APLICACIÓN DE SELENIO EN SEMILLAS Y PLÁNTULAS DE HORTALIZAS PARA MODIFICAR EL POTENCIAL REDOX

MARTHA ELENA DE LOS SANTOS VAZQUEZ

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN HORTICULTURA



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

Saltillo, Coahuila, México, Junio del 2014

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO SUBDIRECCIÓN DE POSGRADO

APLICACIÓN DE SELENIO EN SEMILLAS Y PLÁNTULAS DE HORTALIZAS PARA MODIFICAR EL POTENCIAL REDOX

Martha Elena de los Santos Vázquez

Elaborada bajo la supervisión del comité particular de asesoría y aprobada como requisito parcial para optar al grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS HORTICULTURA COMITÉ PARTICULAR Asesor principal: Dr. Adalberto Benavides Mendoza Asesor: Dra. Norma Angélica Ruiz Torres Asesor: Dra. Rosalinda Mendoza Villarreal Asesor: Dr. Luis Alonso Valdez Aguilar Asesor: Dra. Silvia Yudith Martinez Amador Letter Dr. Feinando Ruiz Zarate Subdirector de Posgrado

DEDICATORIAS

Especialmente al **DIOS** y a la *Virgen de Guadalupe* por estar siempre a mi lado cuidándome y protegiéndome de todas las adversidades.

A mis padres *Elin De Los Santos* Y *María Teresa Vázquez*, por creer siempre en mí, por apoyarme, por sus consejos, los amo.

A mi esposo *Huberto Sandoval Rodas* por todo el cariño, la comprensión y el amor que me has dado, y por estar conmigo en la buenas y en las malas gracias mil gracias, por eso y más **TE AMO**.

A mi hijo **Brian Alejandro Sandoval de los Santos** por darme toda esa alegría desde el día en que naciste y te tuve en mis brazos Te Amo hijo eres mi razón de seguir adelante.

A mis hermanos José Luis, Jorge Alberto, Elidía Guadalupe, Juan Antonio, Jesús (+), Jesús Enrique, Roberto, Rodolfo, Reyna, Karina. Gracias hermanos por todo el amor brindado, por ser mi fortaleza, por su aliento constante, y por la gran confianza que han depositado en mí.

A mis abuelos **Reynol Vazquez y Consuelo Camacho**, por el apoyo que me brindaron y los consejos gracias.

A mis sobrinos *Emmanuel*, *Esmeralda*, *Ángel*, *Pavel*, *Alison*, *Carlitos*, *Brisa*, *Dafne Camila* que aunque están pequeños tenerlos cerca en una gran alegría para mi corazón.

AGRADECIMIENTOS

A mi Alma Mater la Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro", por brindarme la oportunidad de realizar mis estudios de posgrado a través de la Maestría en Ciencias en Horticultura

Al **Dr. Adalberto Benavides Mendoza**, por permitirme trabajar en sus proyectos de investigación, por las grandes enseñanzas y por el tiempo que dedicó para la revisión de este trabajo, mil gracias.

A la **Dra. Norma A. Ruiz Torres**, por su tiempo y asesoría en la revisión del presente trabajo y porque aunque no esté dentro del mismo Departamento siempre tuve en ella un profesor que me escuchaba y me ayudaba con mis dudas.

A la **Dra. Rosalinda Mendoza Villareal**, por su contribución y tiempo dedicado en esta investigación.

A la **Dra. Silvia Yudith Martínez Amador**, por su contribución y tiempo dedicado en esta investigación.

A Martina Casilla y Laura Durón que me apoyaron en la realización de este trabajo, y nunca me dejaron sola, también por escucharme cuando tanto me hacía falta, por todos sus consejos.

A mis Amigas (os) Mari Carme, Laura, Lucina, Toño, Neymar que siempre me alentaron a que nunca me diera por vencida no importando el qué dirán las personas.

A mis compañeros de generación Flor, Paola, Clemente, Roberto y Gibran por la convivencia que tuvimos durante estos dos años.

COMPENDIO

APLICACIÓN DE SELENIO EN SEMILLAS Y PLÁNTULAS DE TRES ESPECIES DE HORTALIZAS PARA MODIFICAR EL POTENCIAL REDOX

Martha Elena de los Santos Vázquez

MAESTRIA EN CIENCIAS EN HORTICULTURA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

Saltillo, Coahuila, México, Junio del 2014.

Dr. Adalberto Benavides Mendoza -Asesor-

Palabras clave: tomate, lechuga, melón, selenio, vitamina C.

RESUMEN

El selenio es un elemento aplicado en las plantas para mejorar la respuesta frente al estrés así como aumentar su contenido en las partes comestibles. El objetivo de este trabajo fue realizar aplicaciones de selenio en semillas y plántulas de melón, lechuga y tomate y verificar el efecto sobre el crecimiento, el estado antioxidante y la concentración de vitamina C de los tejidos fotosintéticos de las plántulas. El experimento constó de dos fases: en la primera se aplicó el selenio en 0, 0.1 y 1 mg L-1 como pretratamiento de inmersión de las semillas y determinación posterior del peso fresco y seco, área foliar, potencial de oxidación-reducción (ORP) y contenido de vitamina C en las láminas foliares de las plántulas. En la segunda fase se aplicó el selenio en las

plántulas en 0 y 2 mg L⁻¹ en la solución nutritiva y 0 y 5 mg L⁻¹ por aspersión foliar a los 15 y 30 días después de la siembra, midiendo las mismas variables de respuesta consideradas en la fase 1. Ambas formas de aplicación de selenio mostraron ser efectivas para modificar positivamente el estado antioxidante y el contenido de vitamina C de las plántulas. Al aplicarlo en la semilla en la Fase 1, el selenio no causó modificaciones en el crecimiento salvo para el caso del melón, en cambio modificó positivamente el estado antioxidante de la plántula y la concentración de vitamina C en los tejidos fotosintéticos de las tres especies. El aporte de selenio a las plántulas por el riego y por aspersión en la Fase 2, causó una mejora significativa en el estado antioxidante de las plántulas y en la concentración de vitamina C en las láminas foliares en las tres especies, mostrando solo pequeños cambios en las variables del peso fresco y seco y el área foliar.

ABSTRACT

APPLICATION OF SELENIUM IN SEEDS AND SEEDLINGS OF THREE SPECIES OF VEGETABLES TO MODIFY THE POTENTIAL REDOX

Martha Elena de los Santos Vázquez

MASTER OF SCIENCE IN HORTICULTURE

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO Saltillo, Coahuila, México, Junio del 2014.

Dr. Adalberto Benavides Mendoza - Advisor-

Index words: tomato, lettuce, melon, antioxidants, selenium, vitamin C.

SUMMARY

Selenium is an element applied in plants to improve the response to stress and to increase their content in the edible parts. The aim of this study was to perform applications of selenium in seeds and seedlings of melon, lettuce and tomato to verify the effect on growth, antioxidant status and vitamin C concentration in photosynthetic tissues of seedlings. The experiment consisted of two phases: in the first selenium was applied at 0, 0.1 and 1 mg L⁻¹ as immersion pretreatment of seeds with the subsequent determination of fresh and dry weight and leaf area, the oxidation-reduction potential (ORP) and concentration of vitamin C in the leaf blades of seedlings. In the second phase the selenium was applied to

the seedlings at 0 and 2 mg L⁻¹, in the nutrient solution and at 0 and 5 mg L⁻¹ as foliar spray at 15 and 30 days after seeding. In the second phase the same response variables mentioned for the first phase were measured. Both forms of selenium application shown to be effective, and positively changed the antioxidant status and the concentration of vitamin C of seedlings. Selenium applied to the seeds in the first phase caused no changes in seedling growth except in the case of melon; however the antioxidant status of the seedlings and the concentration of vitamin C in photosynthetic tissues of the three species were positively modified with selenium application. The application of selenium by irrigation and leaf spraying in the second phase caused a significant improvement in the antioxidant status and in the concentration of vitamin C in the leaves in the three species, showing only minor changes in the variables of fresh and dry weight, and leaf area.

ÍNDICE DE CONTENIDO	Página
I.INTRODUCCIÓN	1
Objetivo General	2
Específicos	2
Hipótesis	2
II.REVISIÓN DE LITERATURA	3
Selenio	3
Selenio en suelo	3
Selenio en agua	4
Selenio en plantas	5
Especies reactivas de oxigeno (EROS)	7
Selenio como inductor de antioxidantes	8
III. Articulo	13
IV. Conclusiones generales	24
V. Literatura citada	24

ÍNDICE DE CUADROS	PAG
Cuadro 1. Efecto de la aplicación de selenio en la semilla sobre el área foliar y la biomasa de plántulas de tomate, lechuga y melón	18
ÍNDICE DE FIGURAS	
Figura 1. Promedio y desviación estándar del potencial de óxido reducción (ORP en mV) en el extracto fresco de plántulas (30 dds) de tomate, lechuga y melón cuyas semillas fueron tratadas con selenio aplicado en forma de selenito (Se ⁴⁺) de sodio	19
Figura 2. Promedio y desviación estándar de la concentración de vitamina C (mg/100 g peso fresco) en las láminas foliares de plántulas (30 dds) de tomate, lechuga y melón cuyas semillas fueron tratadas con selenio aplicado en forma de selenito (Se ⁴⁺) de sodio	20
Figura 3. Promedio y desviación estándar del potencial de óxido reducción (ORP en mV) en el extracto fresco de plántulas (45 dds) de tomate, lechuga y melón tratadas con selenio aplicado en forma de selenito (Se ⁴⁺) de sodio por el riego o por aspersión foliar	21
Figura 4. Promedio y desviación estándar de la concentración de vitamina C (mg/100 g de peso fresco) en las láminas foliares de plántulas (45 dds)de tomate, lechuga y melón tratadas con selenio aplicado en forma de selenito (Se ⁴⁺) de sodio por el riego o por aspersión foliar	22

I. INTRODUCCIÓN

El selenio (Se) es un elemento traza esencial para los animales y humanos. La fuente primaria de selenio es el consumo de formas orgánicas de Se contenidas en los diferentes órganos de las plantas, las cuales lo absorben primordialmente en forma inorgánica del suelo y del agua como selenato (Se⁶⁺) y selenito (Se⁴⁺) (Broadley et al., 2006). En los suelos el Semuestra gran variación en su contenido, si bien en los suelos agrícolas la disponibilidad es normalmente baja. Por ello se busca aportar el Se como parte de los fertilizantes para los cultivos (Fordyce, 2005). Si bien la literatura menciona el uso de las aplicaciones de Se en plantas (Rayman, 2008; Becvort-Azcurra et al., 2012), no se encontró información acerca del tratamiento de semillas y plántulas con Se. Por ello, el objetivo de este trabajo fue realizar aplicaciones de Se en semillas y plántulas de tres especies de hortalizas y verificar el efecto sobre el crecimiento, el estado antioxidante y la concentración de vitamina C de los tejidos fotosintéticos de las plántulas. Lo anterior bajo la hipótesis de que la aplicación de este elemento tanto en las semillas como en las plántulas por aspersión o riego modificará el balance redox celular, aumentando la capacidad antioxidante de los tejidos fotosintéticos de las plántulas.

Objetivo General

Realizar aplicaciones de Se en semillas y plántulas de tres especies de hortalizas y verificar el efecto sobre el potencial antioxidante.

Específicos

- Verificar el efecto de las aplicaciones de Se en diferentes especies de hortaliza, sobre el potencial antioxidante de los tejidos de las plántulas.
- Documentar el cambio en el potencial antioxidante de los tejidos de plántulas tratadas con selenio, por vía foliar y solución nutritiva.

Hipótesis

El Se modifica el balance redox celular de las semillas y plántulas además aumenta el contenido de vitamina C.

I. REVISION DE LITERATURA

2.1 Selenio

Actualmente al Se se le considera un elemento traza esencial para los animales tanto por su valor nutricional como clínico, ya que actúa como un potente antioxidante, es eficaz en la inhibición de expresión de virus y juega un papel importante en el sistema inmunológico. El Se se encuentra en la naturaleza y en sistemas biológicos como selenato (Se⁶⁺), selenito (Se⁴⁺), selenio elemental (Se⁰) y seleniuro (Se⁻²) Broadley et al. (2006). La principal forma que se encuentra el Se en la naturaleza es el seleniuro combinado con metales pesado; al reaccionar con el hidrógeno forma seleniuro de hidrógeno, un gas (Hernández. 2008). Debido a las formas presentes de selenio en la naturaleza y las diferencias bioquímicas entre ellas, se puede ocasionar modificaciones en la isomería al interactuar con la flora microbiana y causar oxidación o reducción, o bien formación de compuestos orgánicos (Valdiviezo, 2012). El selenio (Se) existe de manera natural en la corteza terrestre. Él Se de estas fuentes naturales es altamente disponible y móvil en zonas áridas con suelos alcalinos. Pero por las actividades antropogénicas el Se es movilizado y llega a ser disponible para plantas y animales, el cual se bioacumula y es incorporado a la cadena alimenticia (Gutierrez et al., 2013).

2.2 Selenio en suelo

Fordyce (2005) menciona que el Se encuentra en el suelo en cantidades muy bajas (0.01 a 2 mg/kg) y en altas concentraciones en suelos denominados seleníferos (1200 mg Se kg-1). El selenio es un elemento esencial para los animales y en altas concentraciones está asociado con el estrés oxidativo, más sin embargo en ingestas de bajas cantidades este puede ser muy beneficioso. El selenio es un elemento esencial para los animales y en altas concentraciones está asociado con el estrés oxidativo más sin embargo en ingestas de bajas cantidades este puede ser muy beneficioso. El selenio es de importancia metabólica en la cianobacterias y en algunas plantas, estando implicado en sus procesos de antioxidante y es considerado un elemento beneficioso en las plantas aunque en grandes concentraciones puede ser tóxico para ella (Mateja y Vekoslava, 2008). La concentración de Se en la plantas puede variar desde 0.005 mg kg-1 a 5500 mg kg-1 pero la mayoría de plantas contiene 10 mg kg-1 (Fordyce, 2005).

En el sureste de Coahuila, un trabajo preliminar no publicado mostró un contenido de 1.5 mg kg⁻¹ de selenio en un suelo para uso agrícola, el cual se considera adecuado para cultivos como *Lolium perenne* y *Lactuca sativa* (Hartikainen et al, 2000; Xue et al, 2001). Un nivel análogo de selenio de 0.8-1.8 mg/kg en sedimentos fue reportado en Sonora (García-Hernández, *et al.*, 2000).

2.3 Selenio en agua

El agua es generalmente de poca importancia en el suministro del mismo. Entre los alimentos, los pescados y mariscos y los huevos son buenas fuentes, aunque muchos alimentos vegetales provenientes de zonas seleniferas tienen cantidades considerables de este elemento. (Werner, 1992).

En el agua el selenio proviene de fuentes antropogénicas, en forma de gases y partículas liberados por erupciones volcánicas. Su concentración es similar al encontrado en el suelo teniendo cantidades de <1mg de Se/L, siendo las formas más comunes encontradas en el agua el selenito (Se⁴⁺) y selenato (Se⁶⁺) (Rodríguez *et al.*, 2003). En un estudio llevado a cabo en los altos de Jalisco se encontró que el agua de los pozos contenían selenio con niveles de hasta 121.9 μg/l (Hurtado y Gardea., 2007).

2.4 Selenio en plantas

En plantas acumuladoras el Se es incorporado vía alterna del sulfato debido a que es similar químicamente y actúa análogamente en muchas reacciones bioquímicas (Bañuelos y Mayland, 2000). Después de que el selenato (Se⁶⁺)es absorbido es transportado a cloroplastos donde es reducido a selenito (Se⁴⁺) por glutatión (GSH) o enzimas específicas (ATP sulforilasa, APS reductasa, GSH reductasa, sulfito reductasa, Cys sintasa, cistationina γ–sintasa y cistationina β-liasa) e incorporado de manera inespecífica a compuestos no proteicos donde pueden ser metilados y volatilizados en la raíz.El selenio es metabolizado en las plantas por la vía de asimilación del azufre y su distribución y acumulación dependerá de la especie química y la concentración del elemento suministrado a las raíces y por vía foliar, así como de la naturaleza y la concentración de otras sustancias en la solución (Terry *et al.*, 2000).

El Se puede ser absorbido como selenato (Se⁶⁺), selenito (Se⁴⁺) y selenio orgánico. Tanto el selenato (Se⁶⁺) como el selenio orgánico se encuentran activos metabólicamente, mientras que el selenito (Se⁴⁺) puede permanecer como componente pasivo; las formas orgánicas del Se son más disponibles para las plantas que las formas inorgánicas (Cruz *et al.*, 2011).

Cuando el selenio se encuentra en forma de selenato (Se⁶⁺) parece ser movilizado a las células vegetales a través de un proceso de transporte primario de tipo ABC acoplado a H+-ATPasas (Byrne *et al.*, 2010), posiblemente por medio de un transportador de sulfato (Terry *et al.*, 2000) o de silicio (Zhao *et al.*, 2010). La absorción de selenito (Se⁴⁺) parece ocurrir por un mecanismo diferente a la del selenato (Se⁶⁺) (Terry *et al.*, 2000), posiblemente a través de un transportador de fosfato (Zhao *et al.*, 2010).

El flujo de selenio de las hojas y tallos a los frutos ocurre por el floema, posteriormente a la asimilación del selenio en compuestos orgánicos (Arvy, 1982), situación que se suma a la compleja distribución no diferencial que se presenta entre la raíz, los tallos y hojas (Arvy, 1982, 1993; Grattan *et al.*, 1987; Zayed *et al.*, 1998; Pezzarossa *et al.*, 1999; Simijoki *et al.*, 2003).

El órgano que acumula mayor cantidad de selenio es la raíz y, posiblemente, los efectos negativos de la gran acumulación de selenio se manifestaran sobre todo en esa estructura, la mayor sensibilidad de la raíz al selenio fue reportada para *Solanum tuberosum*por Turakainen *et al.* (2004). Hasanuzzaman *et al.* (2010) mencionan que aunque existe amplia evidencia de los efectos positivos del Se aplicado como aspersión foliar acuosa, la concentración adecuada para fomentar efectos positivos en las diferentes especies debe determinarse para cada especie

particular.Kápolna *et al.* (2009) encontraron también que la aspersión foliar de *Daucus carota* con 10 mg L⁻¹ produjo buen resultado para que la planta acumulara selenio sin afectar la productividad.

2.5 Especies reactivas de oxígeno (EROS)

Las especies reactivas de oxígeno tienen en las plantas, papeles importantes en el crecimiento, desarrollo e interacciones con el medio ambiente, y por tanto, se producen en cantidades significativas durante la fotosíntesis y la respiración. Sin embargo, se mantiene la homeostasis redox mediante mecanismos que controlan su síntesis y depuración. El desbalance entre la producción y la eliminación de las especies reactivas en los organismos conducen a lo que se conoce como estrés oxidativo (Miranda y Castro, 2013). Especies reactivas del oxígeno ocurren sobre diferentes macromoléculas: 1) Lípidos. Es aquí donde se produce el daño mayor en un proceso que se conoce como peroxidación lipídica, afecta a las estructuras ricas en ácidos grasos poliinsaturados, ya que se altera la permeabilidad de la membrana celular produciéndose edema y muerte celular. 2) Proteínas. Hay oxidación de un grupo de aminoácidos como fenilalanina, tirosina, histidina y metionina; además se forman entrecruzamientos de cadenas peptídicas, y por último hay formación de grupos carbonilos. 3) Ácido desoxirribonucleico (ADN). Ocurren fenómenos de mutaciones y carcinogénesis, hay pérdida de expresión o síntesis de una proteína por daño a un gen específico, modificaciones oxidativas de las bases, deleciones. fragmentaciones, interacciones estables ADN-proteinas, reordenamientos cromosómicos y desmetilación de citosinas del ADN que activan genes (Venereo, 2002).

Los radicales libres se forman cuando una molécula con un par de electrones no apareados en la órbita externa recibe o pierde un electrón. El radical libre más común en la atmósfera es la molécula de oxígeno, la cual tiene dos electrones no apareados en la última órbita, por lo que forma una molécula birradical. El radical superóxido también reacciona reduciendo quinonas y complejos de metales de transición Fe-Cu, afectando la actividad de las enzimas que contienen estos metales (Camarena, 2005).

2.6 Selenio como inductor de antioxidantes

Los antioxidantes son compuestos que permiten la vida celular en un ambiente oxidante y son los responsables de la eliminación de los radicales libres los cuales se producen, de manera natural, en los sitios de actividad energética celular; la función química de los antioxidantes es ceder potencial reductor a los compuestos oxidantes capaces de dañar a los componentes celulares. (Benavides et al., 2009). Los organismos poseen numerosos sistemas de defensa antioxidantes regulables, enzimáticos (superóxido dismutasa, la catalasa, la GSH-peroxidasa, las quinonas reductasas y hemoxigenasa) y no enzimáticos (Se, Zn, vitaminas C y E y carotenoides) que son las encargados de evitar estos factores (Murillo, 2007). Estas defensas de respuestas; se desencadenan por factores biótico tales como patógenos, plagas y simbiontes, o por factores abióticos como alta o baja temperatura, radiación, salinidad, entre otros, y no necesariamente en condiciones que originan estrés (Benavides et al., 2009).

En las plantas una de las más rápidas reacciones de defensa al ataque por patógenos es la llamada explosión oxidativa, la cual constituye la producción de especies reactivas de oxigeno (ROS), principalmente •O²-y H₂O₂ en el sitio de invasión y para la eliminación del exceso de estas ROS la planta ha diseñado estrategias dependiendo del sitio donde se encuentren, existen dos mecanismos de acción a) enzimáticos encontrándose entre ellos las enzimas Catalasa, Peroxidasa, Superoxido Dismutasa y no enzimáticos como el ascorbato y el glutatión, así como los tocoferoles, los flavonoides, los alcaloides y los carotenoides que se encuentran en las plantas y constituyen una primera línea de defensa (Miranda y Castro, 2009).

La inducción de antioxidantes ocurre por el efecto prooxidante del selenio que, cuando se encuentra en baja concentración, induce la expresión del metabolismo redox que regula la eliminación de los radicales libres celulares (Hasanuzzaman *et al.*, 2010), sobre todo en el ámbito de la peroxidación de membranas y proteínas integrales (Xue y Hartikainen, 2000; Djanaguiraman *et al.*, 2005; Cartes *et al.*, 2005).

El papel de Se cómo un antioxidante en pastos sugiere que la adición al suelo puede mejorar la calidad del forraje, por la disminución de la senescencia y persistencia de la pastura (Cartes *et al.*, 2005). A bajas concentraciones, actúa como un antioxidante y puede estimular el crecimiento de las plantas, mientras que a mayores concentraciones, actúa como un pro-oxidante asi contribuye a la reducción del rendimiento. En un estudio realizado en Soya, promovió mayor número de hojas, longitud de brotes, área foliar por planta y producción total de

materia seca (Djanaguiraman *et al.*, 2005). En cuanto a la actividad antioxidante del té verde cosechado durante la temporada de primavera enriquecido con Se es mejor en comparación con el té regular (Xu *et al.*, 2003).

Numerosos estudios han demostrado que a bajas concentraciones de Se puede ejercer una funciones beneficas en las plantas, tales como la mejora de crecimiento, el retraso de la senescencia y la mejora del sistema antioxidante bajo irradiación UV, alta temperatura, desecación de semillas (Cartes *et al.*, 2005).

Estudios realizados indican que este elemento se asocia a cambios en el estado redox celular, esto a su vez se relaciona con la habilidad de las plantas para tolerar el estrés ambiental. El selenio es un constituyente esencial de un número de enzimas, algunos de los cuales tienen funciones antioxidantes (Raymond, 2002). Recientemente se ha demostrado que Se aumenta la capacidad antioxidante y la tolerancia al estrés de lechuga (*Lactuca sativa* L.) y ballico (*Lolium perenne* L.). En un estudio realizado aplicando Se en patatas los resultados sugirieron que el Se es un antioxidante o que activa los mecanismos de protección, que pueden aliviar el estrés oxidativo en los cloroplastos (Seppänen*et al.*, 2003).

Una de las más rápidas reacciones de defensa al ataque por patógenos es la llamada explosión oxidativa, la cual constituye la producción de ROS, principalmente •O₂- y H₂O₂ en el sitio de invasión. La generación de •O₂- ha sido identificada en un amplio rango de interacciones planta-patógeno que involucran bacterias, hongos y virus (Low y Merida, 1996). Este tipo de estrés también puede

ser provocado por insectos y nematodos, así como también por herbívoros (Miranda y Castro, 2009).

Se define estrés oxidativo como aquel tipo especial de estado bioquímico de una célula o tejido, que puede ocurrir en plazos cortos o largos, en donde la generación de especies químicas oxidantes rebasa la capacidad de producción o la actividad de especies antioxidantes. Dependiendo del nivel de estrés oxidativo alcanzado las plantas ven modificadas sus actividades metabólicas en mayor o menor medida. Esto ocurre porque el balance oxidación-reducción, además de cambiar la eficiencia de funcionamiento de muchas enzimas, también es capaz de modificar el perfil de genes expresados por la planta, generando entonces fenotipos que pudiéramos llamar orientados a la condición de estrés (Benavides, 2002).

El daño o estrés oxidativo se ha definido como la exposición de la materia viva a diversas fuentes que producen una ruptura del equilibrio que debe existir entre las sustancias o factores prooxidantes y los mecanismos antioxidantes encargados de eliminar dichas especies químicas, ya sea por un déficit de estas defensas o por un incremento exagerado de la producción de especies reactivas del oxígeno. Desde el punto de vista químico los radicales libres son todas aquellas especies químicas, cargadas o no, que en su estructura atómica presentan un electrón desapareado o impar en el orbital externo, dándole una configuración espacial que genera gran inestabilidad, señalizado por el punto situado a la derecha del símbolo (Venereo, 2002).

El estrés hídrico causa algunos cambios bioquímicos y fisiológicos no deseados en las plantas, disminuye significativamente el rendimiento biológico y el de semilla, especialmente en las etapas de floración y reduce el rendimiento en la canola (*Brassica napus* L.). El efecto más importante del estrés ambiental es la degradación de la membrana celular que disminuye la permeabilidad de membrana selectiva y aumenta la pérdida de electrolitos celulares (Zahedi *et al.*, 2012).

Por otra parte, existe también la posibilidad de incrementar la tolerancia de las plantas frente al estrés oxidativo utilizando las herramientas convencionales de mejoramiento genético o modificando las soluciones o mezclas fertilizantes, cambiando el entorno (luz, CO₂, composición del sustrato, temperatura, etc.). A este último grupo de técnicas se le llamará "aumento fenotípico" o no heredable en la tolerancia al estrés oxidativo (Benavides, 2002). La señalización celular es la liberación por parte de una célula de una sustancia o sustancias que transmiten información a otras células. La señalización es la base de la transducción de señales, el proceso por medio del cual las plantas perciben las señales de diversos factores ambientales y las trasmiten a la maquinaria celular para activar respuestas de modulación, adaptación y defensa.

El Ascorbato o vitamina C es el antioxidante más abundante en las plantas, se ha encontrado en todos los compartimentos subcelulares incluyendo el apoplasto (Cervilla *et al.*, 2007). Ortega *et al.*, 2007 mencionan que las enzimas antioxidantes Catalasa y Peroxidasa aumentan cuando se aplica quitosano durante el amarre y el llenado en frutos de tomate. El selenio en baja

concentración en las plantas da lugar a un aumento en la capacidad antioxidante, mientras que en mayor concentración causa el efecto contrario (Becvort *et al.*, 2012).

III: Artículo

APLICACIÓN DE SELENITO DE SODIO EN SEMILLAS Y PLÁNTULAS Y SU EFECTO EN EL ESTADO ANTIOXIDANTE

Application of Sodium Selenite in Seeds and Seedlings of Vegetables and Their Effect on Antioxidant Status

Martha Elena de los Santos-Vázquez¹, Adalberto Benavides-Mendoza^{1*}, Norma Angélica Ruiz-Torres², Rosalinda Mendoza-Villarreal¹, Luis Alonso Valdés-Aguilar¹, Silvia Yudith Martínez-Amador³

Departamento de Horticultura, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Buenavista, Saltillo, Coah. C.P. 25315 México.

² Centro de Capacitación y Desarrollo en Tecnología de Semillas, UAAAN.
 ³Departamento de Botánica, UAAAN
 *Autor para correspondencia, abenmen@gmail.com

RESUMEN

El selenio es un elemento aplicado en las plantas para mejorar la respuesta frente al estrés así como aumentar su contenido en las partes comestibles. El objetivo de este trabajo fue realizar aplicaciones de selenio en semillas y plántulas de melón, lechuga y tomate y verificar el efecto sobre el crecimiento, el estado antioxidante y la concentración de vitamina C de los tejidos fotosintéticos de las plántulas. El experimento constó de dos fases: en la primera se aplicó el selenio en 0, 0.1 y 1 mg L⁻¹ como pretratamiento de inmersión de las semillas y determinación posterior del peso fresco y seco, área foliar, potencial de oxidación-reducción (ORP) y contenido de vitamina C en las láminas foliares de las plántulas. En la segunda fase se aplicó el selenio en las plántulas en 0 y 2 mg L⁻¹ en la solución nutritiva y 0 y 5 mg L⁻¹ por aspersión foliar a los 15 y 30 días después de la siembra, midiendo las mismas variables de respuesta consideradas en la fase 1. Ambas formas de aplicación de selenio mostraron ser efectivas para modificar positivamente el estado antioxidante y el contenido de vitamina C de las plántulas. Al aplicarlo en la semilla, en la Fase 1, el selenio no causó modificaciones en el crecimiento salvo para el caso del melón, en cambio si modificó positivamente el estado antioxidante de la plántula y la concentración de

vitamina C en los tejidos fotosintéticos de las tres especies. El aporte de selenio a las plántulas por

el riego y por aspersión en la Fase 2, causó una mejora significativa en el estado antioxidante de

las plántulas y en la concentración de vitamina C en las láminas foliares en las tres especies,

mostrando solo pequeños cambios en las variables del peso fresco y seco y el área foliar.

Palabras clave: tomate, lechuga, melón, selenio, vitamina C.

SUMMARY

Selenium is an element applied in plants to improve the response to stress and to increase their

content in the edible parts. The aim of this study was to perform applications of selenium in seeds

and seedlings of melon, lettuce and tomato to verify the effect on growth, antioxidant status and

vitamin C concentration in photosynthetic tissues of seedlings. The experiment consisted of two

phases: in the first selenium was applied at 0, 0.1 and 1 mg L⁻¹ as pretreatment immersion of seeds

with the subsequent determination of fresh and dry weight and leaf area, the oxidation-reduction

potential (ORP) and concentration of vitamin C in the leaf blades of seedlings. In the second phase

the selenium was applied to the seedlings at 0 and 2 mg L⁻¹ in the nutrient solution and at 0 and 5

mg L⁻¹ as foliar spray at 15 and 30 days after seeding. In the second phase the same response

variables mentioned for the first phase were measured. Both forms of selenium application shown

to be effective to positively change the antioxidant status and the concentration of vitamin C of

seedlings. Selenium applied to the seeds in the first phase caused no changes in seedling growth

except for the case of melon; however the antioxidant status of the seedlings and the concentration

of vitamin C in photosynthetic tissues of the three species were positively modified with selenium

application. The application of selenium by irrigation and leaf spraying in the second phase caused

a significant improvement in the antioxidant status and in the concentration of vitamin C in the

leaves in the three species, showing only minor changes in the variables of fresh and dry weight,

and leaf area.

Index words: tomato, lettuce, melon, antioxidants, selenium, vitamin C.

INTRODUCCIÓN

16

El selenio (Se) es un elemento traza esencial para los animales y humanos. La fuente primaria de selenio es el consumo de formas orgánicas de Se contenidas en los diferentes órganos de las plantas, las cuales lo absorben primordialmente en forma inorgánica del suelo y del agua como selenato (Se⁶⁺) y selenito (Se⁴⁺) (Broadley *et al.*, 2006). En los suelos el selenio muestra gran variación en su contenido, si bien en los suelos agrícolas la disponibilidad es normalmente baja. Por ello se busca aportar el selenio como parte de los fertilizantes para los cultivos (Fordyce, 2005). Si bien la literatura menciona el uso de las aplicaciones de Se en plantas (Rayman, 2008; Becvort-Azcurra *et al.*, 2012), no encontramos información acerca del tratamiento de semillas y plántulas con Se. Por ello el objetivo de este trabajo fue realizar aplicaciones de selenio en semillas y plántulas de tres especies de hortalizas y verificar el efecto sobre el crecimiento, el estado antioxidante y la concentración de vitamina C de los tejidos fotosintéticos de las plántulas. Lo anterior bajo la hipótesis de que la aplicación de este elemento, tanto en las semillas como en las plántulas por aspersión o riego, modificará el balance redox celular, aumentando la capacidad antioxidante de los tejidos fotosintéticos de las plántulas.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo se llevó a cabo en el invernadero del Departamento de Forestal de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, en Saltillo, México, utilizando semillas de tomate Río Grande, melón Top Mark y lechuga Great Lakes. El procedimiento experimental se dividió en dos Fases. En la Fase 1 se aplicó selenio en concentraciones de 0, 0.1 y 1 mg L⁻¹ en forma de selenito de sodio (Sigma Aldrich, USA) en las semillas durante 2 h para la lechuga, 8 h para el tomate y 12 h para el melón; los tiempos indicados fueron obtenidos en una prueba preliminar que indicó la cantidad de horas necesarias para la máxima absorción de agua por las semillas. Posteriormente dichas semillas pretratadas se colocaron en contenedores de polietileno con 1 kg de sustrato de turba de musgo y perlita (70:30). En las plántulas obtenidas a los 45 dds (días después de la siembra) se determinó la biomasa fresca y seca con una balanza analítica Adventurer

Pro (OHAUS, Inc., USA); también se obtuvo el área foliar con un medidor Licor LI-3100C (LICOR, Inc., USA). Se realizó la determinación de vitamina C en las láminas foliares de una muestra de 6 plántulas por tratamiento usando el método de titulación (Padayatt *et al.*, 2001) y además se determinó el pH y el potencial de óxido-reducción (ORP) en el extracto fresco obtenido a partir de la molienda de los tallos y hojas de 6 plántulas por tratamiento, usando la técnica descrita por Benavides-Mendoza *et al.*, (2002) con un potenciómetro HI98185-01 (HANNA, Inc., USA).

En la Fase 2 se sembraron semillas de cada especie, sin pretratarlas con selenio, en macetas de polietileno de 2 kg utilizando como sustrato peat moss y perlita (70:30). Una vez emergidas las plántulas, se les aplicó los tratamientos de selenio que consistieron en 0 y 2 mg L⁻¹ de Se como selenito de sodio, vía sistema de riego a partir de los 15 días después de la siembra, así como aplicación por aspersión foliar a los 15 y 30 días después de la siembra usando 0 y 5 mg L⁻¹ de Se como selenito de sodio. En el laboratorio se realizaron los mismos análisis mencionados en la fase anterior, realizando los muestreos a los 30 días después de la siembra. El diseño estadístico fue en bloques completos al azar, con 6 repeticiones. El análisis de los datos se realizó con el programa SAS (SAS Institute, 2004).

RESULTADOS Y DISCUSION

Fase 1

El selenio aplicado en la semilla no causó cambios en el área foliar ni en el peso fresco y seco de las plántulas de tomate y lechuga pero si lo hizo para el peso fresco y seco del melón (Cuadro 1). Acerca de esta respuesta no encontramos en la literatura antecedentes de aplicación de selenio en semillas. Algunos autores como Becvort-Azcurra *et al.* (2012) y Xue *et al.* (2001) mencionaron que las concentraciones de hasta 2.5 mg L⁻¹ en la solución nutritiva de tomate y hasta de 0.1 mg

kg⁻¹ en el suelo para lechuga, tienen efectos positivos sobre el crecimiento de la planta. Para el caso de la lechuga se reportó que la concentración de 1 mg kg⁻¹ fue tóxica (Xue *et al.* 2001), sin embargo en nuestro estudio la aplicación de esta concentración de 1 mg L⁻¹ en las semillas no causó toxicidad, a pesar de la relativamente larga exposición a la solución con selenio.

En consideración al potencial de oxidación reducción (ORP) del extracto fresco de las plántulas, en ambas concentraciones de selenio al aplicarse en las semillas tuvieron un impacto positivo sobre dicha variable en las tres especies (Figura 1). Los valores de ORP indican la capacidad antioxidante, es decir, la capacidad de ceder electrones en comparación con un electrodo de hidrógeno (Benavides-Mendoza *et al.*, 2002). Mientras más bajo sea el valor de ORP mayor capacidad antioxidante. Este aumento en dicha capacidad posiblemente se relacione con una mayor actividad enzimática antioxidante, la cual se sabe aumenta en presencia de ciertas concentraciones de selenio (Freeman *et al.*, 2010).

Análogo a lo anterior fue el comportamiento positivo de la concentración de la vitamina C en las hojas de tomate y lechuga (Figura 2). Ramírez *et al.* (2010) mencionan que otros compuestos inductores de tolerancia, o inclusive algunos factores ambientales (Munné-Bosch *et al.* (2013) modifican positivamente la concentración de vitamina C. Es interesante considerar que la aplicación del selenio en las semillas logró modificar el contenido de vitamina C de las plántulas, indicando la posibilidad de usar el tratamiento de las semillas con este elemento para el manejo de la tolerancia al estrés en las plántulas.

Cuadro 1. Efecto de la aplicación de selenio en la semilla sobre el área foliar y la biomasa de plántulas (45 dds) de tomate, lechuga y melón.

F PF	PS	AF								
		AI	PF	PS	AF		PF		PS	
n^2 g	g	cm ²	G	g	cm ²		g		g	
.5 57.6	7.9	1884.3	109.2	10.3	854.1	a	46.9	c	5.2	b
2.5 49.4	6.9	1686.8	120.8	11.3	878.0	a	65.4	a	8.1	a
7.6 58.1	8.3	1772.1	101.6	8.5	922.6	a	57.6	b	9.0	a
7.2 55.0	7.7	1781.1	110.5	10.0	884.9		56.6		7.4	
3.1 15.2	2.0	899.2	37.1	2.9	72.6		6.7		1.0	
,	2.5 57.6 2.5 49.4 7.6 58.1 7.2 55.0	2.5 57.6 7.9 2.5 49.4 6.9 7.6 58.1 8.3 7.2 55.0 7.7	2.5 57.6 7.9 1884.3 2.5 49.4 6.9 1686.8 7.6 58.1 8.3 1772.1 7.2 55.0 7.7 1781.1	2.5 57.6 7.9 1884.3 109.2 2.5 49.4 6.9 1686.8 120.8 7.6 58.1 8.3 1772.1 101.6 7.2 55.0 7.7 1781.1 110.5	2.5 57.6 7.9 1884.3 109.2 10.3 2.5 49.4 6.9 1686.8 120.8 11.3 7.6 58.1 8.3 1772.1 101.6 8.5 7.2 55.0 7.7 1781.1 110.5 10.0	2.5 57.6 7.9 1884.3 109.2 10.3 854.1 2.5 49.4 6.9 1686.8 120.8 11.3 878.0 7.6 58.1 8.3 1772.1 101.6 8.5 922.6 7.2 55.0 7.7 1781.1 110.5 10.0 884.9	1.5 57.6 7.9 1884.3 109.2 10.3 854.1 a 2.5 49.4 6.9 1686.8 120.8 11.3 878.0 a 7.6 58.1 8.3 1772.1 101.6 8.5 922.6 a 7.2 55.0 7.7 1781.1 110.5 10.0 884.9	1.5 57.6 7.9 1884.3 109.2 10.3 854.1 a 46.9 2.5 49.4 6.9 1686.8 120.8 11.3 878.0 a 65.4 7.6 58.1 8.3 1772.1 101.6 8.5 922.6 a 57.6 7.2 55.0 7.7 1781.1 110.5 10.0 884.9 56.6	2.5 57.6 7.9 1884.3 109.2 10.3 854.1 a 46.9 c 2.5 49.4 6.9 1686.8 120.8 11.3 878.0 a 65.4 a 37.6 58.1 8.3 1772.1 101.6 8.5 922.6 a 57.6 b 37.2 55.0 7.7 1781.1 110.5 10.0 884.9 56.6	1.5 57.6 7.9 1884.3 109.2 10.3 854.1 a 46.9 c 5.2 2.5 49.4 6.9 1686.8 120.8 11.3 878.0 a 65.4 a 8.1 2.6 58.1 8.3 1772.1 101.6 8.5 922.6 a 57.6 b 9.0 2.2 55.0 7.7 1781.1 110.5 10.0 884.9 56.6 7.4

TRAT=Tratamiento; AF =Área foliar; PF= Peso fresco; PS=Peso seco. En caso del tomate y lechuga no presentaron diferencia según Tukey ($P \le 0.05$).

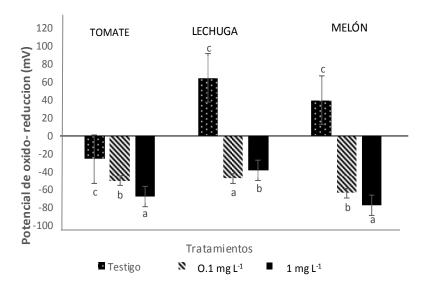


Figura 1. Potencial de óxido reducción (ORP en mV) en el extracto fresco de plántulas (45 dds) de tomate, lechuga y melón cuyas semillas fueron tratadas con selenio aplicado en forma de selenito de sodio. Las barras con la misma literal indican ausencia de diferencia según Tukey ($P \le 0.05$).

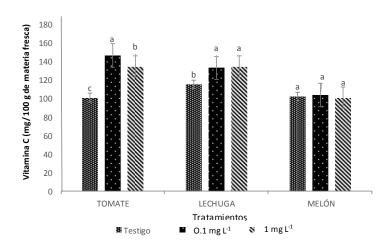


Figura 2. Vitamina C (mg/100 g peso fresco) en las láminas foliares de plántulas (45 dds) de tomate, lechuga y melón cuyas semillas fueron tratadas con selenio aplicado en forma de selenito de sodio. Las barras con la misma literal indican ausencia de diferencia según Tukey (P≤0.05).

Fase 2

En la Fase 2 la aplicación de selenio en las plántulas, tanto por medio de la solución nutritiva como por aspersión, no tuvo ningún efecto en el crecimiento de la lechuga, mientras que en el tomate y el melón solo causó cambios en el peso seco total y en el área foliar, respectivamente. En el tomate, el peso seco total se elevó de 39.3 g plántula⁻¹ a 47.5 g plántula⁻¹, al aplicarle 2 mg L⁻¹ de Se por el riego; en cambio, al aplicarlo por vía foliar el efecto del Se fue negativo, disminuyendo de 46.13 a 41.64 g plántula⁻¹. En el melón el área foliar fue afectada negativamente por la aplicación vía riego, disminuyendo de 3580.4 cm² plántula⁻¹ a 3,150.9 cm² plántula⁻¹. La aplicación por aspersión no causó ningún cambio en el crecimiento o el área foliar en el melón. Las cantidades aplicadas en el riego (2 mg L⁻¹) y por aspersión (5 mg L⁻¹) no son pequeñas, pero tampoco rebasan lo mencionado por Becvort-Azcurra *et al.* (2012) y Xue *et al.* (2001), quienes junto con Ramos *et al.* (2010) mencionan un impacto positivo del Se sobre el crecimiento. En cuanto a los resultados en las variables de potencial de óxido reducción (ORP) y de la concentración de vitamina C en las

láminas foliares de las plántulas (Figuras 3 y 4) la presencia de selenio modificó positivamente el estado antioxidante de las plántulas, medido como el ORP del extracto fresco, en las tres especies vegetales tal como se observó en la Fase 1. En el caso de la concentración de vitamina C en el tomate y el melón ocurrió la misma respuesta con los dos tipos de aplicación: solución nutritiva y aspersión, mientras que en la lechuga solo se observó una respuesta positiva al aplicar el selenio por medio del riego. Este efecto positivo del selenio sobre los antioxidantes en las plantas fue descrito por otros autores como Xu *et al.* (2003), Hajiboland y Amjad (2007), Ramos *et al.* (2010) y Becvort-Azcurra *et al.* (2012).

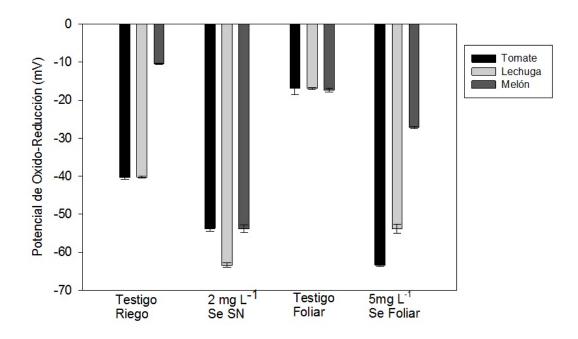


Figura 3. Potencial de óxido reducción (ORP en mV) en el extracto fresco de plántulas (30 dds) de tomate, lechuga y melón tratadas con selenio aplicado en forma de selenito de sodio por el riego o por aspersión foliar. Las barras con la misma literal indican ausencia de diferencia según Tukey ($P \le 0.05$).

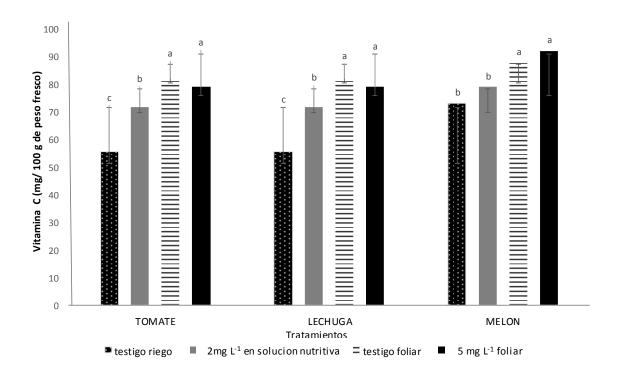


Figura 4. Vitamina C (mg/100 g de peso fresco) en las láminas foliares de plántulas (30 dds) de tomate, lechuga y melón tratadas con selenio aplicado en forma de selenito de sodio por el riego o por aspersión foliar. Las barras con la misma literal indican ausencia de diferencia según Tukey (P≤0.05).

CONCLUSION

Ambas formas de aplicación de selenio mostraron ser efectivas para modificar el estado antioxidante y el contenido de vitamina C de las plántulas. Al aplicarlo en la semilla, el selenio no causó modificaciones en el crecimiento salvo para el caso del melón, en cambio modificó positivamente el estado antioxidante de la plántula y la concentración de vitamina C en los tejidos fotosintéticos de las tres especies. El aporte de selenio a las plántulas por el riego y por aspersión causó una respuesta positiva en el estado antioxidante y en la concentración de vitamina C en las tres especies, mostrando solo pequeños cambios en las variables del peso fresco y seco y el área foliar.

LITERATURA CITADA

- Becvort-Azcurra, A., L. O. Fuentes-Lara, A. Benavides-Mendoza, H. Ramírez, V. Robledo-Torres y M. N. Rodríguez-Mendoza, 2012. Aplicación de selenio en tomate: crecimiento, productividad y estado antioxidante del fruto. Terra Latinoamericana 30:291-301.
- Benavides-Mendoza, A., H. Ramírez, V. Robledo-Torres, E. Cornejo-Oviedo and R.K. Maiti. 2002. Productivity, CO₂ assimilation, and mineral tissue concentrations in onion plants under colored plastic films. Crop Research 24:26-39.
- Broadley M. R., P. J. White M., R. J. Bryson, M. C. Meacham, H. C. Bowen, S. E. Johnson, M. J. Hawkesford, S. P. McGrath, F. J. Zhao, N. Breward, M. Harriman and M.Tucker. 2006. Biofortification of UK food crops with selenium. Proceedings of the Nutrition Society 65:169-181.
- Fordyce, F. 2005. Selenium deficiency and toxicity in the environment. pp. 373-415. In: O. Selinus, B. Alloway, J. Centeno, R. Finkelman, R. Fuge, U. Lindh, and P Smedley (Eds.). Essentials of Medical Geology. Elsevier. Amsterdam, The Netherlands
- Freeman J.L., M. Tamaoki, C. Stushnoff, F. Colin, J. Cappa, D., F. Sirine, M. Matthew, S. McGrath, H. Doug Van and E. A.H. Pilon-Smits. 2010. Molecular mechanisms of selenium tolerance and hyperaccumulation in *Stanleya pinnata*. Plant Physiology 153:1630-1652.
- Hajiboland R., y L. Amjad. 2007. Does antioxidant capacity of leaves play a role in growth response to selenium at different sulfur nutritional status?. Plant and Soil Environment 53:207-215.
- Munné-Bosch S., G. Queval, and C. H. Foyer. 2013. The impact of global change factors on redox signaling underpinning stress tolerance Plant Physiology 161:5-19.
- Padayatt, S. J., R. Daruwala, Y. Wang, P. K. Eck, J. Song, W. S. Koh and M. Levine. 2001. Vitamin C: from molecular actions to optimum intake. *In*: E. Cadenas, L. Packer (eds.). Handbook of Antioxidants. 2nd edition. CRC Press. Washington DC, USA. pp. 117-145.
- Ramírez, H., C.E. Rivera-Cruz, A. Benavides-Mendoza, V. Robledo-Torres and G. Reyna-Sustaita. 2010. Prohexadiona-ca, una alternativa en la producción de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.). Revista Chapingo Serie Horticultura 16:139-146.
- Ramos, S.J., V. Faquin, L.R.G. Guilherme, E.M. Castro, F.W. Ávila, G.S. Carvalho, C.E.A. Bartos and C. Oliveira. 2010. Selenium biofortification and antioxidant activity in lettuce plants fed with selenate and selenite. Plant and Soil Environment 56:584-588.
- Rayman, M. P. 2008. Food-chain selenium and human health: emphasis on intake. British Journal of Nutrition 100: 254-268.
- Xu, J., S. Zhu, F. Yang, L. Cheng, Y. Hu, G. Pan and Q. Hu. 2003. The influence of selenium on the antioxidant activity of green tea. Journal of the Science of Food and Agriculture 83:451-455.
- Xue T., H. Hartikainen and V. Piironen. 2001. Antioxidative and growth-promoting effect of selenium on senescing lettuce. Plant and Soil 237:55-61.

IV. CONCLUSIONES GENERALES

La adición de selenio de manera exógena propicio un aumento en el potencial de óxidoreducción de las plántulas de tomate, lechuga y melón, así como también el aumento de
vitamina C en las láminas foliares de las plántulas de estos tres cultivos, pudiendoasí
tomar a este metaloide como una alternativa para la mejora nutricional de estas especies
de hortalizas.

V. LITERATURA CITADA

- Arvy, M.P. 1982. Translocation of Selenium in the Bean Plant (*Phaseolus vulgaris*) and the Field Bean (*Vicia faba*). Physiol. Plant. 56:299-302.
- Arvy, M.P. 1993. Selenate and Selenite Uptake and Translocation in Bean Plants (*Phaseolus vulgaris*).J. Exp. Bot. 44:1083-1087.
- Bañuelos G.S. and Mayland H.F. 2000. **Absorption and Distribution of Selenium in Animals Consuming Canola Grown for Selenium Phytoremediation.** Ecotox. Env. Saf. 46:322-8.
- Benavides-Mendoza, R. Mendoza Villarreal., H. Ortega-Ortiz, H. Ramírez, Fuentes L. L.O.2002. Aplicación Exógena de Inductores de Tolerancia y su Efecto en la Actividad Enzimática Antioxidante en Frutos de Tomate. Congreso Nacional de Fitogenética. Saltillo, Coah., 1 al 5 de septiembre del 2002. p. 72. ISBN 968-839-314-2.
- Benavides-Mendoza., H. Ramírez, Fuentes L. L.O.2009. **Antioxidantes en las Plantas: Algunos Factores Edáficos y Ambientales que los Modifican.**Fecha de Consulta: 25 de noviembre de 2013. Disponible en línea en: http://www.abenmen.com/a/antioxidantes.pdf.
- Becvort-Azcurra, A., L. O. Fuentes-Lara, A. Benavides-Mendoza, H. Ramírez, V. Robledo-Torres y M. N. Rodríguez-Mendoza. 2012. **Aplicación de Selenio en Tomate:**Crecimiento, Productividad y Estado Antioxidante del Fruto. Terra Latinoamericana 30:291-301.
- Byrne, S.L., K. Durandeau, I. Nagy and S. Barth. 2010. **Identification of ABC Transporters from Lolium perenne L. that are Regulated by Toxic Levels of Selenium.**Planta 231:901-911.

- Broadley M. R., White M., P. J., Bryson R. J., Meacham M. C., Bowen H. C., Johnson S. E., Hawkesford M. J., McGrath S. P., Zhao F. J., Breward N., Harriman M. and Tucker M., 2006. **Biofortification of UK food crops with selenium**. Proceedings of the Nutrition Society. 65: 169-181.
- Cartes P., Gianfreda L. and Mora M.L. 2005. **Uptake of Selenium and its Antioxidant Activity in Ryegrass when Applied as Selenate and Selenite Forms.** Plant and Soil 276:359–367.
- Cervilla L. M., Begon A., J. R. J., Romero L. and Ruiz J.M. 2007. Oxidative Stress and Antioxidants in Tomato (*Solanum lycopersicum*) Plants Subjected to Boron Toxicity. Annals of Botany100: 747–756.
- Cruz J. G, Yáñez B. E, Gutiérrez V. G., Bernal. A. J, Durán. C. E, Figueroa. G. S, Gardea. T. J., Y De la Rosa. A. M.2011. Investigación de la Biotransformación de Se en Tejidos de Phaseolus Vulgaris. Mediante Espectroscopia de Absorción de Rayos X. Acta Universitaria. Universidad de Guanajuato. 21 (4). 48-54.
- Djanaguiraman M., Durga Devi D., K. Shanker Arun, Annie Sheeba J. And Bangarusamy U.2005. **Selenium an Antioxidative Protectant in Soybean During Senescence.** Plant and Soil 272: 77–86.
- Fordyce. F., 2005. **Selenium Deficiency and Toxicity in the Environment.** Essentials of Medical Geology, Chap. 15, pp. 373–415 [O Selinus, B Alloway, J Centeno, R Finkelman, R Fuge, U Lindh and P Smedley, editors]. Elsevier, London.
- Grattan, S.R., C. Shennan, D.M. May, J.P. Mitchell and R.G. Burau. 1987. **Use of Drainage Water for Irrigation of Melons and Tomatoes.** California Agric. September-October:27-28.
- Hartikainen, H., T. Xue and V. Piironen. 2000. **Selenium as an Antioxidant and Pro-Oxidant in Ryegrass.** Plant Soil 225: 193-200.
- Hasanuzzaman, M., M. A. Hossain, and M. Fujita. 2010. Selenium in Higher Plants: Physiological Role, Antioxidant Metabolism and Abiotic Stress Tolerance.J. Plant Sci. 5:354-375.

- Hossein Zahedi, A. Hossein Shirani-Rad, H. Reza Tohidi-Moghadam2012. **Zeolite And Selenium Application And Their Effects On Production And Physiological Attributes Of Canola Cultivars Under Water Stress.** Agrociencia 46: 489-497.
- Hurtado. J. R. y Gardea. T. J. 2007. Evaluación de la Exposición a Selenio en los Altos de Jalisco, México. Salud Pública Mex;49:312-315.
- Mateja G. and Vekoslava S.2007. **Selenium and Plants.** Acta Agriculturae Slovenic. 89pp.
- Miranda. H. M* y Castro. C. L.2009. **El estrés Oxidativo en Plantas.** Unidad de Bioquímica y Biología Molecular.
- Murillo E., Lombo O. Tique M. y Méndez J. J.2007. **Potencial Antioxidante de Bauhinia** *KalbreyeriHarms* (FABACEAE). Información Tecnológica. 18 (6): 65-74 p.
- Pezzarossa, B., D. Piccotino, C. Shennan and F. Malorgio. 1999. **Uptake and Distribution of Selenium in Tomato Plants as Affected by Genotype and Sulphate Supply.** J. Plant Nutr. 22:1613-1635.
- Ramírez B. J.E., Tórtora J.L., Huerta M., Hernández L.M., López R., Crosby M.M.2005. Effect of Selenium-Vitamin E Injection in Selenium-Deficient Dairy Goats and Kids on the Mexican Plateau. Arg. Bras. Med. Vet. Zootec., 57 (1):77-84.
- Raymond P.M.2005. Selenium in Cancer Prevention: A Review of the Evidence and Mechanism of Action. Proceedings of the Nutrit. Soc. 64, 527–542.
- Seppänen M., Turakainen M., Hartikainen H. 2003. **Selenium Effects on Oxidative Stress In Potato.** Plant and science. 165 (2):311-319.
- Terry N., A. M. Zayed, M. P. de Souza, and A. S. 2000. **Selenium in Higher Plants.** Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 51:401–32.
- Turakainen, M., H. Hartikainen and M. M. Seppanen. 2004. Effects of Selenium Treatments on Potato (*Solanum tuberosum* L.) Growth and Concentrations of Soluble Sugars and Starch. J. Agric. Food Chem. 52: 5378-5382.

- Valdiviezo M. L. 2012. Diseño y Caracterización de Microcapsulas de Seleniometionina. Tesis Maestría Recursos Genéticos y Productividad en Ganadería. Colegio de Postgraduados. Montecillos, Texcoco México D.F. 70 p.
- Venereo Gutiérrez J. 2003. **Daño Oxidativo, Radicales Libres Y Antioxidantes.** Rev Cubana Med Milit.31(2):126-33
- Werner Jaffé. 1992. **Selenio, un Elemento Esencial y Tóxico.Datos de Latinoamérica.**Archivos Latinoamericanos de Nutrición. Órgano Oficial de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición. 42 (90-93).
- Xu J., Yang F., Licheng C., Hu Y., y Hu Qiuhui. 2003. Effect of Selenium on the Increased Antioxidant Activity of Tea Leaves Harvested During the Early Spring Season Tea Production. J. Agric. Food Chem., 51 (4): 1081-1084.
- Xue T., H. Hartikainen and V. Piironen. 2001. **Antioxidative and Growth-Promoting Effect** of Selenium on Senescing Lettuce. Plant and Soil. 237:55-61.
- Zhao, X.Q., N. Mitani, N. Yamaji, R.F. Shen, J.F. Ma. 2010. **Involvement of Silicon Influx Transporter OsNIP2: 1 in Selenite Uptake in Rice.**Plant Physiol. 153:1871-1877.
- Zayed, A. C.M. Lytle and N. Terry. 1998. Accumulation and Volatilization of Different Chemical Species of Selenium by Plants. Planta 206:284-292.