

Calidad Nutricional Del Tomate (*Solanum lycopersicon* L. Mill) Enriquecida Con Selenio

Foroughbakhch Pournavab R.^{1*} Castillo Godina, R.², Benavides Mendoza A.², Núñez Guzman G.R.¹, Villarreal Garza J.¹

¹Universidad Autónoma de Nuevo León, Fac. De Ciencias Biológicas, Cd. Universitaria San Nicolas de los Garza, N.L. México e.mail: Rahim.forough@gmail.com

²Univ. Autonoma Agraria Antonio Narro, departamento de horticultura, e.mail: abemen@uaaan.mx.

RESUMEN

La biofortificación tiene como finalidad incrementar la concentración de elementos biodisponibles en cultivos hortalizas para elevar la calidad nutricional. El selenio es un elemento traza de gran impacto para el metabolismo antioxidante de las plantas y su acumulación es pobre en especies como el tomate, por lo que adicionarlo en las plantas forma parte de los programas de biofortificación. El propósito de este trabajo fue analizar la capacidad del selenito de sodio para incrementar la concentración de Se y modificar la actividad antioxidante en plantas de tomate. Para ello a las plantas se aplicaron tres tratamientos 0, 2 y 5 mg L⁻¹ de selenito de sodio utilizando como vehículo el agua de riego. Se llevaron a cabo tres muestreos 40, 80 y 120 días después del trasplante y cuantificación la acumulación de selenio y macronutrientes en hojas, tallos y frutos así como su impacto en la producción de frutos bajo un diseño experimental completamente al azar. Se determinó la altura, diámetro de tallos, firmeza, sólidos solubles de frutos y la materia seca total de los diferentes tejidos. Se obtuvo una cuantificación del potencial oxido reducción y de la actividad de antioxidante específicos como la catalasa, glutatión peroxidasa, superóxido dismutasa, el ácido ascórbico y licopeno. Los resultados se analizaron mediante el ANOVA y posteriormente una prueba de comparación de medias de Tukey. Se observó un incremento en la acumulación de Se, encontrándose hasta un 53.1% de aumento en la concentración en los frutos bajo el tratamiento 5 mg L⁻¹ en comparación con el testigo, sin embargo, este incremento no tuvo un impacto notorio en la producción y el rendimiento del tomate. La concentración de Se influyó positivamente en los parámetros de calidad incluyendo el ácido ascórbico y el licopeno..

Palabras clave: Biofortificación, selenio, valor nutritivo, antioxidante, tomate.

ABSTRACT

Biofortification aims to increase the concentration of bioavailable elements in crop plants to improve the nutritional quality. Selenium is a trace element of great impact for the antioxidant metabolism of plants and their accumulation is poor in species such as tomato, thus add it in plants is part of the programs biofortification. The purpose of this work was to test experimentally the ability of sodium selenite to increase the concentration of Se and change the antioxidant activity in tomato plants. Three treatments were used 0, 2 and 5 mg L⁻¹ of sodium selenite using water as vehicle irrigation, treatments were applied under a completely randomized experimental design. There were conducted three samples 40, 80 and 120 days after transplantation and subsequent quantification of selenium accumulation and macronutrients in leaves, stems and fruits as well as its impact on fruit production. The height of the plant, stem diameter, firmness, total dry matter of different tissues and fruit soluble solids were determined. Quantification of oxide reduction potential and specific antioxidant activity such as catalase, glutathione peroxidase, superoxide dismutase, ascorbic acid and lycopene was obtained, for each variable ANOVA was conducted and a Tukey test after. The results showed an increased accumulation, in concentration in the fruits under treatment 5 mg L⁻¹ than in the control; however, this increase did not have a notorious impact on production and yield of tomatoes. The Se concentration influenced the quality parameters including ascorbic acid and lycopene concentration. It was found an increase for CAT, GPX and SOD..

Keywords: Biofortification, selenium, nutritive value, antioxidant, tomato.

Área: Frutas y Hortalizas

INTRODUCCION

El consumo de alimentos saludables con alto contenido de nutrientes antioxidantes contribuye a la protección de las células del daño oxidativo y a la prevención de diversas enfermedades (Broadley et al. 2006). Los radicales libres provocan reacciones oxidativas en cadena que son eliminados por la acción del sistema antioxidante de

defensa (Sahnoun et al. 1997), incluyendo enzimas tales como la superóxido dismutasa (SOD), la catalasa (CAT) y la glutatión peroxidasa (GPX), de esta manera, al activarse este sistema antioxidante de defensa, puede proporcionarle a las plantas una mayor tolerancia frente al estrés ambiental por consecuente la generación de frutos de calidad. Las enzimas antioxidantes generalmente usan elementos traza tales como selenio (Se) así mismo cofactores, como es el caso de la GPX (Arthur 2003). Se piensa que el selenio es un elemento asociado con el metabolismo antioxidante (Lin et al. 2012; Feng et al. 2013) a través de su papel como cofactor de selenoenzimas (Combs 2001); su deficiencia podría inducir daños en el balance celular redox.

No se han establecido cuantitativamente los requerimientos por Se, más bien se han recomendado los niveles de ingesta en diferentes regiones del mundo. La ingesta recomendada por el National Research Council (1989) de los E.U.A es de $70 \mu\text{g día}^{-1}$ para hombres y $55 \mu\text{g día}^{-1}$ para mujeres; durante el embarazo y lactancia esta dosis se estima en $75 \mu\text{g día}^{-1}$, esto con la finalidad de reducir el riesgo de diversas enfermedades como el cáncer (Broadley et al., 2006) Hay países donde la falta de selenio en los suelos ha provocado problemas de salud para el ganado y en casos extremos también en la población humana. En Latinoamérica se observaron los valores más bajos de Se en Guatemala y moderadamente bajos de Ecuador y Brasil, mientras que muestras de Colombia, Venezuela y México poseen niveles superiores al promedio. Referente a la biodisponibilidad del Se, generalmente las plantas cultivadas que crecen en suelos no-seleníferos tienen bajas concentraciones de Se, que van de 0.01 a 1 mg kg^{-1} peso seco. Así, en algunos países donde los suelos son pobres en selenio, este se agrega a los fertilizantes utilizados para la producción agrícola (Broadley et al. 2006). Con base en lo anterior se ha planteado como estrategia para la mejora de la ingesta de selenio el enriquecimiento de los cultivos alimenticios con este elemento. El objetivo principal del presente trabajo fue generar los conocimientos básicos acerca de los cambios en la expresión génica y en la capacidad antioxidante de la planta de tomate al aplicar selenio como selenito de sodio. Dicha especie fue utilizada como modelo biológico por ser caracterizada como no acumuladora de selenio (White et al. 2004).

Características botánicas del tomate

Reino: Plantae, División: Spermatophyta, Clase: Dicotyledoneae, Orden: Solanales, Familia: Solanaceae, Genero: *Solanum*, Especie: *lycopersicon*, Nombre científico: *Solanum lycopersicon* L. Mill. Nombre común: tomate (Saldaña et al. 2003).

El tomate es una planta de porte arbustivo que se cultiva como anual. Puede desarrollarse de manera rastrera, semierecta o erecta. Existen variedades de crecimiento limitado (Nuño et al. 2007) o de crecimiento ilimitado (Fig. 1).



Figura 1. Planta de tomate de crecimiento limitado e ilimitado respectivamente

La raíz principal pivotante, con tallo erguido y cilíndrico en plantas jóvenes, a medida que esta crece, el tallo cae y se vuelve anguloso, presenta una ramificación abundante y yemas axilares, si al final del crecimiento todas las ramificaciones exhiben yemas reproductivas (Rodríguez et al. 2001). Las hojas son compuestas, se insertan sobre

los diversos nudos de forma alterna. Las flores son pequeñas, pedunculadas de color amarillo, formada por un pedúnculo corto. Los frutos son bayas carnosas con diferencias en formas e intensidad de coloración, con cavidades o lóculos internos variables, en donde se desarrollan las semillas de forma reniforme y aplanadas (COVECA 2010).

Antioxidantes

El papel del selenio 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). El selenio es un constituyente esencial de un número de enzimas, algunas de las cuales tienen funciones antioxidantes (Raymond 2002). Recientemente se ha demostrado que el selenio aumenta la capacidad antioxidante y la tolerancia al estrés en plantas de lechuga, ballico y en el cultivo de la papa (*Solanum tuberosum*), los resultados sugirieron que el Se es un antioxidante y que activa los mecanismos de protección, que pueden curar el estrés oxidativo en los cloroplastos (Seppanen et al. 2003).

Ácido ascórbico El ácido ascórbico es un importante antioxidante hidrosoluble que actúa potenciando el efecto de otros antioxidantes; tal como sucede como el α -tocoferol y el selenio (Shekelle et al. 2003).

En las plantas el ascorbato es el antioxidante cuantitativamente predominante en las células vegetales, se encuentra en todos los compartimentos subcelulares, incluido el apoplasto, en concentraciones que oscilan entre 2-25 mM. (Smirnoff 2000). Desempeña en las plantas un papel fundamental en la foto protección y la regulación de la fotosíntesis y preserva las actividades de enzimas que tienen iones metálicos de transición como grupo prostético y sirve en la prevención de enfermedades degenerativas,

Licopeno En general, los carotenoides han cobrado gran importancia debido a que son antioxidantes que neutralizan los radicales libres que dañan a las células, y de ellos, el licopeno es el que tiene las propiedades más sobresalientes. El tomate es una fuente importante de licopeno además de otros carotenoides como el β caroteno (Madhavi y Salunkhe 1998). Ambos, el licopeno y el β caroteno son importantes antioxidantes de defensa en contra de la peroxidación lipídica en las células (Agarwal et al. 2005).

Catalasa (CAT) es una de las enzimas de las oxidoreductasas más abundantes en la naturaleza. A nivel celular se localiza en las mitocondrias y los peroxisomas. Esta enzima es una metaloproteína tetramérica (Hadju et al. 1977).

La CAT como parte del sistema antioxidante está involucrada en la destrucción del H_2O_2 generado durante el metabolismo celular. Esta enzima se caracteriza por su alta capacidad de reacción, pero relativamente poca afinidad por el sustrato (Havir y McHale 1989).

Glutación Peroxidasa Lo que comúnmente se le conoce como glutación es el glutación reducido (GSH). El glutación se caracteriza por ser un compuesto tiólico no proteico y presenta una alta capacidad de donar electrones, el 90% del glutación se encuentra normalmente en su estado reducido. El glutación oxidado puede de nuevo ser reducido a GSH por acción de la glutationa reductasa que utiliza NADPH como poder reductor (Li et al. 2004).

Superóxido dismutasa representa la primera línea de defensa de las células frente al estrés oxidativo. Cataliza la conversión del radical anión superóxido en peróxido de hidrógeno y oxígeno. La estructura submolecular de la enzima, la distribución de carga electrostática, interacciones de apantallamiento por solventes inter e intramoleculares, y las interacciones hidrodinámicas, pueden afectar tanto la difusión del O_2^- como su asociación con la enzima (Garcia-Triana et al. 1995).

El selenio en las plantas

La captación y acumulación de selenio por las plantas es determinado por la forma química y la concentración, los factores del suelo tales como el pH, la salinidad y el contenido de $CaCO_3$, la identidad y la concentración de iones competitivos, y la capacidad de la planta para absorber y metabolizar selenio (Kabata-Pendias y Pendias, 2001).

Todas las formas de selenio han sido encontradas en hojas, tallos y raíces de plantas, pero las plantas suelen acumular más selenio en los brotes y hojas que en los tejidos de la raíz (Zayed et al. 1998).

Las plantas cultivadas que crecen en suelos no seleníferos, presentan concentraciones de selenio de 0.01 a 1 mg Kg⁻¹ de peso seco (Marschner 2002). Debido a que las plantas difieren en su capacidad de acumulación, se les ha clasificado en tres grupos; 1) Acumuladoras de selenio (géneros *Astragalus*, *Stanleya*, *Morinda*, *Neptunia*, *Oonopsis* y *Xylorhiza*), 2) No acumuladoras de selenio (especies forrajeras, plantas cultivadas), 3) Acumuladoras secundarias de selenio. Recientemente se han identificado especies de Brassicaceae de rápido crecimiento como la mostaza india (*Brassica juncea*) y canola (*B. napus*), como nuevas especies acumuladoras secundarias de selenio, con una concentración de algunos cientos de mg Kg⁻¹ Se, de peso seco en tallos, cuando crecen en suelos contaminados con niveles moderados de Se.

MATERIALES Y MÉTODOS

Experimentación, siembra y establecimiento de plantas

El experimento se llevó a cabo en un invernadero del Departamento de Horticultura de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro ubicada en Saltillo, Coahuila, México. El cual se encuentra localizado a una altura de 1743 msnm, entre los 25° 24' de latitud norte y 100° 02' de longitud oeste del meridiano de Greenwich.

La siembra de tomate se realizó en charolas de polietileno de 200 cavidades, verificando el crecimiento y el respectivo cuidado de la plántula durante un periodo de 40 días.

Se colocó una malla sombra de polipropileno color negro que tenía un factor de sombra de 25%.

Se utilizaron 100 macetas de plástico con capacidad de 20 L., mismas que fueron rellenas con sustrato utilizando una mezcla de peat moss y perlita en una proporción 70:30, respectivamente.

Se seleccionaron las plántulas de las más uniformes en tamaño y desarrollo, se sumergió el cepellón en una solución enraizadora y se trasplantaron en las macetas de 20 L. El trasplante se realizó a los 40 días después de la siembra.

La nutrición del cultivo se llevó a cabo mediante la aplicación de la solución nutritiva universal Steiner (Steiner 1961), ajustada a un valor de pH de 5.5 a 6.5 con ácido sulfúrico, con el objetivo de asegurar la disponibilidad de los elementos minerales en la solución nutritiva y mantener el ión selenito en su forma protonada (Preciado-Rangel et al. 2006). La concentración de la solución aplicada fue acorde a la etapa fenológica: 25% en las etapas iniciales y alcanzando el 75% después de la floración. A las plantas se les aplicaron los siguientes tratamientos como se explica en el Cuadro 1, usando como fuente selenito de sodio anhidro grado reactivo (Na₂SeO₃ Sigma-Aldrich, 99% de pureza).

Las variables evaluadas fueron obtenidas en tres muestreos realizados en las tres fechas mencionadas. Tomando de cada muestreo tejido foliar, de tallo y de fruto para los distintos análisis (Tabla 1).

Cuadro 1. Tratamientos aplicados en una solución nutritiva de riego sobre el cultivo de la planta de tomate.

Tratamientos		
T Testigo	Solución Steiner	+ 0 mg L ⁻¹ de selenio
T 2 mg L ⁻¹	Solución Steiner	+ 2 mg L ⁻¹ de selenio
T 5 mg L ⁻¹	Solución Steiner	+ 5 mg L ⁻¹ de selenio

Producción, calidad y firmeza de frutos

El total de frutos (NF) fueron aquellos frutos maduros contabilizados en cada planta de 9 elegidas aleatoriamente de cada tratamiento. Se cuantificó el peso de los mismos para obtener la producción de fruto por planta (PF) en g planta⁻¹.

De cada tratamiento, se eligieron 3 plantas y se etiquetaron desde el inicio del trasplante. De cada uno de los tres muestreos correspondientes se realizaron mediciones de la altura, el diámetro del tallo (DT) en la base de la planta. A los frutos colectados se midió el diámetro polar (DP) y ecuatorial (DE) de cada uno utilizando un vernier digital (cm). Estos frutos fueron seleccionados en el momento de cada muestreo, se eligieron 3 de los frutos completamente maduros según la denominación “red” por cada planta de cada tratamiento totalizando 9 frutos por tratamiento.

Contenido de selenio y macronutrientes

De las muestras obtenidas para la estimación de materia seca total, se tomó 1 g del macerado y la muestra que fue sometida a digestión con ácido nítrico y perclórico en una proporción 3:1 usando una plancha de calentamiento a 100 °C. Posteriormente la solución fue filtrada con papel filtro Whatman (No 42 sin cenizas) y aforada a una solución de trabajo de 100 mL con agua desionizada. La lectura se realizó utilizando un espectrómetro de Inducción de Plasma (ICP) marca THERMO JARELL ASH, Modelo IRIS Advantage, siguiendo el procedimiento 984.27 de la AOAC (2000). Los nutrientes cuantificados fueron K, Mg y Ca además de la correspondiente cuantificación de selenio.

El nitrógeno fue cuantificado por el método de Kjeldahl (AOAC 1990). El fósforo se cuantificó por el método colorimétrico del reactivo ácido aminonaftol sulfónico ANSA (Harris y Popat 1954). Se utilizaron las digestiones elaboradas previamente para la cuantificación de los minerales (K, Ca, Mg, Fe, Zn).

Cuantificación de proteínas totales, catalasa

Las proteínas totales fueron cuantificadas para determinar la actividad enzimática relativa al total. Se obtuvo una curva estándar (0, 100, 200, 300, 400, 500, 600 y 700 ppm) de una solución de albúmina sérica bovina y se usó un blanco con buffer de fosfatos de pH 7. Para llevar a cabo dicha cuantificación se utilizó el mismo extracto antes mencionado del cual se tomaron 5 µL y junto con 250 µL del reactivo de Bradford (Bradford, 1976) se colocaron en cada uno de los pozos correspondientes en una multiplaca de ELISA, la lectura se realizó en un lector de multiplacas (BioTek ELx808 Absorbance Microplate Readers) a una absorbancia de 630 nm.

Se analizó la actividad Catalasa de acuerdo al protocolo modificado de Lubinsky y Bewley (1979) por medio de espectrofotometría UV-visible a una longitud de onda de 275 nm. en un espectrofotómetro (Thermo Scientific Genesys 10S UV-Vis).

La actividad de la enzima Glutación Peroxidasa se cuantificó por el método de Xue et al. (2001) modificado. Se midió la absorbancia a una longitud de onda de 412 nm con un espectrofotómetro UV-Vis (Thermo Scientific Genesys 10S).

Actividad específica superóxido dismutasa

Esta medición fue llevada a cabo con ayuda de un Kit SOD (SOD assay kit Sigma- Aldrich 19160). Se construyó una curva estándar como lo indica el kit SOD y se calculó la actividad enzimática con el porcentaje de la tasa de inhibición incubando las mezclas a 37 °C durante 20 min y leyendo las absorbancias a 450 nm en un lector de microplacas para ELISA (BioTek ELx808 Absorbance Microplate Readers). De acuerdo con la metodología del kit SOD, se realizaron tres blancos: a) blanco 1= ddH₂O (double distilled water), WST (working solution) y la dilución de la enzima, b) blanco 2= extracto, WST y la dilución buffer y finalmente el blanco 3= ddH₂O, WST y la dilución buffer que contiene el kit. Una Unidad de superóxido dismutasa se define como el 50% de inhibición de formazán a 450 nm.

Diseño experimental y análisis estadístico

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con 30 repeticiones por tratamiento. Para las variables agronómicas, así mismo como para las variables de calidad (acumulación de selenio, macronutrientes, firmeza y sólidos solubles de frutos) y antioxidantes específicos (CAT, SOD, GPX, ácido ascórbico y licopeno). Se realizó un análisis de varianza con el software Statistical Analysis System (SAS 9.1.3), esto con el fin de verificar si los tratamientos de selenito proporcionaron diferencias significativas a cada una de las variables. Se desarrolló una prueba de comparación de medias de Tukey para identificar diferentes grupos de los tratamientos.

RESULTADOS

Cuantificación de variables agronómicas y de calidad de frutos

Aunque el número de frutos (NF) y peso de frutos (PF) por planta no fueron modificados estadísticamente por los tratamientos de Se (Cuadro 2), se encontró una correlación de Spearman positiva entre la variable NF y la concentración de Se ($R = 0.9637, \alpha \leq 0.05$). Además, los resultados muestran un aumento gradual en el rendimiento del fruto bajo la aplicación de selenio en comparación con el testigo, que van desde 12 (testigo) hasta 17 frutos (tratamiento 5 mg L^{-1} de Se). Este efecto de aumento puede ser observado a pesar de que no se detectó una diferencia estadísticamente significativa ($p \geq 0.05$) entre el testigo y los tratamientos. De la misma manera sucedió con el peso de fruto, que va desde 869 a 1184 g por planta.

Cuadro 2. Números de fruto por planta (NF) y peso de frutos por planta (PF) en tomate con aplicación de tres tratamientos de selenio ($0, 2 \text{ y } 5 \text{ mg L}^{-1}$) en la solución nutritiva.

Tratamientos	NF (Frutos planta ⁻¹)	PF (g planta ⁻¹)
0 mg L^{-1}	12.00±2.9a	869.20±224.6a
2 mg L^{-1}	17.67±3.9a	1061.53±349.8a
5 mg L^{-1}	16.67±3.6a	1184.83±378.9a

NF: fruto por planta; PF: peso de fruto por planta; ddt: días después del trasplante. Las medias seguidas de la misma literal no son diferentes según Tukey ($p \leq 0.05$).

Para el resto de las variables agronómicas, Se encontraron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre los tratamientos de Se en comparación con el testigo, con un incremento significativo en los valores de longitud de tallo (ALT), diámetro de tallo (DT), sólidos solubles totales de fruto (SST), firmeza, diámetro de frutos (DP y DE) y materia seca total (Cuadro 3 y 4).

Cuadro 3. Comparación de Medias de las variables agronómicas y calidad de frutos evaluadas con aplicaciones de selenio en solución nutritiva: $0, 2 \text{ y } 5 \text{ mg L}^{-1}$.

Tratamientos	ALT cm	DT mm	DP cm	DE cm	Firmeza kg cm ⁻²	SST °Bx
Control	61.1±3.9b*	11.8±0.9b	5.49±0.7b	5.42±0.5b	2.9±0.2c	4.3±0.1b
2 mg L^{-1}	67.5±3.0a	13.4±0.8a	6.24±0.5a	5.93±0.3a	4.3±0.3b	5.1±0.4a
5 mg L^{-1}	65.2±2.9a	13.3±0.8a	6.38±0.4a	5.96±0.7a	4.5±0.3a	4.9±0.6a

*Las medias seguidas de la misma literal no son diferentes según Tukey ($p > 0.05$). ALT = altura de planta; DT = diámetro de tallo; DP = diámetro polar diámetro de fruto; DE= diámetro ecuatorial de fruto; SST = sólidos solubles totales.

Cuadro 4. Comparación de medias de la material seca total (MST) evaluada en plantas de tomate con aplicaciones de selenio en solución nutritiva a tres diferentes concentraciones: 0, 2 and 5 mg L⁻¹.

Tratamientos	MST (%)		
	Hoja	Tallo	Fruto
Control	43.7±14.5 b*	26.6±3.0 a	32.8±6.1 a
2 mg L ⁻¹	48.1±19.1 ab	28.3±3.6 a	28.9±4.5 a
5 mg L ⁻¹	50.9±19.2 a	29.9±6.5 a	30.0±4.9 a

* Las medias en columnas seguidas de la misma literal no son diferentes (p >0.05).

Contenido de selenio y macronutrientes

La concentración de Se en los diferentes componentes de la planta analizando hojas, tallos y frutos y expresada en µg g⁻¹ (Figura 2), indicó diferencias significativas (p ≤0.05) entre los tratamientos; sin embargo, en los frutos, la única diferencia fue entre el tratamiento 5 mg L⁻¹ de Se con un valor de 35.8 µg g⁻¹ en comparación con el control. Referente a la distribución de Se en las plantas, se obtuvo más selenio en los tallos y menor concentración en los frutos y hojas.

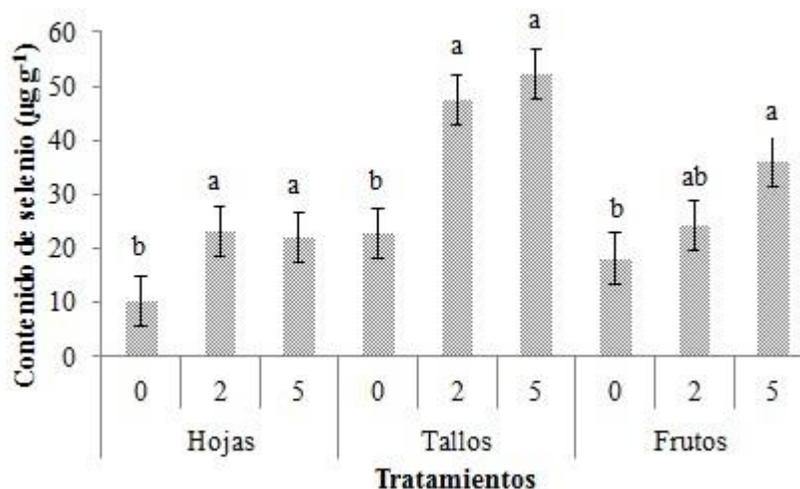


Figura 2. Concentración de selenio en hojas, tallos y frutos de tomate con aplicaciones de selenio en solución nutritiva; Medias con letras diferentes indican diferencias significativas (p ≤ 0.05).

La concentración de elementos macronutrientes en los tejidos de las plantas es mostrada en el Cuadro 5. Los contenidos de macronutrientes que mostraron diferencias significativas (P≤0.05) entre tratamientos fueron el contenido de Mg en hojas como el K. Este hecho sugiere que la presencia de Se en la concentración usada en este estudio no interfirió con la absorción de otros elementos.

Las correlaciones entre la concentración de Se en los diferentes tejidos de la planta, fueron todas significativas (hoja/tallo, r=0.50; hoja/fruto, r=0.68; tallo/fruto, r=0.59), lo que sugiere una ausencia de competencia por el Se entre los diferentes órganos y una acumulación de Se de los órganos en proporción directa a su disponibilidad.

Cuadro 5. Concentración de macronutrientes y selenio en los diferentes órganos de la planta de tomate con aplicaciones de selenio en solución nutritiva a tres diferentes concentraciones 0, 2 y 5 mg L⁻¹.

Órganos de la planta	Se (mg L ⁻¹)	N	P	K	Ca	Mg	Se
Hojas	0	3.36±0.66a*	0.76±0.27a	3.57±0.23a	5.16±2.76a	0.58±0.19c	9.90±0.10b
	2	3.24±0.46a	0.82±0.18a	4.42±1.94a	4.72±1.43a	0.68±0.16b	20.9±0.12a
	5	3.09±0.48a	0.91±0.34a	3.47±0.85a	3.54±1.50a	0.71±0.34a	20.4±0.13a
Tallos	0	2.36±0.59a	0.70±0.10a	3.84±0.20ab	3.30±1.68a	0.49±0.16a	21.7±0.12b
	2	2.50±0.50a	0.77±0.19a	4.47±1.47a	3.90±1.64a	0.31±0.06a	45.6±0.15a
	5	2.49±0.41a	0.72±0.11a	3.40±0.67b	2.82±2.16a	0.37±0.06a	52.3±0.31a
Frutos	0	2.20±0.42a	0.59±0.03a	2.95±0.56ab	0.86±0.3a	0.40±0.13a	16.8±0.05b
	2	1.87±0.34a	0.47±0.04a	3.44±0.46a	1.26±1.3a	0.34±0.13a	24.5±0.10ab
	5	2.11±0.45a	0.56±0.15a	2.90±0.55b	2.82±0.03a	0.33±0.15a	35.8±0.14a

*Medias con la misma letra en cada columna son iguales (p > 0.05). Las concentraciones de N, P, K, Ca y Mg están dadas en porcentaje, el selenio en µg g⁻¹.

Antioxidantes protéicos

La cantidad de proteínas totales en los extractos de los diferentes tejidos de la planta de tomate se observan en la Figura 3. No se encontraron diferencias significativas (p>0.05) entre tratamientos con el testigo. La cuantificación de las proteínas totales en los extractos de los tejidos de la planta proporcionaron una medida relativa de la cantidad de proteínas específicas debido a que la actividad específica de una proteína es equivalente al número de unidades de esa proteína específica sobre los miligramos de proteínas totales. Así, la medición de la actividad específica de cada enzima fue utilizada como una medida relativa al total de proteínas.

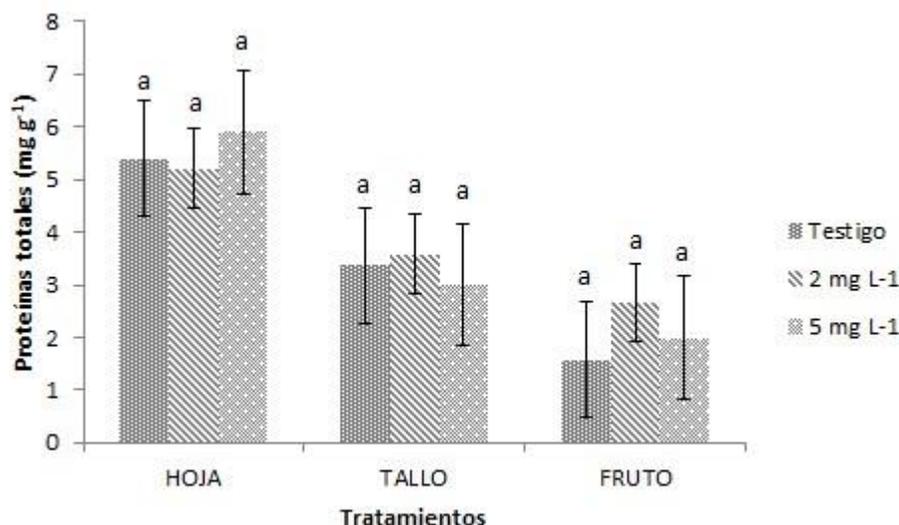


Figura 3. Cantidad de proteínas totales en hojas, tallos y frutos de tomate con aplicaciones de 0, 2 y 5 mg L⁻¹ de selenio. Medias con las mismas literales son iguales de acuerdo con la prueba de Tukey (p > 0.05),

La actividad específica de la enzima catalasa mostró un aumento significativo (p<0.05) aplicando 5 mg L⁻¹ de Se únicamente en los frutos (Figura 4) mientras que la actividad reportada para las hojas y tallos no se mostró estadísticamente significativa (p>0.05). De manera totalmente similar a la catalasa, la actividad glutatión peroxidasa

mostró un aumento significativo ($p > 0.05$) con el tratamiento 5 mg L^{-1} en los frutos pero no así para hojas ni tallos.

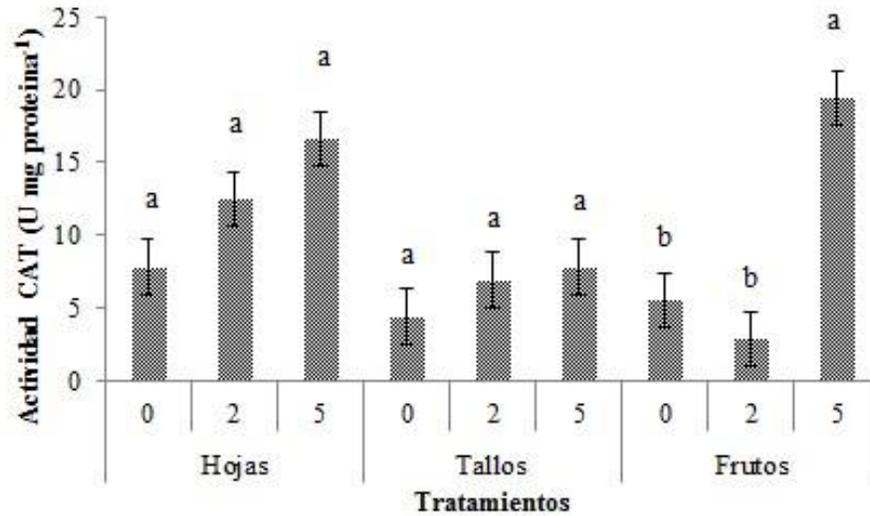


Figura 4. Actividad específica catalasa en hojas, tallos y frutos de tomate con aplicaciones de 0, 2 y 5 mg L^{-1} de selenio.

Ácido ascórbico y licopeno

En los frutos se encontraron diferencias significativas ($p > 0.05$) en la variable AA además del aumento en los SST anteriormente señalado. Estos cambios positivos en la calidad se vieron acompañados por un aumento en la concentración de licopeno al aplicar 5 mg L^{-1} de Se (Cuadro 6).

Cuadro 7. Características químicas de los frutos de tomate de plantas con aplicación de selenio ($0, 2$ y 5 mg L^{-1}) en la solución nutritiva. Los datos corresponden a frutos colectados a los 120 días de edad.

Tratamiento	Acido	
	Ascórbico ($\text{mg AA } 10\text{g}^{-1}$)	Licopeno ($\mu\text{g g}^{-1}$)
0 mg L^{-1}	$1.20 \pm 0.20\text{b}$	$13.81 \pm 2.4\text{b}$
2 mg L^{-1}	$2.82 \pm 0.09\text{a}$	$20.34 \pm 5.1\text{b}$
5 mg L^{-1}	$2.41 \pm 0.10\text{a}$	$41.71 \pm 6.2\text{a}$

Las medias seguidas de la misma literal no son diferentes según Tukey ($p > 0.05$). AA= ácido ascórbico.

DISCUSIÓN

Variables agronómicas y de calidad de frutos

El efecto específico de Se sobre la producción de fruto de tomate parece depender de la forma química de Se aplicada, como indican también Germ et al. (2005) y Becvort-Azcurrea et al. (2012) quienes no encontraron diferencias en el rendimiento del fruto al aplicar selenito de sodio. De la misma manera, para Pezzarossa et al. (2013), el rendimiento del fruto de tomate no fue estadísticamente influenciado por la adición de selenato de sodio, mientras que Carvalho et al. (2003) reportaron diferencia negativa contra el testigo al aplicar una fuente orgánica de Se, al no existir producción de frutos de tomate.

Las variables de longitud de tallo (ALT), diámetro de tallo (DT), sólidos solubles totales de fruto (SST), firmeza y diámetro de frutos (DP y DE) fueron incrementadas significativamente bajo la influencia de Se (2 y 5 mg L^{-1}).

Estos resultados están en concordancia con los reportados por Hartikainen et al. (2000), en las hojas de *Lolium perenne* L. Estos resultados también son consistentes con los reportados por otros autores acerca de los efectos positivos de la adición de Se en especies tales como, *Lactuca sativa* (Xue et al. 2001) y *Solanum tuberosum* (Turakainen et al. 2004).

Cuantificación de selenio

Los resultados sobre las hojas y tallos indicaron aumento significativo en la acumulación de selenio bajo la influencia de ambos tratamientos aplicados. En los frutos únicamente se reportó un aumento notable bajo el tratamiento 5 mg L^{-1} , este resultado corresponde a un 53.1% más selenio sobre las plantas control, lo cual es superior a lo reportado por Nancy et al. (2014) en frutos de tomate ($29.5 \mu\text{g g}^{-1}$) desarrollados con 10 mg L^{-1} de selenato de sodio a través de la aplicación en el suelo y una tasa de acumulación de 52.5% sobre las plantas control. Otros reportes han confirmado la acumulación de Se en granos de trigo (Nawaz et al. 2014) y granos de arroz (Boldrin et al. 2013) por medio de la fertirrigación con Se y aplicación foliar de Se respectivamente.

Referente a la acumulación de selenio en los diferentes órganos de la planta, Kabata-Pendias y Pendias (2001), reportaron una acumulación desigual entre los diferentes órganos; los tejidos en crecimiento activo usualmente contienen más altas cantidades de Se, y muchas especies de plantas acumulan más altas cantidades de selenio en tallos y hojas que en los tejidos de la raíz. Nuestros resultados no concuerdan con los anteriormente mencionados.

Cuantificación de macronutrientes

Lo esperado y lo encontrado en este estudio respecto a la acumulación de los macronutrientes en los diferentes tejidos de la planta sugiere que no haya modificación alguna al adicionar selenio en la solución de riego debido a que, de esta manera no existe un antagonismo por parte del selenio y los demás elementos nutrientes. Esto no concuerda con Kabata-Pendias y Pendias (2001), quienes notaron que a niveles más altos de selenio en plantas pueden suprimir la concentración de N en tejidos y pueden inhibir la absorción de algunos metales tales como Mg. Mientras tanto Smoleń et al. (2014), reportaron una reducción en los niveles de Ca y Mg en raíces de lechuga con la aplicación foliar de Se y I, aunque no observaron ninguna diferencia en el contenido de macronutrientes en hojas cuando aplicaron Se individualmente.

Antioxidantes: Catalasa, glutatión peroxidase, ácido ascórbico y licopeno

La catalasa cuantificada presentó una mayor capacidad antioxidante en plantas de tomate. Estos resultados concuerdan con los de Djanaguiraman et al. (2005) sobre las plantas sujetas a varios tipos de estrés. La aplicación de Se en el trigo dio lugar a mayor actividad de enzimas óxido reductasas en especial de la catalasa (Nowak et al. 2004) así como de la ascorbato peroxidasa y la glutatión reductasa.

Ríos et al. (2009), encontraron el mismo resultado sobre la glutatión peroxidasa, al igual que otra peroxidasa como la ascorbato peroxidasa, en plantas de lechuga tratadas con selenato de sodio.

La inducción de antioxidantes no enzimáticos fue reportada también en la lechuga al aplicar selenato de sodio y en el tomate por Lee et al. (2007) coincidiendo para estos dos últimos, con el aumento en el licopeno del fruto. Los SST del fruto, dependientes principalmente de la sacarosa contenida en los tejidos, parecen constituir un resumen del efecto general del entorno sobre la planta (Prado 2002). Por otra parte el AA se deriva de la glucosa y es uno de los antioxidantes no enzimáticos más importantes, reportándose que el Se y algunos reguladores del crecimiento modifican positivamente su concentración. Posiblemente el efecto del Se tenga que ver parcialmente con una mejora en la economía del C, tal como se demostró en *Solanum tuberosum* que acumuló más carbohidratos y presentó mayores SST al aplicarle Se (Turakainen et al. 2004).

CONCLUSIONES

Las variables de crecimiento, altura de la planta, diámetro de tallos, firmeza de frutos y sólidos solubles de frutos respondieron positivamente a la aplicación de selenio, mientras que esta aplicación no causó interferencia con la absorción de N, P, K, Ca y Mg. La adición de selenio en la solución nutritiva incrementó significativamente

la concentración de este elemento en los diferentes órganos de la planta; el tratamiento 5 mg L^{-1} permitió hasta el doble de la concentración de este elemento en frutos comparado con el tratamiento control. Esta concentración de selenio en frutos fue positivamente correlacionada con la concentración en hojas y tallos. Además, el Se resultó en un incremento en la actividad enzimática de catalasa, glutatión peroxidasa y superóxido dismutasa en frutos con el mayor tratamiento aplicado (60.9, 33.4 y 26.0% de aumento respectivamente), a pesar que los análisis de marcadores de estrés oxidativo tales como peróxido de hidrógeno y/o peroxidación lipídica son necesarios para un mejor entendimiento de este cuadro antioxidante. Los frutos bajo ambos tratamientos de Se (2 y 5 mg L^{-1}) mostraron mayor acumulación de ácido ascórbico respecto al testigo y, en el caso del tratamiento de 5 mg L^{-1} un 66.9 % más de licopeno.

BIBLIOGRAFÍA

- A.O.A.C. 1990. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist* 15th ed. (pp. 829-830). Washington, D.C. USA.
- Arthur JR. 2003. Selenium Supplementation: Does Soil Supplementation Help and Why?. *Proc. Nutr. Soc.* 62:393-397.
- Becvort-Azcurra 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*, 30:291-301.
- Boldrin PF, Faquin V, Ramos SJ, Boldrin KVF, Avila FW, Guilherme LRG. 2013. Soil and Foliar Application of Selenium in Rice Biofortification. *J. Food Compos. Anal.* 31:238-244.
- Bradford MM. 1976. A Rapid and Sensitive Method for the Quantification of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-dye Binding. *Anal. Biochem.* 72:248-254.
- Broadley MR, White PJ, Bryson RJ, Meacham MC, Bowen HC, Johnson SE, Hawkesford MJ, Mc Grath SP, Zhao FJ, Breward N, Harriman M, Tucker M. 2006. Biofortification of UK Food Crops with Selenium. *Proc. Nutr. Soc.* 65:169-181.
- Cartes P, Shene C, Mora M. 2006. Selenium Distribution in Ryegrass and its Antioxidant Role as Affected by Sulfur Fertilization. *Plant Soil* 285:187-195.
- Carvalho KM, Gallardo-Williams MT, Benson RF, Martin DF. 2003. Effects of selenium supplementation on four agricultural crops. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51: 704-709.
- Combs GF, Combs S. 1986. *The Role of Selenium in Nutrition*. Academic Press, New York.
- Djanaguiraman M, Devi DD, Shanker AK, Sheeba A, Bangarusamy U. 2005. Selenium- an antioxidative protectant in soybean during senescence. *Plant Soil* 272:77-86.
- Feng R, Chaoyang W, Tu S. 2013. The Roles of Selenium in Protecting Plants Against Abiotic Stresses. *Environ. Exp. Bot.* 87:58-68.
- García-Triana B, García-Morales O, Clapes-Hernández S, Rodes-Fernández L, García-Piñeiro J. 1995. Enzimas que participan como barreras fisiológicas para eliminar los radicales libres: I Superóxido dismutasas. *Rev Cubana Invest Biomed* Vol. 14. N° 1.
- Germ M, Kreft I, Osvald J. 2005. Influence of UV-B Exclusion and Selenium Treatment on Photochemical Efficiency of Photosystem II, Yield and Respiratory Potential in Pumpkins (*Cucurbita pepo* L.). *Plant Physiol. Bioch.* 43:445-448.
- Hadju J, Wyss SR, Aebi H. 1977. Properties of human erythrocyte catalases after crosslinking with bifunctional reagents: symmetry of the quaternary structure. *Eur J Biochem.* 80:199-207.
- Hanson R (Ed.). 1983. *Rethinking urban policy: Urban development in an advanced economy*. National Academy Press.
- Harris WD, Popat P. 1954. Determination of the Phosphorus Content of Lipids. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 31:124-127.

- Hartikainen H, Xue T, Piironen V. 2000. Selenium as an anti-oxidant and pro-oxidant in ryegrass. *Plant and Soil* 225:193-200.
- Havir AE, McHale NA. 1989. Enhanced-peroxidatic activity in specific catalase isozymes of tobacco, barley, and maize. *Plant Physiol* 91:812-815
- Lee GJ, Kang BK, Kim TI, Kim TJ, Kim JH. 2007. Effects of different selenium concentrations of the nutrient solution on the growth and quality of tomato fruit in hydroponics. *Acta Horticulturae* 761:443-448.
- Li Y, Wei G, Chem J. 2004. Glutathione: a review on biotechnological production. *J. Appl. Microbiol. Biotechnol* 66:233-242.
- Lin L, Zhou W, Dai H, Cao F, Zhang G, Wu F. 2012. Selenium Reduces Cadmium Uptake and Mitigates Cadmium Toxicity in Rice. *J. Hazard. Mater* 235:343-351.
- Lubinsky S, Bewley GC. 1979. Genetics of Catalase in *Drosophila melanogaster*: Rates of Synthesis and Degradation of the Enzyme in Flies Aneuploid and Euploid for the Structural Gene. *Genetics* 91:723-742.
- Madhavi DL, Salunkhe DK. 1998. Tomato. *Food science and technology-New York- marcel dekker En: Handbook of vegetable science and technology. Production, storage and processing*, (D. K. Salunkhe y S. S. Kadam, eds.), pp.171-201. Marcel Dekker. EUA.
- Marschner H. 2002. Mineral nutrition in higher plants. 2 ed. Academic Press. London, UK.
- National Research Council (US). 1989. Committee on Dietary Allowances, Food and Nutrition Board. *Recommended Dietary Allowances*, 10th ed., Washington D.C.
- Nawaz F, Ashraf M, Ahmad R, Waraich EA, Shabbir RN, Bukhari MA. 2014. Supplemental Selenium Improves Wheat Grain Yield and Quality Through Alterations in Biochemical Processes Under Normal and Water Deficit Conditions. *Food Chem* 175:350-357.
- Nowak J, kaklewski K, Ligocki M. 2004. Influence of selenium on oxidoreductive enzymes activity in soil and in plants. *Soil Biology and Biochemistry* 36:1553-1558.
- Nuño Moreno R, Ponce Medina JF, Hernandez Zavalza C, Machain Servín GM. 2007. Manual de producción de tomate rojo bajo condiciones de invernadero. Fundación produce. Mexicali. Baja California. México. pp 3-4.
- Pezzarossa B, Rosellini I, Malorgio F, Borghesi E, Tonutti P. 2013. Effects of selenium enrichment of tomato plants on ripe fruit metabolism and composition. *Acta Horticulturae*, 1012:247-251.
- Prado JL. 2002. Tipos y especificaciones de calidad en el cultivo del tomate. *Vida Rural* 148:9-14.
- Preciado-Rangel P, Favela-Chavez E, Benavides-Mendoza A. 2006. *Manual para la Preparación de Soluciones Nutritivas*. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Saltillo, México, 146pp.
- Raymond PM. 2002. Selenium in cáncer prevention: A review of the evidence and mechanism of action. *J. Proceedings of the nutrit. Soc* 64:527-542.
- Rodríguez R, Tavares R, Medina. 2001. Cultivo moderno de tomate. Segunda edición. Mundi Prensa, Madrid, España. pp. 255.
- Sahnoun Z, Jamoussie K, Zegal KM. 1997. Free Radicals and Antioxidants: Human Physiology and Therapeutic Aspects. *Therapie* 52:251-70.
- Saldaña C, Nina J, Sánchez G. 2003. Las plagas del cultivo de tomate industrial en el valle de Barranca. 33 Resúmenes. XLII Convención Nacional de Entomología. Tarapoto, Sociedad Entomológica de Perú.
- Seppanen M, Turakainen M, Hartikainen H. 2003. Selenium effects on oxidative stress in potato. *J. Plant and Science* 165:311-319.
- Shekelle P, Hardy ML, Coulter I, Udani J, Spar M, Oda K. 2003. Effect of the supplemental use of antioxidants vitamin C, vitamin E, and coenzyme Q10 for the prevention and treatment of cancer. *Evid Rep Technol Assess (Summ)* 75:1-3.
- Smirnoff N. 2000. Ascorbic acid: metabolism and functions of a multi-faceted molecule. *Curr. Opin. J. Plant Biol* 3:229-235.

- Smoleń S, Kowalska I, Sady W. 2014. Assessment of Biofortification With Iodine and Selenium of Lettuce Cultivated in the NFT Hydroponic System. *Sci. Hort* 166:9-16.
- Turakainen M, Hartikainen H, Seppänen MM. 2004. Effects of selenium treatments on potato (*Solanum tuberosum* L.) growth and concentrations of soluble sugars and starch. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52:5378-5382.
- White PJ, Browen HC, Parmaguru P, Fritz M, Spraclen WP, Spiby RE. 2004. Interactions between selenium and sulphur nutrition in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Experimental Botany* 55:1927-1937.
- Xue T, Hartikainen H, Piironen V. 2001. Antioxidative and growth-promoting effect of selenium in senescing lettuce. *Plant Soil* 27:55-61.
- Zayed A, Lytle CM, Terry N. 1998. Accumulation and volatilization of different chemical species of selenium by plants. *Plant* 206:284-292.