



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas

Doctorado en Ciencias en Recursos Naturales y Medio Ambiente
en Zonas Áridas

BIOFORTIFICACIÓN, BIOACUMULACIÓN E INTERACCIÓN DEL SELENIO EN LA PLANTA FRIJOL (*Phaseolus vulgaris* L.) VARIEDAD PINTO SALTILLO

TESIS

Que como requisito parcial
para obtener el grado de:

DOCTOR EN CIENCIAS EN
RECURSOS NATURALES Y MEDIO AMBIENTE
EN ZONAS ÁRIDAS

Presenta:

MA. ELIZABETH AZPILCUETA PÉREZ

Bajo la supervisión de: AURELIO PEDROZA SANDOVAL, Dr.

Bermejillo, Durango, México.
Abril 2021



APROBADA



inifap

Instituto Nacional de Investigaciones
Forestales, Agrícolas y Pecuarias

La presente tesis de Doctorado titulada “**Biofortificación, bioacumulación e interacción del selenio en la planta frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) variedad pinto Saltillo**” fue realizada por la **M.C. Ma. Elizabeth Azpilcueta Pérez**, bajo la dirección del **Dr. Aurelio Pedroza Sandoval** y co-dirección del **Dr. Ignacio Sánchez Cohen**, ha sido revisada y Aprobada por el Comité Asesor como requisito parcial para obtener el grado de:

**DOCTOR EN CIENCIAS EN RECURSOS NATURALES Y MEDIO AMBIENTE
EN ZONAS ÁRIDAS**

Dr. Aurelio Pedroza Sandoval



Director

Dr. Ignacio Sánchez Cohen



Co-Director

Dr. Ricardo Trejo Calzada



Asesor

Dr. José Alfredo Samaniego Gaxiola



Lector externo

Bermejillo, Durango. Abril del 2021.

CONTENIDO

INDICE DE CUADROS.....	iv
ABREVIATURAS USADAS.....	v
DEDICATORIAS.....	vii
AGRADECIMIENTOS.....	viii
DATOS BIOGRÁFICOS.....	ix
RESUMEN GENERAL.....	x
ABSTRACT.....	xi
CAPITULO I.....	1
1. PRESENTACIÓN.....	1
2. OBJETIVOS.....	3
2.1 OBJETIVO GENERAL.....	3
2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	3
3.- HIPOTESIS.....	3
4. LITERATURA CITADA.....	4
CAPITULO II.....	6
APLICACIÓN FOLIAR DE SELENIO COMO NUTRIENTE QUE MEJORA EL RENDIMIENTO Y CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DE GRANOS DE FRIJOL (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.).....	6
RESUMEN.....	6
ABSTRACT.....	7
INTRODUCCIÓN.....	8
MATERIALES Y MÉTODOS.....	10

Ubicación geográfica del área	10
Diseño experimental y de tratamientos	10
Variables respuesta.....	11
Análisis de datos.....	12
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	13
CONCLUSIONES.....	19
AGRADECIMIENTOS.....	19
LITERATURA CITADA.....	20
CAPITULO III.....	24
APLICACIÓN FOLIAR DE SELENIO EN FRIJOL: SU RESPUESTAS EN PIGMENTOS FOTOSINTÉTICOS, ANITIOXIDANTES, PEROXIDASA Y MICRONUTRIENTES	24
RESUMEN	24
ABSTRACT	25
INTRODUCCIÓN.....	26
MATERIALES Y MÉTODOS	28
Ubicación geográfica del área	28
Diseño experimental y de tratamientos	28
Variables medidas.....	29
Análisis de datos.....	31
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	31
CONCLUSIONES.....	38
AGRADECIMIENTOS	38
LITERATURA CITADA.....	39

INDICE DE CUADROS

CUADRO	PÁGINA
CAPITULO II	
Cuadro 1 . Respuesta del área foliar a diferentes formas químicas y concentraciones de selenio en dos etapas de desarrollo fenológico del frijol (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.).....	14
Cuadro 2. Efecto de diferentes formas químicas y concentraciones de Selenio (Se) en los atributos morfológicos de la semilla del frijol (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.).....	15
Cuadro 3. Efecto de la suplementación de diferentes formas químicas y dosis de selenio en atributos morfológicos de la semilla de frijol (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.)	17
Cuadro 4. Efecto de diferentes formas químicas y concentraciones de Selenio en diferentes componentes del rendimiento y calidad de la semilla del frijol (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.).....	18
CAPITULO III	
Cuadro 5. Concentración de pigmentos en el follaje de la planta frijol sujetas a tratamientos con selenio.....	32
Cuadro 6. Actividad antioxidante total y enzimática de peroxidasa en el grano de frijol, cosechado de plantas sujetas a tratamiento con selenio (Se)	35
Cuadro 7. Contenido de minerales en el grano de frijol, cosechado de plantas sujetas a tratamiento con selenio.....	37

ABREVIATURAS USADAS

%	por ciento
°C	grados centígrados
µg	microgramo
µg m ⁻²	microgramo por mililitro
AAT	Actividad Antioxidante Total
AF	Área foliar
AS	Área Superficial
B	boro
BCA	Bloques Completos al Azar
Ca	calcio
CaNO ₃	nitrateo de calcio
CDRSSA	Centro de Estudios para el Desarrollo Rural Sustentable y la Soberanía Alimentaria
Clo A	Clorofila A
Clo B	Clorofila B
Cu	cobre
dds	días después de siembra
Dg	Diámetro geométrico
DPPH	2,2-difenil-1-picrylhydrazyl
FAO	Food and Agriculture Organization
Fe	hierro
FIRA	Fideicomisos Instituidos en Relación con la Agricultura
g	gramo
h	horas
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogeno
ha-1	hectárea
K ₂ HPO ₄	fosfato di potásico
K	potasio
L	Longitud
m ²	metro cuadrado
Mg	magnesio

mg L ⁻¹	miligramo por litro
min	minutos
ml	mililitro
mm	milímetros
mm ³	milímetro cubico
Mn	manganeso
N ₂ (l)	nitrógeno liquido
Na ₂ SeO ₃	selenito
Na ₂ SeO ₄	selenato
NaClO	Hipoclorito de Sodio
Θ	esfericidad
P	Fosforo
p.f.	peso fresco
POX	Actividad Peroxidasas
Ra	Relación aspecto
SAGARPA	Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación
Se	selenio
SeCis	Selenocisteinas
SeMet	Selenometionina
SeO ₂	dióxido de Selenio
SIAP	Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
T	espesor
TEAC	Capacidad Antioxidante Trolox Equivalente
ton	toneladas
UE	Unidades Experimentales
V	volumen
W	ancho
Zn	zinc
ΔDO min ⁻¹	cambio de absorbancia por minuto
π	pi

DEDICATORIAS

A Dios.

Por permitirme llegar en este tiempo y espacio. Mil gracias por tu infinita bondad y amor.

A mis padres.

Por haberme apoyado en todo momento, por sus consejos, sus valores, por la motivación constante y sobre todo por seguir brindándome su infinito amor desde el cielo.

A mis hijos.

Mis grandes milagros José Fidel y Jesús Emmanuel que son y serán lo más importante en mi vida. Sin duda alguna hoy he dado un paso importante en mi vida, espero algún día ser su ejemplo para que logren sus metas y sueños.

A mi esposo.

Gracias por tanto.

A mis amigos

Alejandra, Noé, Oscar y Gabriel, por el apoyo mutuo en nuestra formación profesional.

AGRADECIMIENTOS

Al director de la presente investigación Dr. Aurelio Pedroza Sandoval por su orientación, paciencia, colaboración y por compartir sus conocimientos para desarrollar el presente proyecto.

Un agradecimiento especial a la M.C. María del Rosario Jacobo Salcedo por su tiempo, su apoyo incondicional, su paciencia y compartirme sus conocimientos.

A todas aquellas personas que conforman el Postgrado de Doctorado en Ciencias en Recursos Naturales y Medio Ambiente en Zonas Áridas. Gracias por haberme permitido formar parte de su equipo.

A la Universidad Autónoma Chapingo y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por su apoyo y patrocinio en la realización de la presente investigación.

“La dicha de la vida consiste en tener siempre algo que hacer, alguien a quien amar y alguna cosa que esperar”.

Thomas Chalmers

DATOS BIOGRÁFICOS

El presente trabajo fue realizado por Ma. Elizabeth Azpilcueta Pérez, Lic. Químico Farmacéutico Biólogo, título obtenido en la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Juárez del Estado de Durango, generación 2006 – 2011. Cédula profesional: 7907879.

Los estudios de maestría los realizó en el Programa en Recursos Naturales y Medio Ambiente en Zonas Áridas (RNyMAZA) en URUZA-UACH, generación 2013-2014. Cédula profesional: 11677251. Asimismo, durante el periodo Agosto- Noviembre del 2014, desarrolló una estancia de investigación en el Department of Agricultural and Biosystems Engineering perteneciente a la University of Arizona, en Tucson Arizona..

Desarrollo científico

- Participación como autora de los artículos:

Calidad química del agua en un área agrícola de maíz forrajero (*Zea mays* L.) en la comarca lagunera, México. Rev. Int. Contam. Ambie. 33 (1) 75-83, 2017.

DOI: 10.20937/RICA.2017.33.01.07.

Chemical residuality in maize (*Zea mays* L.) fields irrigated with deep well water. Ecosist. Recur. Agropec. 5 (13):111-117, 2018. DOI: 10.19136/era.a5n13.1311

- Participación como ponente en el X, XIII, XV y XVI Congreso Nacional sobre Recursos Bióticos de Zonas Áridas desarrollados en el 2014, 2017, 2019 y 2020, respectivamente.

RESUMEN GENERAL

Fertilización, bioacumulación e interacción del selenio en la planta frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) variedad pinto Saltillo

La fertilización vía foliar en las plantas ha logrado ser una herramienta de gran utilidad que permite incorporar de forma inmediata los nutrimentos esenciales corrigiendo el déficit de nutrientes que no se logra cubrir con la fertilización edáfica, problemas de origen fitopatológico, aumenta la calidad del producto y optimiza el rendimiento de cosecha. El elemento Selenio (Se) juega un papel importante en la fisiología de las plantas, en concentraciones bajas el selenio tiene efectos positivos sobre el desarrollo, crecimiento y rendimiento de la planta. La calidad de los alimentos es de vital importancia debido a que de estos obtenemos los nutrimentos que requerimos para un correcto funcionamiento. El cultivo y producción de frijol en una alternativa factible para mejorar la calidad alimentaria, en donde se aborden los contextos nutrimentales de este grano. El objetivo del presente estudio fue determinar la respuesta fisiológica del cultivo de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) variedad pinto Saltillo a la adición de selenito (Na_2SeO_3), dióxido de selenio (SeO_2) y selenato (Na_2SeO_4) a las concentraciones de 5, 10 y 20 mg L⁻¹, bajo condiciones de invernadero. Se evaluaron las características físicas del grano (ancho, longitud, diámetro, espesor, esfericidad, relación aspecto, volumen y área superficial), Área foliar durante la etapa de madurez y llenado de grano, peso total de semillas por planta, peso de semillas vanas por planta, peso de cien semillas, % de semillas dañadas, concentración de pigmentos (Clorofila A, Clorofila B y carotenos durante la etapa de floración y llenado de grano), actividad enzimática de peroxidasas, actividad antioxidante total y contenido de nutrientes (Ca, Cu, Mg, Mn y Fe) en el cultivo de frijol. Los datos se analizaron mediante un análisis de varianza y prueba de rango múltiple de medias Tukey ($P \leq 0.05$) mediante uso del software estadístico SPSS Versión 18.0.0 (Inc. Chicago IL, USA). Los datos mostraron diferencia significativa entre tratamientos en las características físicas del grano, área foliar, peso total de semillas por planta, peso de cien semillas, concentración de pigmentos, Actividad enzimática de peroxidasas y nutrientes (Ca y Cu).

Palabras clave: Biofortificación foliar, Selenio, productividad, toxicidad.

Tesis de Doctorado en Ciencias en Recursos Naturales y Medio Ambiente en Zonas Áridas, Universidad Autónoma Chapingo.

Autor: Ma. Elizabeth Azpilcueta Pérez.

Director de Tesis: Dr. Aurelio Pedroza Sandoval

ABSTRACT

Biofortification, bioaccumulation and interaction of selenium in the bean plant (*Phaseolus vulgaris* L.) variety pinto Saltillo

Foliar fertilization in plants has become a very useful tool that allows the immediate incorporation of essential nutrients, correcting the nutrient deficit that cannot be covered with edaphic fertilization, problems of phytopathological origin, increases the quality of the product and optimizes harvest performance. The element Selenium (Se) plays an important role in the physiology of plants, in low concentrations selenium has positive effects on the development, growth and performance of the plant. The quality of food is of vital importance because from these we obtain the nutrients that we require for proper functioning. The cultivation and production of beans is a feasible alternative to improve food quality, where the nutritional contexts of this grain are addressed. The objective of the present study was to determine the physiological response of the bean crop (*Phaseolus vulgaris* L.) variety pinto Saltillo to the addition of selenite (Na_2SeO_3), selenium dioxide (SeO_2) and selenate (Na_2SeO_4) at concentrations of 5, 10 and 20 mg L⁻¹, under greenhouse conditions. The physical characteristics of the grain (width, length, diameter, thickness, sphericity, aspect ratio, volume and surface area), foliar area during the stage of maturity and grain filling, total weight of seeds per plant, weight of empty seeds were evaluated. per plant, weight of one hundred seeds, % of damaged seeds, pigment concentration (Chlorophyll A, Chlorophyll B and carotenes during the flowering and grain filling stage), enzymatic activity of peroxidases, total antioxidant activity and nutrient content (Ca, Cu, Mg, Mn and Fe) in the bean crop. Data were analyzed by means of an analysis of variance and Tukey's multiple range test of means ($P \leq 0.05$) using the statistical software SPSS Version 18.0.0 (Inc. Chicago IL, USA). The data showed a significant difference between treatments in the physical characteristics of the grain, leaf area, total weight of seeds per plant, weight of one hundred seeds, concentration of pigments, enzymatic activity of peroxidases and nutrients (Ca and Cu).

Key words: Foliar biofortification, Selenium, productivity, toxicity.

Doctoral Thesis, Posgraduate in Recursos Naturales y Medio Ambiente en Zonas Áridas, Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas, Universidad Autónoma Chapingo.

Author: Ma. Elizabeth Azpilcueta Pérez.

Advisor: Aurelio Pedroza Sandoval, Ph. D.

CAPITULO I

1. PRESENTACIÓN

El frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) es la especie de leguminosas con mayor importancia para el consumo humano debido a que poseen semillas comestibles aportando un alto contenido proteico y minerales esenciales, especialmente en Centroamérica y Sudamérica (Delgado et al., 2013). La producción mundial de frijol creció a una tasa promedio anual de 5.9% entre 2013 y 2017, para ubicarse en 31.4 millones de toneladas (FIRA, 2019). En el año 2017, los principales países productores de frijol fueron: India (20.3%), Myanmar (17.4 %), Brasil (9.7 %), Estados Unidos (5.2%), China (4.2%) y México (3.8%) (FIRA, 2019).

El frijol por crecer bajo casi todas las condiciones de suelo y clima, se cultiva en las 32 entidades federativas de México; sin embargo, los principales productores son los estados de: Zacatecas, Sinaloa, Durango, Chiapas, Chihuahua, Nayarit y San Luis Potosí (SAGARPA, 2015). De acuerdo a datos extraídos de la plataforma SIAP, en el año 2020 la producción de frijol fue la siguiente: Zacatecas (442 mil ton), Durango (235 mil ton), Chiapas (61 mil ton), Sinaloa (141 mil ton), San Luis Potosí (45 mil ton), Guanajuato (46 mil ton) y Nayarit (101 mil ton); ubicando así a los estados de Zacatecas y Durango como los principales productores de frijol.

Las clases primordiales de frijol que se producen y comercializan en Durango son: pinto, negro, flor de mayo y canario (garbancillo). En la región norte de México, los estados de Nuevo León y Durango, así como la región de la Comarca Lagunera tienen una mayor preferencia al consumo del frijol pinto (FIRA, 2015; CEDRSSA, 2020). Colateralmente se registró en el 2015, que la producción de frijol generada por el sistema predominante (temporal), es tres veces menos productivo que el de riego. Adicionalmente, mediante la fertilización al frijol se

podría inducir mayor tolerancia a sus estreses, lo cual se vería reflejado en el incremento de su rendimiento aún en cultivo de temporal.

El grano del frijol es de suma importancia en la alimentación de población, por sus cualidades nutritivas, su variedad y contenido proteico, sobre todo en países donde el poblamiento es de bajos recursos (Suárez-Martínez et al., 2015; Fernández & Sánchez, 2017). Las propiedades nutraceuticos del frijol se relacionan con su alto contenido proteico y en menor medida a su aportación de carbohidratos, vitaminas y minerales. Dependiendo del tipo de frijol, por cada 100 g se obtiene un contenido de proteínas de 20 a 24 g, grasa 0.53 a 1.5 g, fibra de 12 a 22 g y carbohidratos de 37 a 50 g; además de minerales como Fe, Mg, P, K, Zn y Cu (FAO, 2016).

El selenio es un elemento de suma importancia debido a que cumple funciones fisiológicas en humanos, plantas y animales (Garduño & Márquez, 2018). El selenio es un nutriente benéfico para las plantas por su relación a la respuesta favorable en el crecimiento, dicho efecto se observa en brotes de tomate (Alves et al., 2019), rendimiento de tomate (Hernández-Hernández et al., 2019), y mayor productividad en la planta de olivo (Tedeschini et al., 2015). El selenito (Na_2SeO_3), Selenato (Na_2SeO_4) o compuestos orgánicos de Selenio como la Selenocisteina (SeCis) y Selenometionina (SeMet) son las principales formas en que la planta toma este elemento (Ros et al., 2016).

La disponibilidad de los micros y macro nutrientes no siempre se tiene en las proporciones o concentraciones necesarias, es por ello que se ha empleado una herramienta agronómica que permite mejorar la calidad nutricional de los cultivos como lo es la biofortificación. Esta es una estrategia convencional para mejorar la seguridad alimentaria y nutricional en las poblaciones en desarrollo, tomando en cuenta alimentos básicos como el frijol, ya que es importante por su alta demanda en el consumo humano. Es por ello, que el objetivo del presente trabajo es determinar la respuesta fisiológica y acumulación de tres formas químicas de

Se (Na_2SeO_3 , SeO_2 y Na_2SeO_4) a concentraciones (5, 10 y 20 mg L^{-1}) en la planta frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) variedad pinto Saltillo.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar la respuesta fisiológica del cultivo de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) variedad Pinto Saltillo a la adición de selenito (Na_2SeO_3), dióxido de selenio (SeO_2) y selenato (Na_2SeO_4) a las concentraciones de 5, 10 y 20 mg L^{-1} , bajo condiciones de invernadero.

2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

1. Evaluar el efecto del Selenio administrado vía foliar en las formas químicas de Na_2SeO_3 , SeO_2 y Na_2SeO_4 en concentraciones de 5, 10 y 20 mg L^{-1} en las características físicas del grano: peso total de semillas por planta, peso de cien semillas y % de semillas dañadas en el cultivo de frijol.
2. Evaluar dicho efecto del Selenio, en la concentración de pigmentos (Clorofila A, Clorofila B, carotenos y pigmentos totales), actividad enzimática de peroxidasas, actividad antioxidante total y contenido de nutrientes (Ca, Cu, Mg, Mn y Fe) en el cultivo de frijol.

3.- HIPOTESIS

La fertilización con Se vía foliar no tiene impacto en las características morfométricas, nutrientes (y rendimiento del grano de frijol, (*Phaseolus vulgaris* L.) variedad pinto Saltillo.

4. LITERATURA CITADA

- Alves, L. R., Rossatto, D. R., Rossi, M. L., Martinelli, A. P., & Gratão, P. L. (2019). Selenium improves photosynthesis and induces ultrastructural changes but does not alleviate cadmium-stress damages in tomato plants. *Protoplasma*. doi:10.1007/s00709-019-01469-
- CEDRSSA. (2020). Mercado de frijol, situación y perspectiva. En línea: <http://www.cedrssa.gob.mx/files/b/13/53Mercado%20del%20frijol.pdf>
- Delgado, H., Pinzón, E.H., Blair, M. & Izquierdo P.C. (2013). Evaluación de líneas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) de retrocruce avanzado entre una accesión silvestre y radical cerinza. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica* 16 (1):79 – 86.
- Fernández, A. F. & Sánchez, E. (2017). Estudio de las propiedades físico químicas y calidad nutricional en distintas variedades de frijol consumidas en México *Nova Scientia*, 18(9):133-148.
- FAO. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación. (2016). Legumbres: semillas nutritivas para un futuro sostenible. Un viaje por todas las regiones del planeta.
- FIRA. Fideicomisos Instituidos en Relación con la Agricultura. (2015). Panorama Agroalimentario Frijol 2015. En línea: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/61950/Panorama_Agroalimentario_Frijol_2015.pdf
- FIRA. Fideicomisos Instituidos en Relación con la Agricultura. (2019). Panorama Agroalimentario Frijol 2019. En línea: <https://www.inforural.com.mx/wp-content/uploads/2020/01/Panorama-Agroalimentario-Frijol-2019.pdf>
- Garduño-Zepeda, A.M. & Marquez-Quiroz, C. (2018). Aplicación de selenio en cultivos agrícolas. *Revisión bibliográfica. ITEA* (2018), 4(114):327-343.
- Hernández-Hernández, H., Quiterio-Gutiérrez, T., Cadenas-Pliego, G., Ortega-Ortiz, H., Hernández-Fuentes, A., Cabrera de la Fuente, M., Valdés-Reyna, J. & Juárez-Maldonado, A. (2019). Impact of Selenium and Copper Nanoparticles on Yield, Antioxidant System, and Fruit Quality of Tomato Plants. *Plants*, 8(10):355. Doi: 10.3390/plants8100355
- Ros, G. H., Van Rotterdam, A. M. D. & Bussink, D.W. (2016). Selenium fertilization strategies for bio-fortification of food: an agro-ecosystem approach. *Plant Soil*. Doi:10.1007/s11104-016-2830-4.
- SAGARPA. (2015). Propuesta de estructuras tipo para la organización de conglomerados productivos y comerciales, integrados por pequeños productores de frijol con empresas integradoras. En línea: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/346972/Frijol_Detallado.pdf

SIAP, (2020). En línea:

http://infosiap.siap.gob.mx:8080/agricola_siap_gobmx/ResumenDelegacion.do

Suárez-Martínez, S. E., Ferriz-Martínez, R. A., Campos-Vega, R., Elton-Puente, J. E., de la Torre Carbot, K. & García-Gasca, T. (2015). Bean seeds: leading nutraceutical source for human health. *CyTA - Journal of Food*, 14(1):131–137. Doi:10.1080/19476337.2015.1063548

Tedeschini, E., Proietti, P., Timorato, V., D'Amato, R., Nasini, L., Dei Buono, D., Frenguelli, G. (2015). Selenium as stressor and antioxidant affects pollen performance in *Olea europaea*. *Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 215:16–22. Doi:10.1016/j.flora.2015.05.009

CAPITULO II

APLICACIÓN FOLIAR DE SELENIO COMO NUTRIENTE QUE MEJORA EL RENDIMIENTO Y CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DE GRANOS DE FRIJOL (*Phaseolus vulgaris* L.)

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de tres diferentes formas químicas de selenio administradas vía foliar sobre las características físicas del grano, el área foliar, pesos de cien semillas, peso y porcentaje de semillas dañadas en la planta de frijol. El diseño experimental utilizado fue bloques completo al azar con 10 tratamientos y 7 repeticiones. El elemento selenio se suplementó en tres formas químicas: selenito de sodio (Na_2SeO_3), dióxido de Se (SeO_2) y selenato de sodio (Na_2SeO_4) a tres concentraciones cada una: 5, 10 y 20 mg L^{-1} , más el testigo. En la etapa de llenado de grano, la administración de Na_2SeO_3 a concentración de 20 mg L^{-1} y SeO_2 a concentraciones de 5 y 10 mg L^{-1} incrementaron el área foliar. En la etapa de maduración del frijol, la aplicación de selenio en ninguna de sus tres formas químicas y concentraciones, tuvieron efecto significativo en el área foliar de la planta. En cuanto a características físicas, el selenio incremento el ancho longitudinal, espesor y diámetro del grano; la esfericidad no presento variación. El peso de semillas malas y % de semillas dañadas no tuvieron diferencia estadística significativa, lo que significa que el selenio no afecta la calidad de la semilla, sin embargo, si incrementa el peso total y peso de cien semillas.

Palabras clave: Morfología frijol, área foliar, rendimiento, calidad.

Tesis de Doctorado en Ciencias en Recursos Naturales y Medio Ambiente en Zonas Áridas, Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas, Universidad Autónoma Chapingo.

Autor: Ma. Elizabeth Azpilcueta Pérez.

Director de Tesis: Dr. Aurelio Pedroza Sandoval

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effect of three different chemical forms of selenium administered via foliar on the physical characteristics of the grain, the foliar area, weights of one hundred seeds, weight and percentage of damaged seeds in the bean plant. The experimental design used was randomized complete blocks with 10 treatments and 7 repetitions. The element selenium was supplemented in three chemical forms: sodium selenite (Na_2SeO_3), Se dioxide (SeO_2) and sodium selenate (Na_2SeO_4) at three concentrations each: 5, 10 and 20 mg L^{-1} , plus the control. In the pod filling stage, the administration of Na_2SeO_3 at a concentration of 20 mg L^{-1} and SeO_2 at concentrations of 5 and 10 mg L^{-1} increased the leaf area. In the bean maturation stage, the application of selenium in any of its three chemical forms and concentrations, had a significant effect on the leaf area of the plant. Regarding physical characteristics, selenium increased the width, length, thickness and diameter of the grain; the sphericity did not present variation. The weight of bad seeds and % of damaged seeds did not have a statistically significant difference, which means that selenium does not affect the quality of the seed, however, it does increase the total weight and weight of one hundred seeds.

Keywords: Bean morphology, leaf area, yield, quality.

Doctoral Thesis, Posgraduate in Recursos Naturales y Medio Ambiente en Zonas Áridas, Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas, Universidad Autónoma Chapingo.

Author: Ma. Elizabeth Azpilcueta Pérez.

Advisor: Aurelio Pedroza Sandoval, Ph. D.

INTRODUCCIÓN

Se sabe que las plantas utilizan diferentes nutrientes inorgánico además de CO₂ y agua para su crecimiento y producción, dichos nutrientes se encuentran presentes en el suelo y se pueden agotar bajo diferentes condiciones (Alshaal & El-Ramady, 2017). Al agotarse los nutrientes, su aplicación en suelos es necesaria y se convierte en la práctica más común en la fertilización de suelos, sin embargo, tiene muchas limitaciones con respecto a la biodisponibilidad de los nutrientes para la planta (Alshaal & El-Ramady, 2017). La aplicación foliar tiene el potencial de proporcionar un estado alto de biodisponibilidad de nutrientes en comparación con la aplicación en el suelo (Li et al., 2018), además de resultar benéfico para mejorar la calidad del fruto, acción que se relaciona estrechamente con la especie vegetal, la forma química del elemento, la concentración aplicada y el número de aplicaciones (Kápolna et al., 2009; Li et al., 2018; Ziogas et al., 2020). El selenito (Na₂SeO₃) y selenato (Na₂SeO₄) son dos importantes fuentes químicas de fertilización con selenio, cuya baja disponibilidad en el suelo se debe a factores naturales como el tipo de suelo, actividad microbiana y lluvia (Supriatin et al., 2016; Ros et al., 2016).

Los estudios de fertilización con selenio han ido en aumento debido a la importancia que tiene este elemento en realizar ciertas funciones fisiológicas en humanos, plantas y animales (Ećimović et al., 2018; Garduño & Márquez, 2018), ya que su carencia provoca patologías en el humano (Nothstein et al., 2016). El consumo de productos vegetales enriquecidos con selenio puede ser un mecanismo seguro y eficiente para atender la deficiencia de dicho nutriente (Bian et al., 2020). La aplicación de selenio se ha realizado en cultivos que proporcionan una fuente de proteínas, fibra, carbohidratos y nutrientes esenciales en la dieta humana (Murphy et al., 2018); además de su relación a la respuesta inducida como promotor de crecimiento en la planta (Xue et al., 2001; Hajiboland & Amjad, 2007; Hajiboland & Keivanfar, 2012). El efecto en el crecimiento se ha podido observar en hojas y raíces de lechuga (*Lactuca sativa* L.) (Bian et al.,

2020), crecimiento vegetativo y reproductivo en toronjil (*Melissa Officinalis* L.) (Habibi & Alizade, 2017), incremento de tallos y hojas en tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) (Becvort-Azcurra et al., 2012), en el crecimiento de la altura en plantas de haba (*Vicia faba* L.) (Boghdady et al., 2017), plántulas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) y melón (*Cucumis melo* L.) (De los Santos-Vázquez et al., 2016), en biomasa de girasol (*Helianthus annuus* L.) bajo estrés salino (Habibi, 2017), incremento crecimiento y numero de hojas en la planta de fresa (*Fragaria* L.) (Palencia et al., 2015) y en el rendimiento de trigo (*Triticum aestivum* L.) (Nawaz et al., 2015).

En muchas partes del mundo las leguminosas son la única fuente de proteína dietética y es inclusive el principal sustituto de las proteínas animales por su bajo costo (Ruiz-López et al., 2019). El frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) es un cultivo de gran demanda para la alimentación humana en diversos países, principalmente por su contenido de proteínas, carbohidratos, fibra dietética, minerales y vitaminas (Delgado et al., 2013; SAGARPA, 2017; Gomes et al., 2018). El consumo de frijol es una parte integral de la dieta alimenticia de la familia mexicana desde sus orígenes prehispánicos ya que Mesoamérica y en particular México, es centro de origen de este cultivo (Chávez-Mendoza & Sánchez, 2017). Actualmente la producción de esta leguminosa en México es de 1,184 millones de ton ha⁻¹ con un valor de 16,376 millones de pesos, lo que representa una participación de 2.8% en el valor total de la producción agrícola del país (SIAP, 2019). Los frijoles pintos, bayos, flor de mayo, garbancillo y negros, son los materiales genéticos de producción y consumo alto en el norte de México (Chávez-Mendoza y Sánchez, 2017).

Si bien los efectos del Se en el crecimiento vegetativo de las plantas han sido abordados por diversos autores, los efectos en frijoles de variedades mexicanas es muy escaso, así como la caracterización de sus efectos en el desarrollo y morfología de los granos de esta planta. El objetivo principal de este trabajo fue evaluar el efecto vía foliar de la adición de tres formas químicas de Se a tres concentraciones en área foliar de la planta, características morfológicas, el

rendimiento y calidad del grano de frijol variedad pinto saltillo bajo condiciones controladas en invernadero.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación geográfica del área.

El experimento se realizó en el invernadero del Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en la Relación Agua Suelo Planta y Atmósfera (CENID RASPA) del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) ubicado en Gómez Palacio, Durango 25° 35' 21.7" N, 103° 27' 08.77" W (INEGI, 2021).

El experimento se llevó a cabo en condiciones controladas de invernadero durante el año de 2018, a una temperatura de 30 °C, una altura de 1.10 m sobre el piso y a una humedad relativa de 50-60%. El invernadero estuvo cubierto en sus lados por policarbonato de doble pared y el techo con plástico color verde clorofila calibre 720. El control de la temperatura y humedad relativa se realizaron usando extractores y pared húmeda, y se monitorearon ambas variables mediante uso de sensores de temperatura y humedad, respectivamente.

Diseño experimental y de tratamientos

Las semillas empleadas se desinfectaron con una solución de hipoclorito de sodio (NaClO) al 5% durante 5 minutos. Tres semillas de frijol variedad pinto saltillo se sembraron en cada maceta de 18 L de capacidad, empleando como sustrato una mezcla de peat moss y perlita (v/v=80/20), para posteriormente aclarar a una sola planta por maceta. Las macetas fueron regadas inicialmente con agua del acuífero local y se aplicaron riegos frecuentes para mantener 60% de la humedad disponible en el sustrato. Un litro extra de agua fue añadido para evitar la salinización de la superficie del sustrato. Adicionalmente, la fertilización se realizó usando una solución nutrimental compuesta por 13 ml de ácido fosfórico (H₃PO₄),

55 g de MULTI- NPK[®] (Nitrato de potasio KNO₃ enriquecido con fosforo), 61 g de Haifa MKP[®] (fosfato monopotásico; KH₂PO₄), 133 g de nitrato de calcio (Ca(NO₃)₂) y 9.4 g de Librel Mix-AL[®] micronutrientes (Cu, Fe, Mn y Zn) diluidos en 200 L de agua. La fertilización se aplicó a partir del surgimiento del primer par de hojas.

El diseño experimental empleado fue bloques completos al azar (BCA) con siete repeticiones, cada repetición está conformada por tres unidades experimentales. Diez tratamientos fueron involucrados en el experimento, nueve de ellos fueron diseñados usando tres formas químicas de selenio; selenito de sodio (Na₂SeO₃), dióxido de selenio (SeO₂) y selenato de sodio (Na₂SeO₄) en concentraciones de 5, 10 y 20 mg L⁻¹ cada una. El tratamiento restante fue el control, al cual solo se le aplicó agua desionizada. El total de macetas utilizadas fue de 210.

Todos los tratamientos se aplicaron vía foliar con una frecuencia aproximada de 15 días hasta la maduración. La concentración de cada aplicación foliar fue de 5, 10 y 20 mg L⁻¹; el volumen inicial de la solución fue de 250 ml y para la etapa de maduración fue de 750 ml por maceta. La aplicación foliar se realizó entre las 9:00 y las 10:00 horas cuando el día se encontraba soleado. El proceso experimental tuvo una duración de 120 días aproximadamente (ciclo otoño-invierno) para obtener el mayor crecimiento y calidad en la producción del cultivo. Durante el desarrollo del cultivo se realizaron dos muestreos, el primero a los 53 días después de la siembra (dds) en etapa de floración y el segundo a los 84 dds en etapa de llenado de vainas.

Variables respuesta

Las variables medidas fueron: área foliar (m²), mediante uso del equipo LI-3100C marca LI-COR; longitud (L), ancho (W) y espesor (T) de la semilla (mm), con uso de Vernier digital marca Ultra Tech (± 0.01 mm); diámetro medio geométrico de la semilla (Dg), mediante la relación $Dg = (LWT)^{1/3}$ (Suleiman et al., 2015; Mohite & Sharma, 2018); esfericidad (Φ) de la semilla, calculada con los valores promedios de las tres dimensiones principales antes citadas, mediante la

ecuación $\Phi = [(LWT)^{1/3} / L] * 100$ (Altuntas et al., 2005; Mohite & Sharma, 2018); relación aspecto (Ra) de la semilla, calculada con la ecuación $Ra = W/L$ (Davies, 2018; Davies, 2020); volumen de la semilla (V) (mm^3), mediante la ecuación $V = \pi B^2 L^2 / 6 (2L-3)$, donde $B = (WT)^{1/2}$ (Davies, 2018; Mahapatra et al., 2019; Davies, 2020); área superficial (mm^2) de la semilla, con uso de la función $AS = \pi B^2 L^2 / 2L - B$ (Jain & Bal, 1997; Coşkuner & Karababa, 2007; Mahapatra et al., 2019). Las variables relacionadas al grano, se realizaron con 30 semillas de frijol seleccionadas al azar dentro de cada tratamiento y repetición.

Adicionalmente, se obtuvo el peso de 100 semillas (g) y el peso total de semillas por planta (g) de cada tratamiento durante la fase de madurez fisiológica; la calidad de la semilla se midió clasificándola en buena o dañada, mediante uso de criba.

Análisis de datos

Para la identificación del efecto de tratamiento, se realizó un análisis de varianza y prueba de rango múltiple de medias Tukey ($P \leq 0.05$) mediante uso del software estadístico SPSS Versión 18.0.0 (Inc. Chicago IL, USA).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la etapa de llenado de vainas las formas químicas Na_2SeO_3 y SeO_2 a una concentración de 20 mg L^{-1} la primera y 5 y 10 mg L^{-1} la segunda, fueron los tratamientos de mayor área foliar, con valores de 1.048 , 1.116 , 1.146 m^2 , respectivamente; sin embargo, la forma química Na_2SeO_4 a 20 mg L^{-1} , afecto negativamente esta variable, con valores de 0.405 m^2 que fueron más bajos que el testigo que fue de 0.606 m^2 . Lo anterior, sugiere que altas concentraciones de selenio en esta forma química, afecta el crecimiento y el desarrollo del tejido foliar. Pilon-Smits (2019), cita que las plantas se ven beneficiadas en su crecimiento y desarrollo al aplicar concentraciones bajas de selenio, mientras que altas concentraciones resultan tóxicas.

En la etapa de madurez fisiológica (llenado de granos), el área foliar no mostró ningún efecto significativo por la aplicación de selenio en las formas químicas y concentraciones usadas en este estudio, aun cuando se observa alta variabilidad numérica entre tratamientos (Cuadro 1). Lo anterior sugiere que, en la etapa final de desarrollo del cultivo, la suplementación de Se no ejerce ninguna función orgánica dentro del cultivo, lo cual difiere de lo reportado por Shekari et al. (2016), quienes mostraron un incremento del área foliar de plantas de pimienta en un 25% a 35% cuando se adicionó Se como coadyuvante, disminuyendo las concentraciones del cadmio en el cultivo.

Cuadro 1. Respuesta del área foliar a diferentes formas químicas y concentraciones de selenio en dos etapas de desarrollo fenológico del frijol (*Phaesolus vulgaris* L.)

†Tratamientos	Dosis de Se mg L ⁻¹	Área foliar (m ²)	
		Etapas de madurez fisiológica	Etapas de llenado de vainas
Na ₂ SeO ₃	5	3.321 ± 0.179 a	0.964 ± 0.100 ab
Na ₂ SeO ₃	10	3.254 ± 0.150 a	0.947 ± 0.058 ab
Na ₂ SeO ₃	20	2.013 ± 0.060 a	1.048 ± 0.025 a
SeO ₂	5	1.983 ± 0.039 a	1.116 ± 0.055 a
SeO ₂	10	2.050 ± 0.075 a	1.146 ± 0.055 a
SeO ₂	20	2.210 ± 0.177 a	0.994 ± 0.043 ab
Na ₂ SeO ₄	5	2.240 ± 0.044 a	0.793 ± 0.035 ab
Na ₂ SeO ₄	10	2.291 ± 0.045 a	0.790 ± 0.040 ab
Na ₂ SeO ₄	20	2.443 ± 0.126 a	0.405 ± 0.016 c
Testigo	0	2.048 ± 0.083 a	0.606 ± 0.031 ab

†Formas químicas de selenio aplicadas vía foliar en la planta frijol; ‡ Cifras con las mismas letras dentro de una misma columna no tienen diferencia estadística, de acuerdo a la prueba de separación de medias de Tukey (P≤0.05).

Este comportamiento de respuesta podría estar relacionado a lo citado por Pilon-Smits (2019), quien reportó un decremento del área foliar a concentraciones altas de selenio, con el consecuente menor desarrollo y crecimiento del grano de frijol al disminuir el área fotosintética. Adicionalmente se reporta que la aplicación foliar de este microelemento, se ha correlacionado negativamente con la cantidad de N disponible en la planta, afectando el desarrollo, crecimiento y producción de algunos cultivos como el tomate (Narváez-Ortiz et al., 2018).

La morfología de los granos resulta de gran utilidad para analizar la relación taxonómica en una amplia gama de plantas, por tanto, la forma y el tamaño son parámetros importantes para mejorar su rendimiento y calidad (Williams et al., 2012; Cervantes et al., 2016). Los atributos físicos ancho, longitud, espesor y diámetro del grano de frijol fertilizado con selenio vía foliar se muestra en el

Cuadro 2. Se observó un aumento significativo ($P \leq 0.05$) en el ancho, longitud, espesor y diámetro del grano. Cuando se adicionó Na_2SeO_3 a una concentración de 10 mg L^{-1} el ancho y longitud del grano alcanzaron valores de 7.221 y 12.687 mm, respectivamente, lo que fue significativo Tukey ($P \leq 0.05$) y significó un aumento de 2.46 y 2.62 %, respectivamente en comparación con el testigo. La adición de SeO_2 a concentraciones de 20 y 5 mg L^{-1} favoreció significativamente Tukey ($P \leq 0.05$) el espesor y diámetro de la semilla, cuyos valores promedios fueron de 5.091 y 7.688 mm, respectivamente, esto fue 4.17 y 2.57% superior al testigo (valores de 4.887 y 7.495 mm, respectivamente).

Cuadro 2. Efecto de diferentes formas químicas y concentraciones de selenio (Se) en los atributos morfológicos de la semilla del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.)

†Tratamientos	Dosis de Se mg L^{-1}	Ancho (mm)	Longitud (mm)	Espesor (mm)	Diámetro (mm)
Na_2SeO_3	5	7.204 ± 0.023ab	12.522 ± 0.036abc	4.916 ± 0.026c	7.601 ± 0.024abc
Na_2SeO_3	10	7.221 ± 0.026a	12.687 ± 0.039a	4.967 ± 0.028abc	7.666 ± 0.027ab
Na_2SeO_3	20	7.111 ± 0.029abcd	12.479 ± 0.053abc	5.003 ± 0.029abc	7.604 ± 0.031abc
SeO_2	5	7.182 ± 0.026abc	12.655 ± 0.048ab	5.048 ± 0.0271ab	7.688 ± 0.029a
SeO_2	10	7.057 ± 0.031cd	12.473 ± 0.048bc	4.910 ± 0.029c	7.533 ± 0.029c
SeO_2	20	7.092 ± 0.027bcd	12.649 ± 0.058ab	5.091 ± 0.035a	7.673 ± 0.03ab
Na_2SeO_4	5	7.136 ± 0.030abcd	12.529 ± 0.048abc	5.017 ± 0.032abc	7.625 ± 0.029abc
Na_2SeO_4	10	7.064 ± 0.033cd	12.329 ± 0.051c	4.901 ± 0.031c	7.504 ± 0.032c
Na_2SeO_4	20	7.011 ± 0.027d	12.492 ± 0.046abc	4.953 ± 0.029bc	7.545 ± 0.029bc
Testigo	0	7.047 ± 0.028d	12.363 ± 0.046c	4.887 ± 0.029c	7.495 ± 0.029c

†Formas químicas de selenio aplicadas vía foliar en la planta frijol; ‡Cifras con las mismas letras dentro de una misma columna no tienen diferencia estadística, de acuerdo a la Prueba de separación de medias de Tukey ($P \leq 0.05$).

Los resultados de las características físicas esfericidad, relación aspecto, volumen y área superficial se observan el Cuadro 3. La esfericidad es una variable integral de las tres dimensiones morfométricas de la semilla (longitud, ancho y espesor) y por tanto, directamente relacionada a la productividad de grano. Dicha variable no mostró ningún efecto de respuesta a la suplementación de selenio en ninguna de las concentraciones y formas químicas usadas, con respecto al testigo. Lo anterior significa que el desarrollo de la semilla no es afectado por la suplementación del selenio.

La relación aspecto (Ra) es una variable más simple correspondiente a la relación entre el ancho y la longitud de la semilla, que es un indicativo de su tendencia a ser alargada (Wani et al., 2017). El tratamiento Na_2SeO_3 a una concentración de 5 mg L^{-1} tuvo el valor más alto de Ra con 0.576, entretanto el peor tratamiento, correspondió al Na_2SeO_4 a 20 mg L^{-1} ; mientras que, las tres concentraciones aplicadas de SeO_2 arrojando valores inferiores al testigo.

El volumen y área superficial de la semilla tuvieron diferencia estadística significativa entre los tratamientos. Los tratamientos con la suplementación SeO_2 a concentraciones de 5 y 20 mg L^{-1} mostraron mayor volumen y área superficial en el grano. En la variable volumen los valores fueron 137.91 mm^3 para la concentración de 5 mg L^{-1} de SeO_2 y 137.71 mm^3 para la concentración de 20 mg L^{-1} de SeO_2 . En cuanto a la variable superficial se registró un valor de 157.17 mm^3 para la concentración de 5 mg L^{-1} de SeO_2 y 157.20 mm^3 para la concentración de 20 mg L^{-1} de SeO_2 . Un efecto estadísticamente igual se obtuvo cuando se suplementó Na_2SeO_3 a una concentración de 10 mg L^{-1} arrojando valores en volumen de 136.37 mm^3 y en área superficial de 156.522 mm^2 .

No se encontró información sobre las características morfométricas en granos fertilizados con selenio. Sin embargo, dicha información es importante debido a que estos parámetros determinan la preferencia del consumidor y los rasgos de la forma del grano (Davies, 2020).

Cuadro 3. Efecto de la suplementación de diferentes formas químicas y dosis de selenio en atributos morfológicos de la semilla de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.)

†Tratamientos	Dosis de Se mg L ⁻¹	Esfericidad (%)	Relación Aspecto	Volumen (mm ³)	Área Superficial (mm ²)
Na ₂ SeO ₃	5	60.728±0.120 a	0.576±0.0017 a	132.784±1.152 abcd	154.061±0.940 ab
Na ₂ SeO ₃	10	60.448±0.134 a	0.570±0.0018 abcd	136.378±1.334 ab	156.522±1.088 a
Na ₂ SeO ₃	20	61.007±0.134 a	0.571±0.0018 ab	134.031±1.572 abcd	154.931±1.237 ab
SeO ₂	5	60.807±0.132 a	0.568±0.0018 abcd	137.917±1.448 a	157.171±1.205 a
SeO ₂	10	60.457±0.134 a	0.567±0.0023 bcd	130.014±1.397 bcd	150.092±1.191 b
SeO ₂	20	60.736±0.135 a	0.562±0.0019 cd	137.374±1.646 a	157.207±1.143 a
Na ₂ SeO ₄	5	60.917±0.141 a	0.570±0.0021 abcd	134.744±1.445 abc	153.867±1.206 ab
Na ₂ SeO ₄	10	60.908±0.141 a	0.574 ±0.0021 ab	129.010±1.505 cd	149.812±1.304 b
Na ₂ SeO ₄	20	60.424±0.116 a	0.562±0.0017 d	130.620±1.423 bcd	152.490±1.148 ab
Testigo	0	60.709±0.140 a	0.571±0.0019 abc	128.267±1.374 d	150.646±1.098 b

†Formas químicas de selenio aplicadas vía foliar en la planta frijol; ‡Cifras con las mismas letras dentro de una misma columna no tienen diferencia estadística, de acuerdo a la Prueba de separación de medias de Tukey (P≤0.05).

El peso total de semillas por planta fue estadísticamente superior cuando se adicionó Na₂SeO₃ a una concentración de 5 mg L⁻¹ con un valor de 93.52 g, en comparación con el testigo. La adición de selenio en las tres formas químicas probadas incrementaron la cantidad de semillas entre un 27 y 61 % en contraste con el testigo (Cuadro 4).

El peso de 100 semillas fue significativamente mayor respecto del testigo, cuando se aplicó SeO₂ a una concentración de 5 mg L⁻¹ con un valor de 30.99 g, y solo 24.35 g del testigo, lo que representa un incremento del 27.26%; el resto de los tratamientos observaron valores intermedios entre ambos promedios (Cuadro 4). Estos resultados concuerdan con los reportados por Ragavan et al., (2017), quienes reportaron un incremento en el peso de grano en frijol (*Cyamopsis tetragonalaba* L.) en 5.7 a 9.5 %, cuando se adicionaron nanopartículas de Se a las plantas.

El peso de semilla mala y porcentaje de semilla dañada no presentaron diferencia significativa entre tratamientos y el testigo (Cuadro 4), lo cual sugiere que la aplicación del selenio, no afecta la calidad de la semilla del frijol. Lo anterior es coincidente con lo reportado por López-Gutiérrez et al., (2015), quienes reportaron que la aplicación de Se no causó modificaciones en la calidad del cultivo de lechuga (*Lactuca sativa* L.). Zahedi et al., (2019) aplicaron nanopartículas de selenio en plantas de granada (*Punica granatum* L.) vía foliar y el rendimiento se incrementó en un 17% con relación al testigo. Por el contrario, al aplicar Se en plantas de maíz (*Zea mays* L.) no se observó diferencia en el rendimiento de grano, ni en producción de rastrojo (Chilimba et al., 2012). Sin embargo, al aplicar Se en forma foliar y al suelo en el cultivo de trigo sarraceno (*Fagopyrum esculentum* Moench), se identificó un incremento en el rendimiento de grano en un 6.22% (Jiang et al., 2015).

Cuadro 4. Efecto de diferentes formas químicas y concentraciones de Selenio en diferentes componentes del rendimiento y calidad del semilla de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.)

†Tratamientos	Dosis de Se mg L ⁻¹	Peso de semillas planta ⁻¹ (g)	Peso de semillas malas planta ⁻¹ (g)	semillas dañadas (%)	Peso de 100 semillas (g)
Na ₂ SeO ₃	5	93.524±9.361 a	15.430±3.002 a	19.596±4.868 a	30.007±1.248 a
Na ₂ SeO ₃	10	78.197±4.831 ab	20.905±3.130 a	28.973±5.242 a	28.448±0.782 ab
Na ₂ SeO ₃	20	73.609±6.039 ab	15.569±2.366 a	24.648±5.341 a	29.155±1.120 ab
SeO ₂	5	78.108±8.314 ab	21.587±3.243 a	27.872±2.899 a	30.993±1.317 a
SeO ₂	10	79.828±7.914 ab	17.418±2.264 a	24.351±3.490 a	27.640±0.788 ab
SeO ₂	20	80.710±8.281 ab	18.213±3.936 a	24.613±5.282 a	28.413±1.043 ab
Na ₂ SeO ₄	5	78.161±6.909 ab	20.611±2.221 a	28.464±4.038 a	28.700±1.083 ab
Na ₂ SeO ₄	10	81.481±6.909 ab	18.657±3.825 a	25.511±5.599 a	29.280±0.964 ab
Na ₂ SeO ₄	20	76.152±7.540 ab	24.115±3.275 a	33.472±4.667 a	28.192±0.964 ab
Testigo	0	58.063±4.127 b	21.752±2.503 a	38.064±3.843 a	24.352±1.520 b

†Formas químicas de selenio aplicadas vía foliar en la planta frijol; ‡Cifras con las mismas letras dentro de una misma columna no tienen diferencia estadística, de acuerdo a la Prueba de separación de medias de Tukey (P≤0.05).

CONCLUSIONES

De acuerdo a nuestros resultados la planta frijol *Phaseolus vulgaris* L. variedad pinto Saltillo fertilizado con selenio, presentó beneficio con respecto a las características físicas: anchura, longitud, espesor, diámetro, relación aspecto, volumen y área superficial; además, mostró un aumento en el peso total de semillas por planta y en el peso de 100 semillas, optimizando la calidad y rendimiento en la semilla de frijol. Dichas características son importantes para su selección por parte de productores, comerciantes y consumidores de frijol.

Para mejorar la reacción de las plantas hacia la adición de nutrientes vía foliar con selenio, es recomendable implementar más investigaciones sobre esta técnica de fertilización en los cultivos que sean de mayor interés para el área agronómica, además de llevar dicha experimentación en campo abierto bajo condiciones productivas.

AGRADECIMIENTOS.

Un reconocimiento al Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Relaciones Agua Suelo Planta Atmósfera (CENID-RASPA) DEL INIFAP, por las facilidades prestadas para llevar a cabo el presente estudio. De igual manera, un agradecimiento al Campo experimental Valle de Guadiana, Durango, México, por la donación de la semilla de frijol variedad Pinto Saltillo.

LITERATURA CITADA

- Alshaal, T. & El-Ramady, H. (2017). Foliar Application: from Plant Nutrition to Biofortification. *Env. Biodiv. Soil Security* Vol.1, pp.71- 83.
- Altuntas, E., Özgöz, E. & Faruk, Ö. (2005). Some physical properties of fenugreek. *Journal of Food Engineering* 71. pp 37–43.
- Becvort-Azurra, A., Fuentes-Lara, L.O, Benavides-Mendoza, A., Ramírez, H.; Robledo-Torres, V., Rodríguez-Mendoza, M. de las N. (2012) Aplicación de selenio en tomate: crecimiento, productividad y estado antioxidante del fruto. *Terra Latinoamericana* 30(4): pp. 291-301
- Bian, Z. hua, Lei, B., Cheng, R. Feng, Wang, Y., Li, T. & Yang, Q. Ch. (2020). Selenium distribution and nitrate metabolism in hydroponic lettuce (*Lactuca sativa* L.): Effects of selenium forms and light spectra. *Journal of Integrative Agriculture* 19 (1): pp. 133–144.
- Boghdady, M. S., Desoky, E. M., Azoz, Z. N. & Nassar, M.A. (2017). Effect of Selenium on Growth, Physiological Aspects and Productivity of Faba Bean (*Vicia faba* L.). *Egypt.J.Agron.* Vol.39, No.1, pp.83- 97.
- Cervantes, E., Martin, J. & Saadaoui, E. (2016). Updated Methods for Seed Shape Analysis. Hindawi Publishing Corporation Scientifica, Article ID 5691825. <http://dx.doi.org/10.1155/2016/5691825>
- Chávez-Mendoza, C. & Sánchez, E. (2017). Bioactive compounds from mexican varieties of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.): Implications for health. *Molecules*, 22(8): p. 1360.
- Chilimba, A. D. C., Young, S. D., Black, C. R., Meacham, M. C., Lammel, J., & Broadley, M. R. (2012) Agronomic biofortification of maize with selenium (Se) in Malawi. *Field Crops Research*, 125: pp. 118–128.
- Coşkuner, Y. & Karababa, E. (2007). Physical properties of coriander seeds (*Coriandrum sativum* L.). *Journal of Food Engineering* 80. pp. 408–416.
- Davies, R. (2018). Some Physical and Mechanical Properties of Pear Fruits and Seeds. *International Journal of Research Studies in Science, Engineering and Technology*. Volume 5, Issue 12, pp. 51-57.
- Davies, R. (2020). Some Physical Properties of Okra Fruits and Seeds. *International Journal of Research Studies in Science, Engineering and Technology*. Volume 8, Issue 1, pp. 23-29.
- De los Santos-Vázquez, M.A., Benavides-Mendoza, A., Ruiz-Torres, N.A., Cabrera-de la Fuente, M. & Morelos-Moreno, A. (2016). Sodium selenite treatment of vegetable seeds and seedlings and the effect on antioxidant

- status. *Emirates Journal of Food and Agriculture*. 28 (8): pp. 589-593
doi: 10.9755/ejfa.2016-03-270.
- Ečimović, S., Velki, M., Vuković, R., Čamagajevac, I., Petek, A., Bošnjaković, R., Grgić, M., Engelmann, P., Bodó, K., Filipović-Marjić, V., Ivanković, D., Erk, M., Mijošek, T. & Lončarić, Z. (2018). Acute toxicity of selenate and selenite and their impacts on oxidative status, efflux pump activity, 2 cellular and genetic parameters in earthworm *Eisenia andrei*. *Chemosphere*. doi:10.1016/j.chemosphere.2018.08.095
- Hajiboland, R., & Amjad, L. (2007). Does antioxidant capacity of leaves play a role in growth response to selenium at different sulfur nutritional status. *Plant, Soil and Environment* 53(5): pp. 207–215.
- Hajiboland, R. & Keivanfar, N. (2012). Selenium supplementation stimulates vegetative and reproductive growth in canola (*Brassica napus* L.) plants. *Acta Agriculturae Slovenica* 99(1): pp. 13–19.
- Garduño-Zepeda, A.M. & Marquez-Quiroz, C. (2018). Aplicación de selenio en cultivos agrícolas. *Revisión bibliográfica*. ITEA, Vol. 114 (4), pp. 327-343.
- Gomes, F., Ferreira, A.A., Wojeicchowski, J.P., Nogueira, A. & Mottin, I. (2018). Beans (*Phaseolus vulgaris* L.): whole seeds with complex chemical composition. *Current Opinion in Food Science* 2018, 19. pp. 63–71.
- Habibi, G. & Alizade, Z. (2017). Selenium in Lemon Balm Plants: Productivity, Phytotoxicity and Drought Alleviation. *Selenium in Lemon Balm Plants: Productivity, Phytotoxicity and Drought Alleviation*, *Journal of Plant Nutrition*.
- INEGI. (2021). Fecha de consulta: Febrero 2021. En línea: <https://www.google.com/maps/place/25%C2%B035'21.7%22N+103%C2%B027'08.7%22W/@25.5893652,103.4524122,17z/data=!3m1!4b1!4m5!3m4!1s0x0:0x0!8m2!3d25.5893652!4d-103.4524122>
- Jain, R. K. & Bal, S. (1997). Properties of Pearl Millet. *J . agric . Engng Res*. 66, pp. 85 – 91.
- Jiang, Y., Zeng, Z. H., Bu, Y., Ren, C. Z., Li, J. Z., Han, J. J., Hu, Y. G. (2015) Effects of selenium fertilizer on grain yield , Se uptake and distribution in common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench). *Plant Soil Environment* 61(8): pp. 371–377.
- Kápolna, E., Hillestrøm, P. R., Laursen, K. H., Husted, S. & Larsen, E. H. (2009). Effect of foliar application of selenium on its uptake and speciation in carrot. *Food Chemistry* 115. pp. 1357–1363.
- Li, M., Zhao, Z., Zhou, J., Zhou, D., Chen, B., Huang, L., Zhang, Z. & Liu, X. (2018). Effects of foliar spray of selenite or selenate at different growth stages

on selenium distribution and quality of blueberries. doi: 10.1002/jsfa.9004

- Mahapatra, A. K., Ekefre, D. E., Degala, H. L., Punnuri, S. M. & Terrill, T.H. (2016). Moisture-dependent physical and thermal properties of sericea lespedeza seeds. *Applied Engineering in Agriculture*. Vol. 35(3). pp. 389-397.
- Mohite, A. M. & Sharma, N. (2018). Drying behaviour and engineering properties of lima beans. *AgricEngInt*. Vol. 20, No. 3. CIGR Journal Open access at <http://www.cigrjournal.org>
- Murphy, K. J., Marques-Lopes, I. & Sanchez-Tainta, A. (2018). In book: *The Prevention of Cardiovascular Disease Through the Mediterranean Diet*. Chapter 7: Cereals and Legumes.
- Narváez-Ortiz, W., Becvort-Azcurra, A., Fuentes-Lara, L., Benavides-Mendoza, A., Valenzuela-García, J. & Gonzalez-Fuentes, J. (2018) Mineral composition and antioxidant status of tomato with application of selenium. *Agronomy* 8 (185): pp. 1-16.
- Nawaz, F., Ashraf, M. Y., Ahmad, R., Waraich, E. A., Shabbir, R. N, & Bukhari, M. A. (2015). Supplemental selenium improves wheat grain yield and quality through alterations in biochemical processes under normal and water deficit conditions. *Food Chemistry* 175: pp. 350–357.
- Nothstein, A. K., Eiche, E., Riemann, M., Nick, P., Winkel, L. H., Göttlicher, J., Steinger, R., Brendel, R., Brasch, M., Konrad, G. & Neumann, T. (2016). Tracking Se Assimilation and Speciation through the Rice Plant – Nutrient Competition, Toxicity and Distribution. *PLOS ONE*. April 26. DOI:10.1371/journal.pone.0152081
- Palencia, P., Martínez, F., Burducea, M., Oliveira, J. A. & Giralde, I. (2015). Effects of se-enrichment on spad, fruit quality and growth parameters of strawberry plants in soilless growing system. *Rev. Bras. Frutic., Jaboticabal - SP*, v.38, n. 1. pp. 202-212.
- Pilon-Smits, E.A.H. (2019). On the ecology of Selenium accumulation in plants. *Plants* 8(7): 197. doi:10.3390/plants8070197
- Ragavan, P., Ananth, A. & Rajan, M. R. (2017) Impact of Selenium Nanoparticles on Growth, Biochemical Characteristics and Yield of Cluster Bean *Cyamopsis tetragonoloba*. *International Journal of Environment, Agriculture and Biotechnology* 2(6): pp. 2917–2926.
- Ros, G. H., Van Rotterdam, A. M. D. & Bussink, D.W. (2016). Selenium fertilization strategies for bio-fortification of food: an agro-ecosystem approach. *Plant Soil*. DOI 10.1007/s11104-016-2830-4.
- Ruiz-López, M. A., Barrientos-Ramírez, L., García-López, P. M., Valdés-

- Miramontes, E. H., Zamora-Natera, J. F., Rodríguez-Macias, R., Vargas-Radillo, J. J. (2019). Nutritional and bioactive compounds in mexican lupin beans species: A mini-review. *Nutrients* 11(8): pp. 1–19.
- SAGARPA. (2017). Frijol Mexicano. Planeacion Agricola Nacional 2017-2030.
- Shekari, L., Mojtaba, M., Kamelmanesh, M., Hasanuzzaman, M. & Sadeghi, F. (2016). Role of selenium in mitigation of cadmium toxicity in pepper grown in hydroponic condition. *Journal of Plant Nutrition*, 40(6), 761–772. doi:10.1080/01904167.2016.1161773
- SIAP, Sistema de Información Agropecuaria y Pesquera (2019). Boletín mensual de la producción de frijol. Secretaria de Agricultura y Desarrollo Rural. Disponible en: <https://www.gob.mx/siap/documentos/boletin-mensual-de-avances-de-la-produccion-de-frijol-103826>
- SPSS Inc. Released (2009). PASW Statistics for Windows, Version 18.0. Chicago: SPSS Inc.
- Suleiman, R., Xie, K. & Rosentrater, K. (2015). Physical and thermal properties of chia, kañiwa, triticale and farro as a function of moisture content. SABE Annual International Meeting Paper. Paper Number: 152189412.
- Supriatin, S., Weng, L. & Comans, R. (2016). Selenium-rich dissolved organic matter determines selenium uptake in wheat grown on Low-selenium arable land soils. *Plant Soil*. DOI 10.1007/s11104-016-2900-7.
- Williams, K., Munkvold, J. & Sorrells, M. (2012). Comparison of digital image analysis using elliptic Fourier descriptors and major dimensions to phenotype seed shape in hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.). *Euphytica*. pp. 190: pp. 99–116. Doi: 10.1007/s10681-012-0783-0
- Xue, T., Hartikainen, H. & Piironen, V. (2001). Antioxidative and growth-promoting effect of selenium on senescing lettuce. *Plant and Soil* 237(3): pp. 55:61.
- Zahedi, S. M., Hosseini, M. S., Daneshva, H., Meybodi, N. & Teixeira da Silva, J. A. (2019). Foliar application of selenium and nano-selenium affects pomegranate (*Punica granatum* cv. Malase Saveh) fruit yield and quality. *South African Journal of Botany* 124: pp. 350–358.
- Ziogas, Z., Michailidis, M., Karagiannis, E., Tanou, G. & Molassiotis, A. (2020). Chapter 29. Manipulating fruit quality through foliar nutrition. In *Fruit Crops. Diagnosis and Management of Nutrient Constraints*. pp. 401-417.

CAPITULO III

APLICACIÓN FOLIAR DE SELENIO EN FRIJOL: SU RESPUESTAS EN PIGMENTOS FOTOSINTÉTICOS, ANITIOXIDANTES, PEROXIDASA Y MICRONUTRIENTES

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de tres diferentes formas químicas de Se en el contenido de pigmentos (clorofila A (Clo A), clorofila B (Clo B) y carotenos), actividad antioxidante, actividad de peroxidasas (POX) y contenido de Ca, Mg, Mn, Cu y Fe en la planta de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). El diseño experimental utilizado fue bloques al azar con 10 tratamientos y 7 repeticiones. El elemento Se se suplementó en tres formas químicas: selenito de sodio (Na_2SeO_3), dióxido de Se (SeO_2) y selenato de sodio (Na_2SeO_4) a tres concentraciones cada una: 5, 10 y 20 mg L^{-1} , más el testigo. En la etapa de floración, la suplementación de 20 mg L^{-1} de Na_2SeO_4 incrementó el pigmento de Clo A pero no la Clo B. En la etapa de llenado de vainas, la concentración de Clo A y Clo B disminuyó en comparación a la etapa de floración. La actividad antioxidante total no tuvo efecto a la aplicación de Se en ninguna de sus formas químicas y concentraciones probadas en este estudio. La adición de 10 mg L^{-1} de Na_2SeO_3 y 5 mg L^{-1} de Na_2SeO_4 incrementaron la actividad peroxidasas. Adicionalmente, la concentraciones de Ca y Cu se incrementaron, en tanto que los contenidos de Mg, Mn y Fe no se variaron por efecto de la aplicación de Se.

Palabras clave: Fisiología vegetal, suplementación, nutrientes, pigmentación, oxidación.

Tesis de Doctorado en Ciencias en Recursos Naturales y Medio Ambiente en Zonas Áridas, Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas, Universidad Autónoma Chapingo.

Autor: Ma. Elizabeth Azpilcueta Pérez.

Director de Tesis: Dr. Aurelio Pedroza Sandoval.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effect of three different chemical forms of Se on pigment content (chlorophyll A (Clo A), chlorophyll B (Clo B) and carotenes), antioxidant activity, peroxidase activity (POX) and content of Ca, Mg, Mn, Cu and Fe in the bean plant (*Phaseolus vulgaris* L.). The experimental design used was randomized blocks with 10 treatments and 7 repetitions. The element Se was supplemented in three chemical forms: sodium selenite (Na_2SeO_3), Se dioxide (SeO_2) and sodium selenate (Na_2SeO_4) at three concentrations each: 5, 10 and 20 mg L^{-1} , plus the control. In the flowering stage, the supplementation of 20 mg L^{-1} of Na_2SeO_4 increased the pigment of Clo A but not Clo B. In the pod filling stage, the concentration of Clo A and Clo B decreased compared to the stage flowering. The total antioxidant activity had no effect on the application of Se in any of its chemical forms and concentrations tested in this study. The addition of 10 mg L^{-1} of Na_2SeO_3 and 5 mg L^{-1} of Na_2SeO_4 increased the peroxidase activity. Additionally, the concentrations of Ca and Cu increased, while the contents of Mg, Mn and Fe did not vary due to the application of Se.

Keywords: Plant physiology, supplementation, nutrients, pigmentation, oxidation.

Doctoral Thesis, Posgraduate in Recursos Naturales y Medio Ambiente en Zonas Áridas, Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas, Universidad Autónoma Chapingo.

Author: Ma. Elizabeth Azpilcueta Pérez.

Advisor: Aurelio Pedroza Sandoval, Ph. D.

INTRODUCCIÓN

Los nutrientes esenciales de las plantas se dividen en macronutrientes (C, H, O, N, P, K, Ca, Mg y S) y micronutrientes (Zn, Cu, Fe, Mn, B, Mo, Cl y Ni) (Fageria et al., 2002; Pandey, 2015; Lambers & Oliveira, 2019). Los macronutrientes oxígeno, carbono e hidrógeno se suministran a las plantas a través del agua y el aire, los elementos restantes deben estar presentes en el medio de crecimiento de la planta en proporciones y cantidades óptimas (Fageria, 2005). La suplementación de nutrimentos aplicados como fertilizantes al suelo depende de diferentes factores como características físicas, químicas y biológicas del suelo (Trinidad & Aguilar, 1999; Li et al., 2009; Alloway et al., 2009). La fertilización foliar proporciona nutrientes directamente en la partes aérea de la planta (Bindraban et al., 2015), se logra una mayor eficiencia en su aplicación, reduce el impacto negativo en el medio ambiente (salinización y degradación del suelo) y mejora los beneficios para la salud del consumidor (Otálora et al., 2018; Niu et al., 2020).

La absorción de los nutrientes a través de las hojas no se considera una forma común, debido a que la principal función de la hoja es la producción de carbohidratos. A pesar de que sus propiedades anatómicas muestran las condiciones adecuadas para la incorporación de los nutrientes como materia prima para la elaboración de fotosintatos y la translocación de los mismos a los sitios de demanda (Trinidad & Aguilar, 1999).

La asimilación de los nutrientes aplicados vía foliar es por contacto con la hoja y absorción a la superficie de la misma; penetración cuticular, estomática y otras estructuras epidérmicas; continúa con la absorción celular y penetración en los sectores celulares con metabolismo activo en la hoja (Fernández et al., 2015). La velocidad de absorción de los nutrientes aplicados vía foliar depende de la especie de planta, la presencia de nutrientes involucrados, el ion que lo acompaña, las condiciones del medio ambiente (temperatura, humedad relativa,

precipitación pluvial, entre otros) y la técnica de aspersión (INPI, 1996; Abanto-Rodríguez et al., 2019). Después de la absorción de las sustancias nutritivas ocurre la translocación de las mismas, a través de corriente de transpiración, espacios intercelulares, floema, pared celular y células vivas (INPI, 1996).

Desde el punto de vista nutrimental, el Se (Se) es un micronutriente esencial cuyas funciones aún se encuentran en etapa de dilucidación en diferentes especies de plantas cultivadas. Diversos estudios han reportado un efecto benéfico agroalimentario de este microelemento al suplementarlo a la planta, particularmente contrarrestando efectos perjudiciales presentes en el ambiente: metales pesados, sequía y salinidad, (Cartes et al., 2010; Saidi et al., 2014).

Por la similitud entre las características químicas que comparte los elementos Se y azufre, el primero es absorbido por la planta a través de los transportadores de sulfato por la vía de asimilación de azufre (Sors et al., 2005). La captación, distribución y translocación de Se depende de las especies vegetales, fase de desarrollo y condición fisiológica de la planta, forma química y concentración de Se, entre otras (Renkema et al., 2012). Durante el crecimiento de la planta, la mayor concentración de Se es localizada en las hojas jóvenes, en comparación con las hojas más viejas (Cappa et al., 2014; Harris et al., 2014); dentro de las células vegetales el Se es acumulado en las vacuolas (Mazej et al., 2008) y expulsado a través de los transportadores de sulfato que se encuentran presentes en el tonoplasto (Gigolashvili et al., 2014).

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto al aplicar tres formas químicas de selenio (Na_2SeO_3 , SeO_2 y Na_2SeO_4) en tres diferentes concentraciones (5, 10 y 20 mg L^{-1}) sobre la actividad antioxidante, actividad enzimática de peroxidasa, contenido de pigmentos fotosintéticos y contenido de micronutrientes en la planta frijol (*Phaseolus vulgaris* L) variedad Pinto Saltillo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación geográfica del área

El estudio se llevó a cabo en el Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Relaciones Agua Suelo Planta y Atmósfera (CENID RASPA) del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) en Gómez Palacio, Durango, ubicado a 28° 10' 76.51" LN, 65° 55' 04.77" LE (García, 1973).

El experimento se desarrolló en condiciones controladas de invernadero durante el año de 2018, a una temperatura promedio de 30 °C, una altura de 1.10 m sobre el piso y a una humedad relativa de 50-60%. Las partes laterales del invernadero correspondieron a cubiertas de policarbonato de doble pared y el techo con plástico color verde clorofila calibre 720. El control de la temperatura y humedad fueron monitoreadas con el uso de sensores y se reguló usando extractores y pared húmeda.

Diseño experimental y de tratamientos

El diseño experimental utilizado fue de bloques al azar con siete repeticiones. Los nueve tratamientos aplicados fueron producto de la combinación de tres formas químicas de Se: selenito de sodio (Na_2SeO_3), dióxido de Se (SeO_2) y selenato de sodio (Na_2SeO_4) a tres concentraciones cada una (5, 10 y 20 mg L⁻¹) más el testigo, al cual sólo se le aplicó agua desionizada.

El experimento se llevó a cabo en condiciones de invernadero con humedad relativa entre 50-60%. Las semillas se desinfectaron con una solución de hipoclorito de sodio (NaClO) al 5% por 30 min. Las macetas que se utilizaron tenían una capacidad de 18 L y el sustrato fue a base de Peat Moos y Perlita (v/v=80/20). Las macetas fueron regadas inicialmente con agua del acuífero local

y la humedad del suelo se mantuvo al 60%. La unidad experimental fue de tres macetas.

La aplicación del Se realizó vía foliar entre las 9:00 y 11:00 horas del día, iniciando 15 días después a la emergencia de las plántulas, con una solución nutricional compuesta por 13 ml de ácido fosfórico (H_3PO_4), 55 g de MULTI-NPK® (nitrato de potasio KNO_3), 61 g de Haifa MKP® (fosfato monopotásico KH_2PO_4), 133 g de nitrato de calcio, 9.4 g de LibrelMix-Al® (micronutrientes B, Cu, Fe, Mn, Mo y Zn) y 51 g de Magnisal® (nitrato de magnesio $Mg(NO_3)_2$) diluidos en 200 L de agua de riego. Se hicieron tres aplicaciones de las sustancias probadas hasta el primer muestreo destructivo y cuatro aplicaciones hasta la cosecha con intervalos de 15 días. El experimento tuvo una duración de 120 días (ciclo otoño-invierno).

Variables medidas

La medición de las variables se realizó a los 53 días después de la siembra (dds) en etapa de floración y a los 84 dds en la etapa de llenado de vaina. Las variables medidas fueron: la concentración de pigmentos clorofila A, B, carotenoides y pigmentos totales en $\mu g m^{-2}$, para lo cual se usó la metodología descrita por Wellburn (1994).

La actividad enzimática de peroxidasa ($\Delta DO min^{-1}$) se determinó por el método reportado por Chávez (1988) modificado por Scholis et al., (2010). El tejido vegetal (1g) previamente congelado con N_2 líquido se maceró en un mortero con 5 mL de solución de K_2HPO_4 al 0.1 M. Posteriormente, el macerado se colocó en un recipiente ámbar para llevarlo a refrigeración durante 24 horas. Después de este tiempo, el macerado se filtró y el sobrenadante se centrifugó a 3500 rpm por 30 min. El extracto de la planta (0.16mL) se colocó en una celda de cuarzo con 1.6 mL de TRIS-HCL 0.01 M a pH 7, más 1.2 mL de guayacol 0.1 M y 0.1 mL de H_2O_2 al 2 M. La mezcla de reacción se leyó a 470 nm cada 1min durante 7 min.

La unidad de actividad de la peroxidasa se define como el cambio de absorbancia por minuto ($\Delta DO \text{ min}^{-1}$) (Santander et al., 2013).

La actividad antioxidante total ($\mu\text{mol Trolox Eq. } 100 \text{ g}^{-1} \text{ ps}$) se determinó de acuerdo a la metodología de Brand et al., (1995) modificado por Fukumoto & Mazza (2000); para ello, el extracto se obtuvo macerando 1g de grano en 5 ml de metanol al 80%, posteriormente se centrifugó a 6000 rpm durante 10 min. Del sobrenadante resultante se tomó 20 μL del extracto y se mezcló con 200 μL de una solución 150 μM de DPPH recién preparada y la mezcla se incubó durante 60 minutos en obscuridad a una temperatura de 4°C. La absorbancia fue medida por espectrofotometría a 517 nm, para la muestra blanco se reemplazó el extracto por 0.5 ml de metanol. Los resultados se expresaron como valores TEAC (capacidad antioxidante trolox equivalente) mediante la construcción de una curva patrón usando como antioxidante Trolox® Sigma-Aldrich ((\pm)-6-Hydroxy-2,5,7,8 tetramethylchromane-2-carboxylic acid, 97%) (Mesa-Vanegas et al., 2010).

El contenido de nutrientes Ca, Cu, Mg, Mn y Fe (mg Kg^{-1} de materia seca), se realizó con digestión ácida (ácido nítrico 0.2 N) en la que se usó 0.5 g de harina de frijol adicionado con 10 ml de HNO_3 (65%) y se colocó a reflujo en el digestor automatizado marca MARS por 60 min. Posteriormente, el sobrenadante se filtró con un embudo de vidrio clase A y aforó a 50 ml con un matraz aforado clase A. Las muestras se leyeron por absorción atómica empleando un espectrómetro (AA-700, PerkinElmer) (PerkinElmer AAnalyst 700 User Manual, 1998-2000). Para su cuantificación se usaron soluciones estándares de referencias grado AA, garantizando la calibración y una mayor precisión en los resultados. Como mecanismo de verificación se analizaron muestras duplicadas y muestras adicionadas.

Análisis de datos

Para la identificación del efecto de tratamiento, se realizó un análisis de varianza y prueba de rango múltiple de medias Tukey ($P \leq 0.05$) mediante uso del software estadístico SPSS Versión 18.0.0 (Inc. Chicago IL, USA).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Concentración de clorofilas y carotenos. En etapa de floración del frijol, en el tratamiento 20 mg L⁻¹ de selenato de sodio, el contenido de clorofila A se incrementó significativamente ($P \leq 0.05$), pero no así el de clorofila B. En la etapa de llenado de vainas, los contenidos de clorofila A y B fueron significativamente mayores ($P \leq 0.05$) al resto de los tratamientos cuando se aplicó 10 mg L⁻¹ de dióxido de selenio. El contenido de carotenos fue significativamente mayor ($P \leq 0.05$) cuando se aplicó 10 mg L⁻¹ de selenato de sodio en la etapa de floración y sin ningún efecto para este tratamiento en la etapa de llenado de vainas (Cuadro 5).

Estos resultados difieren parcialmente de los reportados por Garousi et al., (2015), quienes mostraron que la adición de selenato de sodio en maíz no tuvo efecto para clorofilas y carotenos. Lo anterior es importante, porque menor clorofila repercute en la reducción de la capacidad fotosintética de la hoja, debido a que se limita el proceso fotoquímico que depende de la absorción de radiación (Pezeshki, 2001).

Los carotenos son constituyentes integrales de la membrana tilacoidal y son asociados con las proteínas de antena y con el centro de reacción de los pigmentos. La luz que absorben estos pigmentos es generalmente transmitida a las clorofilas, debido a lo cual se debe el término pigmentos accesorios (Taiz & Zeiger, 2002). Una porción de la energía lumínica absorbida por las clorofilas y

los carotenos es eventualmente almacenada como energía química por la vía de formación de enlaces químicos (Khan Academy, 2020).

Los contenidos de pigmentos totales (Clorofila A, B y carotenos), disminuyeron en un 40% al pasar de la fase de floración a la fase de llenado de vainas, con valores de 249.49 $\mu\text{g m}^{-2}$ y 149.62 $\mu\text{g m}^{-2}$, respectivamente (Cuadro 5). Este comportamiento podría estar relacionado al número de aplicaciones de selenio realizadas durante cada etapa fenológica del frijol, correspondientes a cuatro en floración y siete en maduración, lo cual podría haber provocado una condición de estrés en la planta, induciendo una disminución de la clorofila en sus hojas, y con ello, una pérdida en la capacidad fotosintética (Carter & Knap, 2001). Habría que considerar que en la etapa de llenado de vainas, la planta se enfoca a la producción tanto de glucosa como almidones para el llenado de las semillas.

Cuadro 5. Concentración de pigmentos en el follaje de la planta de frijol sujetas a tratamientos con selenio

†Tratamientos	Dosis de Se mg L ⁻¹	Concentración de ‡pigmentos ($\mu\text{g m}^{-2}$)					
		Etapa de floración			Etapa de llenado de grano		
		Cloro A	Cloro B	Caro	Cloro A	Cloro B	Caro
Na ₂ SeO ₃	5	‡147.8 b	100.2 a	11.0 b	74.4 b	36.6 b	13.8 a
Na ₂ SeO ₃	10	154.3 b	95.0 a	13.1 ab	92.6 ab	42.5 ab	15.0 a
Na ₂ SeO ₃	20	152.3 b	81.9 a	11.2 ab	89.9 ab	42.4 ab	16.5 a
SeO ₂	5	136.5 b	103.5 a	15.5 ab	89.4 ab	39.7 b	15.2 a
SeO ₂	10	142.2 b	91.2 a	14.7 ab	103.7 a	56.1 a	13.7 a
SeO ₂	20	147.6 b	106.7 a	16.8 ab	90.4 ab	44.8 ab	16.1 a
Na ₂ SeO ₄	5	146.6 b	80.5 a	17.3 ab	93.0 ab	46.4 ab	14.7 a
Na ₂ SeO ₄	10	161,1 b	101.1 a	19.3 a	84.4 ab	38.9 b	14.7 a
Na ₂ SeO ₄	20	201.0 a	103.7 a	18.4 ab	97.4 ab	40.4 b	15,3 a
Testigo	0	149.7 b	91.7 a	15.1 ab	96.5 ab	45.0 ab	15.4 a
Promedio de pigmentos totales			249.49			149.62	

†Formas químicas de selenio aplicadas a/ follaje del frijol; ‡ Cloro A y B = clorofilas A y B, Caro = Carotenos; †Cifras con las mismas letras dentro de una misma columna no tienen diferencia estadística, de acuerdo a la Prueba de separación de medias de Tukey ($P \leq 0.05$).

Actividad antioxidante total. En una investigación, de acuerdo a la forma química y concentración de selenio aplicado puede generar procesos oxidativos de efecto tóxico para la planta, en detrimento de su crecimiento, desarrollo y productividad. El proceso de toxicidad por acción oxidativa puede genera una respuesta antioxidante (Galván et al., 2008; Quintanar & Calderón, 2009; Coronado et al., 2015), de ahí que la actividad antioxidante sea un parámetro de referencia para medir el riesgo de toxicidad y por ende de estrés en la planta al aplicarse.

Los resultados de este estudio, muestran que en los tratamientos con selenio, la actividad antioxidante total fue estadísticamente semejante ($P \leq 0.05$) al testigo; lo cual indica que los tratamientos no tuvieron efecto alguno de tipo oxidativo, que provoco riesgo de toxicidad y estrés para la planta (Cuadro 6). Hartikanein et al., (2000) reportaron que la aplicación de selenio en concentraciones mayores a 10 mg L^{-1} sobre el césped (*Lolium perenne* L.), disminuyó la actividad antioxidante, debido a la ausencia de productos oxidativos. López et al., (2015) y Ramos et al. (2014), identificaron que al aplicar selenito y selenato de sodio vía foliar en plantas de lechuga, se indujo un aumento en la capacidad antioxidante. Adicionalmente, la aplicación de 10 y 20 mg L^{-1} de Se vía foliar, incrementó el estado antioxidante total en fruto de tomate (Becvort-Azurra et al., 2012). Asimismo, se reportó que al aplicar selenito y selenato de sodio sobre árboles de manzana a una concentración de 0.15 kg ha^{-1} , se incrementó el nivel de antioxidantes (Groth et al., 2020). Lo anterior hace ver, la respuesta de las plantas al selenio, dependiendo del tipo, órgano de la planta, fuente y dosis de selenio aplicado.

Actividad enzimática peroxidasa. Las peroxidasa vegetales (E.C.1.11.1.17), conocidas como peroxidasa de clase III, catalizan la descomposición del peróxido de hidrogeno H_2O_2 oxidoreductasa (POD) tomando electrones de varias moléculas donantes como fenoles, metabolitos secundarios o precursores de lignina (Passardi et al., 2005; Mcinnis et al., 2006), capaces de controlar el crecimiento y desarrollo de la planta (Sakharov et al., 1999). Las peroxidasa se expresan en tejidos vegetales y desempeñan diversas funciones en los procesos fisiológicos y metabolismo de las plantas como la respuesta al estrés oxidativo, lignificación, suberización, reticulación de componentes de la pared celular, tolerancia a la sal y defensa contra ataques de patógenos (Welinder et al., 1992). Las plantas cuentan con un sistema eficiente para la eliminación de especies reactivas de oxígeno para protegerse de las reacciones oxidativas, entre dichas enzimas se encuentran las destoxificadoras de H_2O_2 como las peroxidasa (Kong et al., 2005).

Los tratamientos donde se aplicaron 5 y 10 $mg L^{-1}$ de selenito de sodio y 5 $mg L^{-1}$ de selenato de sodio al frijol, la actividad enzimática de la peroxidasa fueron de 2.7 a 3.5 veces mayor que la registrada en el testigo; en tanto que, el tratamiento de 5 $mg L^{-1}$ de dióxido de selenio fue el de menor actividad enzimática, incluso menor que el testigo (Cuadro 6). Los resultados anteriores son similares a los reportados por Nowak et al., (2004) quienes mostraron que la aplicación de bajas dosis de selenio, incrementaron la actividad enzimática de peroxidasa en trigo.

De acuerdo a Sharma et al., (2014), la actividad de peroxidasa se incrementa significativamente debido a la acumulación de selenio en hojas y flores, durante la etapa de floración, lo cual ocasiona estrés oxidativo que favorece el proceso de lignificación, debido a que las peroxidasa son las principales enzimas implicadas durante la etapa de polimerización, que corresponde con el último proceso de biosíntesis de ligninas. De esta manera, existe una correlación espacio-temporal en la lignificación de la pared celular y las peroxidasa, las

cuales están presentes en altos niveles en los tejidos lignificantes de todas las plantas vasculares (Higuchi et al., 1990; Hapiot et al., 1994).

Cuadro 6. Actividad antioxidante total y enzimática de peroxidasa en el grano de frijol, cosechado de plantas sujetas a tratamientos con selenio (Se).

†Tratamientos	Dosis de Se mg L ⁻¹	Antioxidante total en μ mol equivalente Trolox 100 g ⁻¹	Enzimática peroxidasa (U ml ⁻¹)
Na ₂ SeO ₃	5	‡579.0 a	6.23 ab
Na ₂ SeO ₃	10	570.2 a	6.96 a
Na ₂ SeO ₃	20	571.9 a	3.89 bcd
SeO ₂	5	472.7 a	1.65 d
SeO ₂	10	510.7 a	4.44 bc
SeO ₂	20	595.0 a	2.60 cd
Na ₂ SeO ₄	5	523.9 a	5.77 ab
Na ₂ SeO ₄	10	550.5 a	2.82 cd
Na ₂ SeO ₄	20	564.6 a	3.86 bcd
Testigo	0	619.2 a	2.09 cd

†Formas químicas de selenio aplicadas al follaje del frijol; ‡Cifras con las mismas letras dentro de una misma columna no tienen diferencia estadística, de acuerdo a la Prueba de separación de medias de Tukey (P≤0.05).

Contenido de nutrimentos. El Ca es un elemento que forma parte estructural de la planta constituyendo las paredes y membrana celular, participa en la división y extensión celulares, influye en el comportamiento en la célula, estabiliza la pared y membrana, y contribuye al equilibrio de iones en la célula. Los valores de calcio entre los tratamientos osciló de 350.3 a 477.5 mg kg⁻¹, mientras el testigo fue el de menor valor con 324.7 mg kg⁻¹; todos los tratamientos fueron estadísticamente superior al testigo (P=0.05), excepto el tratamiento de 10 mg L⁻¹ de selenato de sodio (Cuadro 7). Los resultados anteriores son similares a los reportados por Golubkina et al., (2019) quienes señalaron que la administración de 50 mg L⁻¹ de Na₂SeO₄ incrementó la concentración de Ca en chalotas (*Allium ascalonicum* L). Sin embargo, difieren con lo citado por Sabatino et al., (2019)

quien reportó que la adición de Na_2SeO_4 a cualquier dosis aplicada (0.2 a 1.5 mg de $\text{Na}_2\text{SeO}_4 \text{ L}^{-1}$) disminuyó la concentración de Ca en escarola (*Endibia rizada* L).

Ningún tratamiento aplicado en este estudio afectó la concentración del resto de los nutrientes e (Mg, Mn y Fe) en la planta (Cuadro 7). En lo referente al Mg, los resultados son similares a los reportados por Sabatino et al., (2019) y Golubkina et al., (2019) quienes reportaron que la adición de selenio en escarola (*Endibia rizada* L.) y chalotas (*Allium ascalonicum* L.) no mostraron efecto en la concentración de magnesio. Respecto al manganeso (Mn), sí hay diferencia de resultados con lo reportado por otros autores. Kleiber et al., (2018) mostraron que al suplementar dosis menores a 1.05 mg kg^{-1} de selenito de sodio, se incrementó la concentración de manganeso en lechuga (*Lactuca sativa* L.); en tanto que aplicar selenio en chícharo (*Pisum sativum* L.) disminuyó la concentración de Mn (Lukaszewicz et al., 2018). Respecto al Fe, los resultados de este estudio son similares a lo reportado por Kleiber et al., (2018) quienes mostraron que la adición de selenito de sodio no tuvo efecto alguno en la concentración de este elemento. Sin embargo, lo anterior difiere de lo citado por Lukaszewicz et al., (2018) quienes reportaron que al añadir selenio en chícharo, se incrementó la concentración de Fe.

El Cu participa en los procesos bioquímicos como la fotosíntesis, respiración, respuesta al estrés oxidativo, metabolismo de la pared celular y señalización de hormonas, entre otras. Excepto en el tratamiento selenato de sodio a 20 mg L^{-1} la planta de frijol acumuló más Ca que el testigo. Los contenidos de Cu en la planta oscilaron en los tratamientos entre 4.01 a 12.1 mg kg^{-1} , en donde el testigo tuvo 5.5 mg kg^{-1} , que fue menos del 50 % de lo acumulado en tratamiento de 20 mg L^{-1} de dióxido de selenio, (Cuadro 7). Dichos resultados son similares a lo mostrado por Kleiber et al., (2018) y Lukaszewicz et al., (2018) quienes administraron selenio en lechuga y chícharo, respectivamente, lo cual incrementó la concentración de Cu en la planta.

Cuadro 7. Contenido de minerales en el grano de frijol, cosechado de plantas sujetas a tratamientos con selenio.

†Tratamientos	Dosis de Se mg L ⁻¹	Minerales en mg kg ⁻¹				
		Ca	Mg	Mn	Cu	Fe
Na ₂ SeO ₃	5	‡425.3 ab (±28.3)	653.6 a (±16.6)	5.2 a (±0.6)	7.8 abc (±0.9)	120.5 a (±8.4)
Na ₂ SeO ₃	10	371.2 ab (±33.7)	638.8 a (±13.2)	3.8 a (±0.5)	8.6 abc (±1.1)	116.7 a (±0.6)
Na ₂ SeO ₃	20	420.6 ab (±27.1)	699.9 a (±18.2)	4.1 a (±0.6)	10.8 ab (±1.71)	122.9 a (±11.0)
SeO ₂	5	400.6 ab (±25.6)	693.6 a (±15.9)	3.3 a (±0.4)	8.1 abc (±0.8)	115.5 a (±7.6)
SeO ₂	10	477.5 a (±31.6)	694.4 a (±21.7)	3.5 a (±0.4)	12.1 a (±2.0)	122.8 a (±8.4)
SeO ₂	20	368.3 ab (±18.5)	694.7 a (±11.7)	3.6 a (±0.4)	11.2 ab (±1.8)	129.5 a (±8.7)
Na ₂ SeO ₄	5	417.0 ab (±21.4)	668.8 a (±21.6)	4.3 a (±0.4)	10.1 ab (±1.1)	127.0 a (±7.6)
Na ₂ SeO ₄	10	350.3 b (±29.3)	711.5 a (±26.0)	3.7 a (±0.5)	7.6 abc (±1.2)	137.5 a (±9.2)
Na ₂ SeO ₄	20	406.8 ab (±28.2)	694.6 a (±26.8)	3.7 a (±0.4)	4.0 c (±0.5)	129.6 a (±7.8)
Testigo	0	324.7 b (±18.1)	638.0 a (±24.1)	3.7 a (±0.5)	5.5 bc (±0.9)	114.1 a (±5.1)

†Formas químicas de selenio aplicadas al follaje del frijol; ‡Cifras con las mismas letras dentro de una misma columna no tienen diferencia estadística, de acuerdo a la Prueba de separación de medias de Tukey (P≤0.05). Números entre paréntesis indican la desviación estándar.

CONCLUSIONES

El comportamiento de respuesta al selenio en las variables clorofila A, clorofila B y carotenos mostró una variación entre los valores debido a la etapa fenológica en que se encontraba el cultivo, la forma química y concentración aplicada. En la etapa de floración favoreció el contenido de clorofila A y carotenos; en la etapa de llenado de vainas incrementó los dos tipos de clorofilas, pero sin efecto en el contenido de carotenos. En este trabajo, la actividad antioxidante total muestra que la aplicación de Se no representó ningún riesgo de toxicidad para la planta de frijol y, la actividad enzimática peroxidasa, probablemente influya en una aceleración de la fase de madurez con efecto en la lignificación. En tanto que, el contenido de macro y microelementos, como el Ca y el Cu, se incrementaron al aplicar Se en alguna de sus formas y concentraciones usadas en este estudio; los contenidos de Mg, Mn y Fe no fueron afectados por la suplementación de Se.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación contó con el apoyo del Consejo de Ciencia y Tecnología del Estado de Durango (COCYTED) con número de proyecto 11491734525. Un reconocimiento al Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Relaciones Agua Suelo Planta Atmósfera (CENID-RASPA) del INIFAP, por las facilidades prestadas para llevar a cabo el presente estudio. De igual manera, un agradecimiento al Campo experimental Valle de Guadiana, Durango, México, por la donación de la semilla de frijol variedad Pinto Saltillo. Una mención especial a la Universidad Autónoma Chapingo Unidad Regional de Zonas Áridas y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca de estudiante de Doctorado número 508044.

LITERATURA CITADA

- Abanto-Rodríguez, C., Soregui-Mori, G.M., Pinedo-Panduro, M., Velazco-Castro, E.V., Paredes-Dávila, E.J. & Medeiros, E. (2019). Uso de biofertilizantes en el desarrollo vegetativo y productivo de plantas de camu-camu en Ucayali, Perú. *Rev. Ceres, Viçosa*, mar/abr v. 66, n.2, pp. 108-116.
- Alloway, B.J. (2009). Soil factors associated with zinc deficiency in crops and humans. *Environ Geochem Health*. vol. 31. pp. 537–548. doi: 10.1007/s10653-009-9255-4
- Becvort-Azcurra, A., Fuentes-Lara, L.A., Benavides-Mendoza, A., Ramírez, H., Robledo-Torres, V. & Rodríguez-Mendoza, M.N. (2012). Aplicación de Se en tomate: crecimiento, productividad y estado antioxidante del fruto. *Terra Latinoamericana*. Volumen 30. Número 4. pp 291-301.
- Bindraban, P.S., Dimkpa, C., Nagarajan, L., Roy, A. & Rabinge, R. (2015). Revisiting fertilisers and fertilisation strategies for improved nutrient uptake by plants. *Biol Fertil Soils*. doi: 10.1007/s00374-015-1039-7.
- Brand, W., Cuvelier, M., Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebesem Wiss Technol*. 28: pp. 25-30.
- Cappa, J.J., Cappa, P.J., El-Meshdawi, A.F., Mcaleer, J.M., Simmons, M.P. & Pilon-Smits, E. (2014). Characterization of selenium and sulfur accumulation across the genus *stanleya* (brassicaceae): a field survey and common-garden experiment. *American Journal of Botany* 101(5): pp. 830–839.
- Carter, G. A. & Knapp, A. K. (2001). Leaf optical properties in higher plants: linking spectral characteristics to stress and chlorophyll concentration. *American Journal of Botany* 88(4): pp. 677-684.
- Cartes, P., Jara, A.A., Pinilla, L., Rosas, A. & Mora, M.L. (2010). Selenium improves the antioxidant ability against aluminium-induced oxidative stress in ryegrass roots. *Ann Appl Biol* 156. pp. 297–307.
- Chávez, M. (1988). *Manual de practicas de Laboratorio de Enzimologia*. Universidad de la Habana, Cuba. pp. 42-48.
- Coronado, M., Vega, S., Gutierrez, R., Vazquez, M. & Radilla, C. (2015). Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana. *Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana*.

- Fageria, N.K., Baligar, V.C., Clark, R.B. (2002). Micronutrients in crop production. Vol. 77, *Advances in Agronomy*. Elsevier Inc. pp. 185–268. Available from: doi:10.1016/s0065-2113(02)77015-6
- Fageria NK. (2005). Soil fertility and plant nutrition research under controlled conditions: Basic principles and methodology. *J Plant Nutr.* 28(11): pp. 1975–99.
- Fernández, V., Sotiropoulos, T. & Brown P. (2015). Fertilización foliar: Principios científicos y prácticas de campo. Asociación Internacional de la Industria de Fertilizantes (IFA) Paris, Francia.
- Fukumoto, L. & Mazza, G. (2000). Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds. *J. Agric. Food Chem.* 48: pp. 3597-3604.
- Galván, T., Guisado, R., García, M.C., Ochoa, J. & Ocaña, J. (2008). *Rev Andal Med Deporte.* 1(2): pp. 61-72.
- Garousi, F., Veres, S., Bodi, E., Varáallyay, S. & Kovács, B. (2015). Role of Selenite and Selenate Uptake by Maize Plants in Chlorophyll A and B Content. *International Journal of Agricultural and Biosystems Engineering*, 9(6), pp. 625–628.
- García, E. (1973). *Apuntes de Climatología*. Universidad Nacional Autónoma de México. México. 71 p.
- Gigolashvili, T. & Kopriva, S. (2014). Transporters in plant sulfur metabolism. *Frontiers in plant science*. September. Volume 5. Article 442. doi: 10.3389/fpls.2014.00442
- Groth, S., Budke, C., Neugart, S., Ackermann, S., Kappenstein, F.S., Daum, D. & Rohn, S. (2020). Influence of a Selenium Biofortification on Antioxidant Properties and Phenolic Compounds of Apples (*Malus domestica*). *Antioxidants* 2020, 9, 187. doi:10.3390/antiox9020187
- Golubkina, N., Zamana, S., Seredin, T., Poluboyarinov, P., Sokolov, S., Baranova, H., Krinkevov, L., Pietrantonio, L. & Caruso, G. (2019). Effect of Selenium Biofortification and Beneficial Microorganism Inoculation on Yield, Quality and Antioxidant Properties of Shallot Bulbs. *Plants*. 8, p. 102.
- Hapiot, P., Pinson, J., Neta, P., Francesch, C., Mhamdi., F., Rolando, C. & Schneider, S. (1994). Mechanism of oxidative coupling of coniferyl alcohol. *Phytochemistry*. Vol. 36. No. 4. pp. 1013-1020.
- Harris, J., Schneberg, K.A. & Pilon-Smits, E. (2014). Sulfur–selenium–molybdenum interactions distinguish selenium hyperaccumulator *Stanleya pinnata* from non-hyperaccumulator *Brassica juncea* (Brassicaceae). *Planta*. 239: pp. 479–491 doi: 10.1007/s00425-013-1996-8

- Hartikainen, H., Xue, T. & Piironen, V. (2000). Selenium as an anti-oxidant and pro-oxidant in ryegrass. *Plant and Soil* 225: pp. 193–200.
- Higuchi, T., Ito, T., Umezawa, T., Hibino, T. & Shibata, T. (1990). Red-brown color of CAD gene: Wine-red lignin from coniferyl aldehyde.lignified tissues of transgenic plants with antisense. *Journal of Biotechnology* 37. pp. 151-158.
- INPI.(1996). La nutricion foliar. Informaciones agronomicas. Instituto de la potasa y fosforo.
- Khan Academy. (2020). Las reacciones dependientes de la luz. En linea: <https://es.khanacademy.org/science/ap-biology/cellular-energetics/photosynthesis/a/light-dependent-reactions>. Fecha consulta: Enero 2021.
- Kleiber, T., Krzesinski, W., Przygocka-Cyna, K & Spizewsk, T. (2018). Alleviation effect of selenium on manganese stress of plants. *ECOL CHEM ENG S*; 25 (1): pp.143-152.
- Kong, L., Wang, M. & Bi, D. (2005). Selenium modulates the activities of antioxidant enzymes, osmotic homeostasis and promotes the growth of sorrel seedlings under salt stress. *Plant Growth Regulation*. 45: pp. 155–163. doi: 10.1007/s10725-005-1893-7
- Lambers, H. & Oliveira, R.S. (2019). Mineral Nutrition. In: *Plant Physiological Ecology*. pp.306-307. Springer, Cham.
- Li, Y.T., Li, X.Y., Xiao, Y., Zhao B.Q., & Wang, L.X. (2009) Advances in study on mechanism of foliar nutrition and development of foliar fertilizer application. *Sci Agric Sin* 42: pp. 162–172.
- López, M., Benavides, A., Ortega, H., Valdez, L. A., Cabrera, M. & Sandoval, a. (2015). Se y su efecto en el estado antioxidante y la composición mineral de la lechuga. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas Pub. Esp. Núm. 12* 12 de noviembre - 31 de diciembre. pp. 2257-2262.
- Lukaszewicz, S., Polyticka, B. & Smolen, S. (2018). Effects of selenium on the content of essential micronutrients and their translocation in garden pea. *Journal of Elementology*. 23(4): pp. 1307-1317.
- Mazej, D., Osvald, J. & Stibilj, V. (2008). Selenium species in leaves of chicory, dandelion, lamb's lettuce and parsley. *Food Chemistry* 107 pp 75–83.
- Mesa-Venegas, A.M., Gaviria, C.A., Cardona, F., Sáez-Vega, J.A., Blair-Trujillo, S. & Rojano, B.A. (2010). Actividad antioxidante y contenido de fenoles totales de algunas especies del género *Calophyllum*. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*; 15(2) pp. 13-26.

- McCinnis, S., Emery, D., Porter, R., Desikan, R., Hancock, T. & Hiscock, S. (2006). The role of stigma peroxidases in flowering plants: insights from further characterization of a stigma-specific peroxidase (SSP) from *Senecio squalidus* (Asteraceae). *Journal of Experimental Botany*, Vol. 57, No. 8, pp. 1835–1846.
- Niu, J., Liu, C., Huang, M., Liu, K. & Yan, D. (2020). Effects of Foliar Fertilization: a Review of Current Status and Future Perspectives. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*.
- Nowak, J., Kaklewski, K. & Ligocki, M. (2004). Influence of selenium on oxidoreductive enzymes activity in soil and in plants. *Soil Biology & Biochemistry* 36. pp. 1553–1558.
- Otálora, G., Piñero, M.C., López-Marín, J., Varó, P. & del Amor, F.M. (2018). Effects of foliar nitrogen fertilization on the phenolic, mineral, and amino acid composition of escarole (*Cichorium endivia* L. var. *latifolium*). *Scientia Horticulturae* 239. pp. 87–92.
- Pandey R. (2015) Mineral Nutrition of Plants. In: Bahadur B., Venkat Rajam M., Sahijram L., Krishnamurthy K. (eds) *Plant Biology and Biotechnology*. Springer, New Delhi.
- Passardi, F., Cosio, C., Penel, C. & Dunand, C. (2005). Peroxidases have more functions than a Swiss army knife. *Plant Cell Rep.* 24: pp. 255–265 doi: 10.1007/s00299-005-0972-6.
- PerkinElmer AAnalyst 700 User Manual. (1998-2000). AAnalyst 700 Atomic Absorption Spectrometer. En línea: <https://www.manualslib.com/manual/1180470/Perkinelmer-Aanalyst-700.html#manual> Fecha de consulta: Marzo 2021.
- Pezeshki, S. R. (2001). Wetland plant responses to soil flooding. *Environmental and Experimental Botany* 46. pp. 299–312.
- Quintanar, M. A. & Calderón, J. V. (2009). La capacidad antioxidante total. Bases y aplicaciones. *Revista de Educación Bioquímica*, vol. 28, núm. 3, septiembre, 2009, pp. 89-101
- Ramos, S.J., Faquin, V., Guilherme, L.R.G., Castro, E.M., Ávila, F.W., Carvalho, G.S., Bastos, C.E.A. & Oliveira, C. (2014). Selenium biofortification and antioxidant activity in lettuce plants fed with selenate and selenite. *PLANT SOIL ENVIRON.*, 56, (12): pp. 584–588
- Renkema, H., Koopmans, A., Kersbergen, L., Kikkert, J., Hale, B & Berkelaar, E. (2012). The effect of transpiration on selenium uptake and mobility in durum wheat and spring canola. *Plant Soil.* 354: pp. 239–250. doi: 10.1007/s11104-011-1069-3

- Sabatino, L., Tatsi, N., Lapichino, G., D'Anna, F. & De Pasquale, C. (2019). Effect of Selenium Enrichment and Type of Application on Yield, Functional Quality and Mineral Composition of Curly Endive Grown in a Hydroponic System. *Agronomy*. 9, p. 207.
- Saidi, I., Chtourou, Y. & Djebali, W. (2014). Selenium alleviates cadmium toxicity by preventing oxidative stress in sunflower (*Helianthus annuus*) seedlings. *Journal of Plant Physiology* 171. pp. 85–91.
- Sakharov, I., Bautista, G., Sakharova, I., Rojas, A. & Pletjuschkina, O. (1999). Peroxidasa de plantas tropicales. *Revista Colombiana de Química*. Vol. 28. No. 1.(1999) 97-106.
- Santander, M., Mejia, D. & Osorio, O. (2013). Estandarización del protocolo para evaluar la actividad enzimática de peroxidasa en tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav.). *TEMAS AGRARIOS - Julio - Diciembre*. Vol. 18:(2) pp. 36 - 49.
- Scholis, M.J., Castillo, P. & Muñoz, F. (2010). Estudio del efecto de una atmósfera ozonificada sobre la actividad peroxidásica y algunas propiedades físicas en las hojas de rábano (*Raphanus sativus*). *Revista Politécnica*. Vol. 31(1): pp.104–110.
- Sharma, S., Goyal, R. & Sadana, U. (2014). Selenium Accumulation and Antioxidant Status of Rice Plants Grown on Seleniferous Soil from Northwestern India. *Rice Science*, 21(6): pp. 327-334.
- Sors, T. G., Ellis, D. R., & Salt, D. E. (2005). Selenium uptake, translocation, assimilation and metabolic fate in plants. *Photosynthesis Research*, 86(3), pp. 373–389. doi:10.1007/s11120-005-5222-9
- SPSS Inc. Released (2009). *PASW Statistics for Windows, Version 18.0*. Chicago: SPSS Inc.
- Taiz, L. & Zieger, E. (2002). *Plant Physiology*, 3rd Ed. Sinauer Associates Ltd. Sunderland, Mass. 792 p.
- Trinidad, A. & Aguilar, D. (1999) Fertilización foliar, un respaldo importante en el rendimiento de los cultivos. *Terra Latinoamericana*, vol. 17, núm. 3, julio-septiembre, 1999, pp. 247-255
- Wani, I. A., Sogi, D. S., Wani, A. A. & Gill, B. S. (2015). Physical and cooking characteristics of some Indian kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*. doi:10.1016/j.jssas.2014.12.002
- Welinder, K. (1992). Superfamily of plant, fungal and bacterial peroxidases. *Current Opinion in Structural Biology* 1992, 2:388-393

Structural Biology 1992, 2: pp.388-393.

Wellburn, A. (1994). The Spectral Determination of Chlorophylls a and b, as well as Total Carotenoids, Using Various Solvents with Spectrophotometers of Different Resolution. J Plant Physiol. Vol. 144. pp. 307-313.