

**APLICACIÓN DE SELENIO Y SU EFECTO EN EL ESTADO
ANTIOXIDANTE Y LA COMPOSICIÓN MINERAL DE LA
LECHUGA (*Lactuca sativa* L.)**

María de Lourdes López Gutiérrez

TESIS

Presentada como requisito parcial
para obtener el grado de

Maestro en Ciencias en Horticultura



**Universidad Autónoma Agraria
Antonio Narro**

Saltillo, Coahuila, México. Marzo de 2015

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO

APLICACIÓN DE SELENIO Y SU EFECTO EN EL ESTADO ANTIOXIDANTE
Y LA COMPOSICIÓN MINERAL DE LA LECHUGA (*Lactuca sativa* L.)

María de Lourdes López Gutiérrez

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

MAESTRO EN CIENCIAS EN
HORTICULTURA

COMITÉ PARTICULAR

Asesor principal: _____
Dr. Adalberto Benavides Mendoza

Asesor: _____
Dr. Valentín Robledo Torres

Asesor: _____
Dra. Rosalinda Mendoza Villarreal

Asesor: _____
Dr. Luis Alonso Valdez Aguilar

Asesor: _____
Dra. Hortensia Ortega Ortiz

Dr. Alberto Sandoval Rangel
Subdirector de Postgrado

Saltillo, Coahuila, México. Marzo de 2015.

COMPENDIO

APLICACIÓN DE SELENIO Y SU EFECTO EN EL ESTADO ANTIOXIDANTE Y LA COMPOSICIÓN MINERAL DE LA LECHUGA (*Lactuca sativa*)

María de Lourdes López Gutiérrez

MAESTRIA EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

Saltillo, Coahuila, México, Marzo de 2015.

Dr. Adalberto Benavides Mendoza –Asesor–

Palabras clave: catalasa, lechuga, minerales, selenito de sodio.

RESUMEN

El selenio es un elemento que no aparece en los listados de elementos esenciales para las plantas y no se considera en los análisis de suelos, aguas y tejidos vegetales. Diferentes reportes indican que el Se parece asociarse con cambios en el estado redox celular. El objetivo de este estudio fue realizar aplicaciones de selenio en plantas de lechuga y verificar el efecto sobre el crecimiento, composición y metabolismo antioxidante. El experimento consistió en la aplicación de selenio foliarmente en concentraciones de 0, 5 y 10 mg L⁻¹ a los 15, 30 y 45 días después del trasplante. En las plantas se determinó el potencial de óxido-reducción, la biomasa, la concentración de minerales y la actividad catalasa foliar. La aplicación de selenio fue efectiva para modificar el potencial de óxido-reducción y elevar la actividad catalasa sin causar modificaciones en el contenido de minerales y la biomasa.

ABSTRACT

Selenium Application and Effect on Antioxidant Status and Mineral Composition of Lettuce (*Lactuca sativa*)

María de Lourdes López Gutiérrez

MASTER OF SCIENCE IN HORTICULTURE

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

Saltillo, Coahuila, México, Junio del 2014.

Dr. Adalberto Benavides Mendoza –Advisor-

Index words: *catalase, lettuce, minerals, sodium selenite.*

SUMMARY

Selenium is an element that does not appear in the lists of essential elements for plants and are not considered in the analyzes of soil, water and plant tissues; but, various studies indicate that Se appears to be associated with changes in cellular redox state. The aim of this work was to conduct selenium applications lettuce plants and verify the effect on growth, metabolism and antioxidant seedlings. The experiment consisted of the foliar application of selenium in concentrations of 0, 5 y 10 mg L⁻¹ at 15, 30 and 45 days after transplantation. In plants redox potential (ORP), biomass, mineral concentration and foliar catalase activity was determined. The application of selenium was effective to modify the oxide-redox potential and increase the catalase activity without causing changes in the minerals content and biomass.

AGRADECIMIENTOS

A DIOS, por la vida, porque cada día me da todo lo que necesito para seguir adelante, gracias porque en los momentos difíciles nunca me ha soltado de su mano.

Al CONACyT, por el apoyo económico brindado durante los años de mi formación en la Maestría en Ciencias en Horticultura en la UAAAN.

A LA UAAAN, mi querida Alma Mater por brindarme la oportunidad de realizar mis estudios de postgrado en el programa de Maestría en Ciencias en Horticultura.

Al CIQA, por el apoyo brindado durante la realización del trabajo de tesis.

Al Dr. Adalberto Benavides Mendoza, por darme la oportunidad de realizar mi tesis de maestría y haber contribuido de manera significativa a mi formación profesional y científica.

A la Dra. Hortensia Ortega Ortiz, por su tiempo y asesoría en la revisión del presente trabajo, muchas gracias por el apoyo brindado.

Al cuerpo docente del Programa de Maestría en Ciencias en Horticultura, en especial a los doctores: Luis Alonso Valdez Aguilar, Rosalinda Mendoza Villarreal que con sus enseñanzas me ayudaron a formarme profesionalmente y al Dr. Valentín Robledo Torres por su colaboración en la revisión de este trabajo de investigación.

A la T. A. Martina De la Cruz Casillas por su ayuda en el trabajo de laboratorio y por la amistad brindada, muchas gracias.

DEDICATORIA

A mis padres Orlando Julio López y María del Socorro Gutiérrez, gracias por creer siempre en mí, por la confianza, el amor y por todo el apoyo que siempre me han dado.

A mis hermanos Diego e Isela, por ser siempre mi fuente de inspiración para seguir superándome y por amor que me brindan, gracias por compartir conmigo las cosas buenas y malas y por estar a mi lado siempre.

A mi novio Carlos gracias amor por estar conmigo siempre, por todo lo que me has enseñado, por ser un hombre maravilloso que me apoya en todo y porque a pesar de todo estas a mi lado, te amo.

A mis tíos: Carlos, Blanca, Magdalena, Elizabeth y Ángel, por el apoyo tanto económico como moral que me han brindado junto con mi familia, sin ustedes no estaría hoy hasta donde estoy, gracias por nunca dejarnos solos y por brindarnos tanto cariño.

A mis abuelos: Sori, Blanca y Abelardo, por todo el cariño y por los consejos que los llevo bien presentes todos los días.

ÍNDICE DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS.....	v
DEDICATORIA.....	vi
ÍNDICE DE CONTENIDO.....	vii
I. INTRODUCCIÓN	1
Objetivo General.....	2
Objetivos Específicos	2
Hipótesis.....	2
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
Selenio	3
Selenio en suelos	3
Selenio en agua	4
Mecanismos de absorción, asimilación y acumulación del selenio	4
Selenio en plantas.....	5
Especies reactivas de oxígeno (EROS)	6
Selenio como inductor de antioxidantes.....	7
III. ARTÍCULO	9
IV. CONCLUSIONES ESPECÍFICAS	20
V. LITERATURA CITADA	21

I. INTRODUCCIÓN

El selenio (Se) es un elemento esencial para los humanos pero calificado como no esencial para las plantas. Sin embargo, en presencia de Se en el sustrato o aplicado por aspersión foliar las plantas lo acumulan en sus tejidos, sirviendo como fuente primaria de este elemento en la alimentación (Broadley *et al.*, 2006). En la mayoría de los suelos del mundo la concentración de Se es baja, de 0.01 a 2.0 mg kg⁻¹ con una media de 0.4 mg kg⁻¹, aunque pueden encontrarse en suelos denominados seleníferos concentraciones de hasta 1200 mg kg⁻¹ de Se (Fordyce, 2005). Se considera que el Se es esencial en los humanos por su papel como cofactor de enzimas relacionadas con el metabolismo antioxidante (Rayman, 2008). En las plantas el Se también ejerce un efecto positivo en la capacidad antioxidante, actuando más efectivamente este elemento en forma de selenito que en forma de selenato (Cartes *et al.*, 2005). En México los estudios acerca de la relación entre el Se y la calidad nutricional de los alimentos en términos de su capacidad antioxidante son pocos y por ello el objetivo de este trabajo fue documentar el efecto de las aplicaciones de Se en plantas de lechuga, verificando el crecimiento de las plantas, la composición mineral de las hojas y la capacidad antioxidante de los extractos celulares foliares. Lo anterior bajo la hipótesis de que la aplicación de este elemento modificará el balance redox celular, aumentando la capacidad antioxidante de los tejidos de la planta.

Objetivo General

Documentar el efecto del selenio sobre el crecimiento, composición y metabolismo antioxidante de la lechuga.

Objetivos Específicos

-Verificar la magnitud del enriquecimiento aplicando selenito de sodio (Na_2SeO_3) por aspersión foliar.

-Estudiar las respuestas de las plantas a las variables de crecimiento, acumulación de biomasa, potencial redox del extracto celular del pecíolo (ECP, actividad enzimática antioxidante (catalasa).

Hipótesis

La aplicación de selenio modificará el balance redox celular, aumentando la capacidad antioxidante de los tejidos de lechuga.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

Selenio

Actualmente al Se se le considera un elemento traza esencial para los animales tanto por su valor nutricional como clínico, ya que actúa como un potente antioxidante, es eficaz en la inhibición de expresión de virus y juega un papel importante en el sistema inmunológico. El Se se encuentra en la naturaleza y en sistemas biológicos como selenato (Se^{6+}), selenito (Se^{4+}), selenio elemental (Se^0) y seleniuro (Se^{2-}) Broadley, *et al.* (2006). Debido a las formas presentes de selenio en la naturaleza y las diferencias bioquímicas entre ellas, se puede ocasionar modificaciones en la isomería al interactuar con la flora microbiana y causar oxidación o reducción, o bien formación de compuestos orgánicos (Valdiviezo, 2012). El selenio (Se) existe de manera natural en la corteza terrestre.

El Se de estas fuentes naturales es altamente disponible y móvil en zonas áridas con suelos alcalinos, pero por las actividades antropogénicas el Se es movilizado y llega a ser disponible para plantas y animales, el cual se bioacumula y es incorporado a la cadena alimenticia (Gutiérrez *et al.*, 2013).

Selenio en suelos

La concentración total de Se en la mayoría de los suelos se estima alrededor de 0.2 ppm, y los suelos con cantidades mayores son clasificados como suelos seleníferos y generalmente tienden a presentar una textura pesada o arcillosa (Rosenfeld y Beath, 1964).

La cantidad de selenio en el suelo puede ser clasificada con base en los niveles del mismo encontrados en plantas que no lo acumulan, pero que crecen en dicho suelo, o bien de acuerdo al nivel de selenio en el propio suelo (Davis *et al.*, 2002).

Selenio en agua

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

Sugimura, *et al.* (1976) determinaron la concentración de Se en diferentes partes del océano pacífico norte occidental, encontrando que el selenio total en las aguas superficiales varió de 0.06 a 0.12 $\mu\text{g L}^{-1}$, mientras que en aguas más profundas el contenido es mayor a 0.20 $\mu\text{g L}^{-1}$. Sobre la abundancia de las formas químicas en el agua de mar se encontró hasta un 60% del selenio en forma de Se^{4+} , mientras que el Se^{6+} contabilizó el restante 40%.

En el agua el selenio proviene de fuentes antropogénicas, en forma de gases y partículas liberadas por erupciones volcánicas. Su concentración es similar al encontrado en el suelo teniendo cantidades de $<1\text{mg de Se/L}$, siendo las formas más comunes encontradas en el agua son selenito (Se^{4+}) y selenato (Se^{6+}) (Rodríguez *et al.*, 2003).

Mecanismos de absorción, asimilación y acumulación del selenio

El selenio es metabolizado en las plantas por la vía de asimilación del azufre y su distribución y acumulación dependerá de la especie química y la concentración del elemento suministrado a las raíces y por vía foliar, así como de la naturaleza y la

concentración de otras sustancias en la solución (Terry *et al.*, 2000). Respecto a su forma química, en el corto plazo la mayor parte de Se tomado como selenato se mantiene en forma inorgánica, mientras que cuando se aplica como selenito se acumula en su forma orgánica (Cartes *et al.*, 2006).

Las plantas absorben e incorporan Se en su biomasa, aunque existen diferencias sustanciales en la concentración de Se de los tejidos vegetales según las distintas especies y también en cuanto a su tolerancia (Brown y Shrift, 1982). Las plantas acumuladoras de Se (p.ej. *Astragalus*, *Machaeranthera*, *Haplopappus*, y *Stanleya*) pueden llegar a tener concentraciones de varios miles de mg kg^{-1} en sus tejidos, mientras que las no acumuladoras, entre ellas la mayoría de plantas de cultivo, raramente alcanzan valores superiores a 50 mg kg^{-1} de Se, aun creciendo en suelos con elevados contenidos en Se (Mayland *et al.*, 1989; Wu, 1994).

El Se puede ser absorbido como selenato (Se^{6+}), selenito (Se^{4+}) y selenio orgánico. Tanto el selenato (Se^{6+}) como el selenio orgánico se encuentran activos metabólicamente, mientras que el selenito (Se^{4+}) puede permanecer como componente pasivo; las formas orgánicas del Se son más disponibles para las plantas que las formas inorgánicas (Cruz, *et al.* 2011).

Selenio en plantas

En plantas acumuladoras el Se es incorporado vía alterna del sulfato debido a que es similar químicamente y actúa análogamente en muchas reacciones bioquímicas (Bañuelos y Mayland, 2000).

El flujo de selenio de las hojas y tallos a los frutos ocurre por el floema, posteriormente a la asimilación del selenio en compuestos orgánicos (Arvy, 1982),

situación que se suma a la compleja distribución no diferencial que se presenta entre la raíz, los tallos y hojas (Arvy, 1982, 1993; Grattan, *et al.* 1987; Zayed,*et al.*1998; Pezzarossa, *et al.* 1999; Simijoki, *et al.* 2003).

Morris y Levander (1970) encontraron que la mayor parte de los frutos y vegetales creciendo en suelos no seleníferos mostraron concentraciones de selenio menores a 0.01 µg/g. El contenido bajo de selenio en frutos y vegetales parece ser la situación normal en muchos lugares (Eurola, *et al.* 1989; Combs, 2001; Fordyce, *et al.* 2005; Broadley, *et al.* 2006; Rayman, 2002, 2008).

Especies reactivas de oxígeno (EROS)

Las especies reactivas de oxígeno tienen en las plantas, papeles importantes en el crecimiento, desarrollo e interacciones con el medio ambiente, y por tanto, se producen en cantidades significativas durante la fotosíntesis y la respiración. Sin embargo, se mantiene la homeostasis redox mediante mecanismos que controlan su síntesis y depuración. El desbalance entre la producción y la eliminación de las especies reactivas en los organismos conducen a lo que se conoce como estrés oxidativo (Miranda y Castro, 2013).

Las células poseen antioxidantes para protegerse de las ROS (Especies Reactivas de Oxígeno) y de otros radicales. Los antioxidantes son *agentes reductores* que pueden reaccionar fácilmente con las sustancias oxidantes y por eso protegen de la oxidación a las moléculas más importantes. Entre los antioxidantes biológicos figuran la vitamina C y E, la coenzima Q y algunos carotenoides. La bilirrubina formada por la degradación del hemo, también protege contra la degradación. De especial importancia es el glutatión un tripéptido que existe en altas concentraciones en casi todas las células el glutatión tiene un enlace

peptídico atípico entre Glu y Cis. El grupo tiolico del residuo de cisteína tiene actividad redox y cuando se oxidan dos moléculas de la forma reducida (GSH, arriba) se enlazan y forman el disulfuro (GSSG, abajo) (Koolman y Rohn., 2004).

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

Selenio como inductor de antioxidantes

Los antioxidantes son compuestos que permiten la vida celular en un ambiente oxidante y son los responsables de la eliminación de los radicales libres los cuales se producen, de manera natural, en los sitios de actividad energética celular; la función química de los antioxidantes es ceder potencial reductor a los compuestos oxidantes capaces de dañar a los componentes celulares. (Benavides *et al.*, 2009).

Los organismos poseen numerosos sistemas de defensa antioxidantes regulables, enzimáticos (superóxido dismutasa, la catalasa, la GSH-peroxidasa, las quinonas reductasas y hemoxigenasa) y no enzimáticos (Se, Zn, vitaminas C y E y carotenoides) que son las encargados de evitar estos factores (Murillo, 2007). Estas defensas de respuestas; se desencadenan por factores biótico tales como patógenos, plagas y simbiontes, o por factores abióticos como alta o baja temperatura, radiación, salinidad, entre otros, y no necesariamente en condiciones que originan estrés (Benavides *et al.*, 2009).

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

El papel de Se como un antioxidante en pastos sugiere que la adición al suelo puede mejorar la calidad del forraje, por la disminución de la senescencia y persistencia de la pastura (Cartes *et al.*, 2005). A bajas concentraciones, actúa como un antioxidante y puede estimular el crecimiento de las plantas, mientras que a mayores concentraciones, actúa como un pro-oxidante así contribuye a la reducción del rendimiento.

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

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

III. ARTÍCULO

**APLICACIÓN DE SELENIO Y SU EFECTO EN EL ESTADO ANTIOXIDANTE
Y LA COMPOSICIÓN MINERAL DE LA LECHUGA (*Lactuca sativa*)
Selenium Application and Effect on Antioxidant Status and Mineral Composition
of Lettuce (*Lactuca sativa*)**

**María de Lourdes López-Gutiérrez¹, Adalberto Benavides-Mendoza^{1*}, Hortensia
Ortega-Ortíz², Luis Alonso Valdez-Aguilar¹, Valentín Robledo-Torres¹**

¹Departamento de Horticultura, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro,
Buenavista, Saltillo, Coah. C.P. 25315 México. ²Departamento de Materiales
Avanzados, Centro de Investigación en Química Aplicada, Blvd. Enrique Reyna
140, Saltillo, Coahuila. CP 25294.

*Autor responsable: abenmen@uaaan.mx

RESUMEN

El selenio es un elemento que no aparece en los listados de elementos esenciales para las plantas y no se considera en los análisis de suelos, aguas y tejidos vegetales. Diferentes reportes indican que el Se parece asociarse con cambios en el estado redox celular. El objetivo de este estudio fue realizar aplicaciones de selenio en plantas de lechuga y verificar el efecto sobre el crecimiento, composición y metabolismo antioxidante. El experimento consistió en la aplicación de selenio en forma foliar en

concentraciones de 0, 5 y 10 mg L⁻¹ a los 15, 30 y 45 días después del trasplante. En las plantas se determinó el potencial de óxido-reducción, la biomasa, la concentración de minerales y la actividad catalasa foliar. La aplicación de selenio fue efectiva para modificar el potencial de óxido-reducción y elevar la actividad catalasa sin causar modificaciones en el contenido de minerales y la biomasa.

Palabras clave: *catalasa, lechuga, minerales, selenito de sodio.*

SUMMARY

Selenium is an element that does not appear in the lists of essential elements for plants and are not considered in the analyzes of soil, water and plant tissues; but, various studies indicate that Se appears to be associated with changes in cellular redox state. The aim of this work was to conduct selenium applications lettuce plants and verify the effect on growth, metabolism and antioxidant seedlings. The experiment consisted of the foliar application of selenium in concentrations of 0, 5 y 10 mg L⁻¹ at 15, 30 and 45 days after transplantation. In plants redox potential (ORP), biomass, mineral concentration and foliar catalase activity was determined. The application of selenium was effective to modify the oxide-redox potential and increase the catalase activity without causing changes in the minerals content and biomass.

Index words: *catalase, lettuce, minerals, sodium selenite.*

INTRODUCCIÓN

El selenio es un elemento esencial para los humanos pero calificado como no esencial para las plantas. Sin embargo, en presencia de selenio en el sustrato o aplicado por aspersión foliar las plantas lo acumulan en sus tejidos, sirviendo como fuente

primaria de este elemento en la alimentación (Broadley *et al.*, 2006). En la mayoría de los suelos del mundo la concentración de selenio es baja, de 0.01 a 2.0 mg kg⁻¹ con una media de 0.4 mg kg⁻¹, aunque pueden encontrarse en suelos denominados seleníferos concentraciones de hasta 1200 mg kg⁻¹ de Se (Fordyce, 2005). Se considera que el selenio es esencial en los humanos por su papel como cofactor de enzimas relacionadas con el metabolismo antioxidante (Rayman, 2008). En las plantas el selenio también ejerce un efecto positivo en la capacidad antioxidante, actuando más efectivamente este elemento en forma de selenito que en forma de selenato (Cartes *et al.*, 2005). En México los estudios acerca de la relación entre el selenio y la calidad nutricional de los alimentos en términos de su capacidad antioxidante son pocos y por ello el objetivo de este trabajo fue documentar el efecto de las aplicaciones de selenio en plantas de lechuga, verificando el crecimiento de las plantas, la composición mineral de las hojas y la capacidad antioxidante de los extractos celulares foliares. Lo anterior bajo la hipótesis de que la aplicación de este elemento modificará el balance redox celular, aumentando la capacidad antioxidante de los tejidos de la planta.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo se llevó a cabo en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, en Saltillo, Coahuila, México, en condiciones de invernadero, en los meses de agosto-diciembre del 2014, teniendo una temperatura y humedad relativa promedio de 17.8 °C y 68 % respectivamente. Se utilizaron semillas de lechuga (*Lactuca sativa*) de la variedad Great Lakes, estas se colocaron en charolas germinadoras de 200 cavidades utilizando como sustrato peatmoss y perlita para germinación. Transcurridos 40 días después de la siembra las plántulas se trasplantaron a macetas de polietileno de 20 L

usando como sustrato una mezcla de peat moss y perlita con una proporción de 70:30 v: v. Los tratamientos consistieron en aplicaciones foliares de selenio en concentración de 0, 5 y 10 mg L⁻¹ a los 15, 30 y 45 días después del trasplante. Como fuente de selenio se utilizó selenito de sodio (Na₂SeO₃, Sigma Aldrich, USA) sin mezclarlo con coadyuvantes. Se colectaron las hojas con madurez fisiológica de tres plantas por cada tratamiento a los 20 y 35 días después del trasplante (ddt), estas fueron molidas y se obtuvo el extracto fresco foliar en donde se determinó el potencial de óxido-reducción (ORP) (mV), usando un potenciómetro HI98185-01 (HANNA, Inc., USA), usando la técnica descrita por Benavides-Mendoza *et al.* (2002). La actividad catalasa (EC 1.11.1.6) se cuantificó igualmente en las hojas con madurez fisiológica a los 35 días después del trasplante (ddt) siguiendo la técnica de Ramos *et al.* (2010). Se utilizó un espectrofotómetro UV-Vis Biomate 5 (Thermo Electron, USA) en 590 nm y los resultados se expresaron en mM de consumo de H₂O₂ min⁻¹ proteínas totales⁻¹ (mg/g). El peso fresco de las partes aéreas y de la raíz se determinó a los 50 días ddt tomando tres plantas completas por cada tratamiento. Estas se lavaron cuidadosamente y se separó la raíz del tallo y hojas a la altura de la corona. Los pesos fueron medidos con una balanza Adventurer Pro (OHAUS, Inc., USA). Posteriormente las mismas muestras fueron colocadas en una estufa deshidratadora marca Roberts hawa a 60 °C durante 72 h para luego ser pesadas en una balanza analítica Pioneer (OHAUS, Inc., USA). Sobre las muestras secas se determinó la concentración de minerales en las hojas. Para el nitrógeno total se usó la técnica de micro Kjeldhal (AOAC, 1980a), mientras que para el fósforo se utilizó un método espectrofotométrico (AOAC, 1980b), el K, Ca, Mg, Na, Fe, Mn, Cu y Zn fueron medidos por medio de un espectrofotómetro de absorción atómica de la marca Varían AA-1275 siguiendo la técnica de Fick *et al.* (1976). Para la

determinación del selenio se hizo primero la digestión de 0.5 g de muestra seca en ácido nítrico concentrado hasta que se eliminó toda la parte orgánica usando un espectrofotómetro de emisión atómica por plasma IRIS ADVANTAGE (THERMO JARRELL, USA). El diseño estadístico fue de bloques completos al azar con 3 repeticiones. El análisis de los datos consistió en análisis de varianza y pruebas de medias de Tukey y se llevó a cabo con el programa SAS versión 6.0 (SAS Institute, 2001).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La aplicación de selenio foliar presentó un efecto sustancial sobre el potencial de óxido-reducción (ORP) (Figura 1). Los valores de ORP indican la capacidad antioxidante, es decir, la capacidad del sistema bajo análisis de ceder electrones en comparación con un electrodo de hidrógeno (Benavides *et al.*, 2002). Mientras más bajo sea el valor de ORP mayor capacidad de ceder electrones y funcionar como antioxidante. Este resultado se relaciona posiblemente con una mayor actividad enzimática antioxidante, la cual se sabe aumenta en presencia de ciertas concentraciones de selenio (Freeman *et al.*, 2010). Lo anterior parece confirmarse por los resultados obtenidos con la actividad catalasa foliar (Figura 2) que mostró una tendencia positiva y significativa al aplicarse selenio a las plantas. Estos resultados son similares a los obtenidos por Lingan *et al.* (2005) que también reportaron un efecto positivo del selenio sobre la actividad catalasa.

Es probable que el efecto del selenio sobre el potencial antioxidante no se asocie con una mayor actividad fotosintética y tal vez ello explique la ausencia de diferencias en el peso fresco y seco de la raíz y las hojas de las plantas de lechuga en este estudio

(Cuadro 1). Becvortet *al.* (2012) obtuvieron resultados análogos aplicando selenio en tomate, obteniendo un aumento significativo en el estado antioxidante pero sin observar diferencias en los pesos frescos y secos de frutos y raíz entre los distintos tratamientos.

En cuanto al contenido de minerales en las plantas de lechuga (Cuadro 2) únicamente se encontraron diferencias en el contenido de nitrógeno y fósforo al aplicar selenio. Nowaket *al.* (2002) también encontraron un incremento en el contenido de nitrógeno con la aplicación de selenito a plantas de trigo. Los datos obtenidos en cuanto al P coinciden con Wu y Huang (2004), quienes encontraron un incremento de este elemento en plantas de trébol cuando se aplicaron cantidades bajas de selenito aplicando al sustrato 0, 10, 20 y 30 mg kg⁻¹. Respecto a la concentración del selenio se encontró en mayor cantidad en el tratamiento de 10 mg kg⁻¹, Kapolnaet *al.* (2009) incrementaron la concentración radical de selenio de 0.045 a 2.0 µg g⁻¹ en peso seco al aplicar 100 mg L⁻¹ de selenio por aspersión foliar. Estos datos coinciden con los de Smrkoljet *al.* (2006) quienes indican la necesidad de llevar a cabo aspersiones repetidas si el objetivo es la acumulación de selenio.

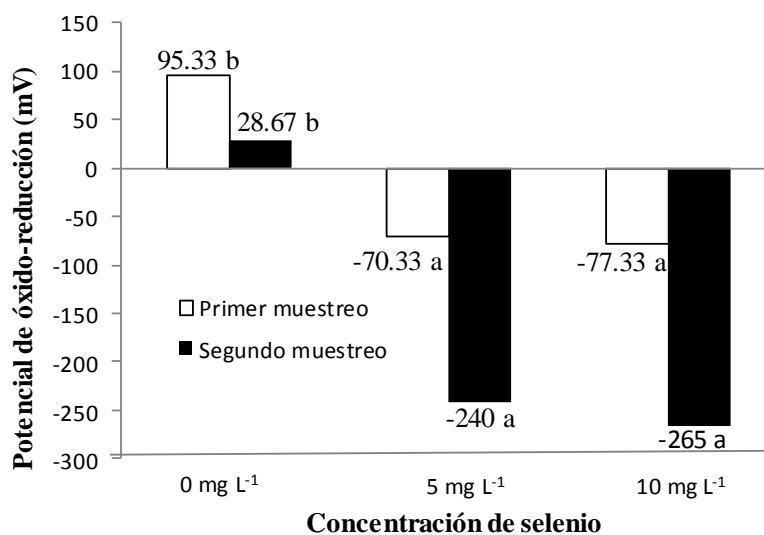


Figura 1. Promedio y desviación estándar del potencial de óxido reducción (ORP en mV) en el extracto fresco de plántulas de lechuga a las cuales se les aplico selenio en forma de selenito de sodio. Las barras con distinta literal indican diferencia según Tukey ($P \leq 0.05$).

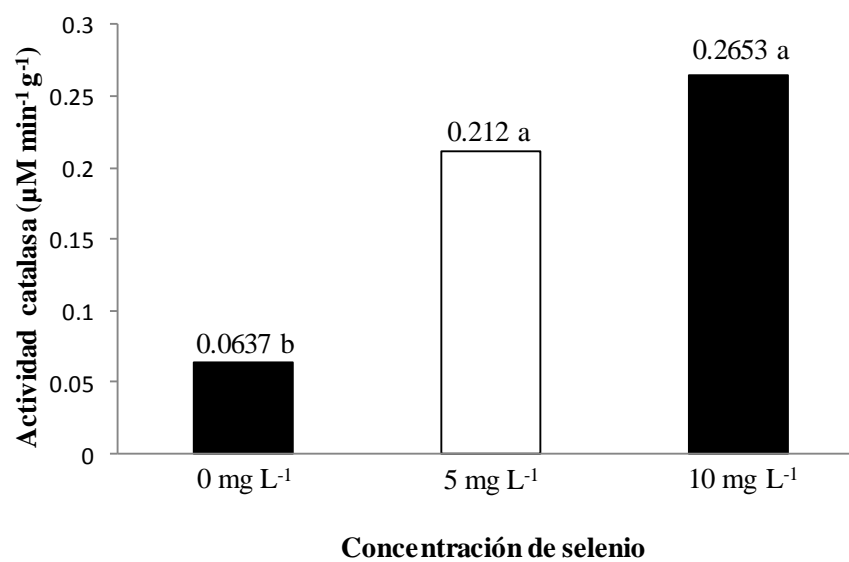


Figura 2. Promedio y desviación estándar de la actividad catalasa en plántulas de lechuga a las cuales se les aplicó selenio en forma de selenito de sodio. Las barras con distinta literal indican diferencia según Tukey ($P \leq 0.05$).

Cuadro 1. Efecto de la aplicación foliar de selenio sobre los pesos frescos y secos de plantas de lechuga.

Tratamiento	Peso Fresco	Peso Freso	Peso Seco	Peso Seco
	Hojas	Raíz	Hojas	Raíz
mg L ⁻¹	g	g	g	g
0	865.0 a	62.700 a	24.690 a	6.257 a
5	737.3 a	52.770 a	23.780 a	5.453 a
10	686.7 a	45.110 ab	26.270 a	6.620 a

Cuadro 2. Efecto de la aplicación foliar de selenio sobre la concentración de minerales en hojas de lechuga.

TRT	N	P	K	Ca	Mg	Na	Fe	Zn	Mn	Cu	Se
mg L ⁻¹	%	%	%	%	%	%	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹
1							1	1	1		
0	3.03		1.30								0.0 ^z b
	b ^y	0.48 b	a	0.96 a	0.28a	0.73 a	196.7 a	3.30 a	64.3 a	3.0 a	
5			1.27								1.8 b
	3.62 a	0.53 ab	a	1.10 a	0.27 a	0.72 a	188.7 a	7.00 a	21.0 a	2.0 a	

10	1.08						32.6 a			
	3.64 a	0.58 a	a	0.67 a	0.25 a	0.84 a	163.7 a	3.33 a	12.6 a	1.3 a

TRT=Tratamiento. [¥]Promedios seguidos de distintas literales son estadísticamente diferentes según Tukey ($P \leq 0.05$). [‡]Se consideró un valor de cero en la concentración de Se cuando no fue detectado.

CONCLUSIONES

La aplicación de selenio en forma foliar indujo un mayor estatus antioxidante en las plantas de lechuga, aumentando la concentración de N y P foliar pero sin modificar la concentración de otros elementos ni la biomasa.

La aplicación foliar de selenio puede usarse como una herramienta para elevar la calidad nutricional de la lechuga en términos de antioxidantes.

AGRADECIMIENTOS

La autora María de Lourdes López Gutiérrez agradece al CONACYT por el apoyo económico brindado. A la LCQ Irma O. Solís De la Peña por los análisis de selenio y al laboratorio de Nutrición Animal de la UAAAN por los análisis de minerales.

LITERATURA CITADA

Association of official analytical chemiste (AOAC). 1980 a. Official Methods of Analysis 13th edition. Association of Official Analytical Chemists. Washington, DC., USA. pp 547 -562.

Association of official analytical chemiste (AOAC). 1980 b. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 30th edition. Association of Official Analytical Chemist. Washington, D.C. USA. pp 39.

- Becvort-Azcurra, A., L. O. Fuentes-Lara, A. Benavides-Mendoza, H. Ramírez, V. Robledo-Torres y M. N. Rodríguez-Mendoza. 2012. Aplicación de selenio en tomate: crecimiento, productividad y estado antioxidante del fruto. *Terra Latinoamericana* 30:291-301.
- Benavides-Mendoza, A., H. Ramírez, V. Robledo-Torres, E. Cornejo-Oviedo and R.K. Maiti. 2002. Productivity, CO₂ assimilation, and mineral tissue concentrations in onion plants under colored plastic films. *Crop Research* 24:26-39.
- Broadley M. R., P. J. White M., R. J. Bryson, M. C. Meacham, H. C. Bowen, S. E. Johnson, M. J. Hawkesford, S. P. McGrath, F. J. Zhao, N. Breward, M. Harriman and M. Tucker. 2006. Biofortification of UK food crops with selenium. *Proc. Nutr. Soc.* 65:169-181.
- Cartes, P., L. Gianfrera, and M. L. Mora. 2005. Uptake of selenium and its antioxidative activity in ryegrass when applied a selenate and selenite forms. *PlantSoil* 276: 359-367.
- Fick K. R., S. M. Miller., J. D. Funk., L. R. McDowell and R. H. Houser. 1976. Methods of mineral analysis for plant and animal tissues. University of Florida institute of food and agriculture. Sciences, Departament of Animal Sciences, Gainesville, FL. USA. 81 p.
- Fordyce, F. 2005. Selenium deficiency and toxicity in the environment. pp. 373-415. In: O. Selinus, B. Alloway, J. Centeno, R. Finkelman, R. Fuge, U. Lindh, and P Smedley (Eds.). *Essentials of Medical Geology*. Elsevier. Amsterdam, The Netherlands.
- Freeman J.L., M. Tamaoki, C. Stushnoff, F. Colin, J. Cappa, D., F. Sirine, M. Matthew, S. McGrath, H. Doug Van and E. A.H. Pilon-Smits. 2010. Molecular mechanisms of selenium tolerance and hyperaccumulation in *Stanleyapinnata*. *Plant Physiol.* 153:1630-1652.
- Kápolna, E., P. R. Hillestrom, K. H. Laursen, S. Husted, and E. H. Larsen. 2009. Effect of foliar application of selenium on its uptake and speciation in carrot. *Food Chem.* 115: 1357-1363.
- Lingan, Mao W., B. Dongling. 2005. Selenium modulates the activities of antioxidant enzymes, osmotic homeostasis and promotes the grown of sorrel seedling under salt stress. *Plant Growth Regul.* 45: 155-163.

- Nowak, J., K. Kaklewski, and M. Ligocki. 2004. Influence of selenium on oxidoreductive enzymes activity in soil and in plants. *Soil Biol. Biochem.* 36: 1553-1558.
- Ramos S. J., V. Faquin, L. R. G. Guilherme, E. M Castro, F. W. Ávila, G. S. Carvalho, C.E.A. Bastos, C. Oliveira. 2010. Selenium biofortification and antioxidant activity in lettuce plants fed with selenate and selenite. *Plant Soil Environ.* 12: 584–588.
- Rayman, M. P. 2008. Food-chain selenium and human health: emphasis on intake. *Brit. J. Nutr.* 100: 254-268.
- SAS Institute. 2001. PROC user's manual. 6th ed. SAS Institute. Cary, NC, USA. 252 pp.
- Smrkolj, P., M. Germ, I. Kreft, and V. Stibilj. 2006. Respiratory potential and Se compounds in pea (*Pisumsativum*L.) plants grown from Se-enriched seeds. *J. Exp. Bot.* 57: 3595-3600.
- Wu L. and Huang Z. 2004. Chloride and sulfate salinity effects on selenium accumulation by tall fescue. *Crop Sci.* 31: 114-118.

IV. CONCLUSIONES ESPECÍFICAS

La aplicación de selenio por aspersión foliar propició un aumento en el potencial de óxido-reducción, así como también aumentó la actividad catalasa en las plantas de lechuga, por lo que se puede tomar a este metaloide como una alternativa para mejorar nutricionalmente a esta especie.

V. LITERATURA CITADA

- Arvy, M.P. 1982. Translocation of Selenium in the Bean Plant (*Phaseolus vulgaris*) and the Field Bean (*Vicia faba*). *Physiol. Plant.* 56:299-302.
- Arvy, M.P. 1993. Selenate and Selenite Uptake and Translocation in Bean Plants (*Phaseolus vulgaris*). *J. Exp. Bot.* 44: 1083-1087.
- Bañuelos G.S. and Mayland H.F. 2000. Absorption and Distribution of Selenium in Animals Consuming Canola Grown for Selenium Phytoremediation. *Ecotox. Env. Saf.* 46:322-8.
- Benavides-Mendoza, R. Mendoza Villarreal., H. Ortega-Ortiz, H. Ramírez, Fuentes L. L.O. 2002. Aplicación Exógena de Inductores de Tolerancia y su Efecto en la Actividad Enzimática Antioxidante en Frutos de Tomate. Congreso Nacional de Fitogenética. Saltillo, Coah., 1 al 5 de septiembre del 2002. p. 72. ISBN 968-839-314-2.
- Benavides-Mendoza., H. Ramírez, Fuentes L. L.O. 2009. Antioxidantes en las Plantas: Algunos Factores Edáficos y Ambientales que los Modifican. Fecha de Consulta: 11 de febrero de 2015. Disponible en línea en: <http://www.abenmen.com/a/antioxidantes.pdf>.
- Broadley M. R., White M., P. J., Bryson R. J., Meacham M. C., Bowen H. C., Johnson S. E., Hawkesford M. J., McGrath S. P., Zhao F. J., Breward N., Harriman M. and Tucker M., 2006. Biofortification of UK foodcrops with selenium. *Proceedings of the Nutrition Society* 65: 169-181.
- Brown, T. A. and A. Shrift. 1982. Selenium: toxicity and tolerance in higher plants. *Biol. Rev.* 57: 59-84.
- Cartes P., Gianfreda L. and Mora M.L. 2005. Uptake of Selenium and its Antioxidant Activity in Ryegrass when Applied as Selenate and Selenite Forms. *Plant and Soil* 276:359–367.
- Cruz J. G, Yáñez B. E, Gutiérrez V. G., Bernal. A. J, Durán. C. E, Figueroa. G. S, Gardea. T. J., Y De la Rosa. A. M. 2011. Investigación de la Biotransformación de Se en Tejidos de *Phaseolus Vulgaris*. Mediante Espectroscopia de Absorción de Rayos X. *Acta Universitaria*. Universidad de Guanajuato. 21 (4). 48-54.

- Cartes, P., C. Shene, and M. L. Mora. 2006. Selenium distribution in ryegrass and its antioxidant role as affected by sulfur fertilization. *Plant Soil*. 285:187-195.
- Combs, G. F. Jr. 2001. Selenium in global food systems. *Br. J. Nutr.* 85: 517-547.
- Davis, J. G., T. J. Steffens, T. E. Engle, K. L. Mallow, and S. E. Cotton. 2002. Diagnosing Selenium Toxicity. Colorado State University. Cooperative extension. No. 6. 109.
- Djanaguiraman M., DurgaDevi D., K. Shanker Arun, Annie Sheeba J. And Bangarusamy U. 2005. Selenium Antioxidative Protectant in Soybean During Senescence. *Plant and Soil* 272: 77–86.
- Euroala, M, P. Ekholm, M. Ylinen, P. Koivistoinen, and P. Varo. 1989. Effects of selenium fertilization on the selenium content of selected Finnish fruits and vegetables. *Acta Agric. Scand.* 39: 345-350.
- Fordyce, F., 2005. Selenium Deficiency and Toxicity in the Environment. *Essentials of Medical Geology*, Chap. 15, pp. 373–415 [O Selinus, B Alloway, J Centeno, R Finkelman, R Fuge, U Lindh and P Smedley, editors]. Elsevier, London.
- Grattan, S.R., C. Shennan, D.M. May, J.P. Mitchell and R.G. Burau. 1987. Use of Drainage Water for Irrigation of Melons and Tomatoes. *California Agric.* September-October: 27-28.
- Hartikainen, H., T. Xue and V. Piironen. 2000. Selenium as an Antioxidant and Pro-Oxidant in Ryegrass. *Plant Soil* 225: 193-200.
- Hasanuzzaman, M., M. A. Hossain, and M. Fujita. 2010. Selenium in Higher Plants: Physiological Role, Antioxidant Metabolism and Abiotic Stress Tolerance. *J. Plant Sci.* 5:354-375.
- Koolman, Jan. Rohm, Klaus-Heinrich. *Bioquimica: Texto y Atlas*. 3a. ed. Médica Panamericana, 2004. 492 p.
- Mayland, H.F. 1994. Selenium in plant and animal nutrition. Pp 29-45. In: W. T. Jr. Frankenberger and J. Benson (eds.). *Selenium in the environment*. New York: Marcel Dekker.

- Miranda. H. M y Castro. C. L. 2009. El estrés Oxidativo en Plantas. Unidad de Bioquímica y Biología Molecular.
- Morris, V. C. and O. A. Levander. 1970. Selenium content of foods. *J. Nutr.* 100: 1383-1388.
- Murillo E., Lombo O. Tique M. y Méndez J. J. 2007. Potencial Antioxidante de *Bauhinia Kalbreyeri Harms* (FABACEAE). *Información Tecnológica.* 18 (6): 65-74 p.
- Pezzarossa, B., D. Piccotino, C. Shennan and F. Malorgio. 1999. Uptake and Distribution of Selenium in Tomato Plants as Affected by Genotype and Sulphate Supply. *J. Plant Nutr.* 22:1613-1635.
- Rayman, M. P. 2002. The argument for increasing selenium intake. *Proc. Nutr. Soc.* 61: 203-215.
- Rosenfeld, I. and O. A. Beath. 1964. Selenium, geobotany biochemistry, toxicity, and nutrition. New York: Academic Press.
- Rayman, M. P. 2008. Food-chain selenium and human health: emphasis on intake. *Br. J. Nutr.* 100: 254-268.
- Simojoki, A., X. Tailin, K. Lukkari, A. Pennanen, and H. Hartikainen. 2003. Allocation of added selenium in lettuce and its impact on roots. *Agric. FoodSci.* Finland 12: 155-164.
- Sugimura, Y., Y. Suzuki, and Y. Miyake. 1976. The content of selenium and its chemical form in sea water. *J. Ocean. Soc. Japan.* 32:235-241.
- Terry N., A. M. Zayed, M. P. de Souza, and A. S. 2000. Selenium in Higher Plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 51:401-32.
- Valdiviezo M. L. 2012. Diseño y Caracterización de Microcapsulas de Selenio metionina. Tesis Maestría Recursos Genéticos y Productividad en Ganadería. Colegio de Postgraduados. Montecillos, Texcoco México D.F. 70 p.

Werner Jaffé. 1992. Selenio, un Elemento Esencial y Tóxico. Datos de Latinoamérica. Archivos Latinoamericanos de Nutrición. Órgano Oficial de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición. 42 (90-93).

Wu, L. 1994. Selenium accumulation and colonization of plants in soils with elevated selenium and salinity. In Selenium in the Environment, W.T. Frankenberger, Jr. y S. Benson (eds.) Marcel Dekker, Inc. New York, NY, 279-342.

Zayed, A. C.M. Lytle and N. Terry. 1998. Accumulation and Volatilization of Different Chemical Species of Selenium by Plants. Planta 206:284-292.