadas anticipadamente, se puede observar que el uso de nano partículas de Se (nSe) reduce el contenido de vitamina C, no así cuando se utiliza Se

iónico en imbibición, riego y vía foliar, lo cual puede indicar que es recomendable aplicar Se en forma iónica para aumentar el contenido del ácido ascórbico en frutos de tomate.

El consejo de salud de Madrid España, menciona que la vitamina C en el tomate, oscila en los  $26 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$  (Cámara-Hurtado *et al.*, 2008). Aunque los tratamientos no presentaron diferencias significativas, los datos obtenidos establecen que las concentraciones están dentro del margen óptimo de la ingesta que debe oscilar entre los 40 y  $120 \text{ mg día}^{-1}$  (NIH, 2019).

### Licopeno

Las aplicaciones de Se vía imbibición y foliar no modificaron significativamente ( $P > 0.05$ ) la concentración de licopeno en los frutos de tomate (Figura 14).

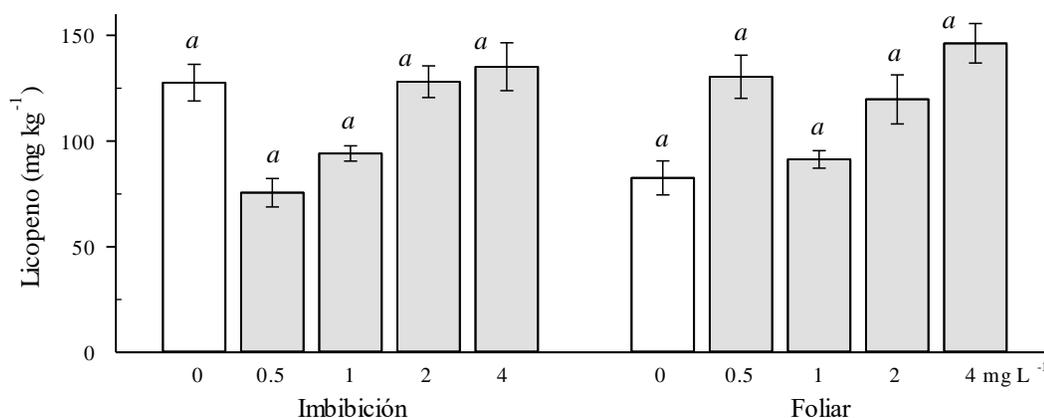


Figura 14. Concentración de licopeno en frutos de tomate biofortificado con Se. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos de la misma vía de aplicación (Tukey,  $P \leq 0.05$ ). Valores promedio  $\pm$  desviación estándar.  $n = 5$ .

Según Cámara-Hurtado *et al.*, (2008), el licopeno es el carotenoide más abundante en tomates y es el responsable del color rojo del fruto, además, dicho carotenoide ha demostrado efectos benéficos en la salud humana, en las que destaca la prevención de cáncer, por lo que debe considerarse al tomate, un alimento importante para la base de la dieta humana. La cantidad de licopeno presente en frutas y verduras varía en función de la temporada, la etapa de madurez, variedad, así como en los efectos climáticos, hasta en el manejo de postcosecha que lleven los frutos.

Las concentraciones de licopeno en variedades comunes de tomate, oscilan entre 3 y 12.2 mg 100 g<sup>-1</sup>, lo cual difiere con los resultados expresados en la presente investigación, porque, aunque no existieron diferencias significativas entre los tratamientos, todos los resultados sobrepasan los límites mencionados.

Morales-Morales (2019) encontró que al biofortificar tomate con Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> en concentraciones de 2, 4, 6 y 8 mg L<sup>-1</sup>, mediante un sistema hidropónico, existieron diferencias positivas en el contenido de licopeno, ya que conforme se aumentaba la concentración de Se en sus tratamientos, también se aumentó la concentración del carotenoide en los frutos. Castillo-Godina (2015) y Foroughbakhch *et al.*, (2018) al aplicar 5 mg L<sup>-1</sup> de Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>, encontraron efectos positivos para la síntesis de licopeno en frutos de tomate. No así para Acalco-Hernández (2018), que al aplicar Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> en tomate Cherry, las concentraciones de licopeno fueron inferiores con respecto al control.

### Proteínas Totales

Las aplicaciones de Se no modificaron significativamente ( $P > 0.05$ ) la concentración de proteínas totales en los frutos de tomate, excepto el tratamiento de 0.5 mg L<sup>-1</sup> vía foliar incrementó significativamente ( $P \leq 0.05$ ) la concentración de proteínas totales en los frutos de tomate (Figura 15).

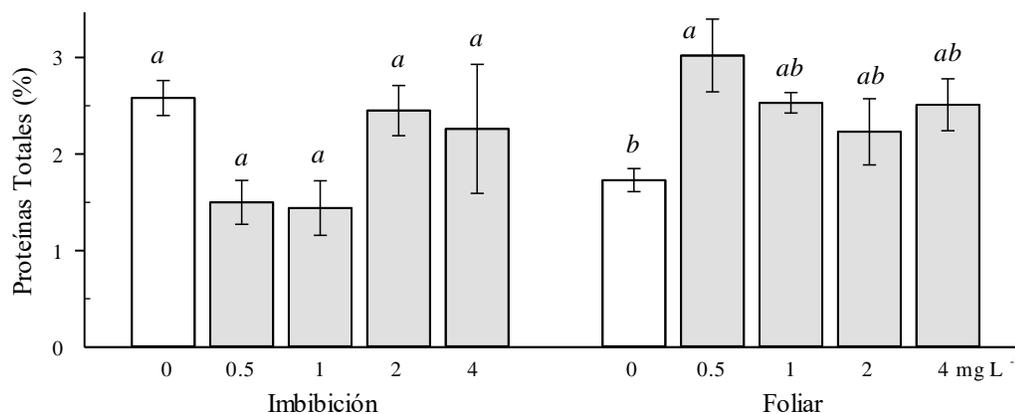


Figura 15. Concentración de proteínas totales en frutos de tomate biofortificado con Se. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos de la misma vía de aplicación (Tukey,  $P \leq 0.05$ ). Valores promedio  $\pm$  desviación estándar.  $n = 5$ .

Castillo-Godina (2015) y Foroughbakhch *et al.* (2018), al aplicar los tratamientos de 2 y 5 mg L<sup>-1</sup> de Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> en frutos de tomate, no encontraron diferencias significativas de

proteínas totales, con respecto al control. Acalco-Hernández (2018) tampoco encontró diferencias significativas en las proteínas totales en frutos de tomate Cherry al aplicar selenito de Sodio en concentraciones de 2 y 5 mg L<sup>-1</sup> vía riego. Sin embargo, en la presente investigación, podemos observar que la aplicación de Se vía foliar aumentó el contenido de proteínas totales en los frutos de tomate, y aunque solamente la dosis de 0.5 mg L<sup>-1</sup> infirió en un incremento significativo, las aplicaciones de 1, 2 y 4 mg L<sup>-1</sup> también aumentaron el contenido de proteínas totales en 31.8, 22.7 y 31.2% respectivamente, en comparación del tratamiento control.

### Capacidad Antioxidante

Las aplicaciones de Se vía imbibición y foliar no modificaron significativamente ( $P > 0.05$ ) la concentración de la capacidad antioxidante en los frutos de tomate (Figura 16).

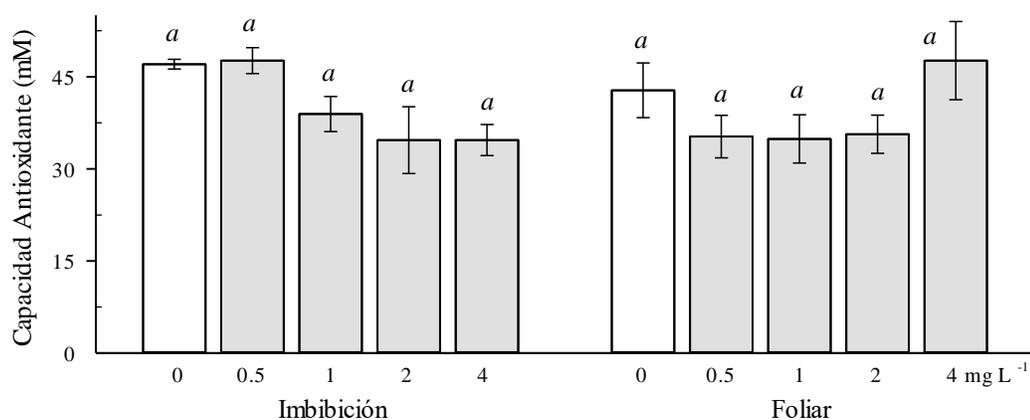


Figura 16. Concentración de la capacidad antioxidante en frutos de tomate biofortificado con Se. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos en cada vía de aplicación (Tukey,  $P \leq 0.05$ ). Valores promedio  $\pm$  desviación estándar.  $n = 5$ .

Morales-Morales (2019) biofortificó tomate cultivado en hidroponía con Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> en concentraciones de 2, 4, 6 y 8 mg L<sup>-1</sup>, y encontró diferencias significativas respecto al tratamiento control, recalando que, a mayor concentración de Se en el cultivo, mayor será la expresión de su capacidad antioxidante, siendo así, la concentración de 8 mg L<sup>-1</sup>, el tratamiento con un mayor efecto benéfico; lo cual concuerda con la presente investigación, donde la aplicación de Se vía foliar en el tratamiento más alto (4 mg L<sup>-1</sup>), la expresión de la capacidad antioxidante se elevó con respecto al tratamiento control,

sin embargo, el resultado no fue significativo. Contrario a esto, Becvort-Azcurra *et al.*, (2012), al aplicar vía riego distintas concentraciones de Selenio (10 y 20 mg L<sup>-1</sup>), encontraron una disminución en la capacidad antioxidante total en los frutos de tomate; lo cual es similar a los resultados obtenidos en esta investigación con el tratamiento de imbibición, dónde se observa una clara disminución la capacidad antioxidante conforme la dosis va aumentando. Sin embargo, aunque los resultados de la capacidad antioxidante total, o estado antioxidante total de un fruto, no permiten saber si los efectos observados mediante la aplicación de Se, se puede otorgar en gran medida a las enzimas o algún otro metabolito, podemos observar que la aplicación foliar favoreció la expresión de este metabolito, lo cual puede suponer un ligero estrés en la planta por la aplicación de Se vía foliar.

### Fenoles Totales

Las aplicaciones de Se vía imbibición y foliar no modificaron significativamente ( $P > 0.05$ ) la concentración de fenoles totales en los frutos de tomate (Figura 17).

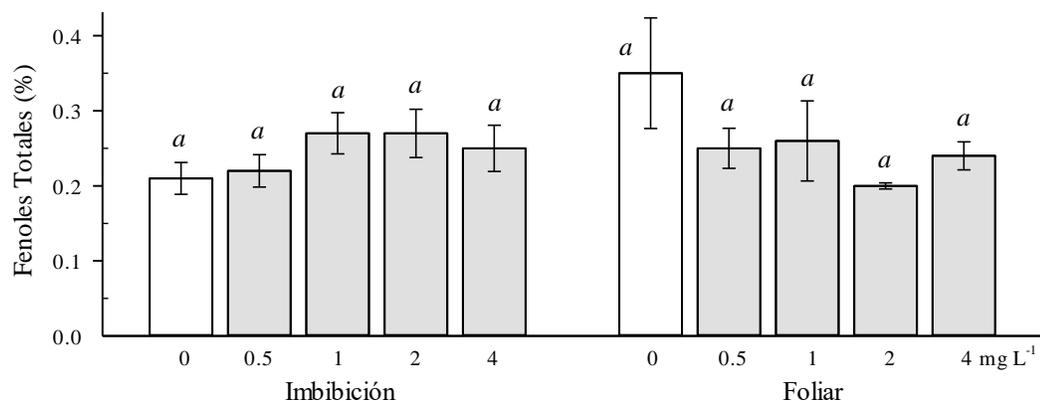


Figura 17. Concentración de fenoles totales en frutos de tomate biofortificado con Se. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos de la misma vía de aplicación (Tukey,  $P \leq 0.05$ ). Valores promedio  $\pm$  desviación estándar.  $n = 5$ .

Si bien no se encontraron diferencias significativas en la acumulación de compuestos fenólicos en respuesta a la biofortificación con Se, estos incrementaron en 22.4, 20.9 y 16.6% en la aplicación por imbibición en la semilla de 1, 2 y 4 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente. Acalco-Hernández (2018) encontró un aumento en los compuestos fenólicos en frutos de tomate al aplicar Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> vía riego. Los incrementos de fenoles mencionados en las

aplicaciones de Se vía imbibición y vía riego, posiblemente están relacionados debido a que en las dos formas de biofortificación el mineral tiene contacto con la raíz en las primeras etapas de la formación y desarrollo del sistema radicular de la planta.

Por otra parte la aplicación foliar afectó negativamente la concentración de los compuestos fenólicos en los frutos de tomate en 42.8, 35.3, 80.3 y 50.7% en las cuatro dosis utilizadas, respectivamente; lo cual contradice a lo reportado por Sariñana-Navarrete (2020), que al biofortificar con Se un cultivo de Vid, encontró que la aplicación del mineral, afectó de manera positiva a los frutos de la uva, mostrando un aumento acreciente, conforme la concentración aumentaba; es decir, entre más subía la concentración de Se aplicado en el cultivo, los frutos de uva también expresaban una mayor concentración de fenoles. A decir, las aplicaciones fueron foliares en concentraciones de 0.25, 0.5, 0.75, 1 y 1.25 mg L<sup>-1</sup>. Morales-Morales (2019), también obtuvo resultados positivos al biofortificar un cultivo de tomate con Se también encontró una expresión favorable de los compuestos fenólicos respecto a su investigación.

La disminución de los Fenoles totales con la aplicación foliar en este trabajo puede deberse a que según Abeysinghe *et al.* (2007), los fenoles en los frutos, destacan por poseer una cierta actividad antioxidante, sin embargo, la capacidad antioxidante no está dada solamente por la suma de esos compuestos fitoquímicos (fenoles) presentes en el fruto, sino más bien a la interacción que tengan entre ellos, ya que puede producir efectos sinérgicos, pero no así cuando el cultivo se encuentra en una situación de estrés, donde los fenoles se vean inhibidos o expresados de manera negativa.

### **Glutación Reducido (GSH)**

La aplicación foliar de Se incrementó la acumulación de glutación reducido en los frutos de tomate, principalmente en las dosis más altas (2 y 4 mg L<sup>-1</sup>). La aplicación de Se vía imbibición no modificó significativamente ( $P > 0.05$ ) la concentración de glutación reducido en los frutos de tomate (Figura 18).

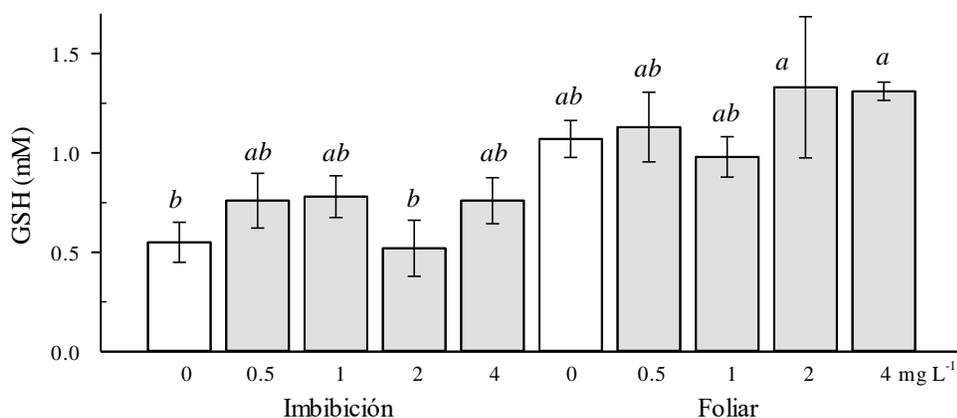


Figura 18. Concentración de glutatión reducido en frutos de tomate biofortificado con Se. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos de la misma vía de aplicación (Tukey,  $P \leq 0.05$ ). Valores promedio  $\pm$  desviación estándar.  $n = 5$ .

De manera general, la aplicación foliar de Se incrementó la acumulación de glutatión reducido en los frutos de tomate, en comparación a la aplicación de Se vía imbibición. Aunque el tratamiento foliar haya superado al tratamiento de imbibición, las diferencias estadísticas recaen en los tratamientos de 2 y 4 mg L<sup>-1</sup>, los cuales incrementaron el glutatión reducido en 97.4 y 95.8% respecto a la misma dosis aplicada pero vía imbibición, y en 20 y 18.3% respecto al tratamiento control foliar; situación contraria a la de Acalco-Hernández (2018), donde al aplicar Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> en 5 mg L<sup>-1</sup> en el riego, la expresión de GSH se vio afectada de manera negativa, ya que la concentración de glutatión reducido fue inferior a la encontrada en los frutos del tratamiento control. Hermosillo-Cereceres (2012) obtuvo un aumento de GSH en frijol cuando aplicó 20  $\mu$ M de Se vía riego. Otra situación similar a la de Acalco-Hernández (2018), es la reportada por Pliego-Zúñiga (2019), quien encontró que la aplicación de 1 mg L<sup>-1</sup> de Se en nanopartícula restringió la expresión de GSH hasta en un 26.53% en frutos de pepino.

### Antioxidantes enzimáticos

#### **Catalasa (CAT)**

Las aplicaciones de Se vía imbibición y foliar no modificaron significativamente ( $P > 0.05$ ) la concentración de catalasa en los frutos de tomate (Figura 19).

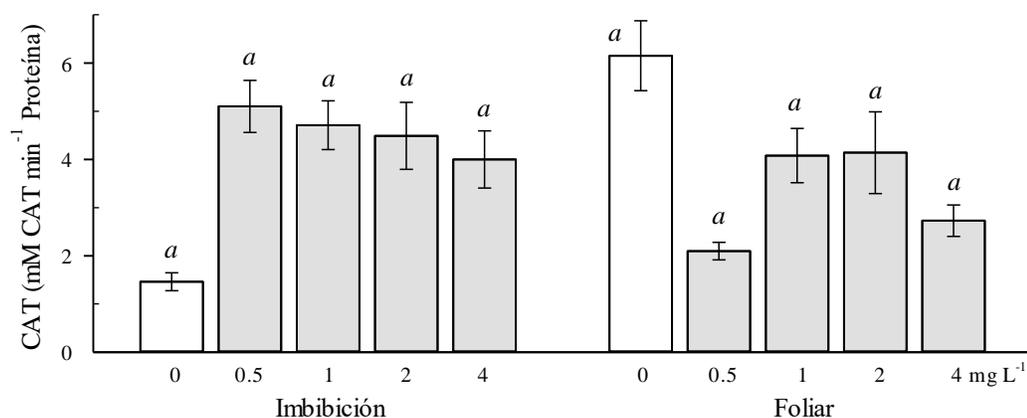


Figura 19. Concentración de catalasa en frutos de tomate biofortificado con Se. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos de la misma vía de aplicación (Tukey,  $P \leq 0.05$ ). Valores promedio  $\pm$  desviación estándar.  $n = 5$ .

Aunque no se encontraron diferencias significativas, en la actividad catalítica del presente estudio en ninguno de sus tratamientos, podemos observar que la aplicación de Se aumentó dicha actividad enzimática hasta en un 71.3% cuando se aplica vía imbibición, no así, cuando se aplica vía foliar, donde vemos una disminución mayor del 100 % de la actividad catalasa; lo cual difiere con Castillo-Godina (2015) y Foroughbakhch *et al.* (2018), quienes reportaron un aumento significativo en la expresión catalítica en frutos de tomate, en una concentración de 5 mg L<sup>-1</sup>.

En otro estudio Hermsillo-Cereceres (2012), encontró un aumento en la enzima catalasa en frijol, cuando biofortificó con Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>, a una concentración de 160  $\mu$ M; lo cual concuerda con los resultados de Hernández (2018), quien reportó un aumento en la actividad catalítica en tomate Cherry de hasta un 236.8% con respecto al testigo, al aplicar selenito de sodio en una concentración de 5 mg L<sup>-1</sup> vía riego; sin embargo, según Hermsillo-Cereceres (2012), aunque el Se aumente la actividad catalítica, puede llegar a ser una enzima no eficiente en la detoxificación de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, cuando se aplica vía riego.

Es conocida la afinidad que tiene la enzima Catalasa por el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, sin embargo, según (Foroughbakhch *et al.*, 2018), dicha enzima logra expresarse de mejor manera cuando existe una gran cantidad de peróxido en algún órgano específico, ya que de otra manera, en poca presencia de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, algún otro metabolito como el GSH reducirá al H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, para transformarlo a agua y oxígeno. Dicha afirmación, también puede ser una posible

explicación a la baja presencia de catalasa pero una mayor del GSH, lo cual supondría a su vez poca presencia de  $H_2O_2$ .

### Ascorbato Peroxidasa (APX)

Las aplicaciones de Se vía imbibición y foliar no modificaron significativamente ( $P > 0.05$ ) la concentración de ascorbato peroxidasa en los frutos de tomate (Figura 20).

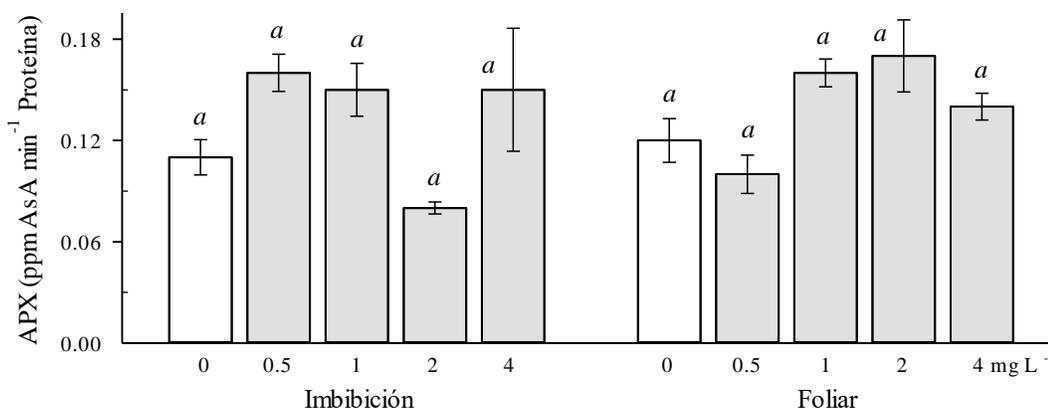


Figura 20. Concentración de ascorbato peroxidasa en frutos de tomate biofortificado con Se. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos de la misma vía de aplicación (Tukey,  $P \leq 0.05$ ). Valores promedio  $\pm$  desviación estándar.  $n = 5$ .

Pliego-Zúñiga (2019), encontró efectos positivos al agregar nSe, reportando un aumento en la actividad APX de hasta un 152.37% en los frutos de pepino, sometidos a un estrés salino, cuando agregó una concentración de  $50 \text{ mg L}^{-1}$ ; si bien en la presente investigación no se reportan diferencias significativas, es evidente el incremento de la actividad enzimática APX en las aplicaciones de Se iónico vía imbibición y vía foliar con el tratamiento de  $1 \text{ mg L}^{-1}$  en 27.3 y 24.5%, respectivamente, y en el tratamiento de  $4 \text{ mg L}^{-1}$  en 31.1 y 9.4%, respectivamente. A pesar de la no diferencia significativa, se puede observar que la aplicación de Se en  $0.5 \text{ mg L}^{-1}$  presenta un mejor desempeño en la vía imbibición, mientras que la dosis de  $2 \text{ mg L}^{-1}$  funciona mejor en la vía foliar.

### Glutación Peroxidasa (GPX)

La aplicación de Se no modificó significativamente ( $P > 0.05$ ) la concentración de glutación peroxidasa en los frutos de tomate, excepto el tratamiento de  $2 \text{ mg L}^{-1}$  vía

foliar donde disminuyó significativamente ( $P \leq 0.05$ ) la concentración de glutatión peroxidasa en los frutos de tomate (Figura 21).

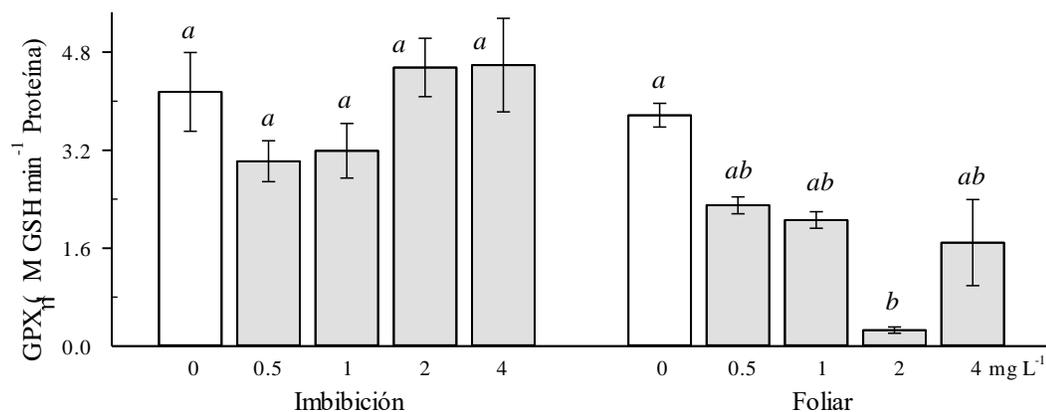


Figura 21. Concentración de glutatión peroxidasa en frutos de tomate biofortificado con Se. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos de la misma vía de aplicación (Tukey,  $P \leq 0.05$ ). Valores promedio  $\pm$  desviación estándar.  $n = 5$ .

Hermosillo-Cereceres (2012) comparó la actividad enzimática de la GPx en concentraciones y fórmulas diferentes de Se. Aplicó Se en forma de selenito y selenato en un cultivo de frijol, encontrando una mayor actividad de dicha enzima en la aplicación de 10  $\mu$ M de selenato, mientras que el selenito disminuyó dicha actividad catalítica al aumentar las dosis de aplicación; lo cual, concuerda con el resultado expuesto en el presente trabajo, puesto que vemos una diferencia significativa cuando el selenio fue aplicado en forma foliar, pues a medida que subía la dosis se ve también una disminución de la actividad enzimática de GPx en los frutos de tomate, sobre todo en la concentración de 2 mg L<sup>-1</sup>, que además, se considera que está estrechamente relacionado con la baja biomasa total obtenida, a decir, la aplicación foliar en este tratamiento disminuyó el número y el peso fresco y seco de hojas. La disminución de la actividad catalítica de GPx puede verse reflejada en algunas variantes morfológicas del cultivo, puede deberse a que el Se en concentraciones altas en las plantas puede provocar toxicidad para los cultivos, debido a que genera radicales superóxido (Hermosillo-Cereceres (2012), dicha toxicidad puede ser una posible explicación al aumento en la síntesis de GSH en la planta, como mecanismo de defensa (figura 18), donde

encontramos un aumento en la síntesis de este metabolito cuando se aplicaron  $2 \text{ mg L}^{-1}$  de Se vía foliar.

Acalco-Hernández (2018), contrario del párrafo anterior, al aplicar  $5 \text{ mg L}^{-1}$  de  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  no encontró diferencias significativas entre sus tratamientos y el control, sin embargo, si vemos una leve disminución en la actividad enzimática, debido posiblemente a la concentración aplicada, contrario a lo reportado por Castillo-Godina (2015) y Foroughbakhch *et al.* (2018), quienes al aplicar la misma concentración  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  obtuvieron una diferencia significativa en los frutos de tomate, sin embargo, también obtuvieron una reducción de la misma enzima en tallos y hojas.

### Superóxido Dismutasa (SOD)

La aplicación de Se vía imbibición a  $0.5 \text{ mg L}^{-1}$  incrementó significativamente ( $P \leq 0.05$ ) la concentración de superóxido dismutasa en los frutos de tomate, mientras que las aplicaciones foliares a  $0.5$ ,  $1$  y  $4 \text{ mg L}^{-1}$  disminuyeron significativamente ( $P \leq 0.05$ ) la concentración de superóxido dismutasa en los frutos de tomate (Figura 22).

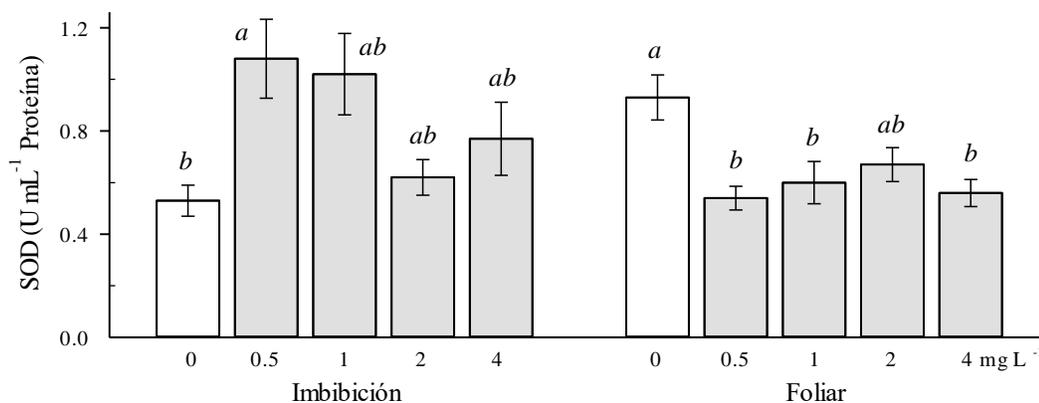


Figura 22. Concentración de superóxido dismutasa en frutos de tomate biofortificado con Se. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos en cada vía de aplicación (Tukey,  $P \leq 0.05$ ). Valores promedio  $\pm$  desviación estándar.  $n = 5$ .

Castillo-Godina (2015) y Foroughbakhch *et al.* (2018) al aplicar concentraciones de  $2$  y  $5 \text{ mg L}^{-1}$  de  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  no encontraron diferencias significativas en hojas y tallos, pero sí encontraron una mayor actividad enzimática SOD en los frutos. Hermsillo-Cereceres (2012), también reporta un aumento de hasta 100% de la actividad SOD cuando aplicó  $160 \mu\text{M}$  de  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  en frijol. Dichas investigaciones concuerdan con los valores

encontrados para esta enzima en el presente trabajo, ya que vemos diferencias significativas importantes en la síntesis de esta enzima, que aumentó su actividad hasta en un 51% con  $0.5 \text{ mg L}^{-1}$  de  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  aplicado por imbibición, sin embargo, la aplicación de Se vía foliar disminuyó la actividad SOD entre el 38.5 y 72.3%, respecto al tratamiento control en las dos formas de aplicación.

La alta presencia en SOD en el tratamiento de imbibición, puede representar un alto estrés en la planta por radicales superóxido, ya que según (Cuadra-Crespo y del Amor, 2010), es la enzima principal encargada de destruir dicho radical y convertirlo en peróxido y agua. En este contexto, el tratamiento de  $0.5 \text{ mg L}^{-1}$  representa el tratamiento más eficaz en la síntesis de la SOD. Por otra parte, la disminución de SOD en el tratamiento Foliar, puede ser un indicador de baja presencia del radical superóxido, es decir, bajo estrés.

## CONCLUSIONES

Al embeber semillas de tomate en Se durante 24 h, se observó que las semillas alcanzaron el 95% de su masa total a las 12 h de inmersión, por lo que un tiempo de imbibición de 12 h se puede considerar apropiado para los cuatro tratamientos utilizados (0.5, 1, 2 y 4 mg L<sup>-1</sup>). Además, la imbibición de las semillas con Se puede representar una alternativa para la germinación prematura de tomate, ya que las semillas germinaron en un 90% entre los 4 y 6 días después de la siembra, mientras que en siembra directa sin aplicar estimulante alguno, la germinación en su mayoría ocurre entre los 8 y 12 días. Sin embargo, sólo con los tratamientos de 0.5 y 2 mg L<sup>-1</sup> se obtuvo un mejor desarrollo de la radícula y del hipocótilo.

En la biomasa seca de hojas, el tratamiento foliar de 0.5 mg L<sup>-1</sup>, registró el mayor peso a comparación de los demás tratamientos evaluados. En el número de hojas, el tratamiento foliar de 2 mg L<sup>-1</sup>, resultó ser contraproducente, ya que la biomasa seca de hojas disminuyó. Quizás, en esta concentración el Se pueda estresar a la planta.

Aun cuando la aplicación de Se no modificó significativamente la calidad de fruto, a decir, la firmeza, SST, y vida de anaquel, los resultados obtenidos están dentro de los rangos óptimos considerados como esenciales para que los frutos de tomate se califiquen de calidad.

La biofortificación de Se por imbibición y vía foliar no modificaron significativamente la síntesis de Ácido ascórbico, el Licopeno, la Capacidad Antioxidante ni el contenido de Fenoles. Además, la dos vías de aplicación de Se tampoco modificaron significativamente la actividad enzimática de la Catalasa y la Ascorbato Peroxidasa, Sin embargo, la aplicación foliar de Se a la concentración de 0.5 mg L<sup>-1</sup>, modificó significativamente la síntesis de Proteínas totales en un 40%, no así en el tratamiento de imbibición; además la vía foliar también modificó positivamente la síntesis de GSH, en los tratamientos de 2 y 4 mg L<sup>-1</sup> encontrando un aumento del 97.4 y 95.5% respectivamente respecto al control, no así en la aplicación de Se mediante la imbibición.

Por otra parte, se encontró una reducción significativa de la actividad catalítica de la enzima GPx mediante el tratamiento foliar de 2 mg L<sup>-1</sup>, no así para el tratamiento de

imbibición; por último, la SOD incrementó de manera significativa su actividad con el tratamiento de imbibición de  $0.5 \text{ mg L}^{-1}$  en un 51% con respecto a su control, caso contrario a cuando se le aplicó el Se por aspersión foliar, ya que encontramos una reducción significativa de dicha actividad catalítica cuando se aplicaron las dosis de 0.5, 1 y  $4 \text{ mg L}^{-1}$ , de entre el 38.5 y el 72.3%

Si bien, aunque en muchos de los resultados expuestos en la presente investigación no fueron tan alentadores y aunque no existieron diferencias significativas importantes en la mayoría, la aplicación de Selenio, indujo en ciertos metabolitos, un aumento en su concentración en los frutos de tomate, lo que representa un aumento también en el consumo de ellos, importante para la salud humana y/o animal.

## LITERATURA CITADA

- Abeyasinghe D., Li X., Sun C., Zhang W., Zhou C., Chen K. 2007. Bioactive compounds and antioxidant capacities in different edible tissues of citrus fruit of four species. *Food Chemistry* 104, 1338-1344.
- Acalco-Hernández R. 2018. Calidad nutraceútica y productividad de tomate Cherry tratado con Selenio iónico y absorbido en complejos de quitosán poliácido acrílico. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo Coahuila México. pp 48.
- Aguilera Bibián J. E., Cruz Jiménez G., Salazar Reséndiz M. 2010. Evaluación del efecto del Selenio en el crecimiento de *Prosopis glandulosa*. 1(3): 1-4.
- Alarcón Zayas A. 2013. Calidad poscosecha del tomate (*Solanum lycopersicum* L.) cultivado en sistemas ecológicos de fertilización. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Madrid. pp 201.
- ATSDR. 2020. Resúmenes de Salud Pública - Selenio. Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades de los Estados Unidos de América. [https://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es\\_phs92.html](https://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_phs92.html)
- Balaguera-López H. E., Deaquiz Y. A., Álvarez-Herrera J. G. 2009. Plántulas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) provenientes de semillas embebidas en diferentes soluciones de giberelinas (GA<sub>3</sub>). *Agronomía Colombiana* 27, 57-64.
- Bañuelos, G., LeDuc, D. L., Pilon-Smits, E. A. H., Terry N. 2007. Transgenic Indian mustard overexpressing selenocysteine lyase or selenocysteine methyltransferase exhibit enhanced potential for selenium phytoremediation under field conditions. *Environmental Science & Technology* 41, 599-605.
- Barceloux D. G. 1999. Selenium. *Journal of Toxicology-Clinical Toxicology* 37, 145-72.
- Barraza F., Benavides O., Torres F. 2016. Calidad fisiológica y energía de germinación de semillas de balsamina (*Momordica charantia* L.). *Revista de Ciencias Agrícolas* 33, 43-52.
- Barrientos Ramírez L., Arvizu M., Salcedo Pérez E., Villanueva Rodríguez S., Vargas Radillo J. J., Barradas Reyes B., Ruiz López M. Contenido de polifenoles y capacidad antioxidante de *Physalis chenopodifolia* Lam. Silvestre y cultivo. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales* 10, 182-00
- Becvort-Azurra A., Fuentes-Lara L., Benavides-Mendoza A., Ramírez H., Robledo-Torres V., Rodríguez M. 2012. Application of selenium in tomato: effects on plant growth, productivity and fruit antioxidant status. *Terra Latinoamericana* 30, 291-301.

- Borghese C., Stoffel M. M. 2017. Efecto de la biofortificación con selenio sobre la senescencia poscosecha y parámetros nutricionales de brócoli. En: XXI Encuentro de Jóvenes Investigadores de la Universidad Nacional del Litoral. Argentina. pp 4.
- Bradford M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72, 248-254.
- Cámara Hurtado M., Sánchez Mata M. C., Torija Isasa M. E. 2008. Frutas y verduras, fuentes de salud. En: Nutrición y salud. Grupo Elba. España. pp 84.
- Cansev A., Gulen H., Eris, A. 2011. The activities of catalase and ascorbate peroxidase in olive (*Olea europaea* L. Cv. Gemlik) under low temperature stress. *Horticulture, Environment and Biotechnology* 52, 113-120.
- Capone F., Polo A., Sorice A., Budillon A., Costantini S. 2020. Integrated analysis to study the relationship between tumor-associated selenoproteins: focus on prostate cancer. *International Journal of Molecular Sciences* 21, 18.
- Cárdenas Álvarez C. 2019. Aplicación de nanopartículas de Selenio, Silicio y Cobre para inducir tolerancias a estrés salino en el cultivo de pimiento. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo Coahuila, México. 76.
- Casierra-Posada F., Aguilar-Avenidaño Ó. 2008. Calidad en frutos de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) cosechados en diferentes estados de madurez. *Agronomía Colombiana* 26, 300-307.
- Castillo Godina R. G. 2015. Expresión génica diferencial y antioxidantes en la planta de tomate (*Solanum lycopersicon* L. Mill) enriquecida con Selenio. Tesis de doctorado, Universidad Autónoma de Nuevo León. pp 153.
- Ciruelos Calvo A., De la Torre Carreras R., González Ramos C. 2008. Parámetros de calidad en el tomate para industria. En: La agricultura y la ganadería extremeñas en 2007. Edelibros, s.l.u. España. pp 157-169.
- Contreras S., Rabara R., Bennett M., Tay D., McDonald M. 2008. Acquisition of germination capacity, photosensitivity, and desiccation tolerance in lettuce seeds. *Seed Science and Technology* 36, 667-678.
- Cruz Bojórquez R. M., González Gallego J., Sánchez Collado P. 2013. Propiedades funcionales y beneficios para la salud del licopeno. *Nutrición Hospitalaria* 28, 6-15
- Cuadra-Crespo P., del Amor F. M. 2010. Effects of postharvest treatments on fruit quality of sweet pepper at low temperature. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 90, 2716-2722.

- Das D., Sen K. 2020. Effect of organo-selenium anticancer drugs on nitrite induced methemoglobinemia: A spectroscopic study. *Spectrochimica Acta. Part A, Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 245, 118946.
- De los Santos-Vázquez M. E. 2014. Aplicación de Selenio en semillas y plántulas de hortalizas para modificar el potencial redox. Tesis de maestría. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo Coahuila, México. pp 39.
- Do Nascimento-Da Silva E., Cidade M., Heerdt G., Ribessi R. L., Morgon N. H., Cadore S. 2018. Effect of selenite and selenate application on mineral composition of lettuce plants cultivated under hydroponic conditions: nutritional balance overview using a multifaceted study. *Journal of the Brazilian Chemical Society* 29, 371-379.
- Estay-Ubilla D. A. 2013. Caracterización de la actividad enzimática de ascorbato peroxidasa y cuantificación del contenido de ascorbato en hojas de *Aloe barbadensis* Miller sometidas a estrés hídrico, térmico y combinado. Tesis Magister. Universidad de Chile.
- FAOSTAT. 2020. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. <http://www.fao.org/faostat/en/#data> (Consulta Junio, 2020).
- Flohé L., Günzler W. A. 1984. Assays of glutathione peroxidase. *Methods in Enzymology* 105, 114-121.
- Foroughbakhch R., Castillo Godina R. G., Benavides Mendoza A., Villarreal Garza J. A. 2018. Expresión génica diferencial y antioxidantes en la planta de tomate (*Solanum lycopersicon* L. Mill) enriquecida con Selenio. En: Avances de la Ciencia en México 2018. Centro de Investigaciones en Óptica. pp 1-10.
- Franco R., Cidlowski J. 2009. Apoptosis and glutathione: beyond an antioxidant. *Cell Death Differentiation* 16, 1303-1314.
- Gandin V., Khalkar P., Braude J., Fernandes A. P. 2018. Organic selenium compounds as potential chemotherapeutic agents for improved cancer treatment. *Free Radical Biology and Medicine* 127, 80-97.
- García-Márquez V., Morelos-Moreno, Á., Benavides-Mendoza, A., Medrano Macías J. 2020. Ionic selenium and nanoselenium as biofortifiers and stimulators of plant metabolism. *Agronomy* 10, 1399.
- Garduño-Zepeda A., Márquez-Quiroz C. 2018. Aplicación de selenio en cultivos agrícolas. *Información Técnica Económica Agraria* 114, 327-343.
- Gharbavi M., Johari B., Mousazadeh N., Rahimi B., Leilan M. P., Eslami S. S., Sharafi A. 2020. Hybrid of niosomes and bio-synthesized selenium nanoparticles as a novel approach in drug delivery for cancer treatment. *Molecular Biology Reports*. August

- González-Morales S., Pérez-Labrada F., García-Enciso E. L., Leija-Martínez P., Medrano-Macías, J., Dávila-Rangel I. E., Juárez-Maldonado A., Rivas-Martínez, E. N., Benavides-Mendoza, A. 2017. Selenium and Sulfur to produce *Allium* functional crops. *Molecules* 22, 558.
- Guerrero B., Llugany M., Palacios O., Valiente M. 2014. Dual effects of different selenium species on wheat. *Plant Physiology and Biochemistry* 83, 300-307.
- Guo C. H., Hsia S., Chung C. H., Lin Y. C., Shih M. Y., Chen P. C., Peng C. L., Henning S. M., Hsu G. S. W., Li Z. 2020. Nutritional supplements in combination with chemotherapy or targeted therapy reduces tumor progression in mice bearing triple-negative breast cancer. *Journal of Nutritional Biochemistry* 108504.
- Gupta M., Gupta S. 2017. An overview of selenium uptake, metabolism, and toxicity in plants. *Frontiers in Plant Science* 7, 2074.
- Hadley C. W., Clinton S. K., Schwartz S. J. 2003. The consumption of processed tomato products enhances plasma lycopene concentrations in association with a reduced lipoprotein sensitivity to oxidative damage. *Journal of Nutrition* 133, 727-32.
- Hariharan S., Dharmaraj S. 2020. Selenium and selenoproteins: it's role in regulation of inflammation. *Inflammopharmacol* 28, 667-695.
- Hermosillo-Cereceres M. A. 2012. Biofortificación con Selenio: Influencia en la capacidad antioxidante y calidad nutricional del frijol. Tesis Doctoral. Centro de Investigación y Desarrollo, A.C. pp 166.
- Herrera Flores T. S., Ortíz Cereceres J., Delgado Alvarado A., Acosta Galleros J. A. 2014. Contenido de osmoprotectores, ácido ascórbico y ascorbato peroxidasa en hojas de frijol sometidas a estrés por sequía. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 5, 859-870.
- Herrera-Martínez S. L., Mora-Herrera M. E., García-Velasco R., Gomora-Rasso J., Rogel-Millán G. 2013. Efecto del ácido ascórbico sobre crecimiento, pigmentos fotosintéticos y actividad peroxidasa de plantas de rosal. *Terra Latinoamericana* 31, 193-199.
- Ilow R., Regulska-Ilow B., Walkiewicz G., Biernat J., Kowalisko A. 2008. Evaluation of bioflavonoid intake in the diets of 50-year-old inhabitants of Wrocław. *Advances in Clinical and Experimental Medicine* 17, 327-336.
- INTAGRI. 2018. Papel del selenio en la nutrición vegetal 123: 1-7.
- Johnson K. A., Hulse D. A., Hart R. C., Kochevar D., Chu Q. 2001. Effects of an orally administered mixture of chondroitin sulfate, glucosamine hydrochloride and manganese ascorbate on synovial fluid chondroitin sulfate 3B3 and 7D4 epitope in a

- canine cruciate ligament transection model of osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage* 9, 14-21.
- Kadkol S., Diamond A. M. 2020. The interaction between dietary selenium intake and genetics in determining cancer risk and outcome. *Nutrients* 12, 8.
- Kang D., Lee J., Wu C., Guo X., Lee B. J., Chun J. S., Kim J. H. 2020. The role of selenium metabolism and selenoproteins in cartilage homeostasis and arthropathies. *Experimental & Molecular Medicine* August
- Kuršvietienė L., Mongirdienė A., Bernatoniene J., Šulinskienė J., Stanevičienė I. (2020). Selenium anticancer properties and impact on cellular redox status. *Antioxidants* 9, 80.
- Laali E., Manifar S., Kazemian A., Jahangard-Rafsanjani Z., Gholami K. 2020. Effect of selenium on incidence and severity of mucositis during radiotherapy in patients with head and neck cancer. *Oral Health & Preventive Dentistry* 18, 765-772.
- Lendvai G., Szekerczés T., Kontsek E., Selvam A., Szakos A., Schaff Z., Björnstedt M., Kiss A. 2020. The effect of methylselenocysteine and sodium selenite treatment on microRNA expression in liver cancer cell lines. *Pathology Oncology Research*. July
- León Calvario I. 2018. Efecto del injerto y estrés salino sobre el contenido nutracéutico en frutos de tomate. Tesis de maestría. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo Coahuila, México. pp 41.
- Levy J., Sharoni Y. 2004. The functions of tomato lycopene and its role in human health. *The Journal of the American Botanical Council* 62, 49-56.
- Liu H. J., Qin Y., Zhao Z. H., Zhang Y., Yang J. H., Zhai D. H., Cui F., Luo C., Lu M. X., Liu P. P., Xu H. W., Li K., Sun B., Chen S., Zhou H. G., Yang C., Sun T. 2020. Lentinan-functionalized selenium nanoparticles target tumor cell mitochondria via TLR4/TRAF3/MFN1 pathway. *Theranostics* 10, 9083-9099.
- López-Bellido Garrido F. J., López Bellido L. 2013. Selenio y salud: valores de referencia y situación actual de la población española. *Nutrición Hospitalaria* 28, 1396-1406.
- López-Gutiérrez M. L., Benavides-Mendoza A., Ortega-Ortíz H., Valdez-Aguilar L. A., Cabrera-De la Fuente M., Sandoval-Rangel, A. 2015. Selenio y su efecto en el estado antioxidante y la composición mineral de la lechuga. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 6e, 2257-2262.
- Luo H., Fang Y. J., Zhang X., Feng X. L., Zhang N. Q., Abulimiti A., Huang C. Y., Zhang C. X. 2020. Association between dietary zinc and selenium intake, oxidative stress-related gene polymorphism, and colorectal cancer risk in chinese population - A case-control study. *Nutrition and Cancer*. August

- Luna-Fletes J. A., Can-Chulim A., Cruz Crespo E., Bugarin-Montoya R., Valdivia-Reynoso M. G. 2018. Intensidad de raleo y soluciones nutritivas en la calidad de tomate cherry. *Revista Fitotecnia Mexicana* 41, 59-66.
- Machín Suárez A., Sánchez-Chávez E., Héctor Ardisana E. F., Santos-Cervantes, M. E., Pérez Álvarez S. (2017). Actividad de enzimas del estrés oxidativo en plantas de tomate cv. Amalia en respuesta al plomo. *Horticultura Brasileira* 35, 216-223.
- Mao S., Wang J., Wu Q., Liang M., Yuan Y., Wu T., Liu M., Wu Q., Huang K. 2020. Effect of selenium-sulfur interaction on the anabolism of sulforaphane in broccoli. *Phytochemistry* 179, 112499.
- Matilla A. J. 2008. Desarrollo y germinación de las semillas. En: *Fundamentos de Fisiología Vegetal*. pp 22.
- Meier U. 2018. Estadios de las plantas mono-y dicotyledóneas. En: *BBCH Monografía*. Alemania. pp 204.
- Monroy-Vázquez M. E., Peña-Valdivia C. B., García-Nava J. R., Solano-Camacho E., Campos H., García-Villanueva E. (2017). Imbibición, viabilidad y vigor de semillas de cuatro especies de *Opuntia* con grado distinto de domesticación. *Agrociencia* 51, 27-42.
- Mora M. L., Durán P., Acuña J., Cartes P., Demanet R., Gianfreda L. 2015. Improving selenium status in plant nutrition and quality. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 15, 486-503.
- Morales Morales B. 2019. Biofortificación con selenio en el cultivo de tomate producido en hidroponía. Tesis de Maestría. Instituto Tecnológico de Torreón. Torreón Coah., México. pp 90.
- Moreno Rodríguez M. J., Cala Rivero V., Jiménez Ballesta R. 1998. Contenido de selenio en diferentes plantas en regimen semiárido. *Ecología* 12: 113-121.
- Nakano Y., Asada K. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology* 22, 867-880.
- NIH. 2019. Datos sobre el selenio. National Institutes of Health. pp. 1-3. <http://ods.od.nih.gov/HealthInformation/RecursosEnEspañol.aspx>.
- Noctor G., Foyer C. (1998) Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 49, 249-279.
- Ogawa K. (2005). Glutathione-associated regulation of plant growth and stress responses. *Antioxidants & Redox Signaling* 7, 973-981.

- Outzen M., Tjønneland A., Hughes D. J., Jenab M., Frederiksen K., Schomburg L., Morris S., Overvad K., A. Olsen 2020. Toenail selenium, plasma selenoprotein P and risk of advanced prostate cancer: a nested case-control study. *International Journal of Cancer*.
- Pérez Mendoza C., Carrillo Castañeda G., Vidal Lezama E., Ortiz García E. 2016. Efecto de la imbibición en la calidad fisiológica de semillas de jitomate. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 7, 1765-1773.
- Peters K. M., Carlson B. A., Gladyshev V. N., Tsuji P. A. 2018. Selenoproteins in colon cancer. *Free Radical Biology and Medicine* 127, 14-25.
- Pilon-Smits E. A., Quinn C. F., Tapken W., Malagoli M., Schiavon M. 2009. Physiological functions of beneficial elements. *Current Opinion in Plant Biology* 12, 267-274.
- Pliego Zúñiga C. A. 2019. Nanopartículas de selenio aplicadas a plantas de pepino como inductoras de tolerancia al estrés salino. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo Coahuila, México. pp 69.
- Rahman M. S., Islam M. N., Shaheb M. R., Sarker P. C., Nessa A., Sarker M. H. 2014. Influence of sowing date on quality seed production of bitter melon. *International Journal of Sustainable Crop Production* 9, 17-21.
- Reina G. C. E. 1998. Manejo postcosecha y evaluación de la calidad de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) que se comercializa en la ciudad de Neiva. Universidad Surcolombiana: pp 127.
- Riaño Salas P. 2019. Biofortificación agronómica con selenio y zinc sobre guisante forrajero (*Pisum sativum* L.) bajo condiciones de secano mediterráneas. Tesis de Maestría. Universidad de Extremadura. Bandajoz España. pp 86.
- Ruíz Martínez J., Vicente A. A., Montañez Saenz J. C., Rodríguez Herrera R., Aguilar González C. N. 2012. Un tesoro percedero en México: el tomate, tecnologías para prolongar su vida de anaquel. *Investigación y Ciencia* 20(54), 57-63.
- Santiago J., Mendoza M., Borrego F. 1998. Evaluación de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill), en invernadero: Criterios fenológicos y fisiológicos. *Agronomía Mesoamericana* 9: 59-65.
- Sariñana Navarrete M. A. 2020. Biofortificación con selenio en el cultivo de vid (*Vitis vinifera* L.). Tesis de Maestría. Instituto Tecnológico de Torreón. Torreón Coah., México. pp 81.
- Sahoo S., Awasthi J., Sunkar R., Panda S. 2017. Determining glutathione levels in plants. En: *Plant Stress Tolerance* pp 273-277.

- Shindo Y., Witt E., Han D., Epstein W., Packer L. 1994. Enzymic and non-enzymic antioxidants in epidermis and dermis of human skin. *Journal of Investigative Dermatology* 102, 122-124.
- Short S. P., Pilat J. M., Williams C. S. 2018. Roles for selenium and selenoprotein P in the development, progression, and prevention of intestinal disease. *Free Radical Biology and Medicine* 127, 26-35.
- SIAP. (2019). Avances y cierres de la Producción Agrícola. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera <https://www.gob.mx/siap/acciones-y-programas/produccion-agricola-33119>. (Consulta Junio, 2020).
- Sida-Arreola J. P., Sánchez E., Ávila-Quezada G. D., Acosta-Muñoz C. H., Zamudio-Flores P. B. 2020. Biofortificación con micronutrientes en cultivos agrícolas y su impacto en la nutrición y salud humana. *Tecnociencia* 9, 67-74.
- Smirnoff N. 2000. Ascorbate biosynthesis and function in photoprotection. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 355, 1455-1464.
- Sors T. G., Ellis D. R., Salt D. E. 2005. Selenium uptake, translocation, assimilation and metabolic fate in plants. *Photosynthesis Research* 86, 373-389.
- Steiner A. A. 1961. A universal method for preparing nutrient solutions of a certain desired composition. *Plant and Soil* 15, 134-154.
- Suárez D., Melgarejo L. M. 2010. Biología y Germinación de Semillas. En: Experimentos en Fisiología Vegetal. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. pp 13-24.
- Subburayan K., Thayyullathil F., Pallichankandy S., Cheratta A. R., Galadari S. 2020. Superoxide-mediated ferroptosis in human cancer cells induced by sodium selenite. *Translational Oncology* 13, 100843.
- Terry N., Zayed A. M., de Souza M. P., Tarun A. S. 2000. Selenium in higher plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 51, 401-432.
- Trejo-Téllez L. I., Gómez-Merino F. C., Alcántar-González G. 2007. Elementos benéficos. En: Nutrición de cultivos.: Mundi-Prensa. México, D. F. pp 59-101.
- Vinchira J. E., Muñoz Ramírez A. P. 2010. Selenio: Nutriente objetivo para mejorar la composición nutricional del pescado cultivado. *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia* 57, 59-75.
- Waliszewski K. N., Blasco G. 2010. Propiedades nutraceuticas del licopeno. *Salud Pública de México* 52, 254-265.

- Waters D. J., Chiang E. C. 2018. Five threads: How U-shaped thinking weaves together dogs, men, selenium, and prostate cancer risk. *Free Radical Biology and Medicine* 127, 36-45.
- Welch R., Graham R. (2004). Breeding for micronutrients in staple food crops from a human nutrition perspective. *Journal of Experimental Botany* 55, 353-364.
- Werner J. 1992. Selenio, un elemento esencial y tóxico. Datos de Latinoamérica. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 42, 90-93.
- White P. J., Broadley M. R. 2009. Biofortification of crops with seven mineral elements often lacking in human diets--iron, zinc, copper, calcium, magnesium, selenium and iodine. *New Phytologist* 182 49-84.
- Xue T., Hartikainen H., Piironen V. 2001. Antioxidative and growth-promoting effect of selenium on senescing lettuce. *Plant and Soil* 237, 55-61.
- Yin X., Yuan L. 2012. Phytoremediation and biofortification, in two sides of one coin. Springer, Netherlands, pp 1-6.
- Yu Y., Zhuang Z., Luo L. Y., Wang Y. Q., Li H. F. 2019. Difference between selenite and selenate in selenium transformation and the regulation of cadmium accumulation in *Brassica chinensis*. *Environmental Science and Pollution Research International* 26, 24532-24541.
- Yu Z., Dahlgren R. 2000. Evaluation of methods for measuring polyphenols in conifer foliage. *Journal of Chemical Ecology* 26, 2119-2140.
- Zapata L. M., Gerard L., Davies, C., Schwab M. C. 2007. Estudio de los componentes antioxidantes y actividad antioxidante en tomates. *Ciencia, Docencia y Tecnología* 35, 175-193.
- Zeng H., Combs G. F. 2008. Selenium as an anticancer nutrient: roles in cell proliferation and tumor cell invasion. *Journal of Nutritional Biochemistry* 19, 1-7.
- Zhang L., Wu X., Feng Y., Zheng L., Jian J. 2020. Selenium donors inhibits osteoclastogenesis through inhibiting IL-6 and plays a pivotal role in bone metastasis from breast cancer. *Toxicology Research* 9, 544-551.
- Zhang L., Zeng H., Cheng W. H. 2018. Beneficial and paradoxical roles of selenium at nutritional levels of intake in healthspan and longevity. *Free Radical Biology and Medicine* 127, 3-13.
- Zhu Z., Jiang W. 2008. Selenium in prevention of cancer: evidence and mechanism. *Biomedical Research on Trace Elements* 19, 282-289.

**ANEXO. Análisis de varianza.****Peso de la semilla embebida**

## Hora 5

N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV	DMS	
25	0.22	0.07	4.38	0.00684	
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	7.5E-05	4	1.9E-05	1.43	0.2616
Error	2.6E-04	20	1.3E-05		
Total	3.4E-04	24			

## Hora 12

N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV	DMS	
25	0.09	0.00	8.04	0.01334	
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	9.8E-05	4	2.5E-05	0.49	0.7399
Error	9.9E-04	20	5.0E-05		
Total	1.1E-03	24			

## Hora 24

N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV	DMS	
25	0.14	0.00	7.84	0.01353	
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	1.6E-04	4	4.1E-05	0.79	0.5424
Error	1.0E-03	20	5.1E-05		
Total	1.2E-03	24			

**Germinación diaria**

## Día 4

N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV	DMS	
24	0.31	0.16	56.59	33.50969	
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	2489.73	4	622.43	2.11	0.1200
Error	5617.19	19	295.64		
Total	8106.92	23			

## Día 5

N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV	DMS	
24	0.14	0.00	66.55	32.64938	
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	864.73	4	216.18	0.77	0.5578
Error	5332.47	19	280.66		
Total	6197.19	23			

Día 6

N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV	DMS	
24	0.16	0.00	63.08	28.38774	
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	794.42	4	198.60	0.94	0.4643
Error	4031.25	19	212.17		
Total	4825.67	23			

Día 10

N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV	DMS	
24	0.15	0.00	112.21	34.54995	
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	1041.81	4	260.45	0.83	0.5233
Error	5971.35	19	314.28		
Total	7013.17	23			

**Germinación acumulada**

Día 4

N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV	DMS	
25	0.26	0.11	58.45	33.55050	
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	2169.71	4	542.43	1.73	0.1838
Error	6285.45	20	314.27		
Total	8455.16	24			

Día 5

N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV	DMS	
25	0.24	0.09	47.33	48.81486	
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	4261.11	4	1065.28	1.60	0.2129
Error	13305.84	20	665.29		
Total	17566.95	24			

Día 6

N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV	DMS	
25	0.24	0.08	28.74	41.69650	
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	2999.22	4	749.81	1.54	0.2276
Error	9708.17	20	485.41		
Total	12707.39	24			

## Día 10

N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV	DMS	
25	0.18	0.02	22.17	38.53469	
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	1829.17	4	457.29	1.10	0.3824
Error	8291.67	20	414.58		
Total	10120.83	24			

**Longitud de radícula**

N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV	DMS	
125	0.44	0.42	23.04	1.22640	
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	233.49	4	58.37	23.82	<0.0001
Error	294.10	120	2.45		
Total	527.59	124			

**Longitud de hipocótilo**

N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV	DMS	
125	0.17	0.15	26.15	0.39990	
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	6.62	4	1.66	6.35	0.0001
Error	31.27	120	0.26		
Total	37.89	124			

**Peso fresco de hojas**

## Imbibición

N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV	DMS	
60	0.03	0.00	19.23	175.11311	
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	38950.42	4	9737.60	0.42	0.7928
Error	1272190.56	55	23130.74		
Total	1311140.98	59			

## Foliar

N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV	DMS	
60	0.15	0.09	15.39	134.12824	
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	130845.12	4	32711.28	2.41	0.0601
Error	746371.91	55	13570.40		
Total	877217.03	59			

**Peso seco de hojas****Imbibición**

N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV	DMS	
60	0.04	0.00	19.79	35.09443	
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	2055.20	4	513.80	0.55	0.6976
Error	51096.52	55	929.03		
Total	53151.71	59			

**Foliar**

N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV	DMS	
60	0.32	0.27	16.01	32.09023	
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	20105.19	4	5026.30	6.47	0.0002
Error	42722.87	55	776.78		
Total	62828.06	59			

**Número de hojas****Imbibición**

N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV	DMS	
60	0.05	0.00	7.48	2.05626	
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	8.77	4	2.19	0.69	0.6039
Error	175.42	55	3.19		
Total	184.18	59			

**Foliar**

N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV	DMS	
60	0.24	0.19	8.72	2.37324	
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	74.27	4	18.57	4.37	0.0039
Error	233.67	55	4.25		
Total	307.93	59			

**Firmeza de frutos****Imbibición**

N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV	DMS	
20	0.11	0.00	26.48	3.84810	
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	5.95	4	1.49	0.48	0.7511
Error	46.59	15	3.11		
Total	52.53	19			

**Foliar**

N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV	DMS	
20	0.15	0.00	19.73	2.36563	
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	3.02	4	0.76	0.64	0.6394
Error	17.61	15	1.17		
Total	20.63	19			

**Sólidos Solubles Totales****Imbibición**

N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV	DMS	
20	0.05	0.00	7.65	0.82810	
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	0.11	4	0.03	0.19	0.9374
Error	2.16	15	0.14		
Total	2.27	19			

**Foliar**

N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV	DMS	
20	0.08	0.00	13.18	1.39670	
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	0.53	4	0.13	0.33	0.8568
Error	6.14	15	0.41		
Total	6.67	19			

**Vida de anaquel****Imbibición**

N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV	DMS	
20	0.22	0.01	48.06	2.19624	
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	4.19	4	1.05	1.04	0.4208
Error	15.18	15	1.01		
Total	19.37	19			

**Foliar**

N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV	DMS	
20	0.33	0.15	24.89	1.50540	
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	3.47	4	0.87	1.83	0.1763
Error	7.13	15	0.48		
Total	10.60	19			

### Ácido ascórbico

#### Imbibición y Foliar

N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV	DMS	
50	0.22	0.05	22.36	1.31978	
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	4.46	9	0.50	1.27	0.2803
Error	15.54	40	0.39		
Total	20.00	49			

### Licopeno

#### Imbibición y Foliar

N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV	DMS	
50	0.32	0.17	33.69	80.68359	
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	27691.88	9	3076.88	2.12	0.0505
Error	58083.11	40	1452.08		
Total	85774.98	49			

### Proteínas totales

#### Imbibición

N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV	DMS	
25	0.30	0.16	40.26	1.55813	
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	5.81	4	1.45	2.14	0.1130
Error	13.56	20	0.68		
Total	19.37	24			

#### Foliar

N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV	DMS	
25	0.39	0.26	24.83	1.12987	
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	4.48	4	1.12	3.14	0.0370
Error	7.13	20	0.36		
Total	11.61	24			

### Capacidad antioxidante

#### Imbibición y Foliar

N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV	DMS	
50	0.34	0.19	21.42	18.10796	
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	1496.03	9	166.23	2.27	0.0365
Error	2925.62	40	73.14		

Total	4421.65	49
-------	---------	----

**Fenoles totales**

## Imbibición y Foliar

N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV	DMS	
50	0.25	0.08	32.05	0.17053	
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	0.09	9	0.01	1.47	0.1908
Error	0.26	40	0.01		
Total	0.35	49			

**Glutación reducido**

## Imbibición y Foliar

N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV	DMS	
50	0.43	0.30	38.55	0.75048	
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	3.78	9	0.42	3.34	0.0039
Error	5.03	40	0.13		
Total	8.81	49			

**Catalasa**

## Imbibición y Foliar

N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV	DMS	
50	0.27	0.10	64.03	5.28139	
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	90.93	9	10.10	1.62	0.1414
Error	248.87	40	6.22		
Total	339.80	49			

**Ascorbato peroxidasa**

## Imbibición y Foliar

N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV	DMS	
50	0.17	0.00	54.90	0.15549	
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	0.04	9	4.9E-03	0.92	0.5220
Error	0.22	40	0.01		
Total	0.26	49			

**Glutación peroxidasa****Imbibición**

N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV	DMS	
25	0.08	0.00	63.47	4.68516	
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	11.20	4	2.80	0.46	0.7663
Error	122.57	20	6.13		
Total	133.77	24			

**Foliar**

N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV	DMS	
25	0.41	0.29	75.28	2.87312	
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	31.88	4	7.97	3.46	0.0265
Error	46.09	20	2.30		
Total	77.98	24			

**Superóxido dismutasa****Imbibición**

N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV	DMS	
25	0.43	0.32	34.40	0.52420	
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	1.18	4	0.29	3.84	0.0179
Error	1.53	20	0.08		
Total	2.71	24			

**Foliar**

N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV	DMS	
25	0.51	0.42	23.28	0.29004	
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	0.50	4	0.12	5.28	0.0046
Error	0.47	20	0.02		
Total	0.97	24			