



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSGRADO EN EDAFOLOGÍA

**BIOFORTIFICACIÓN CON HIERRO Y SELENIO EN ACELGA,
ESPINACA Y COL**

EMMANUEL HERNÁNDEZ CASTRO

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

DOCTOR EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

2015

La presente tesis titulada **Biofortificación con Hierro y Selenio en Acelga, Espinaca y Col**, realizada por el alumno **Emmanuel Hernández Castro**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

**DOCTOR EN CIENCIAS
EDAFOLOGÍA**

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERA


DRA. LIBIA IRIS TREJO-TÉLLEZ

ASESORA


DRA. MA. DE LAS NIEVES RODRÍGUEZ MENDOZA


ASESOR


DR. FERNANDO CARLOS GÓMEZ MERINO

ASESORA


DRA. ALEJANDRINA ROBLEDO PAZ

ASESOR


DR. PROMETEO SÁNCHEZ GARCÍA

Montecillo, Texcoco, Estado de México, Agosto del 2015

BIOFORTIFICACIÓN CON HIERRO Y SELENIO EN ACELGA, ESPINACA Y COL

Emmanuel Hernández Castro, Dr.
Colegio de Postgraduados, 2015

RESUMEN

Algunos desórdenes de salud en el ser humano son provocados por la falta de abastecimiento de micronutrientes a través de la alimentación. La deficiencia de hierro y selenio son considerados causantes de diversos problemas de salud humana, incluidos la anemia y un aumento en el número de cánceres que pueden tener su origen en la deficiencia de hierro y selenio, respectivamente. En este contexto, la biofortificación agronómica ha demostrado ser una alternativa viable para incrementar la ingesta de micronutrientes tanto a nivel mundial como nacional. Esta investigación tuvo como objetivo la biofortificación con Fe y Se en plantas de acelga (*Beta vulgaris* L.), espinaca (*Spinacia oleracea* L.) y col (*Brassica oleracea* L.), la determinación de sus efectos agronómicos, fisiológicos, bioquímicos y la determinación de las rutas de penetración foliar de estos elementos. Para su estudio, esta investigación fue dividida en tres experimentos. El primero de ellos descrito en Capítulo I, consistió en la biofortificación vía foliar con Fe y Se en acelga, espinaca y col para comparar sus efectos en la biodisponibilidad de ambos elementos en el tejido foliar y sus efectos sobre algunas variables de tipo agronómico, fisiológico y bioquímico. En el segundo experimento que se describe en el Capítulo II, se evaluaron estos mismos efectos en las especies mencionadas al adicionar Fe y Se vía radical. Por último, en el tercer experimento que se describe en el Capítulo III se estudiaron las rutas y tiempos de penetración foliar en plantas de acelga, espinaca y col expuestas a la aplicación foliar con Fe y Se. Los resultados mostraron que la aplicación con Fe y Se vía foliar o radical, tiene el potencial de incrementar el contenido foliar de ambos elementos en los tres cultivos analizados, y existe un efecto diferencial sobre en las variables analizadas en la debido al tipo de aplicación (vía foliar o radical), número de aplicaciones, dosis utilizada y especie analizada. Por otra parte, se encontró que en las tres especies evaluadas, para ambos elementos (Fe y Se) y en cualquiera de las dosis aplicadas, la principal ruta de penetración foliar es a través de la cutícula y la epidermis foliar.

Palabras clave: Biofortificación, hierro, selenio, rutas de penetración foliar, *Spinacia oleracea*, *Beta vulgaris*, *Brassica oleracea*.

BIOFORTIFICATION WITH IRON AND SELENIUM ON CHARD, SPINACH AND CABBAGE

Emmanuel Hernández Castro, Dr.
Colegio de Postgraduados, 2015

ABSTRACT

Some health disorders in humans are caused by the lack of supply of micronutrients through food. Iron and selenium deficiencies are considered causative of various human health disorders, including anemia and an increased number of cancers that may be caused by iron and selenium deficiency, respectively. In this context, agronomic biofortification has proven to be a viable option for increasing the intake of micronutrients both global and national alternative. This research aimed at biofortification with Fe and Se of chard (*Beta vulgaris* L.), spinach (*Spinacia oleracea* L.) and cabbage (*Brassica oleracea* L.) plants, determining their agronomic, physiological, biochemical effects, and become determining routes foliar penetration of these elements. For their study, the research was divided into three experiments. The first experiment described in Chapter I, consisted of foliar biofortification with Fe and Se in chard, spinach and cabbage to compare their effects on the bioavailability of both elements in the leaf tissue and their effects on some agronomic, physiological and biochemical variables. In the second experiment described in Chapter II, these same effects were evaluated in the above mentioned species as a consequence of biofortification with Fe and Se via roots. Finally, in the third experiment reported in Chapter III, the foliar routes and times of foliar uptake in plants of chard, spinach and cabbage exposed to foliar application with Fe and Se were determined. The results showed that the foliar or radical application of Fe and Se has the potential to increase the leaf content of both elements in the three crops analyzed, and there is a differential effect on the variables of agronomic, physiological and biochemical type in this research because of the type of application (foliar or radical route), number of applications, dose and species tested. Moreover, it was found that in the three species tested, for both elements (Fe and Se) and in any of the dose applied, the main route of foliar penetration takes place through the leaf cuticle and epidermis.

Keywords: Biofortification, iron, selenium, hiking foliar penetration, *Spinacia oleracea*, *Beta vulgaris*, *Brassica oleracea*.

AGRADECIMIENTOS

A Dios porque sin su ayuda no hubiera logrado alcanzar una meta más en mi vida.

Al Colegio de Postgraduados por darme la oportunidad de formarme como profesional.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo económico que me otorgó durante mi formación como Doctor en Ciencias.

A la línea de generación y aplicación del conocimiento Nutrición Vegetal para el Desarrollo Sustentable del Postgrado en Edafología por los apoyos otorgados para la realización de esta investigación.

A la Dra. Libia Iris Trejo Téllez por todo su apoyo, asesoría y consejos durante estos cuatro años, todo mi respeto y admiración.

A la Dra. María de las Nieves Rodríguez Mendoza por todas sus valiosas observaciones durante el desarrollo de la investigación.

Al Dr. Fernando Carlos Gómez Merino por su disposición, asesoría y apoyo en la realización de esta investigación.

A la Dra. Alejandrina Robledo Paz por sus acertadas y valiosas observaciones realizadas a este trabajo.

Al Dr. Prometeo Sánchez García por su disposición y acertados comentarios durante la realización de esta investigación.

A la Dra. Guadalupe Valdovinos Ponce por su profesional asesoría y valioso apoyo para la realización de la fase de microscopía.

DEDICATORIA

A mi esposa Laura Isabel Izazaga Villanueva quien en todo momento me motiva y ante cualquier circunstancia se encuentra a mi lado.

A mis hijos Luis Emmanuel Hernández Izazaga y Laura Yunuen Hernández Izazaga, razón y motivo de mi esfuerzo.

A mi madre Juana Castro Peña quien con su apoyo incondicional, cariño y confianza ha motivado la realización de todas mis metas.

A mi padre José Hernández Hernández[†] quien sin escatimar esfuerzos me brindó su apoyo no solo en mi formación profesional, sino en toda mi vida. Gracias por ser un ejemplo.

A todos mis hermanos a quienes agradezco infinitamente por todo su apoyo y sabios consejos.

A mis amigos, compañeros y personas que de alguna manera han formado parte de mi vida.

TABLA DE CONTENIDO

	Página
RESUMEN.....	ii
ABSTRACT	iii
AGRADECIMIENTOS	iv
DEDICATORIA	iv
ÍNDICE DE CUADROS	ixx
ÍNDICE DE FIGURAS	xiii
INTRODUCCIÓN GENERAL	1
1. Requerimientos nutrimentales del ser humano	1
2. Problemas de desnutrición a nivel mundial	2
3. Desnutrición en México	4
4. Funciones del Fe y Se en el ser humano	5
5. Biofortificación como alternativa	6
6. Literatura citada	8
CAPÍTULO I. BIOFORTIFICACIÓN FOLIAR DE ACELGA, ESPINACA Y COL CON Fe y Se Y SUS EFECTOS AGRONÓMICOS, FISIOLÓGICOS Y BIOQUÍMICOS	10
RESUMEN.....	11
1.1 INTRODUCCIÓN.....	11
1.2 MATERIALES Y MÉTODOS	13
1.2.1 Material vegetal y condiciones experimentales	13
1.2.2 Diseño experimental y diseño de tratamientos	14
1.2.3 Variables evaluadas	15
1.2.4 Análisis estadístico	16
1.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	17
1.3.1 Biomasa fresca de vástago	17
1.3.2 Biomasa seca de vástago.....	23
1.3.3 Bioacumulación de Fe en vástago.....	28
1.3.4 Bioacumulación de Se en vástago.....	35
1.3.5 Lecturas SPAD	44
1.3.6 Acumulación de N y NO ₃ ⁻ en vástago.....	51
1.3.7 Contenido de clorofila a en vástago.....	65

1.3.8 Contenido de clorofila <i>b</i> en vástago.....	73
1.3.9 Contenido de clorofila total en vástago.....	78
1.3.10 Contenido de aminoácidos en vástago.....	81
1.3.11. Contenido de proteínas solubles totales en vástago	89
1.3.12 Contenido de azúcares totales en vástago.....	97
1.3.13 Actividad antioxidante.....	104
1.4 CONCLUSIONES.....	111
1.5 LITERATURA CITADA	113
CAPÍTULO II. BIOFORTIFICACIÓN RADICAL DE ACELGA, ESPINACA Y COL CON Fe y Se Y SUS EFECTOS AGRONÓMICOS, FISIOLÓGICOS Y BIOQUÍMICOS.....	120
RESUMEN.....	121
2.1 INTRODUCCIÓN.....	121
2.2 MATERIALES Y MÉTODOS	123
2.2.1 Material vegetal y condiciones experimentales	123
2.2.2 Diseño experimental y diseño de tratamientos	124
2.2.3 Variables evaluadas	124
2.2.4 Análisis estadístico	126
2.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	126
2.3.1 Biomasa fresca de vástago	126
2.3.2 Biomasa seca de vástago.....	134
2.3.3 Bioacumulación de Fe en vástago.....	141
2.3.4 Bioacumulación de Se en vástago.....	148
2.3.5 Lecturas SPAD	155
2.3.6 Acumulación de N y NO ₃ ⁻ en vástago.....	162
2.3.7 Contenido de clorofila <i>a</i> en vástago.....	175
2.3.8 Contenido de clorofila <i>b</i> en vástago.....	182
2.3.9 Contenido de clorofila total en vástago.....	190
2.3.10 Contenido de aminoácidos en vástago.....	195
2.3.11. Contenido de proteínas solubles totales en vástago	202
2.3.12 Contenido de azúcares totales en vástago.....	211
2.3.13 Actividad antioxidante.....	218
2.4. CONCLUSIONES.....	230
2.5. LITERATURA CITADA	232
CAPÍTULO III. RUTAS DE PENETRACIÓN FOLIAR EN ACELGA, ESPINACA Y COL.....	237

RESUMEN.....	238
3.1 INTRODUCCIÓN.....	237
3.2 MATERIALES Y MÉTODOS	239
3.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	242
3.3.1 Aspersión foliar a 0.25% de Fe.....	242
3.3.2 Aspersión foliar a 0.5% de Fe.....	247
3.3.3. Aspersión foliar a 0.001% de Se	251
3.3.4 Aspersión foliar a 0.002% de Se	256
3.4 CONCLUSIONES.....	260
3.5. LITERATURA CITADA.....	260

ÍNDICE DE CUADROS

Página

Cuadro 1. Nutrimientos esenciales para el ser humano (Stipanuk y Caudill, 2013).....	2
--	---

CAPÍTULO I

Cuadro 1.1 Significancia estadística de factores de estudio y su interacción en la variable biomasa fresca de vástago en acelga, espinaca y col, después de dos y cuatro aplicaciones foliares.	17
Cuadro 1.2 Efectos de la interacción de Fe y Se en la biomasa fresca de vástagos de acelga, espinaca y col, después de dos y cuatro aspersiones foliares.	22
Cuadro 1.3. Significancia estadística de factores de estudio y su interacción en la variable biomasa seca de vástago en acelga, espinaca y col, después de dos y cuatro aplicaciones foliares.	23
Cuadro 1.4 Efectos principal de Se y de la interacción de Fe y Se en la biomasa seca de vástagos de acelga, espinaca y col, después de dos y cuatro aspersiones foliares.	27
Cuadro 1.5 Significancia estadística de factores de estudio y su interacción en la bioacumulación de Fe en vástago en acelga, espinaca y col, después de dos y cuatro aplicaciones foliares.	28
Cuadro 1.6 Significancia estadística de factores de estudio y su interacción en la bioacumulación de Se en vástago en acelga, espinaca y col, después de dos y cuatro aplicaciones foliares.	35
Cuadro 1.7 Significancia estadística de factores de estudio y su interacción en las lecturas SPAD en acelga, espinaca y col, después de dos y cuatro aplicaciones foliares.	44
Cuadro 1.8 Significancia estadística de factores de estudio y su interacción en la acumulación de N en vástagos de acelga, espinaca y col, después de dos y cuatro aplicaciones foliares.	51
Cuadro 1.9 Significancia estadística de factores de estudio y su interacción en la acumulación de NO_3^- en vástagos de acelga, espinaca y col, después de dos y cuatro aplicaciones foliares.	52
Cuadro 1.10 Significancia estadística de factores de estudio y su interacción en el contenido de clorofila <i>a</i> en vástagos de acelga, espinaca y col, después de dos y cuatro aplicaciones foliares.	65
Cuadro 1.11 Significancia estadística de factores de estudio y su interacción en el contenido de clorofila <i>b</i> en vástagos de acelga, espinaca y col, después de dos y cuatro aplicaciones foliares.	72

Cuadro 1.12	Significancia estadística de factores de estudio y su interacción en el contenido de clorofila total en vástago en acelga, espinaca y col, después de dos y cuatro aplicaciones foliares.	78
Cuadro 1.13	Efectos principales de los factores Fe y Se, y su interacción en el contenido de clorofila total en vástagos de acelga, espinaca y col, después de dos y cuatro aspersiones foliares.	79
Cuadro 1.14	Significancia estadística de factores de estudio y su interacción en la variable contenido de aminoácidos libres en vástagos de acelga, espinaca y col, después de dos y cuatro aplicaciones foliares.	81
Cuadro 1.15	Significancia estadística de factores de estudio y su interacción en la variable contenido de proteínas solubles totales en vástagos de acelga, espinaca y col, después de dos y cuatro aplicaciones foliares.	889
Cuadro 1.16	Significancia estadística de factores de estudio y su interacción en la variable contenido de azúcares totales en vástagos de acelga, espinaca y col, después de dos y cuatro aplicaciones foliares.	97
Cuadro 1.17	Significancia estadística de factores de estudio y su interacción en la variable actividad antioxidante a los 15 min en vástagos de acelga, espinaca y col, después de dos y cuatro aplicaciones foliares.	105
Cuadro 1.18	Significancia estadística de factores de estudio y su interacción en la variable actividad antioxidante a los 30 min en vástagos de acelga, espinaca y col, después de dos y cuatro aplicaciones foliares.	106
Cuadro 1.19	Significancia estadística de factores de estudio y su interacción en la variable actividad antioxidante a los 60 min en vástagos de acelga, espinaca y col, después de dos y cuatro aplicaciones foliares.	106
Cuadro 1.20	Efectos principales de Fe y Se y de su interacción en la actividad antioxidante (μg trólox por 100 mg de peso fresco) a los 15 min en vástagos de acelga, espinaca y col, después de dos y cuatro aspersiones foliares.	109
Cuadro 1.21	Efectos principales de Fe y Se y de su interacción en la actividad antioxidante (μg trólox por 100 mg de peso fresco) a los 30 min en vástagos de acelga, espinaca y col, después de dos y cuatro aspersiones foliares.	110
Cuadro 1.22	Efectos principales de Fe y Se y de su interacción en la actividad antioxidante (μg trólox por 100 mg de peso fresco) a los 60 min en vástagos de acelga, espinaca y col, después de dos y cuatro aspersiones foliares.	111

CAPÍTULO II.

Cuadro 2.1	Solución de micronutrientos.	124
------------	-----------------------------------	-----

Cuadro 2.2	Significancia estadística de factores de estudio y su interacción en la variable biomasa fresca de vástago en acelga, espinaca y col, después de 30 y 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva.	126
Cuadro 2.3	Significancia estadística de factores de estudio y su interacción en la variable biomasa seca de vástagos de acelga, espinaca y col, después de 30 y 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva.	135
Cuadro 2.4	Significancia estadística de factores de estudio y su interacción en la bioacumulación de Fe en vástagos de acelga, espinaca y col, después de 30 y 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva.	142
Cuadro 2.5	Significancia estadística de factores de estudio y su interacción en la bioacumulación de Se en vástagos de acelga, espinaca y col, después de 30 y 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva.	149
Cuadro 2.6	Significancia estadística de factores de estudio y su interacción en las lecturas SPAD en acelga, espinaca y col, después de 30 y 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva.	156
Cuadro 2.7	Significancia estadística de factores de estudio y su interacción en la acumulación de N en vástagos de acelga, espinaca y col, después de 30 y 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva.	163
Cuadro 2.8	Significancia estadística de factores de estudio y su interacción en la acumulación de NO ₃ ⁻ en vástagos de acelga, espinaca y col, después de 30 y 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva.	163
Cuadro 2.9	Significancia estadística de factores de estudio y su interacción en el contenido de clorofila <i>a</i> en vástagos de acelga, espinaca y col, después de 30 y 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución foliar.	176
Cuadro 2.10	Significancia estadística de factores de estudio y su interacción en el contenido de clorofila <i>b</i> en vástagos de acelga, espinaca y col, después de 30 y 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución foliar.	183
Cuadro 2.11	Significancia estadística de factores de estudio y su interacción en el contenido de clorofila total en vástagos de acelga, espinaca y col, después de 30 y 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva.	191
Cuadro 2.12	Efecto principal de Fe en la clorofila total (mg) en vástagos de acelga, espinaca y col, después de 30 y 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva.	192
Cuadro 2.13	Efecto principal de Se en la clorofila total (mg) en vástagos de acelga, espinaca y col, después de 30 y 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva.	192
Cuadro 2.14	Efectos simples de Fe y Se en la clorofila total (mg) en vástagos de acelga, espinaca y col, después de 30 y 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva.	194

Cuadro 2.15 Significancia estadística de factores de estudio y su interacción en la variable contenido de aminoácidos libres en vástagos de acelga, espinaca y col, después de 30 y 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva.	195
Cuadro 2.16 Significancia estadística de factores de estudio y su interacción en la variable contenido de proteínas solubles totales en vástagos de acelga, espinaca y col, después de 30 y 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva.	203
Cuadro 2.17 Significancia estadística de factores de estudio y su interacción en la variable contenido de azúcares totales en vástagos de acelga, espinaca y col, después de 30 y 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva.	212
Cuadro 2.18 Significancia estadística de factores de estudio y su interacción en la variable actividad antioxidante a los 15 min en vástagos de acelga, espinaca y col, después de 30 y 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva.	219
Cuadro 2.19 Significancia estadística de factores de estudio y su interacción en la variable actividad antioxidante a los 30 min en vástagos de acelga, espinaca y col, después de 30 y 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva.	219
Cuadro 2.20 Significancia estadística de factores de estudio y su interacción en la variable actividad antioxidante a los 60 min en vástagos de acelga, espinaca y col, después de 30 y 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva.	219
Cuadro 2.21 Efectos principales de Fe y Se y de su interacción en la actividad antioxidante (μg trólox por 100 mg de peso fresco) a los 15 min en vástagos de acelga, espinaca y col, después de 30 y 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva.	228
Cuadro 2.22 Efectos principales de Fe y Se y de su interacción en la actividad antioxidante (μg trólox por 100 mg de peso fresco) a los 30 min en vástagos de acelga, espinaca y col, después de 30 y 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva.	229
Cuadro 2.23 Efectos principales de Fe y Se y de su interacción en la actividad antioxidante (μg trólox por 100 mg de peso fresco) a los 60 min en vástagos de acelga, espinaca y col, después de 30 y 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva.	230

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
INTRODUCCIÓN	
Figura 1 Porcentaje de población desnutrida por país (Cells United Ltd, 2012).....	3
CAPÍTULO I	
Figura 1.1 Sistema de raíz flotante establecido para la biofortificación con Fe y Se en acelga, espinaca y col. El esquema presenta el cultivo de acelga y col establecidos bajo este sistema.	14
Figura 1.2 Efecto principal del Fe en el peso de biomasa fresca de vástagos de acelga (A y B, 2 y 4 aspersiones foliares, respectivamente), espinaca (C, 2 aspersiones foliares) y col (D y E, 2 y 4 aspersiones foliares respectivamente). Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).....	18
Figura 1.3 Efecto principal del Se en el peso de biomasa fresca de vástagos de acelga (A y B, 2 y 4 aspersiones foliares, respectivamente), espinaca (C, 2 aspersiones foliares) y col (D y E, 2 y 4 aspersiones foliares, respectivamente). Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).....	21
Figura 1.4 Efecto principal del Fe en el peso de biomasa seca de vástagos de acelga (A y B, 2 y 4 aspersiones foliares, respectivamente), espinaca (C, 2 aspersiones foliares) y col (D y E, 2 y 4 aspersiones foliares respectivamente). Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).....	25
Figura 1.5 Efectos principales del Fe y Se en la bioacumulación de Fe en vástagos después de dos aspersiones foliares. A, C y E: Efecto principal del Fe en acelga, espinaca y col, respectivamente. B, D Y F: Efecto principal del Se en acelga, espinaca y col, respectivamente. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).	30
Figura 1.6 Efectos principales del Fe y Se en la bioacumulación de Fe en vástagos después de cuatro aspersiones foliares. A y C: Efecto principal del Fe en acelga y col, respectivamente. B y D: Efecto principal del Se en acelga y col, respectivamente. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).	31
Figura 1.7 Efecto de la interacción de Fe y Se en la bioacumulación de Fe en vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de dos aspersiones foliares. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).	33

Figura 1.8 Efecto de la interacción de Fe y Se en la bioacumulación de Fe en vástagos de acelga (A) y col (B) después de cuatro aspersiones foliares. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).....	34
Figura 1.9 Efectos principales del Fe y Se en la bioacumulación de Se en vástagos después de dos aspersiones foliares. A, C y E: Efecto principal del Fe en acelga, espinaca y col, respectivamente. B, D Y F: Efecto principal del Se en acelga, espinaca y col, respectivamente. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).....	38
Figura 1.10 Efectos principales del Fe y Se en la bioacumulación de Se en vástagos después de cuatro aspersiones foliares. A y C: Efecto principal del Fe en acelga y col, respectivamente. B y D: Efecto principal del Se en acelga y col, respectivamente. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).....	39
Figura 1.11 Efecto de la interacción de Fe y Se en la bioacumulación de Se en vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de dos aspersiones foliares. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).....	41
Figura 1.12 Efecto de la interacción de Fe y Se en la bioacumulación de Se en vástagos de acelga (A) y col (B) después de cuatro aspersiones foliares. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).....	42
Figura 1.13 Efecto principal del Fe en lecturas SPAD de acelga (A), espinaca (B) y col (C). Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura para cada evaluación, indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).....	47
Figura 1.14 Efecto principal del Se en lecturas SPAD de acelga (A), espinaca (B) y col (C). Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura para cada evaluación, indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).....	48
Figura 1.15 Efecto de la interacción de Fe y Se las lecturas SPAD en acelga (A y B, después de dos y cuatro aspersiones foliares respectivamente), espinaca (C, después de dos aspersiones foliares), y col (D y E, después de dos y cuatro aspersiones foliares respectivamente). Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).....	50
Figura 1.16 Efecto principal del Fe en la acumulación de N y NO_3^- de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de dos aspersiones foliares. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura y para cada variable indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).....	54

Figura 1.17 Efecto principal del Fe en la acumulación de N y NO ₃ ⁻ de acelga (A) y col (B) después de cuatro aspersiones foliares. Medias ± DE con letras distintas en cada subfigura y para cada variable indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).	55
Figura 1.18 Efecto principal del Se en la acumulación de N y NO ₃ ⁻ de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de dos aspersiones foliares. Medias ± DE con letras distintas en cada subfigura y para cada variable indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).	57
Figura 1.19 Efecto principal del Se en la acumulación de N y NO ₃ ⁻ de acelga (A) y col (C) después de cuatro aspersiones foliares. Medias ± DE con letras distintas en cada subfigura y para cada variable indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).	58
Figura 1.20 Efecto de la interacción de Fe y Se en la acumulación de N en acelga (A), espinaca (B) y col (C), después de dos aspersiones foliares. Medias ± DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).	60
Figura 1.21 Efecto de la interacción de Fe y Se en la acumulación de N en acelga (A) y col (B), después de cuatro aspersiones foliares. Medias ± DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).	61
Figura 1.22 Efecto de la interacción de Fe y Se en la acumulación de NO ₃ ⁻ en acelga (A), espinaca (B) y col (C), después de dos aspersiones foliares. Medias ± DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).	63
Figura 1.23 Efecto de la interacción de Fe y Se en la acumulación de NO ₃ ⁻ en acelga (A) y col (B), después de cuatro aspersiones foliares. Medias ± DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).	64
Figura 1.24 Efecto principal del Fe en el contenido de clorofila a en vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de dos y cuatro aspersiones foliares. Medias ± DE con letras distintas en cada subfigura y para cada variable indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).	66
Figura 1.25 Efecto principal del Se en el contenido de clorofila a en vástagos de acelga (A), col (B) y espinaca (C) después de dos y cuatro aspersiones foliares. Medias ± DE con letras distintas en cada subfigura y para cada variable indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).	68
Figura 1.26 Efecto de la interacción de Fe y Se en el contenido de clorofila a en vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de dos aspersiones foliares. Medias ± DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).	70

Figura 1.27 Efecto de la interacción de Fe y Se en el contenido de clorofila <i>b</i> en vástagos de acelga (A) y col (B) después de cuatro aspersiones foliares. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).....	71
Figura 1.28 Efecto principal del Fe en el contenido de clorofila <i>b</i> en vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de dos y cuatro aspersiones foliares. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura y para cada variable indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).....	73
Figura 1.29 Efecto principal del Se en el contenido de clorofila <i>b</i> en vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de dos y cuatro aspersiones foliares. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura y para cada variable indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).....	75
Figura 1.30 Efecto de la interacción de Fe y Se en el contenido de clorofila <i>b</i> en vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de dos aspersiones foliares. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).	77
Figura 1.31 Efecto de la interacción de Fe y Se en el contenido de clorofila <i>b</i> en vástagos de acelga (A) y col (B) después de cuatro aspersiones foliares. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).....	78
Figura 1.32 Efecto principal del Fe en el contenido de aminoácidos libres en vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de dos y cuatro aspersiones foliares. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura y para cada variable indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).....	83
Figura 1.33 Efecto principal del Se en el contenido de aminoácidos libres en vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de dos y cuatro aspersiones foliares. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura y para cada variable indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).....	85
Figura 1.34 Efecto de la interacción de Fe y Se en el contenido de aminoácidos libres totales en vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de dos aspersiones foliares. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).	87
Figura 1.35 Efecto de la interacción de Fe y Se en el contenido de aminoácidos libres totales en vástagos de acelga (A) y col (B) después de cuatro aspersiones foliares. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).	88

Figura 1.36 Efecto principal del Fe en el contenido de proteínas solubles totales en vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de dos y cuatro aspersiones foliares. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura y para cada variable indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).	91
Figura 1.37 Efecto principal del Se en el contenido de proteínas solubles totales en vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de dos y cuatro aspersiones foliares. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura y para cada variable indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).	93
Figura 1.38 Efecto de la interacción de Fe y Se en el contenido de proteínas solubles totales en vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de dos aspersiones foliares. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).	95
Figura 1.39 Efecto de la interacción de Fe y Se en el contenido de proteínas solubles totales en vástagos de acelga (A) y col (B) después de cuatro aspersiones foliares. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).	96
Figura 1.40 Efecto principal del Fe en el contenido de azúcares solubles totales en vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de dos y cuatro aspersiones foliares. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura y para cada variable indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).	99
Figura 1.41 Efecto principal del Se en el contenido de azúcares solubles totales en vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de dos y cuatro aspersiones foliares. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura y para cada variable indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).	101
Figura 1.42 Efecto de la interacción de Fe y Se en el contenido de azúcares solubles totales en vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de dos aspersiones foliares. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).	103
Figura 1.43 Efecto de la interacción de Fe y Se en el contenido azúcares solubles totales en vástagos de acelga (A) y col (B) después de cuatro aspersiones foliares. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).	104

CAPÍTULO II

- Figura 2.1 Efecto principal del Fe en el peso de biomasa fresca de vástagos de acelga (A y B, 30 y 60 ddt, respectivamente), espinaca (C, 30 ddt) y col (D y E, 30 y 60 ddt, respectivamente). Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$). 128
- Figura 2.2 Efecto principal del Se en el peso de biomasa fresca de vástagos de acelga (A y B, 30 y 60 ddt, respectivamente), espinaca (C, 30 ddt) y col (D y E, 30 y 60 ddt, respectivamente). Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$). 130
- Figura 2.3 Efecto de la interacción Fe x Se en el peso de biomasa fresca de vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C), después de 30 ddt. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$). 132
- Figura 2.4 Efecto de la interacción Fe x Se en el peso de biomasa fresca de vástagos de acelga (A) y col (B), después de 60 ddt. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$). 134
- Figura 2.5 Efecto principal del Fe en el peso de biomasa seca de vástagos de acelga (A y B, 30 y 60 ddt, respectivamente), espinaca (C, 30 ddt) y col (D y E, 30 y 60 ddt, respectivamente). Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$). 136
- Figura 2.6 Efecto principal del Se en el peso de biomasa seca de vástagos de acelga (A y B, 30 y 60 ddt, respectivamente), espinaca (C, 30 ddt) y col (D y E, 30 y 60 ddt, respectivamente). Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$). 138
- Figura 2.7 Efecto de la interacción Fe x Se en el peso de biomasa seca de vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C), después de 30 ddt. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$). 140
- Figura 2.8. Efecto de la interacción Fe x Se en el peso de biomasa seca de vástagos de acelga (A) y col (B), después de 60 ddt. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$). 141
- Figura 2.9 Efectos principales del Fe y Se en la bioacumulación de Fe en vástagos después de 30 ddt en la solución nutritiva. A, C y E: Efecto principal del Fe en acelga, espinaca y col, respectivamente. B, D Y F: Efecto principal del Se en acelga, espinaca y col, respectivamente. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$). 144

Figura 2.10 Efectos principales del Fe y Se en la bioacumulación de Fe en vástagos después de 60 ddt en la solución nutritiva. A y C: Efecto principal del Fe en acelga y col, respectivamente. B y D: Efecto principal del Se en acelga y col, respectivamente. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).	145
Figura 2.11 Efecto de la interacción de Fe y Se en la bioacumulación de Fe en vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de 30 ddt en la solución nutritiva. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).	147
Figura 2. 12 Efecto de la interacción de Fe y Se en la bioacumulación de Fe en vástagos de acelga (A) y col (B) después de 60 ddt en la solución nutritiva. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).	148
Figura 2.13 Efectos principales del Fe y Se en la bioacumulación de Se en vástagos después de 30 ddt en la solución nutritiva. A, C y E: Efecto principal del Fe en acelga, espinaca y col, respectivamente. B, D Y F: Efecto principal del Se en acelga, espinaca y col, respectivamente. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).	151
Figura 2.14 Efectos principales del Fe y Se en la bioacumulación de Se vástagos después de 60 ddt en la solución nutritiva. A y C: Efecto principal del Fe en acelga y col, respectivamente. B y D: Efecto principal del Se en acelga y col, respectivamente. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).	152
Figura 2.15 Efecto de la interacción de Fe y Se en la bioacumulación de Se en vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de 30 ddt en la solución nutritiva. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).	154
Figura 2.16 Efecto de la interacción de Fe y Se en la bioacumulación de Se en vástagos de acelga (A) y col (B) después de 60 ddt en la solución nutritiva. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).	155
Figura 2.17 Efecto principal del Fe en lecturas SPAD de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de 30 y 60 días de tratamiento en la solución nutritiva. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura para cada evaluación, indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).	157

Figura 2.18 Efecto principal del Se en lecturas SPAD de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de 30 y 60 días de tratamiento en la solución nutritiva. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura para cada evaluación, indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).	159
Figura 2.19 Efecto de la interacción de Fe y Se en las lecturas SPAD en acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de 30 días de tratamiento en la solución nutritiva. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura, indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).....	161
Figura 2.20 Efecto de la interacción de Fe y Se en las lecturas SPAD en acelga (A) y col (B) después de 60 días de tratamiento en la solución nutritiva. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura, indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).	162
Figura 2.21 Efecto principal del Fe en la acumulación de N y NO_3^- de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de 30 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura y para cada variable indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).....	165
Figura 2.22 Efecto principal del Fe en la acumulación de N y NO_3^- de acelga (A) y col (B) después de 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura y para cada variable indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).	166
Figura 2.23 Efecto principal del Se en la acumulación de N y NO_3^- de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de 30 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura y para cada variable indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).....	168
Figura 2.24 Efecto principal del Se en la acumulación de N y NO_3^- de acelga (A) y col (B) después de 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura y para cada variable indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).	169
Figura 2.25 Efecto de la interacción de Fe y Se en la acumulación de N en acelga (A), espinaca (B) y col (C), después de 30 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).	172
Figura 2.26 Efecto de la interacción de Fe y Se en la acumulación de N en acelga (A) y col (C), después de 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).....	173

Figura 2.27 Efecto de la interacción de Fe y Se en la acumulación de NO_3^- en acelga (A), espinaca (B) y col (C), después de 30 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).	174
Figura 2.28 Efecto de la interacción de Fe y Se en la acumulación de NO_3^- en acelga y col (B), después de 60 de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).....	175
Figura 2.29 Efecto principal del Fe en el contenido de clorofila <i>a</i> en vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de 30 y 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura y para cada variable indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).	177
Figura 2.30 Efecto principal del Se en el contenido de clorofila <i>a</i> en vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de 30 y 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura y para cada variable indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).	179
Figura 2.31 Efecto de la interacción de Fe y Se en el contenido de clorofila <i>a</i> en vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de 30 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).	181
Figura 2.32 Efecto de la interacción de Fe y Se en el contenido de clorofila <i>a</i> en vástagos de acelga (A) y col (B) después de 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).	182
Figura 2.33 Efecto principal del Fe en el contenido de clorofila <i>b</i> en vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de 30 y 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura y para cada variable indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).	184
Figura 2.34 Efecto principal del Se en el contenido de clorofila <i>b</i> en vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de 30 y 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura y para cada variable indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).	186

Figura 2.35 Efecto de la interacción de Fe y Se en el contenido de clorofila <i>b</i> en vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de 30 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).....	189
Figura 2.36 Efecto de la interacción de Fe y Se en el contenido de clorofila <i>b</i> en vástagos de acelga (A) y col (B) después de 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).	190
Figura 2.37 Efecto principal del Fe en el contenido de aminoácidos libres en vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de 30 y 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura y para cada variable indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).....	196
Figura 2.38 Efecto principal del Se en el contenido de aminoácidos libres en vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de 30 y 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura y para cada variable indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).....	198
Figura 2.39 Efecto de la interacción de Fe y Se en el contenido de aminoácidos libres totales en vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de 30 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).	201
Figura 2.40 Efecto de la interacción de Fe y Se en el contenido de aminoácidos libres totales en vástagos de acelga (A) y col (B) después de 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).	202
Figura 2.41 Efecto principal del Fe en el contenido de proteínas solubles totales en vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de 30 y 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura y para cada variable indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).....	205
Figura 2.42 Efecto principal del Se en el contenido de proteínas solubles totales en vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de 30 y 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura y para cada variable indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).....	207

Figura 2.43 Efecto de la interacción de Fe y Se en el contenido de proteínas solubles totales en vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de 30 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).	210
Figura 2.44 Efecto de la interacción de Fe y Se en el contenido de proteínas solubles totales en vástagos de acelga (A) y col (B) después de 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).	211
Figura 2.45 Efecto principal del Fe en el contenido de azúcares solubles totales en vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de 30 y 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).	213
Figura 2.46 Efecto principal del Se en el contenido de azúcares solubles totales en vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de 30 y 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).	215
Figura 2.47 Efecto de la interacción de Fe y Se en el contenido de azúcares solubles totales en vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de 30 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).	217
Figura 2.48 Efecto de la interacción de Fe y Se en el contenido de azúcares solubles totales en vástagos de acelga (A) y col (B) después de 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).	218
Figura 2.49 Efecto principal del Fe en la actividad antioxidante totales en vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de 30 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura y para cada variable indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).	221
Figura 2.50 Efecto principal del Fe en la actividad antioxidante totales en vástagos de acelga (A) y col (B) después de 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura y para cada variable indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).	222

Figura 2.51 Efecto principal del Se en la actividad antioxidante totales en vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura y para cada variable indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).....	224
Figura 2.52 Efecto principal del Se en la actividad antioxidante totales en vástagos de acelga (A) y col (B) después de 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura y para cada variable indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).....	225

CAPÍTULO III

Figura 3.1 Plantas de acelga, espinaca y col establecidas en charolas de unicel (a la izquierda) y plántulas de acelga y col creciendo en vasos de unicel (a la derecha).....	240
Figura 3.2 Aplicación de la solución foliar a una plántula de espinaca, usando un aspersor de 500 mL de capacidad.....	241
Figura 3.3 Equipo de laboratorio utilizado en la visualización de rutas de penetración. Microtomo de congelación a la izquierda y microscopio de fluorescencia a la derecha.....	241
Figura 3.4 Cortes transversales de hojas de espinaca asperjadas con una solución foliar con Fe al 0.25% y calcoflúor al 0.1%. Testigo (A), 15 min (B), 30 min (C), 1 h (D), 2 h (E) y 4 h (F) después de la aspersion.....	244
Figura 3.5 Cortes transversales de hojas de acelga asperjadas con una solución foliar al 0.25% de Fe y calcoflúor al 0.1%. Testigo (A), 15 min (B), 30 min (C), 1 h (D), 2 h (E) y 4 h (F) después de la aspersion.	245
Figura 3.6 Cortes transversales de hojas de col asperjadas con una solución foliar al 0.25% de Fe y calcoflúor al 0.1%. Testigo (A), 15 min (B), 30 min (C), 1 h (D), 2 h (E) y 4 h (F) después de la aspersion.	246
Figura 3.7 Cortes transversales de hojas de espinaca asperjadas con una solución foliar al 0.5% de Fe y calcoflúor al 0.1%. Testigo (A), 15 min (B), 30 min (C), 1 h (D), 2 h (E) 4 h (F), 8 h (G), 12 h (H) después de la aspersion.....	248
Figura 3.8 Cortes transversales de hojas de acelga asperjadas con una solución foliar al 0.5% de Fe y calcoflúor al 0.1%. Testigo (A), 15 min (B), 30 min (C), 1 h (D), 2 h (E) 4 h (F) después de la aspersion.....	249
Figura 3.9 Cortes transversales de hojas de col asperjadas con una solución foliar al 0.5% de Fe y calcoflúor al 0.1%. Testigo (A), 15 min (B), 30 min (C), 1 h (D), 2 h (E) 4 h (F), 8 h (G y H) después de la aspersion.	250

Figura 3.10	Cortes transversales de hojas de espinaca asperjadas con una solución foliar al 0.001% de Se y calcoflúor al 0.1%. Testigo (A), 15 min (B), 30 min (C), 1 h (D), 2 h (E y F) después de la aspersión.....	253
Figura 3.11	Cortes transversales de hojas de acelga asperjadas con una solución foliar al 0.001% de Se y calcoflúor al 0.1%. Testigo (A), 15 min (B), 30 min (C), 1 h (D), 2 h (E y F) después de la aspersión.....	254
Figura 3.12	Cortes transversales de hojas de col asperjadas con una solución foliar al 0.001% de Se y calcoflúor al 0.1%. Testigo (A), 15 min (B), 30 min (C), 1 h (D), 2 h (E) y 4 h (F) después de la aspersión.	255
Figura 3.13	Cortes transversales de hojas de espinaca asperjadas con una solución foliar al 0.002% de Se y calcoflúor al 0.1%. Testigo (A), 15 min (B), 30 min (C), 1 h (D), 2 h (E) y 4 h (F) después de la aspersión.....	257
Figura 3.14	Cortes transversales de hojas de acelga asperjadas con una solución foliar al 0.002% de Se y calcoflúor al 0.1%. Testigo (A), 15 min (B), 30 min (C), 1 h (D), 2 h (E) y 4 h (F) después de la aspersión.	258
Figura 3.15	Cortes transversales de hojas de col asperjadas con una solución foliar al 0.002% de Se y calcoflúor al 0.1%. Testigo (A), 15 min (B), 30 min (C), 1 h (D), 2 h (E) y 4 h (F) después de la aspersión.	259

INTRODUCCIÓN GENERAL

1. Requerimientos nutrimentales del ser humano

El ser humano, para tener una vida saludable y productiva, requiere nutrimentos que incluyen agua, carbohidratos, grasas, proteínas, vitaminas y minerales (**Cuadro 1**); entre estos últimos se encuentran el hierro (Fe) y el selenio (Se) ([Stipanuk y Caudill, 2013](#)).

Los nutrimentos esenciales deben ser suministrados en cantidades adecuadas y de manera consistente. Infortunadamente, los sistemas de alimentación global no han desarrollado la capacidad de proveerlos de manera eficiente a un gran número de personas en países en desarrollo ([Welch, 2005](#)).

A pesar de los esfuerzos para mejorar el estado de ingesta de micronutrientes a través de la suplementación o fortificación, estos han resultado insuficientes, por lo que las altas tasas de deficiencia de micronutrientes persisten en los países en desarrollo ([Broadley et al., 2006](#)).

Una dieta balanceada incluye un nivel adecuado de nutrimentos entre los que se encuentran Fe y Se. La carencia de micronutrientes a nivel global se ha ido incrementando año tras año, tomando un papel central en los debates de seguridad alimentaria y nutricional ([FAO, 2011](#)).

Cuadro 1. Nutrimientos esenciales para el ser humano (Stipanuk y Caudill, 2013).

Nutrimientos esenciales	Componentes
Agua	Agua
Aminoácidos	Histidina, Isoleucina, Leucina, Lisina, Metionina, Fenilalanina, Treonina, Triptofano, Valina
Minerales	Calcio, Fósforo, Magnesio, Hierro, Sodio, Potasio, Cloro Zinc, Cobre, Manganeso, Iodo, Selenio Molibdeno, Boro
Fuentes de energía	Carbohidratos, aceites o proteínas
Ácidos grasos poliinsaturados	Linoleico (n-6), α – Linoleico
Vitaminas	Ácido ascórbico, Vitamina A, Vitamina D, Vitamina E, Vitamina K, Tiamina, Riboflavina, Niacina, Vitamina B6, Ácido pantoténico, Folato, Biotina, Vitamina B12

2. Problemas de desnutrición a nivel mundial

Si bien puede haber otras causas, las deficiencias nutricionales se relacionan principalmente con la calidad de la dieta y con la falta de alimentos. De ahí que en casi todos los países en desarrollo los trastornos nutricionales de mayor prevalencia incluyan malnutrición proteico-energética, carencia de vitamina A, anemias nutricionales por

deficiencias de hierro, y alteraciones del crecimiento, además de una respuesta inmune por deficiencia de zinc (Monserate *et al.*, 2009).

La malnutrición afecta a más de la mitad de la población en el mundo, especialmente las mujeres, y los niños en edad preescolar (Nestel *et al.*, 2006). Particularmente, la deficiencia de micronutrientes tales como hierro y zinc, y de vitamina A afecta a más de 3 mil millones de personas en el mundo (cerca del 50% de la población a nivel mundial), la mayoría de ellas mujeres, infantes y niños en familias de escasos recursos en los países en desarrollo. En la **Figura 1** se muestran los porcentajes de desnutrición por país, donde si bien México se encuentra entre los países con menos del 5% de desnutrición, es sabido que este problema se agudiza en poblaciones rurales y grupos vulnerables.

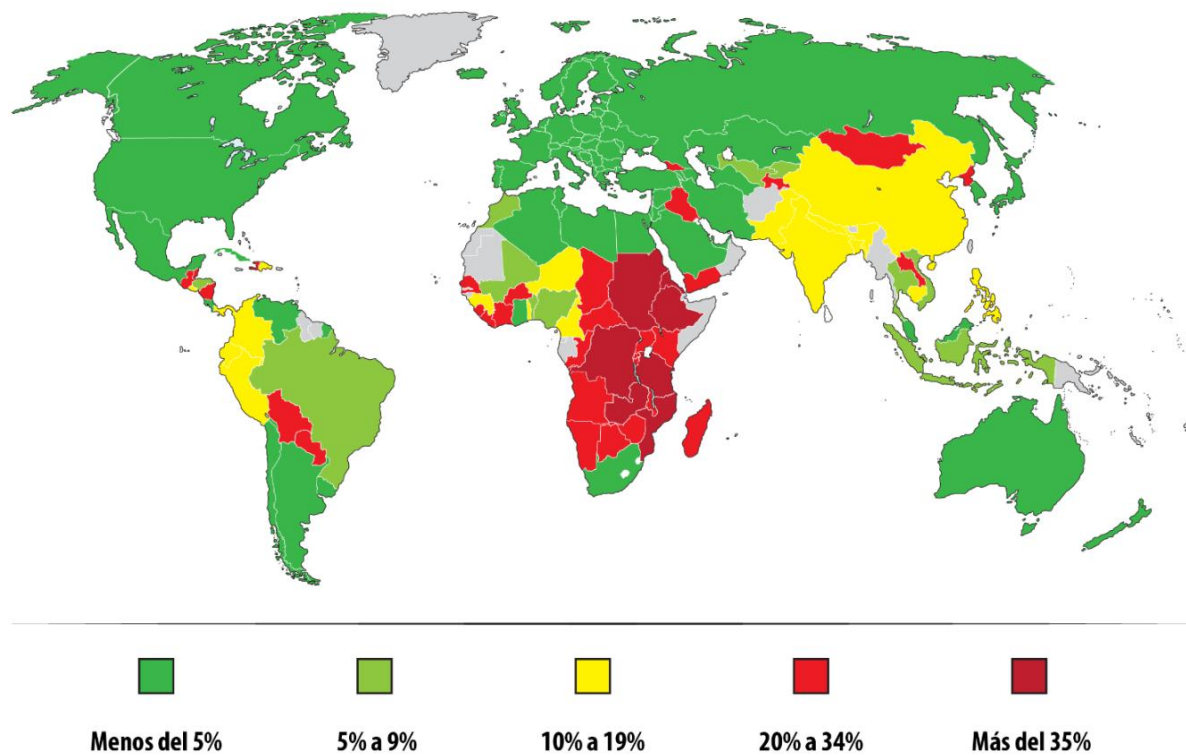


Figura 1. Porcentaje de población desnutrida por país (Cells United Ltd, 2012).

Las deficiencias de micronutrientos resultan en el incremento de las tasas de morbilidad y mortalidad, pérdida de productividad del trabajador, estancamiento en el desarrollo nacional, pérdida permanente del desarrollo cognitivo de infantes y niños y un gran costo económico que sufren esas sociedades afectadas ([Welch, 2005](#)).

Las intervenciones de salud pública para tratar la deficiencia de micronutrientos incluyen la fortificación (la harina con hierro, por ejemplo) y el uso de suplementos (dos veces al año las cápsulas de vitamina A para niños en edad preescolar). Sin embargo, son pocos los gobiernos que disponen de recursos para financiar ese tipo de programas en forma permanente ([Hotz y Brown, 2004](#)).

En términos de complicaciones de la salud humana por falta de abastecimiento de micronutrientos a través de la alimentación, la deficiencia de hierro es el problema más expandido en el mundo. El impacto más evidente de esta deficiencia es la anemia por hierro, misma que contribuye de manera significativa a la muerte de madres e infantes en poblaciones vulnerables de escasos recursos, en tanto que los efectos “ocultos” se extienden a distintos aspectos del crecimiento y desarrollo del individuo ([Hirschi, 2009](#); [Thompson, 2011](#)).

Por otra parte, el selenio (Se) es un micronutriente considerado esencial para personas y animales, pero es deficiente en al menos mil millones de personas alrededor del mundo ([Lyons et al., 2005](#)).

3. Desnutrición en México

Con base en estadísticas nacionales, en el año 2002, el Fondo de las Naciones Unidas para la Infancia (UNICEF) indicó que la prevalencia de desnutrición crónica en infantes menores de 5 años oscilaba alrededor del 18% en México ([Monserate et al., 2009](#)). Por su parte, [Denova et al. \(2009\)](#) mencionan que en México la prevalencia de anemia es del orden del 23.7% entre niños en edad preescolar y 15.5% entre las mujeres no embarazadas y no lactantes en edad fértil. La deficiencia de hierro por otro lado, fue del 48.1% entre los niños en edad preescolar y del 40.5% en mujeres no embarazadas, no lactantes y no lactantes en edad fértil.

La anemia y la deficiencia de micronutrientos han sido denominados “hambre oculta”, dado que sus manifestaciones, especialmente en los casos leves y moderados, los más comunes en México, no son evidentes a simple vista, lo que contribuye a convertir en “invisibles” estas deficiencias (Rivera, 2012).

Monserate *et al.* (2009) identificaron cinco agrupaciones de municipios y estados con diferentes riesgos de malnutrición, con base en un estudio de caso en México conformado por niños entre 6 y 8 años de edad. A nivel estatal, se reportó un riesgo nutricional bajo, con excepción de Oaxaca, Chiapas y Yucatán; mientras que, a nivel regional o municipal, obtuvieron diferentes niveles de riesgo en la mayoría de los estados, con una mayor concentración de estos problemas en zonas marginales rurales e indígenas.

Diferentes encuestas nacionales de salud y nutrición en la población mexicana muestran elevadas deficiencias de hierro (26%), zinc (28%) y anemia (20.6%) y deficiencias moderadas a bajas de vitamina B12 (7.3%) y ácido fólico (3.6%) en niños de 1 a 4 años de edad, una etapa crítica para el crecimiento y el desarrollo neurológico y cognitivo. En niños en edad escolar (5 a 11 años), las deficiencias encontradas fueron de 13% para hierro y 26% para zinc. En general, las deficiencias de micronutrientos durante los primeros años de vida tienen efectos adversos en el crecimiento, el desarrollo y la salud de los niños. En edad escolar (5 a 11 años), algunas de estas deficiencias tienen efectos en el aprendizaje, lo que en conjunto repercute a largo plazo en la adquisición de capacidades individuales y en el desarrollo social (Rivera, 2012).

4. Funciones del Fe y Se en el ser humano

En los individuos con un estado nutricional de Fe óptimo, alrededor del 65% del Fe se encuentra formando parte de la hemoglobina, el 15% está contenido en las enzimas y la mioglobina, el 20% como hierro de almacenamiento y solo entre el 0.1 y 0.2% se encuentra unido con la transferrina como hierro circulante (Forrellat *et al.*, 2000). Para que una persona se pueda desarrollar adecuadamente, es necesario que reponga la cantidad de Fe perdida diariamente a través de la orina, las heces fecales, el sudor y en el caso de las mujeres en edad fértil la menstruación. La reposición de esta pequeña

cantidad se realiza principalmente a través de la ingesta de alimentos (Forrellat *et al.*, 2000; Ganz y Nemeth, 2006).

En el ser humano, una dieta baja en selenio está relacionada con desórdenes de salud tales como el estrés oxidativo, baja fertilidad y aumento en el número de cánceres (Broadley *et al.*, 2006; Rayman, 2008; Ježek *et al.*, 2012).

El selenio es un elemento considerado esencial para el metabolismo humano y animal, ya que participa en el sistema antioxidante del cuerpo, de forma comparable a las de la vitamina E (Ježek *et al.*, 2012). No obstante, cuando es absorbido en altas concentraciones, puede ser dañino y cataliza la oxidación de tioles y simultáneamente genera radicales superóxido ($O_2^{\cdot-}$), lo cual significa que actúa como un agente pro-oxidante (Nowak *et al.*, 2004).

Se presume que los compuestos de Se de bajo peso molecular como selenocisteína, Se-metilo, y-glutamil Se-metil selenocisteína, son precursores de selenol metil, un potente anticancerígeno (Rayman, 2008).

La fuente básica de Se en la nutrición humana son los alimentos, los cuales, si son provenientes de sistemas biológicos, pueden contener formas de Se tanto inorgánicas como orgánicas. Entre las formas inorgánicas se encuentran el selenito (SeO_3^{2-}) y el selenato (SeO_4^{2-}); mientras que entre las formas orgánicas se encuentran los Se-aminoácidos, formas metiladas, y las Se-proteínas. La forma dominante de Se en la alimentación afecta la aceptabilidad de este elemento por el cuerpo. En comparación con las formas inorgánicas de Se, las formas orgánicas son más aceptables para el consumo humano. Por ejemplo, Se-metionina, proveniente de productos vegetales, entra directamente al metabolismo de proteínas reemplazando a la metionina esencial o siendo parte del metabolismo del selenio (Ježek *et al.*, 2012).

5. Biofortificación como alternativa

Una de las causas principales de las deficiencias de micronutrientes, es la ingesta insuficiente de éstos en forma biodisponible en la dieta. La factibilidad de incrementar la concentración de micronutrientes en diversos cultivos es posible aplicando pequeñas

cantidades de fertilizantes que contienen el elemento deseado, directamente al suelo o vía foliar ([Broadley et al., 2006](#)), a través de lo que se conoce como biofortificación.

La biofortificación se define como el proceso por el cual la dieta necesaria de micronutrientes se provee directamente por el fitomejoramiento de los cultivos ([Hirschi, 2009](#)). Así, la biofortificación permite incrementar los niveles de los micronutrientes esenciales a través de un manejo agronómico combinado o el aprovechamiento de la ingeniería genética ([DellaPenna, 2007](#)).

En la actualidad existen muchas investigaciones que evidencian la viabilidad de programas de biofortificación para combatir los problemas de desnutrición en diferentes regiones del mundo ([Welch, 2005](#); [Broadley et al., 2006](#); [Stein et al., 2006](#)). En este sentido, la biofortificación representa un enfoque prometedor para la lucha contra la carencia de micronutrientes porque tiene el potencial de ser más sostenible y rentable que la fortificación de los alimentos o de suplementos, mejora el estado nutricional del hierro y selenio, y hace que los elementos sean más apetecibles por el organismo ([Petry et al., 2012](#)).

En este contexto, [Denova et al. \(2009\)](#) realizaron un estudio donde se aplicó un modelo de simulación para medir la factibilidad de la biofortificación en la absorción en cantidades adecuadas de Fe y Zn entre las mujeres mexicanas y niños en edad preescolar y concluyeron que la biofortificación de cultivos como el maíz podría significativamente incrementar la absorción de Zn entre niños y mujeres en México que viven en áreas más vulnerables a la deficiencia por este elemento.

Sin embargo, la biofortificación de cultivos en México como estrategia para combatir la malnutrición por micronutrientes, no ha sido implementada de manera eficiente, a pesar que existen investigaciones que indican que la biofortificación ha permitido en algunos casos incrementar los niveles de los micronutrientes esenciales en diversas especies vegetales ([DellaPenna, 2007](#); [Broadley et al., 2006](#); [Hirschi, 2009](#)), lo que la hace una alternativa viable para combatir los problemas de desnutrición.

La fortificación de alimentos con hierro es difícil debido a que el hierro es el mineral más complicado para usar con fines de fortificación, ya que los compuestos más solubles y

absorbibles (FeSO_4) no son apetecibles y los compuestos menos solubles son poco absorbidos por el organismo (Wirth *et al.*, 2009).

Las plantas tienen componentes bioquímicamente versátiles, capaces de acumular micronutrientes esenciales para la dieta humana. Sin embargo, los alimentos vegetales derivados de granos como maíz, trigo o arroz, por citar algunos, que son extensamente consumidos por una amplia población, contienen niveles de varios micronutrientes que son insuficientes para proveer los mínimos requerimientos nutricionales de la dieta. Además, esos nutrientes frecuentemente están distribuidos en diferentes partes de la planta, principalmente en aquellas no consumidas por el ser humano. Por ejemplo, el contenido de hierro es alto en hojas de arroz pero es bajo en el grano. De forma similar, la provitamina A está presente solo en las hojas de arroz, por lo que los esfuerzos de biofortificación están enfocados en incrementar los niveles de micronutrientes específicos que son limitados en determinados tejidos de los cultivos a través de la combinación de manejo, aplicación genética y reproducción (DellaPenna, 2007).

6. Literatura citada

- Broadley MR, White PJ, Bryson RJ, Meacham MC, Bowen HC, Johnson SE, Hawkesford MJ, McGrath SP, Zhao FJ, Breward N, Harriman H, Tucker M. 2006. Biofortification of UK food crops with selenium. *Proceedings of the Nutrition Society* 65: 169-181.
- Cells United Ltd. 2012. Molecular solutions for the world's metabolism. Disponible en: <http://www.cellsunited.com/location/>
- DellaPenna D. 2007. Biofortification of plant-based food: Enhancing folate levels by metabolic engineering, Department of Biochemistry and Molecular Biology. *PNAS* 104: 3675-3676.
- Denova GE, García GA, Flores AM, Rodríguez RS, Hotz C. 2008. Simulation model of the impact of biofortification on the absorption of adequate amounts of zinc and iron among Mexican women and preschool children. *Food and Nutrition Bulletin* 29(3): 203-212.
- Fairweather TSJ. 2004. Iron nutrition in the UK: getting the balance right. *Proceedings of the nutrition society* 63: 519-528.
- FAO. 2011. Combating micronutrient deficiencies, Food-based approaches, Organization of the United Nations for Food and Agriculture. Rome Italy. 397 p. <http://www.fao.org/docrep/013/am027e/am027e.pdf>
- Forrellat. BM, Gautier DGH, Fernández DN. 2000. Metabolismo del hierro. *Revista Cubana de Hematología e Inmunología y Hemoterapia* 16: 149-160.

- Ganz T, Nemeth E. 2006. Iron imports, IV, Hepcidin and regulation of body iron metabolism. *American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology* 290(2): 199-203.
- Hirschi KD. 2009. Nutrient biofortification of food crops. *Annual Review of Nutrition* 29: 401-421.
- Hotz C, Brown K. 2004. Assessment of the risk of zinc deficiency in populations and options for its control: International Zinc Nutrition Consultative Group Technical. Document 1.
- Ježek P, Škarpa P, Lošák T, Hlušek J, Jůzl M, Elzner P. 2012. Selenium – An important antioxidant in crops biofortification. Chapter 13, <http://dx.doi.org/10.5772/50356>
- Lyons GH, Judson GJ, Ortiz NI, Gend Y, Stangoulis JCR, Graham RD. 2005. Selenium in Australia: Selenium status and biofortification of wheat for better health, *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 19: 75-82.
- Monserate RFA, Pachón H, Hyman GG, Vesga VAL. 2009. Metodología para seleccionar zonas de intervención con cultivos biofortificados, *Revista Panam. Salud Pública* 26(5): 419-428.
- Nestel P, Bouis HE, Meenakshi JV, Pfeiffer W. 2006. Biofortification of Staple Food Crops. *The Journal of Nutrition* 136: 1064-1067.
- Noctor G, Gómez L, Vanacker HC, Foyer H. 2002. Interactions between biosynthesis, compartmentation and transport in the control of glutathione homeostasis and signaling. *Journal of Experimental Botany* 53: 1283-1304.
- 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.
- Petry N, Egli I, Gahutu JB, Tugirimana PL, Boy E, Hurrell R. 2012. Stable iron Isotope Studies in Rwandese Women Indicate That the common Beans Has Limited Potential as a Vehicle for Iron Biofortification. *The Journal of Nutrition* 142: 492-497.
- Rayman MP. 2008. Food-chain selenium and human health: emphasis on intake. *British Journal of Nutrition* 100(2): 254-268.
- Rivera DJA. 2012. Deficiencias de micronutrientos en México: un problema invisible de salud pública. *Salud Pública de México* 54(2): 101-102.
- Stein AJ, Nestel P, Meenakshi JV, Qaim M, Sachdev HPS, Bhutta ZA. 2006. Plant breeding to control zinc deficiency in India: how cost-effective is biofortification? *Public Health Nutrition* 10(5): 492-501.
- Stipanuk MH, Caudill MA. 2013. Biochemical, physiological, and molecular aspects of human nutrition. 3rd. Edition. Elsevier. USA. 968 p.
- Thompson B. 2011. Combating iron deficiency. Food-based approaches. *In: FAO. Combating micronutrient deficiencies. Food-based approaches.* pp: 268-288. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/013/am027e/am027e.pdf>
- Welch RM. 2005. Biotechnology, biofortification, and global health. *Food and Nutrition Bulletin. The United Nations University* 26(4): 306-306.
- Wirth J, Poletti S, Aeschlimann B, Yakandawala N, Drosse B, Osorio S, Tohge T, Fernie AR, Gunther D, Gruissem W, Sautter C. 2009. Rice endosperm iron biofortification by targeted and synergistic action of nicotianamine synthase and ferritin. *Plant Biotechnology Journal* 7: 631-644.

CAPÍTULO I. BIOFORTIFICACIÓN FOLIAR DE ACELGA, ESPINACA Y COL CON Fe y Se Y SUS EFECTOS AGRONÓMICOS, FISIOLÓGICOS Y BIOQUÍMICOS

RESUMEN

La presente investigación tuvo por objetivo cuantificar el efecto de la biofortificación vía foliar con hierro y selenio en el desarrollo de plantas de acelga, col y espinaca. Para lo anterior, se instaló un sistema hidropónico de raíz-flotante con plántulas de acelga, espinaca y col, y solución nutritiva de Steiner bajo un experimento factorial 3^2 , donde los factores de estudio fueron la aplicación vía foliar de Fe (0, 2500 y 5000 mg L⁻¹) y Se (0, 10 y 20 mg L⁻¹). Las aplicaciones foliares se realizaron cada 15 días por dos meses. Se realizaron dos muestreos, después de dos y de cuatro aspersiones foliares. Las variables evaluadas fueron biomasa fresca y seca de vástago, biofortificación Fe y Se, lecturas SPAD, acumulación total de nitrógeno, acumulación de nitrato, contenido de clorofilas, aminoácidos, proteínas y azúcares solubles totales, y actividad antioxidante. Los resultados obtenidos mostraron que el Fe y Se son elementos que aplicados vía foliar incrementan la bioacumulación de éstos en el tejido foliar de acelga, espinaca y col, y ésta es dependiente del número de aplicaciones, dosis y especie biofortificada. Acelga, espinaca y col registraron bioacumulación máxima del orden de 2.39, 3.22 y 194.06 mg de Fe, respectivamente. Además, en el cultivo de acelga, la aspersión foliar de Fe bajo ciertas concentraciones y número de aspersiones favoreció un incremento en la bioacumulación de Fe y Se en el tejido vegetal, biomasa fresca y seca, acumulación de nitrógeno y nitrato, contenidos de clorofilas *a*, *b* y total, contenido de aminoácidos, proteínas y azúcares, y capacidad antioxidante. En espinaca, los resultados mostraron que la aspersión foliar de Fe puede incrementar la bioacumulación de Se, Fe y el contenido de aminoácidos solubles totales. Para el caso de col, el factor Fe puede promover un aumento en la bioacumulación de Fe, Se, nitrógeno, y en el contenido de proteínas, lecturas SPAD y actividad antioxidante. Por otra parte, la adición de Se vía foliar ocasionó acumulaciones de éste en acelga, espinaca y col de 838.11, 41 y 453 µg, respectivamente. El Se, dependiendo la dosis y número de aspersiones foliares; en acelga incrementó la bioacumulación de Se, biomasa fresca y seca, y los valores de lecturas SPAD, y de los contenidos de clorofilas *a*, *b* y total, de aminoácidos, de

proteínas, de azúcares y en la actividad antioxidante, además de favorecer la bioacumulación de Fe en plantas tratadas con este elemento. En espinaca, el selenio tiene el potencial de incrementar la bioacumulación de Se, biomasa fresca, nitrógeno, nitrato, contenidos de clorofilas *a*, *b* y total, de proteínas, de azúcares, lecturas SPAD y actividad antioxidante y favoreció la bioacumulación de Fe. En col, hubo un incremento en la acumulación de Se, Fe, biomasa fresca y seca, así también un incremento en los contenidos de clorofilas *a*, *b* y total, aminoácidos, azúcares y en la actividad antioxidante.

Key words: Biofortificación, hierro, selenio, proteína, nitrato, acumulación nutrimental.

1.1 INTRODUCCIÓN

La magnitud de la deficiencia de micronutrientes en la alimentación humana ha mostrado una tendencia creciente, lo que ha ocupado la atención de tomadores de decisiones en debates sobre políticas de seguridad alimentaria y nutricional ([FAO, 2011](#)).

En términos de complicaciones de la salud humana por falta de abastecimiento de micronutrientes a través de la alimentación, se considera a la deficiencia de hierro (Fe) uno de los causantes de problemas de salud más expandido en el mundo, pues afecta a más de 2 mil millones de personas, lo que equivale a casi un tercio del total de la población del planeta. El impacto más evidente de esta deficiencia es la anemia, misma que contribuye de manera significativa a la muerte de madres y neonatos en poblaciones vulnerables de escasos recursos, en tanto que los efectos “escondidos” se extienden a distintos aspectos del crecimiento y desarrollo del individuo ([Hirschi, 2009](#); [Thompson, 2011](#)).

Por otra parte, el selenio es considerado un micronutriente esencial para la salud humana. Una dieta baja en selenio (Se) es asociada con el estrés oxidativo, baja fertilidad y un incremento en la incidencia de cánceres ([Broadley et al., 2006](#)). El selenio es necesario para el correcto funcionamiento del sistema inmunológico, ya que tiene un poder protector contra infecciones virales y como componente de las selenoproteínas,

las cuales juegan un papel en la defensa antioxidante ([Hermosillo-Cereceres et al., 2013](#)).

La forma dominante de Fe y de Se en la alimentación afecta la aceptabilidad de estos elementos por el cuerpo. El hierro está presente en los alimentos en dos formas, como Fe-hemo (derivado de alimentos frescos como carne, pollo o pescado) y como Fe no-hemo, el cual es las formas inorgánicas presentes en los alimentos vegetales como cereales, leguminosas, granos, nueces y verduras. La forma Fe-hemo es bien absorbida por el cuerpo humano, y llega a alcanzar hasta un 25% de absorción del contenido en la carne en condiciones normales, y hasta un 40% cuando el cuerpo presenta deficiencia de este elemento. Sin embargo, las formas no-hemo de Fe solo alcanzan rangos de absorción de entre un 2 y un 10% del contenido en los alimentos vegetales ([Thompson, 2011](#)).

En comparación con las formas inorgánicas de Se, las formas orgánicas son más aceptables para el consumo humano. Por ejemplo, Se-metionina, proveniente de productos vegetales, entra directamente al metabolismo de proteínas, reemplazando a la metionina esencial o siendo parte del metabolismo del selenio ([Ježek et al., 2012](#)). Sin embargo, un efecto colateral negativo del Se es que incrementa la absorción de NO_3^- , a través de la inhibición de la actividad de la enzima nitrato reductasa (NR) ([Reilly, 2006](#)). El nitrato en sí es relativamente poco tóxico; su toxicidad viene determinada por su conversión a nitrito. El nitrato puede transformarse en nitrito por reducción bacteriana tanto en los alimentos (durante el procesado y el almacenamiento), como en el propio organismo (en la saliva y el tracto gastrointestinal). El nitrito en la sangre oxida el hierro de la hemoglobina produciendo metahemoglobinemia, incapaz de transportar el oxígeno, muy frecuente en bebés expuestos a altas concentraciones de nitrato en los alimentos. Por otro lado, el nitrato reacciona con los aminoácidos de los alimentos en el estómago, produciendo nitrosaminas y nitrosamidas, sustancias que han demostrado tener efectos cancerígenos ([AECOSAN, 2014](#)). Esto implica que cuando se suministre Se en organismos para consumo humano, se deberá considerar los niveles de nitrato que pueden contener los alimentos generados así.

Con la finalidad de corregir deficiencias de micronutrientes, la [FAO \(2011\)](#) recomienda que la mejor manera de hacerlo es a través del consumo de alimentos que los

contengan, por lo que la biofortificación de estos elementos nutrimentales es una estrategia que se puede probar en plantas de consumo en fresco. Numerosos estudios han demostrado la factibilidad de incrementar la concentración de micronutrientes en diversos cultivos aplicando pequeñas cantidades de fertilizantes que contienen el elemento deseado, directamente al suelo o vía foliar (Hirschi, 2009; Voogt *et al.*, 2010; Broadley *et al.*, 2006).

En el marco anterior, esta investigación tuvo como objetivo la biofortificación foliar con hierro y selenio en plantas de acelga cv. Food Hood Giant, espinaca var. Imperial y col var. Blue vantage. De manera paralela, además de cuantificar las acumulaciones de Fe y Se, se determinó la influencia de esta práctica en variables agronómicas, fisiológicas y bioquímicas; entre las que se encuentran la biomasa fresca de parte aérea, biomasa seca, lecturas SPAD, nitrógeno total, nitrato, clorofilas, proteínas, y actividad antioxidante en el tejido foliar.

1.2 MATERIALES Y MÉTODOS

1.2.1 Material vegetal y condiciones experimentales

El experimento se desarrolló bajo condiciones de invernadero, usando como material vegetal plantas de acelga (*Beta vulgaris* L.) cv. Ford Hoock Giant, espinaca (*Spinacia oleracea* L.) var. Imperial y col (*Brassica oleracea*) var. Blue vantage, instaladas en un sistema hidropónico de raíz-flotante (**Figura 1.1**). Este sistema hidropónico se conformó con una pieza de lámina de fibra de vidrio que sirvió de soporte a las plantas y en la cual se hicieron seis orificios de 5 cm de diámetro donde se colocaron vasos de plástico con la plántula y alrededor para sostenerla hule espuma. Se instalaron cajones de madera forrados con plástico negro calibre 600, con la finalidad de contener la solución nutritiva y a los cuales se les adaptaron mangueras que fueron conectadas a compresoras de 2 HP cuya función fue oxigenar la solución nutritiva cada 3 h durante 15 min, un total de ocho veces al día (**Figura 1.1**).



Figura 1.1 Sistema de raíz flotante establecido para la biofortificación con Fe y Se en acelga, espinaca y col. El esquema presenta el cultivo de acelga y col establecidos bajo este sistema.

El sistema hidropónico flotante estuvo dotado de una solución nutritiva Steiner completa (Steiner, 1984), con pH entre 5.5 y 5.8. La adición de micronutrientes en la solución nutritiva se realizó a partir de un producto comercial TRADECORP AZ.

1.2.2 Diseño experimental y diseño de tratamientos

Se implementó un experimento factorial 3^2 , donde los factores de estudio fueron la adición de Fe y Se vía foliar. Los niveles de Fe suministrados vía foliar fueron 0, 2500 y 5000 mg L^{-1} , mientras que los de Se fueron 0, 10 y 20 mg L^{-1} . Las fuentes de Fe y Se utilizadas fueron $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ y Na_2SeO_4 , respectivamente. Es importante destacar que para cada especie vegetal se realizó un experimento independiente.

En los cultivos de acelga y col, se realizaron un total de cuatro aplicaciones foliares a intervalos de 15 días. Sin embargo, en el caso del cultivo de espinaca solo se realizaron dos aspersiones foliares a intervalos de 15 días. En los tres cultivos, la unidad experimental fue un contenedor con seis plantas, cada unidad corresponde a una repetición y se realizaron tres repeticiones por tratamiento. Las unidades experimentales fueron distribuidas completamente al azar en el invernadero.

1.2.3 Variables evaluadas

Las variables fueron determinadas a los 30 días después del transplante en espinaca y a los 30 y 60 días después del transplante para acelga y col, los cuales corresponden a 2 y 4 aspersiones foliares.

Biomasa fresca y seca de vástago. La parte aérea (vástago) de cada especie se cosechó y pesó usando una balanza digital (OHAUS modelo GT410D), posteriormente el tejido fue secado en una estufa (marca CLIMATEST modelo SW-17TA), durante 72 h a 70 °C. Una vez concluido este período, el material vegetal se pesó usando una balanza digital (OHAUS modelo GT410D) y el valor de peso de biomasa fresca y seca se reportó en gramos (g). Los muestreos se realizaron después de dos y cuatro aspersiones foliares, 15 días después de la última aplicación.

Biofortificación con Fe y Se. Para evaluar la biofortificación con Fe y Se, se realizó en primer lugar el análisis de la concentración de estos elementos en vástago, mediante digestión húmeda del material seco con una mezcla de ácidos perclórico y nítrico (Alcántar y Sandoval, 1999). La lectura de los extractos obtenidos después de la digestión y filtrado se determinó con el equipo de espectroscopia de emisión atómica de inducción por plasma (ICP-OES, Varian 725-OES, Australia). Considerando los resultados obtenidos de la materia seca de parte aérea (ver apartado anterior) se estimó la acumulación de Fe y Se.

Lecturas SPAD. Después de 2 y 4 aspersiones foliares se determinaron las lecturas SPAD, donde por cada planta se midieron tres hojas, y se tomó el promedio. La medición se realizó con el medidor SPAD modelo 502 Minolta, el cual mide la diferencia entre la luz infrarroja y la luz roja de la hoja (Yadava, 1986).

Acumulación de N. Se determinó la concentración de N en tejido foliar mediante el método micro-Kjeldahl (Bremner, 1965). Con el peso de biomasa seca obtenido de parte aérea se estimó el contenido de N acumulado en parte aérea.

Acumulación de nitrato (NO_3^-). De acuerdo al procedimiento de extracción descrito por Alcántar y Sandoval (1999), se determinó la concentración de nitrato en material seco de parte aérea usando un espectrofotómetro (Thermo Fisher Scientific, Genesys 10 UV, Madison, WI 53711, USA). De la misma manera que con N, la estimación del

contenido de nitrato se hizo considerando el peso de biomasa seca total de la parte aérea.

Contenido de clorofilas. En la determinación de clorofilas, se utilizó el mismo extracto etanólico con el que se cuantificaron aminoácidos libres totales, de acuerdo a lo descrito por [Harbone \(1973\)](#).

Contenido de aminoácidos. Se realizó una extracción etanólica en material vegetal fresco de parte aérea de acuerdo a la metodología descrita por [Geiger et al. \(1988\)](#); posteriormente mediante el método de la ninhidrina se cuantificó la concentración de aminoácidos libres totales. Con los datos de concentración y de peso de biomasa en fresco total, se calculó el contenido de aminoácidos.

Contenido de proteínas. En primera instancia se determinó la concentración de proteínas solubles totales en extractos foliares obtenidos de acuerdo a lo descrito por [Höfner et al. \(1989\)](#) empleando negro amido para la tinción y albúmina de suero bovino como estándar para la curva de calibración. La determinación se realizó en un espectrofotómetro (Thermo Fisher Scientific, Genesys 10 UV, Madison, WI 53711, USA) a una longitud de onda de 640 nm. Estos resultados y los obtenidos de peso de biomasa fresca fueron utilizados para la estimación de proteínas contenidas en el vástago.

Contenido de azúcares solubles totales. Se determinó a partir de los datos de peso de biomasa fresca total de parte aérea y de los resultados de concentración de azúcares solubles totales. Esta última determinación se realizó por el método de la antrona de acuerdo a lo descrito por [Whitam et al. \(1971\)](#). Para la determinación se utilizó en un espectrofotómetro (Thermo Fisher Scientific, Genesys 10 UV, Madison, WI 53711, USA) a una longitud de onda de 600 nm.

Actividad antioxidante. Se evaluó en tejido foliar por el método del DPPH a diferentes tiempos (15, 30 y 60 min), los resultados son reportados en equivalentes de trólox, el cual fue utilizado como antioxidante sintético de referencia.

1.2.4 Análisis estadístico

Con los resultados obtenidos en las distintas variables evaluadas, se realizó un análisis de varianza (PROC ANOVA) para un experimento factorial completamente al azar; así también se realizaron análisis de comparación de medias usando la prueba de Tukey (α

≤ 0.05 %), para lo cual se utilizó el programa estadístico System Analytic Statistical, versión 9.3 (SAS, 2011).

1.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1.3.1 Biomasa fresca de vástago

Después de dos aspersiones foliares se observó un efecto estadístico significativo por efectos principales de Fe y Se y por la interacción de éstos, en la biomasa fresca de parte aérea de acelga y espinaca; por el contrario, en col solo existieron diferencias por efecto principal del factor Fe y su interacción con Se. Por otra parte, después de cuatro aspersiones foliares se observaron efectos significativos en la biomasa fresca tanto por efectos principales como por la interacción de los factores de estudio tanto acelga como en col (**Cuadro 1.1**).

Cuadro 1.1 Significancia estadística de factores de estudio y su interacción en la variable biomasa fresca de vástago en acelga, espinaca y col, después de dos y cuatro aplicaciones foliares.

Fuente de Variación	Acelga		Espinaca		Col	
	Dos	Número de aspersiones foliares realizadas Cuatro	Dos	Dos	Cuatro	
Fe	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	0.0091 *	
Se	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	0.0506 ns	0.0027 *	
Fe x Se	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	0.0251 *	0.0062 *	
CV	5.38	6.09	5.95	12.70	15.42	

* Significativo (Tukey, $P \leq 0.05$); ns no significativo

Efecto principal de Fe en biomasa fresca de vástago. Por efecto del factor Fe, después de dos aspersiones foliares se registró un aumento del 38 y 13% en la biomasa fresca de vástagos de acelga a dosis de 2500 y 5000 mg L⁻¹ respectivamente, en comparación con el testigo (**Figura 1.2A**). Después de cuatro aspersiones foliares en acelga, solo la dosis de Fe de 5000 mg L⁻¹ fue estadísticamente superior al resto de los tratamientos; registrando un aumento del 21% en biomasa fresca en comparación con el tratamiento testigo (**Figura 1.2B**).

Contrario a los efectos de Fe registrados en acelga; en espinaca este elemento redujo significativamente la biomasa fresca de vástagos; las disminuciones fueron del orden de 16.3 y 21.3% en los tratamientos con dosis de Fe de 2500 y 5000 mg L⁻¹, respectivamente, en comparación con el testigo (**Figura 1.2C**).

En col, el Fe tuvo efectos negativos en la biomasa fresca de parte aérea tanto después de dos como de cuatro aspersiones foliares. Después de dos aspersiones foliares con Fe a concentración de 5000 mg L⁻¹ se observó una reducción del 42% en la biomasa fresca de vástago, en comparación con el testigo (**Figura 1.2D**). Después de cuatro aspersiones, la reducción fue de 16.3 y 21.3% con dosis de Fe de 2500 y 5000 mg L⁻¹, respectivamente, con respecto al testigo (**Figura 1.2E**).

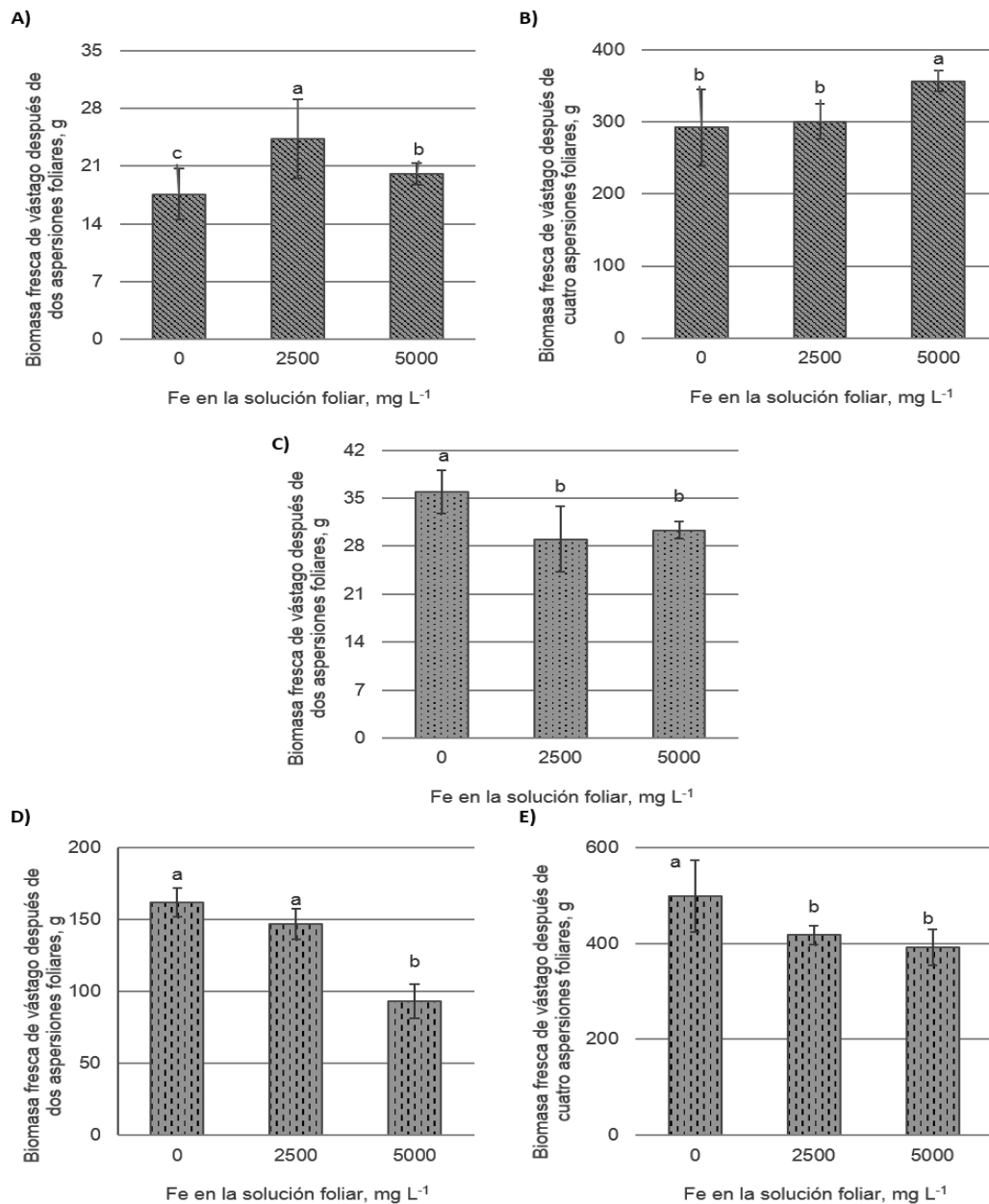


Figura 1.2 Efecto principal del Fe en el peso de biomasa fresca de vástagos de acelga (A y B, 2 y 4 aspersiones foliares, respectivamente), espinaca (C, 2 aspersiones foliares) y col (D y E, 2 y 4 aspersiones foliares respectivamente). Medias ± DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

En concordancia con el efecto del Fe registrado en acelga y contrario a lo observado en espinaca y col [Nasiri et al. \(2010\)](#), observaron un aumento en la producción de flores y aceites esenciales por efecto de la aplicación foliar de sulfato ferroso al 0.35% en plantas de manzanilla (*Matricaria chamomilla* L.). Asimismo, [Abu et al. \(2011\)](#), indican un aumento de 9.5, 13 y 21.7% en la biomasa fresca de plantas de espinaca tratadas con Fe vía foliar a dosis de 150, 250 y 350 mg L⁻¹ que fueron asperjados a los 30 y 60 días después del transplante.

Efecto principal de Se en biomasa fresca de vástago. Los resultados relevantes del efecto principal del Se en biomasa fresca de vástagos se muestran en la **Figura 1.3**. Después de dos aspersiones foliares, se obtuvo una disminución del 23% en la biomasa fresca del cultivo de acelga a dosis de Se de 20 mg L⁻¹ en comparación con el testigo (**Figura 1.3A**). Después de cuatro aspersiones foliares en acelga la tendencia antes referida cambió; observándose un efecto positivo de la dosis alta de Se evaluada (20 mg L⁻¹) en la biomasa seca de vástagos, con un incremento del 17% por encima del testigo (**Figura 1.3B**). En espinaca, la dosis baja de Se (10 mg L⁻¹) después de dos aspersiones, ocasionó un incremento significativo en la biomasa fresca de vástago; superando en 10.3% al testigo, pero a 20 mg L⁻¹ se obtuvo una menor acumulación de biomasa (**Figura 1.3C**). En col solo después de cuatro aspersiones foliares se tuvo un efecto significativo de la aplicación foliar de Se, observándose incrementos de 33.9 y 26.3% en la biomasa fresca de vástagos con las dosis 10 y 20 mg L⁻¹ respectivamente, en comparación con el testigo (**Figura 1.3E**).

Al respecto, en cultivos como trigo (*Triticum aestivum* L.), berro (*Nasturtium officinale* R. Br.), y coliflor (*Brassica oleracea* var. Acephala Group); se encontró reducción en la biomasa como consecuencia de la aplicación de Se ([Inostroza et al., 2013](#); [Manion et al., 2014](#); [Lefsrud et al., 2006](#)). [Arscott y Goldman \(2012\)](#) reportan reducciones en la ganancia de peso de biomasa en brotes de brócoli (*Brassica oleracea* var. Italica), frijol mungo (*Vigna radiata*) y cebolla (*Allium cepa*) del 45, 23 y 16%, respectivamente cuando estas especies se trataron con Se a concentraciones de 50, 100 y 1000 mg L⁻¹ de solución nutritiva, respectivamente. [Lefsrud et al. \(2006\)](#), reportaron una disminución de

la biomasa fresca en coliflor (*Brassica oleracea* var. Acephala Group) con el suministro en solución nutritiva de Se (Na_2SeO_4) en concentraciones de solo 0.5 y 1.0 mg L^{-1} .

De manera coincidente a los resultados aquí obtenidos para espinaca, [Saffaryazdi et al. \(2012\)](#), en un experimento realizado en esta especie, mencionan que el peso fresco de vástago aumentó en un 17% debido a la aplicación de 1 mg L^{-1} de selenio en forma de selenito de sodio a la solución nutritiva, sin embargo, dosis superiores disminuyeron en la acumulación de biomasa. De la misma manera, en papa la aplicación foliar de Se a 0, 20 y 40 mg L^{-1} de concentración, promovió el crecimiento vegetal, el rendimiento y la calidad de tubérculos ([Yassen et al., 2011](#)), lo cual concuerda con los incrementos en biomasa observados en el presente trabajo después de cuatro aspersiones de Se en acelga y col. En plantas de tomate, [Becvort et al. \(2012\)](#) reportaron que aplicaciones foliares con selenito de sodio (Na_2SeO_3), en concentraciones de 0, 10 y 20 mg L^{-1} incrementaron el peso de la biomasa.

Por su parte [Zahedi et al. \(2009\)](#) no registraron efectos negativos en diversos componentes del rendimiento en plantas de canola (*Brassica napus* L.) por efecto de la aplicación foliar de Se a dosis de 0, 15 y 30 g L^{-1} .

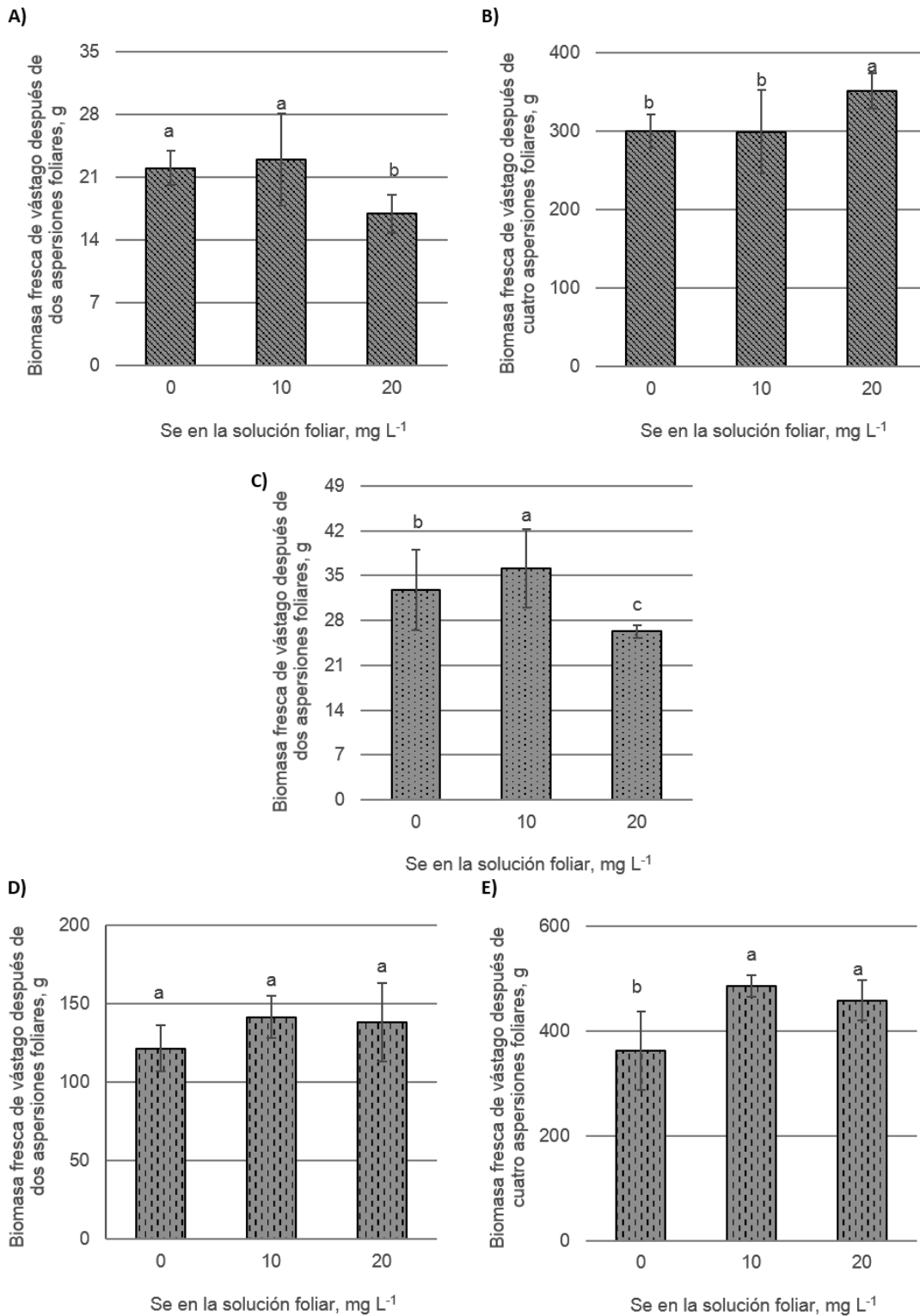


Figura 1.3 Efecto principal del Se en el peso de biomasa fresca de vástagos de acelga (A y B, 2 y 4 aspersiones foliares, respectivamente), espinaca (C, 2 aspersiones foliares) y col (D y E, 2 y 4 aspersiones foliares, respectivamente). Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

Efectos de la interacción Fe y Se en la biomasa fresca de vástago. En el Cuadro 1.2 se presentan los resultados de la interacción de factores de estudio en la biomasa fresca de vástagos de los cultivos acelga, espinaca y col.

Cuadro 1.2 Efectos de la interacción de Fe y Se en la biomasa fresca de vástagos de acelga, espinaca y col, después de dos y cuatro aspersiones foliares.

Fe, mg L ⁻¹	Se, mg L ⁻¹	Acelga		Espinaca		Col	
		Número de aspersiones foliares realizadas					
		Dos	Cuatro	Dos	Dos	Cuatro	
Biomasa fresca, g							
0	0	25.8±0.35 b	304.5±3.3 cd	34.0±1.3 b	146.8±10.7 ab	321.2±41.5b	
	10	12.7±0.16 e	164.9±0.6e	46.4±1.5 a	164.9±11.8 a	585.9±46.6 a	
	20	14.3±0.14 e	408.5±0.33a	27.4±0.4 c	173.5±3.9 a	589.1±46.1 a	
2500	0	22.7±0.70 bc	250.1±6.1 d	18.1±0.08 e	127.4±3.8 abc	425.4±20.7ab	
	10	36.1±0.33 a	342.5±23.9bc	42.0±0.5 a	144.5±3.7 ab	407.3±14.9ab	
	20	14.2±0.13 e	310.4±4.7c	27.1±0.5 c	168.3±9.8 a	419.2±30.4ab	
5000	0	17.6±1.03 d	345.6±7.1 bc	46.3±1.3 a	90.9±12.4 cd	342.7±33.9b	
	10	20.3±0.23 cd	389.7±8.5ab	20.2±0.3 de	115.0±9.4 bcd	466.2±25.4 ab	
	20	22.4±0.55 c	335.0±8.6bc	24.5±1.4 cd	73.8±4.1 d	367.6±28.2b	

Medias ± DE con letras distintas en cada columna, son estadísticamente diferentes (Tukey, $P \leq 0.05$).

En acelga, después de dos aspersiones foliares, hubo mayor acumulación de biomasa fresca con las dosis medias de Fe y Se (2500 mg L⁻¹ y 10 mg L⁻¹, respectivamente); mientras que después de cuatro aplicaciones fue con el tratamiento sin Fe en la solución foliar y 20 mg L⁻¹ de Se, seguida del tratamiento con 5000 y 20 mg L⁻¹ de Fe y Se, respectivamente. En espinaca después de dos aspersiones foliares, las mayores biomazas se registraron con los tratamientos con 10 mg L⁻¹ de Se sin Fe o con 2500 mg L⁻¹; o bien con el consistente en la dosis más alta de Fe (5000 mg L⁻¹) y la baja de Se (10 mg L⁻¹). En general en col, tanto después de dos como de cuatro aspersiones foliares, las biomazas foliares se incrementaron con la ausencia de Fe en la solución foliar y la dosis baja de éste (2500 mg L⁻¹), independientemente de la concentración de Se.

Hartikainen *et al.* (2000) mencionan que la reducción en biomasa puede deberse al carácter pro-oxidante del Se que se produce cuando éste se encuentra en alta concentración en los tejidos fotosintéticos. Además existen estudios que evidencian un incremento en la producción de biomasa de plantas tratadas con diferentes dosis de Fe aplicado vía foliar (Nasiri *et al.*, 2010; Abu *et al.*, 2011).

1.3.2 Biomasa seca de vástago

El análisis estadístico mostró efecto estadístico significativo del Fe en la biomasa seca de vástago evaluada después de dos y cuatro aspersiones foliares en acelga, espinaca y col. El Se influenció las biomásas secas de vástago en acelga en las dos evaluaciones, mientras que en col solo después de cuatro aplicaciones; en espinaca, no hubo efecto de Se en esta variable. La interacción de los factores de estudio (Fe x Se) solo no fue significativa en biomasa seca de vástagos de col después de dos aspersiones vía foliar (**Cuadro 1.3**).

Cuadro 1.3. Significancia estadística de factores de estudio y su interacción en la variable biomasa seca de vástago en acelga, espinaca y col, después de dos y cuatro aplicaciones foliares.

Fuente de Variación	Acelga		Espinaca	Col	
	Número de aspersiones foliares realizadas				
	Dos	Cuatro	Dos	Dos	Cuatro
Fe	<.0001 *	0.0002 *	0.0005 *	<.0001 *	0.0001 *
Se	<.0001 *	0.0019 *	0.3109 ns	0.5585 ns	0.0094 *
Fe x Se	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	0.1981 ns	0.0014 *
CV	9.75	5.94	8.11	22.77	14.58

* Significativo (Tukey, $P \leq 0.05$); ns no significativo

Efecto principal del factor Fe en biomasa seca de vástago. Por efecto principal del Fe después de dos aplicaciones, se aprecia un incremento del 20.9% en la biomasa seca de vástago en acelga a 2500 mg L⁻¹ (**Figura 1.4A**), una disminución del 17.1 % en la biomasa seca de espinaca a dosis de 5000 mg L⁻¹ de Fe (**Figura 1.4C**); en col se observó reducción en la acumulación de biomasa seca en 23.3 y 56.9% con las dosis de Fe de 2500 y 5000 mg L⁻¹ respectivamente (**Figura 1.4D**), en comparación con el testigo. Es probable que en espinaca y col, las dosis de Fe aplicadas provocaran un efecto tóxico, el cual generó una disminución en la acumulación de biomasa.

Los resultados también mostraron que después de cuatro aspersiones foliares hubo un aumento del 9.5% en la biomasa seca de acelga solo con la dosis de Fe de 5000 mg L⁻¹ (**Figura 1.4B**) y una disminución del 16.6 y 32.5% con las dosis de 2500 y 5000 mg L⁻¹ de Fe respectivamente, en comparación con el control en el cultivo de col (**Figura 1.4E**). [Chatterjee et al. \(2006\)](#) encontraron en plantas de papa que tanto por deficiencia (0.001 mM) como por exceso de hierro (>0.1 mM Fe) en el suelo, se observó disminución del rendimiento de tubérculos. [Abu et al. \(2011\)](#), indicaron que después de 30 y 60 días de

la aplicación foliar de Fe a dosis de 150, 250 y 350 mg L⁻¹, plantas de espinaca mostraron incrementos de 56, 33 y 70.1% de biomasa seca, respectivamente, en comparación con el control; destacando que las concentraciones de Fe evaluadas fueron menores a las utilizadas en este experimento.

En otras especies como soya, [Akbar y Ronaghi \(2011\)](#) mencionan que aplicaciones foliares de sulfato ferroso a concentración de 10000 mg L⁻¹ (1%), si bien aumentaron el contenido de Fe en tejido, no tuvieron efecto significativo sobre el rendimiento de materia seca de vástago.

[Razeto et al. \(1984\)](#) utilizando plantas de durazno encontraron que aspersiones foliares de sulfato ferroso al 1% o con quelatos no fueron eficientes en corregir deficiencias nutrimentales de Fe, ni para aumentar el rendimiento de fruto. De la misma manera, en diferentes cultivares de soya asperjados vía foliar con FeEDDHA, [Jay y Johnson \(2000\)](#), no obtuvieron incrementos en el rendimiento de semilla.

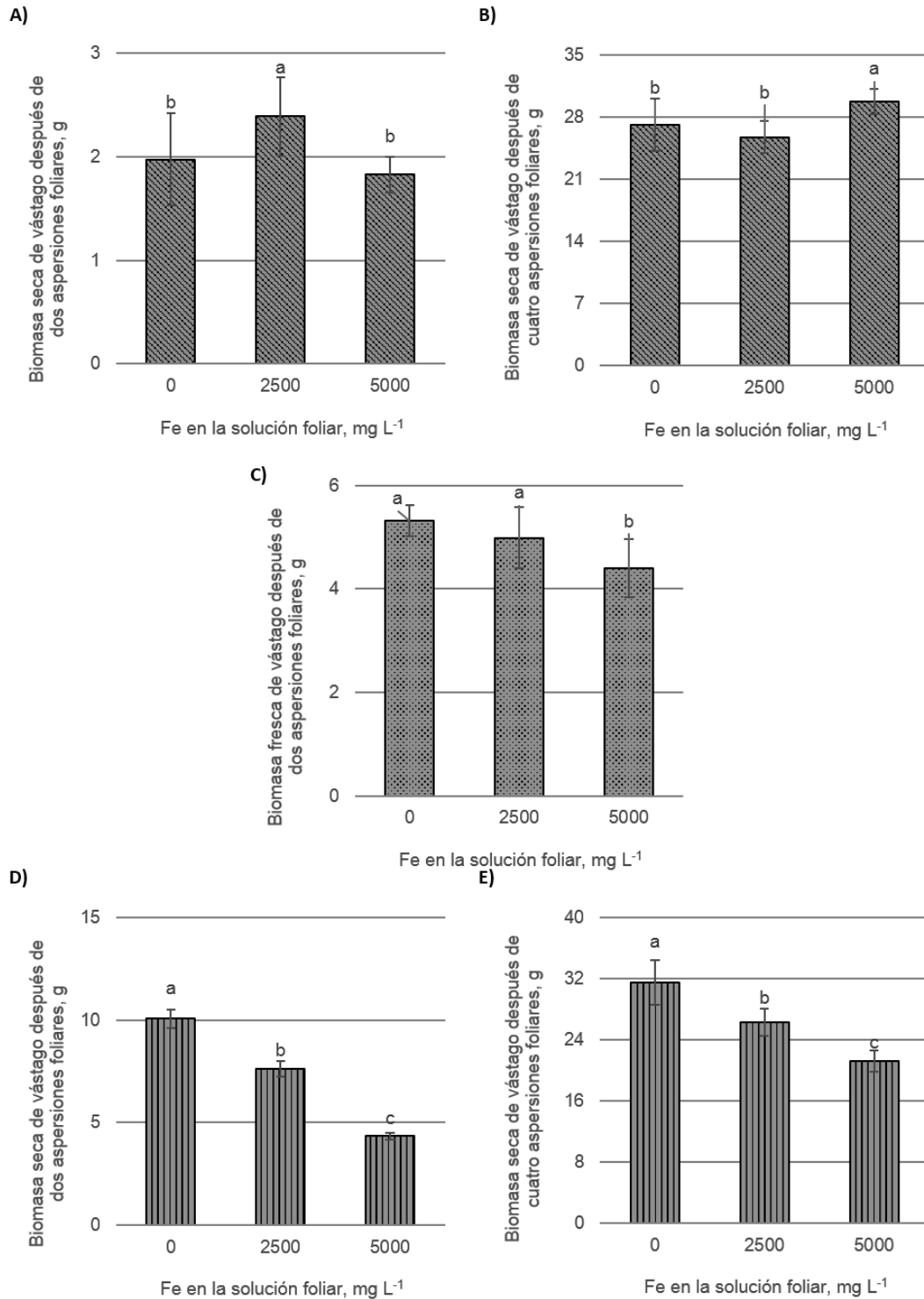


Figura 1.4 Efecto principal del Fe en el peso de biomasa seca de vástagos de acelga (A y B, 2 y 4 aspersiones foliares, respectivamente), espinaca (C, 2 aspersiones foliares) y col (D y E, 2 y 4 aspersiones foliares respectivamente). Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

Efecto principal del Se en biomasa seca de vástago. Después de dos aspersiones foliares de Se en acelga, se observó una disminución de 27.2% a dosis de 20 mg L⁻¹ con respecto al tratamiento testigo; por el contrario, después de cuatro aplicaciones de Se con la dosis de 20 mg L⁻¹, la biomasa seca en esta especie fue más alta en un 12.7% que el testigo. En espinaca no hubo efecto significativo del Se en el peso de biomasa seca de vástago. En col solo después de cuatro aspersiones foliares de Se, se observó efecto positivo de éste; con incrementos de 27.3 y 17.4% con las dosis de 10 y 20 mg L⁻¹, en comparación con el testigo (**Cuadro 1.4**).

[Manion et al. \(2014\)](#) no encontraron efecto negativo en la acumulación de biomasa fresca y seca en plantas de berro (*Nasturtium officinale* R. Br.), cultivadas en invernadero con tratamientos de Se en la solución nutritiva de 0, 0.125, 0.25, 0.50, 1.0, 2.0, y 4.0 mg L⁻¹. Además, [Broadley et al. \(2010\)](#) no observaron disminución en el rendimiento de trigo (*Triticum aestivum* L.) cultivado en suelo con aplicación de Se a tasas superiores a los 100 g ha⁻¹.

[Hajiboland y Keivanfar \(2012\)](#) obtuvieron en colza (*Brassica napus* L.) un incremento significativo de 112.44 y 51.67 % en biomasa seca de vástago, de 121.1 y 43.0% en biomasa seca de vainas, y de 51.4 y 14.2% en biomasa seca de semilla con la aspersión foliar de Se a dosis de 0.001 y 0.002 mg L⁻¹ como selenato; dosis con mucho inferiores a las evaluadas en esta investigación. [Saffaryazdi et al. \(2012\)](#) mencionan que el peso seco de vástago de plantas de espinaca aumentó 15% debido a la aplicación de selenito de sodio a la solución nutritiva a dosis de 1 mg L⁻¹. Por su parte [Zahedi et al. \(2009\)](#) no registraron efectos negativos en diversos componentes del rendimiento en plantas de canola (*Brassica napus* L.) por efecto de la aplicación foliar de Se a dosis de 0, 15 y 30 g L⁻¹.

Las plantas absorben y asimilan el selenio como anión selenato (SeO₄⁻²) a través de la ruta de asimilación del sulfato (SO₄⁻²); algunas especies de la familia Brassicaceae son capaces de tomar más azufre del medio y también necesitan mayor cantidad de azufre en base a materia seca comparado con gramíneas y leguminosas, lo que puede resultar en una mejor respuesta a los tratamientos con Se en estas especies comparado con otras ([Hajiboland y Keivanfar, 2012](#)).

Cuadro 1.4 Efectos principal de Se y de la interacción de Fe y Se en la biomasa seca de vástagos de acelga, espinaca y col, después de dos y cuatro aspersiones foliares.

Fuente	Se, mg L ⁻¹	Acelga		Espinaca		Col	
		Número de aspersiones foliares realizadas					
		Dos	Cuatro	Dos	Dos	Cuatro	
Biomasa seca, g							
Se	0	2.28±0.39 a	25.9±1.3 b	4.81 ±0.5 a	6.9±1.54 a	22.92±3.10 b	
	10	2.26±0.43 a	27.6±3.0 ab	5.08 ±0.7 a	7.4±0.04 a	29.18±3.66 a	
	20	1.66±0.14 b	29.2±2.0 a	4.83 ±0.3 a	7.7±1.88 a	26.91±3.59 ab	

Fe, mg L ⁻¹	Se, mg L ⁻¹	Acelga		Espinaca		Col	
		Número de aspersiones foliares realizadas					
		Dos	Cuatro	Dos	Dos	Cuatro	
Biomasa seca, g							
0	0	3.13±0.17 a	27.8±0.3 bc	5.24±0.02abc	9.94±1.57 ab	22.98±2.69bcd	
	10	1.36±0.05 b	20.2±1.0 e	6.01±0.22 a	9.15±0.66 ab	37.96±1.80 a	
	20	1.44±0.15 de	33.5±0.7 a	4.70±0.04bc	11.10±0.82 a	33.53±2.78 ab	
2500	0	2.29±0.03 d	22.9±1.1 de	3.51±0.07d	6.50±0.21abcd	28.98±0.99abc	
	10	3.31±0.07 a	29.7±1.1 ab	5.96±0.00a	7.55±0.23abcd	22.47±0.91cd	
	20	1.57±0.08 bc	24.7±4.7cde	5.50±0.38ab	8.80±1.08 abc	27.33±1.83abcd	
5000	0	1.42±0.15 de	26.9±0.7 bcd	5.67±0.19ab	4.16±0.83 cd	16.81±1.55 d	
	10	2.10±0.06cde	33.0±0.3 a	3.26±0.26d	5.60±0.84 bcd	27.09±1.45abcd	
	20	1.96±0.01bcd	29.4±0.4 ab	4.30±0.23cd	3.25±0.22 d	19.86±2.31 cd	

Medias ± DE con letras distintas en cada columna por factor de estudio e interacciones, son estadísticamente diferentes (Tukey, $P \leq 0.05$).

Efecto de la interacción Fe x Se en la biomasa seca de vástagos. Después de dos aspersiones foliares la mayor biomasa seca en acelga se registró en los tratamientos testigo y en el consistente en las dosis de Fe y Se de 2500 y 10 mg L⁻¹, respectivamente. Con cuatro aplicaciones foliares, la biomasa seca más alta se tuvo en ausencia de Fe y la dosis alta de Se (20 mg L⁻¹). En espinaca, de manera general se observan efectos predominantes del Fe en la interacción, donde la concentración baja de éste (2500 mg L⁻¹) o su ausencia, favorecen la acumulación de biomasa seca. En col después de dos aspersiones foliares, la tendencia observada es similar a la mostrada en espinaca, dosis bajas o ausencia de Fe promueven la acumulación de biomasa seca. Después de cuatro aspersiones foliares se apreció una mayor acumulación de biomasa en los tratamientos sin Fe con las dos dosis de Se evaluadas, en el tratamiento con dosis de Fe a 2500 mg L⁻¹ sin suministro de Se y con la dosis altas de éste (20 mg L⁻¹) y en el tratamiento con dosis de Fe y Se de 5000 y 20 mg L⁻¹ respectivamente (**Cuadro 1.4**).

En el contexto de los resultados obtenidos, [Hasanuzzaman et al. \(2010\)](#) mencionan que aunque existe amplia evidencia de los efectos positivos del Se aplicado en aspersión foliar, la concentración adecuada para fomentar éstos debe determinarse para cada

especie en particular.

1.3.3 Bioacumulación de Fe en vástago

Por efecto principal de los factores Fe, Se y la interacción Fe x Se, el análisis estadístico mostró diferencias estadísticas significativas en la bioacumulación de Fe en el tejido foliar evaluada después de dos y cuatro aspersiones foliares en los cultivos de acelga, espinaca y col (**Cuadro 1.5**).

Cuadro 1.5 Significancia estadística de factores de estudio y su interacción en la bioacumulación de Fe en vástagos de acelga, espinaca y col, después de dos y cuatro aplicaciones foliares.

Fuente de Variación	Acelga		Espinaca		Col	
	Número de aspersiones foliares realizadas					
	Dos	Cuatro	Dos	Dos	Cuatro	
Fe	0.0044 *	<.0001 *	<.0001 *	0.0003 *	<.0001 *	<.0001 *
Se	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *
Fe x Se	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *
CV	8.43	7.85	8.33	7.60		3.98

* Significativo (Tukey, $P \leq 0.05$).

Efecto principal de Fe en la bioacumulación de Fe en vástago. Después de dos aplicaciones foliares, solo en espinaca (**Figura 1.5C**) se observó mayor acumulación de Fe con la concentración foliar de Fe más alta suministrada. Es importante destacar, que en acelga y col, existe un efecto negativo de la concentración de Fe en la bioacumulación de este elemento (**Figuras 1.5A y 1.5E**). La menor bioacumulación de Fe se observó en vástagos de acelga (0.163 mg de Fe) a dosis de 5000 mg L⁻¹ (**Figura 1.5A**); mientras que en espinaca (2.394 mg de Fe) ocurrió con la concentración de Fe de 2500 mg L⁻¹ (**Figura 1.5C**). Por otro lado, en col las menores concentraciones (3.002 y 3.089 mg de Fe), se registraron con las dos concentraciones foliares de Fe evaluadas (**Figura 1.5E**). La bioacumulación de Fe mostrada en los resultados anteriores, después de dos aplicaciones foliares, evidencia que en el cultivo de espinaca existe una mayor demanda de este ion, por lo que la aspersión foliar presenta un mayor potencial de biofortificación con Fe, seguido del cultivo de col y acelga.

Después de cuatro aplicaciones foliares tanto en acelga (**Figura 1.6A**) como en col (**Figura 1.6C**), fue evidente la relación positiva entre la dosis de Fe en la solución foliar y la bioacumulación de este elemento en vástagos. En acelga los mayores contenidos de Fe fueron de 3.22 mg y en col de 194.06 mg por vástago.

De manera similar a lo aquí observado, en un experimento donde se evaluó el efecto de la aplicación foliar de FeSO_4 y otros productos fuente de Fe en la concentración nutrimental de este elemento en el grano de diferentes cultivares de arroz, los resultados mostraron que con la aplicación con FeSO_4 hubo un incremento de la concentración en grano de Fe hasta de 16.97%, lo que se mostró como una alternativa para combatir la deficiencia de Fe en países donde el arroz es extensamente consumido (Wei *et al.*, 2012). De la misma manera, Fang *et al.* (2008), bajo condiciones óptimas de aplicación obtuvieron que el suministro foliar de Fe incrementó hasta en un 37.1% la concentración de este elemento en grano de arroz. En maíz, en experimentos realizados con aspersiones de Fe y Zn se apreció un aumento de la concentración de estos elementos en granos de distintas variedades, particularmente para Fe de 15.5 a 19.1 mg kg^{-1} (Oikeh *et al.*, 2003).

Por el contrario, Bahar *et al.* (2011) trabajando con plantas de trigo, encontraron que la aplicación foliar de Fe tuvo un efecto positivo mínimo o nulo en la concentración de Fe en grano y en vástago; mientras que, con el suministro foliar de N junto con el Fe, se incrementa de manera sustantiva la concentración de Fe tanto en vástago como en grano.

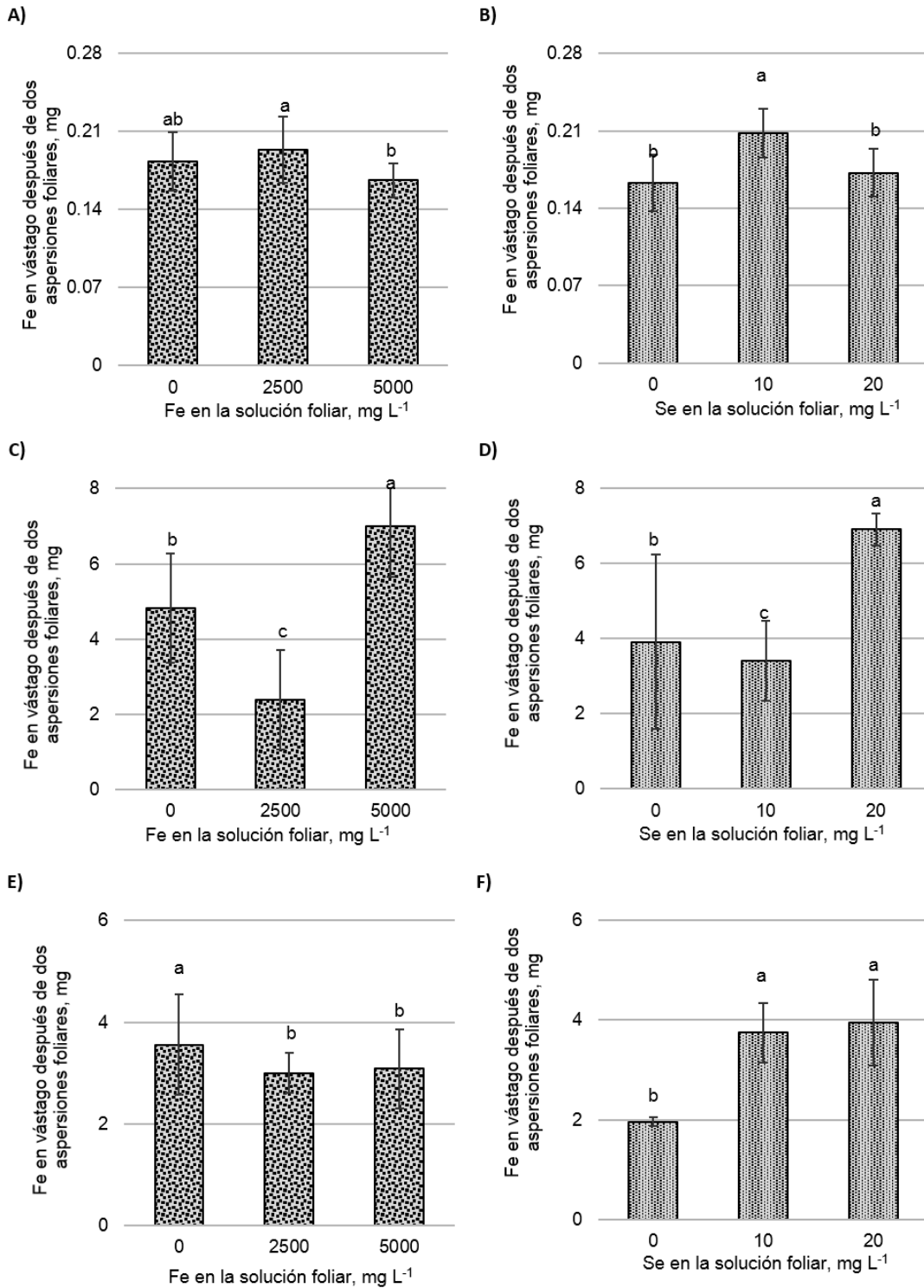


Figura 1.5 Efectos principales del Fe y Se en la bioacumulación de Fe en vástago después de dos aspersiones foliares. A, C y E: Efecto principal del Fe en acelga, espinaca y col, respectivamente. B, D Y F: Efecto principal del Se en acelga, espinaca y col, respectivamente. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

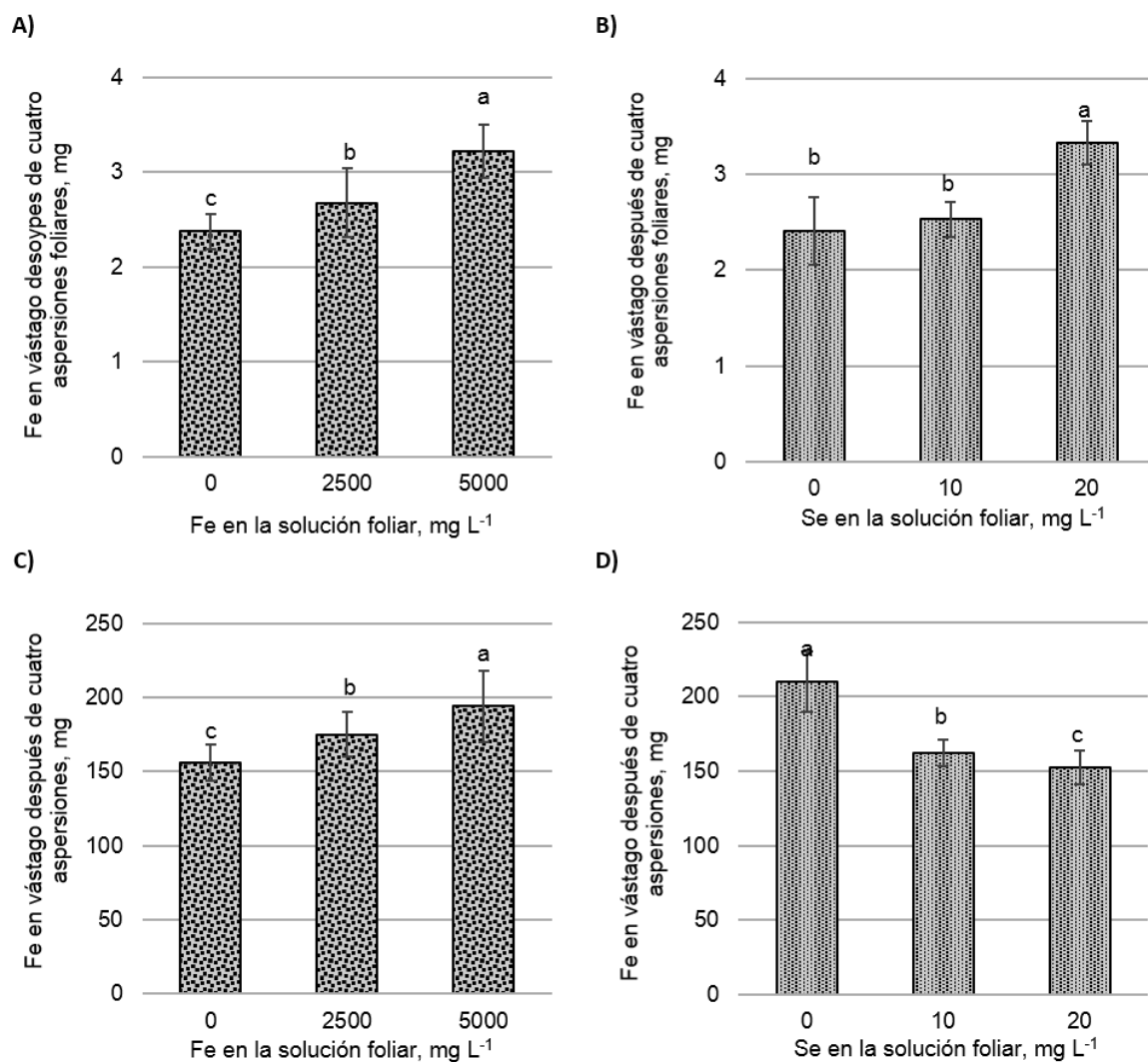


Figura 1.6 Efectos principales del Fe y Se en la bioacumulación de Fe en vástagos después de cuatro aspersiones foliares. A y C: Efecto principal del Fe en acelga y col, respectivamente. B y D: Efecto principal del Se en acelga y col, respectivamente. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

Efecto principal de Se en la bioacumulación de Fe en vástago. Después de dos aspersiones foliares, la bioacumulación de Fe en los tratamientos testigo (sin Se) en acelga, espinaca y col fue de 0.183, 4.816 y 3.558 mg, respectivamente (**Figuras 1.5A, 1.5C y 1.5E**); siendo estos valores para acelga y col los más bajos registrados. En col y espinaca, se observó un efecto positivo del Se en la bioacumulación de Fe; donde las medias más altas se tuvieron con la dosis de Se de 20 mg L⁻¹ (**Figuras 1.5A y 1.5E**); en espinaca la mayor acumulación de Fe se tuvo con la dosis de Se de 10 mg L⁻¹ (**Figura 1.5C**). Se puede concluir que el Se favorece la acumulación de Fe en el tejido foliar de los cultivos analizados en la presente investigación después de dos aspersiones foliares.

Después de cuatro aspersiones, solo en acelga se mantiene la tendencia positiva de bioacumulación de Fe a medida que la dosis de Se incrementó en la solución foliar (**Figura 1.6B**). En col, cuatro aplicaciones foliares de Se redujeron significativamente la bioacumulación de Fe en el vástago (**Figura 1.6D**).

Efecto de la interacción Fe x Se en la bioacumulación de Fe en vástago. Cuando se analiza el efecto de la interacción Se x Fe en la acumulación de Fe en vástago, se observan respuestas diferenciales entre especies después de dos aspersiones foliares (**Figura 1.7**). En acelga, la mayor bioacumulación de Fe se tuvo en el tratamiento con dosis medias de ambos elementos suministradas vía foliar y en el tratamiento testigo; en espinaca con la dosis de Fe más alta y la ausencia de Se, se tuvo la mayor bioacumulación de Fe. En col, sin Fe en la solución foliar y con la concentración de Se más alta (20 mg L^{-1}) se registró el mayor contenido de Fe en vástagos.

En acelga (**Figura 1.7A**) se observan efectos positivos del Se en la bioacumulación de Fe exclusivamente cuando existe suministro de Fe vía foliar. Tanto en espinaca como col (**Figuras 1.7B y 1.7C**, respectivamente), el Se tuvo efecto positivo en la bioacumulación de Fe solo sin la adición de este en la solución foliar y con la dosis baja de este elemento (2500 mg L^{-1}).

Después de cuatro aspersiones foliares al analizar los efectos de la interacción Fe x Se evaluada a las cuatro aspersiones vía foliar, se observa que una dosis más alta de Se en cada nivel de Fe provocó mayor acumulación de Fe en acelga (**Figura 1.8A**), por el contrario, la aplicación de Se en cada nivel de Fe disminuyó la acumulación de Fe en el cultivo de col (**Figura 1.8B**).

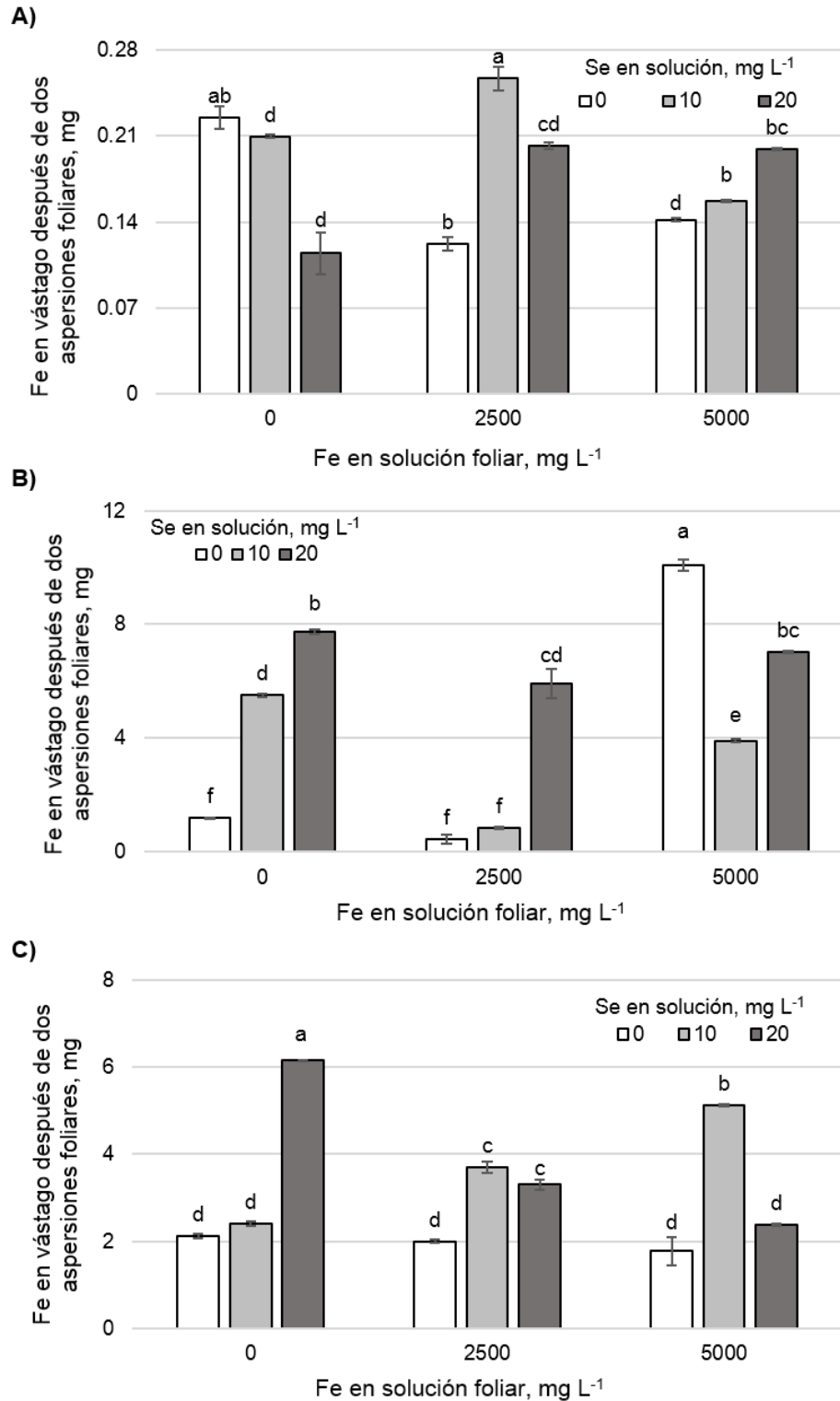


Figura 1.7 Efecto de la interacción de Fe y Se en la bioacumulación de Fe en vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de dos aspersiones foliares. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

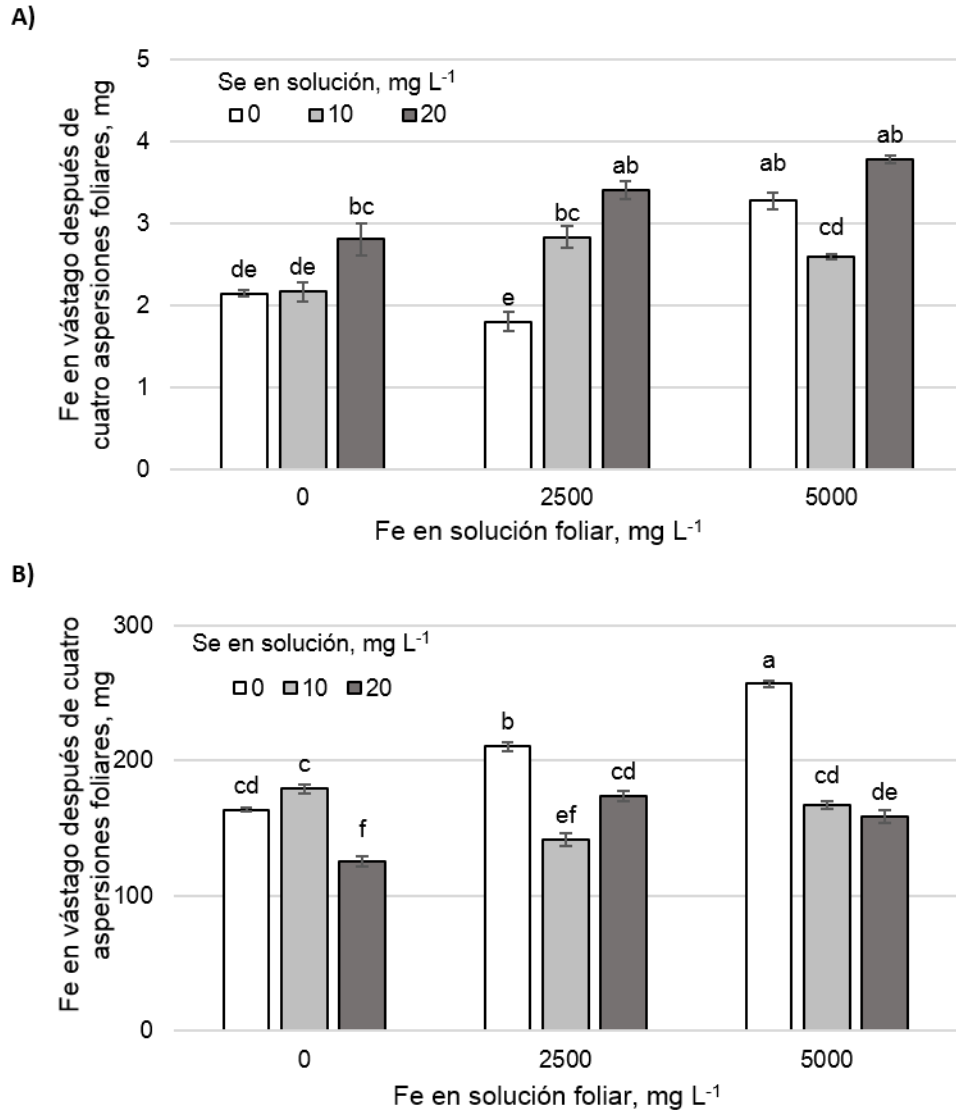


Figura 1.8 Efecto de la interacción de Fe y Se en la bioacumulación de Fe en vástagos de acelga (A) y col (B) después de cuatro aspersiones foliares. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

En este contexto, existen reportes en otras especies de efectos antagónicos del Se en la absorción de Fe. En plantas de *Brassica oleracea* de ciclo rápido (30 a 60 días) en respuesta a SeO_4^{-2} , se observó reducción en la concentración de Fe en tejido foliar cuando la concentración de Se pasó de 0 a 3.8 mg L^{-1} en la solución nutritiva; por el contrario la presencia de SeO_4^{-2} incrementó la concentración de K en hoja (Kopsell *et al.*, 2000).

Si se considera una ingesta en hortalizas de hoja de 100 g por ración y una biomasa aproximada de 300 g por planta en acelga, 200 g en espinaca y 400 g para col, después

de las cuatro aspersiones foliares que coinciden con el punto de cosecha comercial, potencialmente se consumen 0.79, 0.89 y 1.07 mg de Fe por ración en plantas de acelga, 2.4, 1.19 y 3.5 mg de Fe en plantas de espinaca y, 38.99, 43.78 y 48.52 mg de Fe en col, de plantas tratadas con Fe vía foliar a concentraciones de 0, 2500 y 5000 mg L⁻¹, respectivamente. Estos valores en el caso de acelga y espinaca, son menores a las ingestas diarias recomendadas de Fe por grupos etarios; siendo de 11 mg para niños menores de 1 año; de 7 a 10 mg para niños de 1 a 8 años; entre 8 y 11 mg para hombres mayores de 8 años; 8 mg para mujeres de entre 9 y 13 años y mujeres postmenopáusicas, de 15 a 18 mg para mujeres en edad fértil; y 27 mg para mujeres embarazadas (DRI, 2000). Sin embargo, para el caso de col, la acumulación de Fe después de cuatro aspersiones foliares sobre pasa los niveles de ingesta recomendados, por lo que se recomiendan solo dos aspersiones foliares.

1.3.4 Bioacumulación de Se en vástago

La bioacumulación de Se en el tejido foliar evaluada a las dos y cuatro aspersiones foliares, fue afectada por el factor Fe, Se e interacción Fe x Se, en todos estos casos fue estadísticamente significativo como se muestra en el **Cuadro 1.6**.

Cuadro 1.6 Significancia estadística de factores de estudio y su interacción en la bioacumulación de Se en vástagos de acelga, espinaca y col, después de dos y cuatro aplicaciones foliares.

Fuente de Variación	Acelga		Espinaca		Col	
	Número de aspersiones foliares realizadas					
	Dos	Cuatro	Dos	Dos	Cuatro	
Fe	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	
Se	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	
Fe x Se	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	
CV	18.68	6.13	4.69	4.49	0.000002	

* Significativo (Tukey, $P \leq 0.05$)

Efecto principal del Fe en la bioacumulación de Se en vástago. Después de dos aspersiones foliares (**Figura 1.9**), el Fe en dosis de 2500 y 5000 mg L⁻¹ ocasionó un incremento significativo en la bioacumulación foliar de Se en vástagos de acelga, en comparación con el testigo, con valores de 52.198 y 31.562 µg de Se, respectivamente (**Figura 1.9A**). En col, esta tendencia también fue observada; es decir medias crecientes de bioacumulación de Se en vástago a medida que la concentración de Fe en la

solución foliar incrementó (**Figura 1.9E**); con valores de 0.148 y 0.252 mg de Se en las dosis de Fe de 2500 y 5000 mg L⁻¹, respectivamente. Por el contrario, en espinaca, la mayor bioacumulación de Se fue obtenida cuando se aplicó la dosis baja de Fe (2500 mg L⁻¹) (**Figura 1.9C**).

En los resultados del cultivo de acelga por efecto principal de la aplicación de Fe después de cuatro aspersiones foliares (**Figura 1.10A**), se aprecia un aumento significativo en la acumulación de Se en cualquiera de las dosis aplicadas de Fe (540.01 y 514.02 µg de Se a dosis de 2500 y 5000 mg L⁻¹ de Fe respectivamente), en comparación con el testigo. En col después de cuatro aplicaciones foliares (**Figura 1.10B**), conforme aumentó la concentración de Fe aplicada existió mayor acumulación de Se en vástagos (0.208 y 0.231 mg de Se a dosis de 2500 y 5000 mg L⁻¹ de Fe respectivamente).

Efecto principal de Se en la bioacumulación de Se en vástago. En el caso de la acumulación de Se por efecto del principal del factor Se, tanto en acelga como en col (**Figuras 1.9B y 1.9F, respectivamente**) se observó que después de dos aplicaciones foliares, se tuvo mayor acumulación de selenio con el suministro foliar de éste en cualquiera de las dos dosis aplicadas (63.271 y 38.348 µg de Se) en acelga y 0.207 y 0.151 mg de Se en col a dosis de 10 y 20 mg L⁻¹ de Se respectivamente), resultando mayor acumulación de Se con la dosis baja de éste (10 mg L⁻¹). En relación al cultivo de espinaca (**Figura 1.9D**) se registró una mayor acumulación de Se conforme aumentó la dosis de Se aplicada (0.036 y 0.041 mg de Se a dosis de 10 y 20 mg L⁻¹ de Se respectivamente).

Después de cuatro aplicaciones, conforme aumentó la dosis de Se aplicada incrementó también la bioacumulación de este elemento en acelga (488.66 y 838.11 µg de Se a dosis de 10 y 20 mg L⁻¹ de Se respectivamente) como se observa en la **Figura 1.10B**. En col después de cuatro aspersiones foliares, la bioacumulación de Se fue más alta a dosis de este elemento de 10 mg L⁻¹ (0.453 mg de Se) con respecto a los demás tratamientos (**Figura 1.10D**).

En albahaca (*Ocimum basilicum* L.) y cilantro (*Coriandrum sativum* L.) tratados con tres aplicaciones foliares de Se en forma tanto de selenato (0, 2, 4, 8, 16 y 32 mg L⁻¹) como

de selenito en intervalos de 5 días, se incrementó la acumulación de Se de manera lineal con ambas fuentes de Se. Las máximas concentraciones de Se en el tejido foliar de albahaca y cilantro fueron 0.013 y 0.055 mg g⁻¹ de peso seco, respectivamente (Kopsell *et al.*, 2009). De la misma manera, Ducsay y Lozek (2006), después de aplicaciones foliares de 0. 0.5, 1, 10 y 20 g Se ha⁻¹ en trigo de invierno, reportan que la aplicación foliar de Se a 1, 10 y 20 g ha⁻¹ incrementó significativamente el contenido de selenio en grano a 0.061, 0.088 y 0.145 mg kg⁻¹ respectivamente.

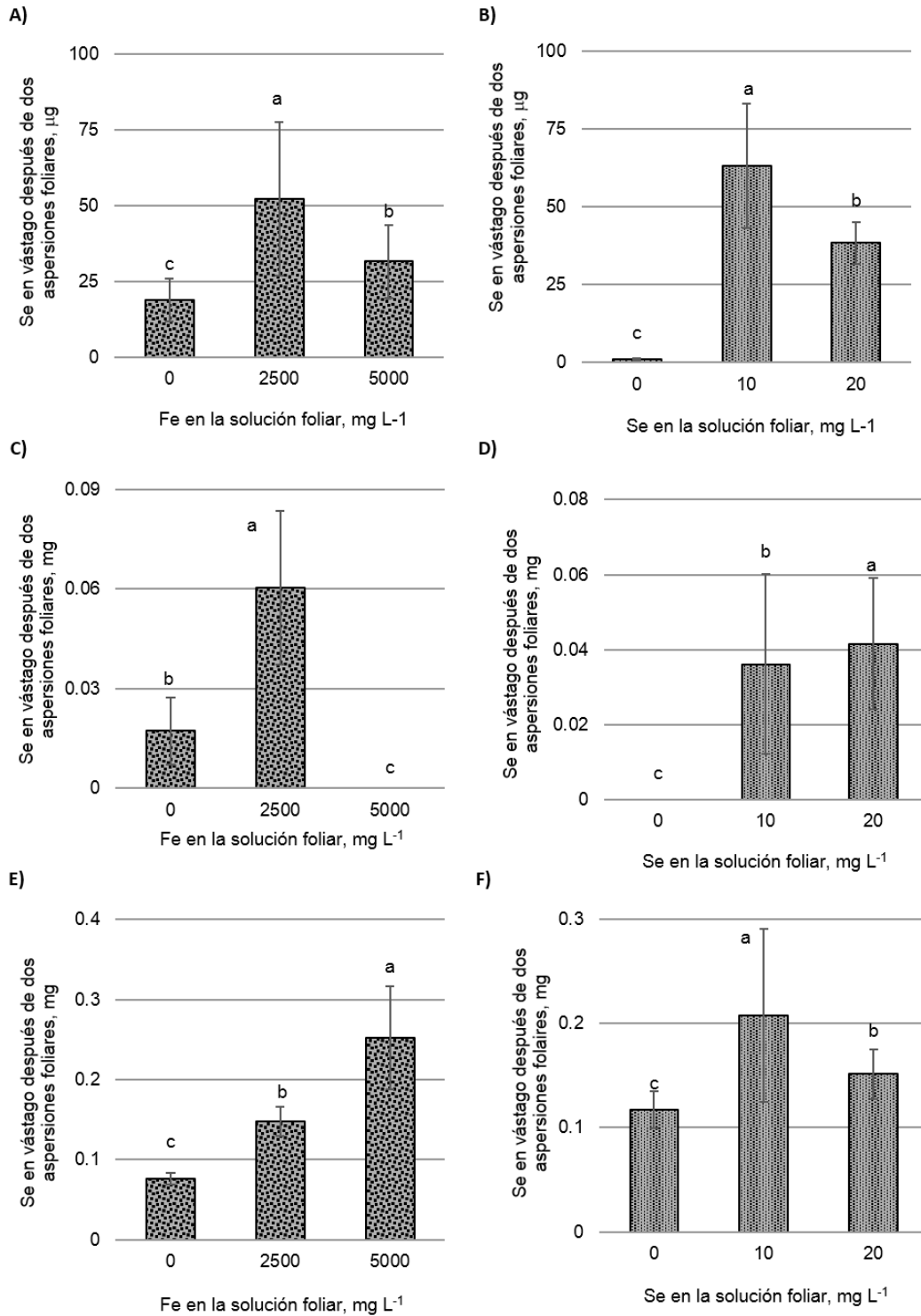


Figura 1.9 Efectos principales del Fe y Se en la bioacumulación de Se en vástagos después de dos aspersiones foliares. A, C y E: Efecto principal del Fe en acelga, espinaca y col, respectivamente. B, D Y F: Efecto principal del Se en acelga, espinaca y col, respectivamente. Medias ± DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

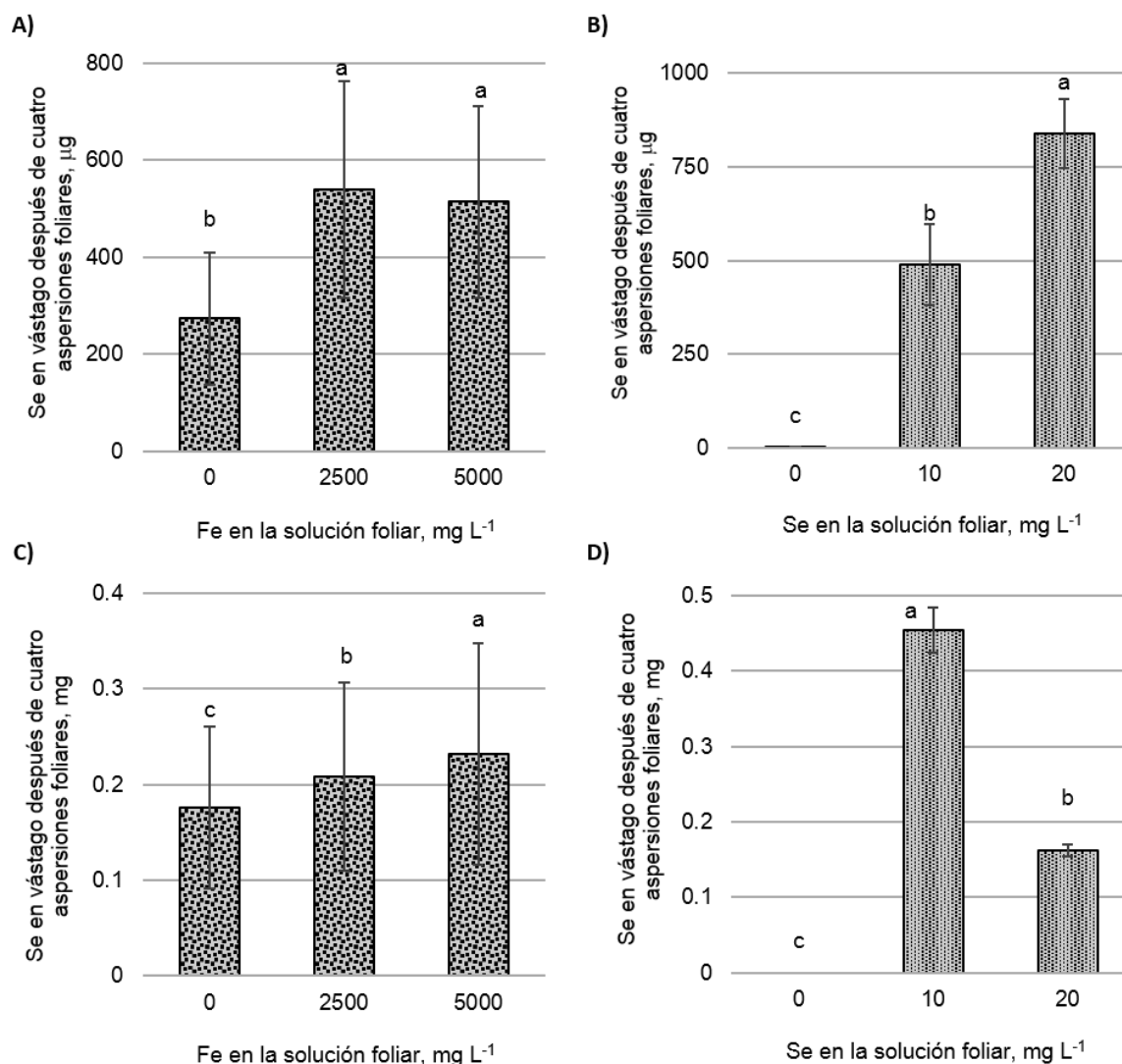


Figura 1.10 Efectos principales del Fe y Se en la bioacumulación de Se en vástagos después de cuatro aspersiones foliares. A y C: Efecto principal del Fe en acelga y col, respectivamente. B y D: Efecto principal del Se en acelga y col, respectivamente. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

Efecto de la interacción Fe x Se en la bioacumulación de Se en vástago. Los resultados después de dos aspersiones foliares muestran una mayor capacidad de acumulación de Se en plantas de col que en acelga y espinaca (**Figura 11**). Así también, por efecto de la interacción Fe x Se después de dos aspersiones foliares hubo un incremento en la acumulación de Se por efecto de la aplicación de Se en cualquier nivel de Fe pero fue estadísticamente superior a dosis medias de ambos elementos; es decir, Se a 10 mg L⁻¹ y Fe a 2500 mg L⁻¹ para el caso de acelga y espinaca (**Figuras 1.11A y 1.11B**). En el caso de col, la mayor bioacumulación de Se fue en el tratamiento

con la dosis media de Se y la alta de Fe (10 y 5000 mg L⁻¹, respectivamente) como se aprecia en la **Figura 1.11C**.

Los resultados de la segunda evaluación (después de cuatro aspersiones foliares), por efecto de la interacción Fe x Se, mostraron que la aplicación de Fe tuvo un efecto favorable sobre la acumulación de Se en el tejido foliar en plantas de acelga y col (**Figuras 1.12A y 1.12B**, respectivamente). Existió mayor acumulación de Se a dosis de Fe de 2500 mg L⁻¹ y con dosis de Se de 20 mg L⁻¹ en acelga; mientras que la bioacumulación de Se en col fue superior a dosis medias de Se (10 mg L⁻¹) y alta de Fe (5000 mg L⁻¹).

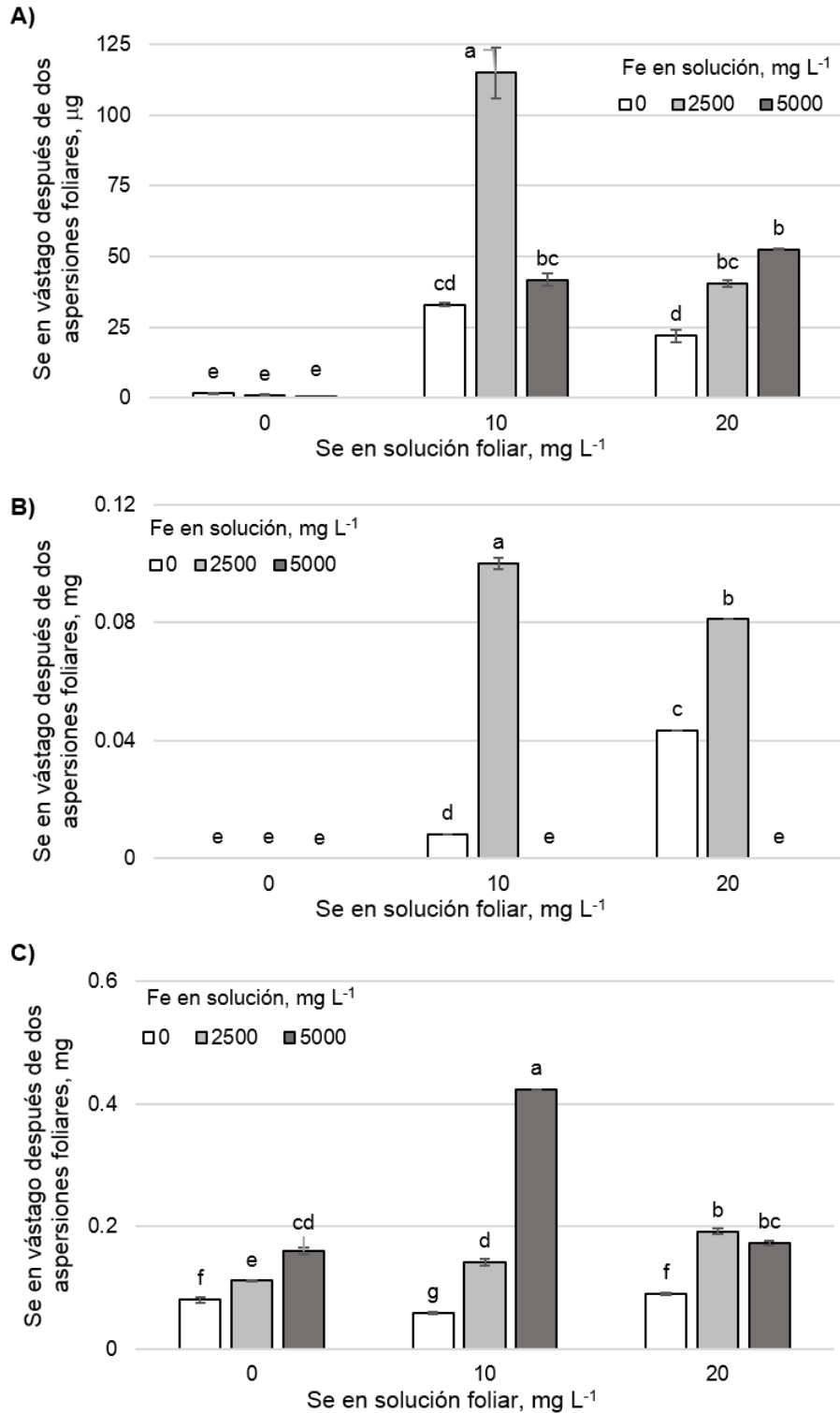


Figura 1.11 Efecto de la interacción de Fe y Se en la bioacumulación de Se en vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de dos aspersiones foliares. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

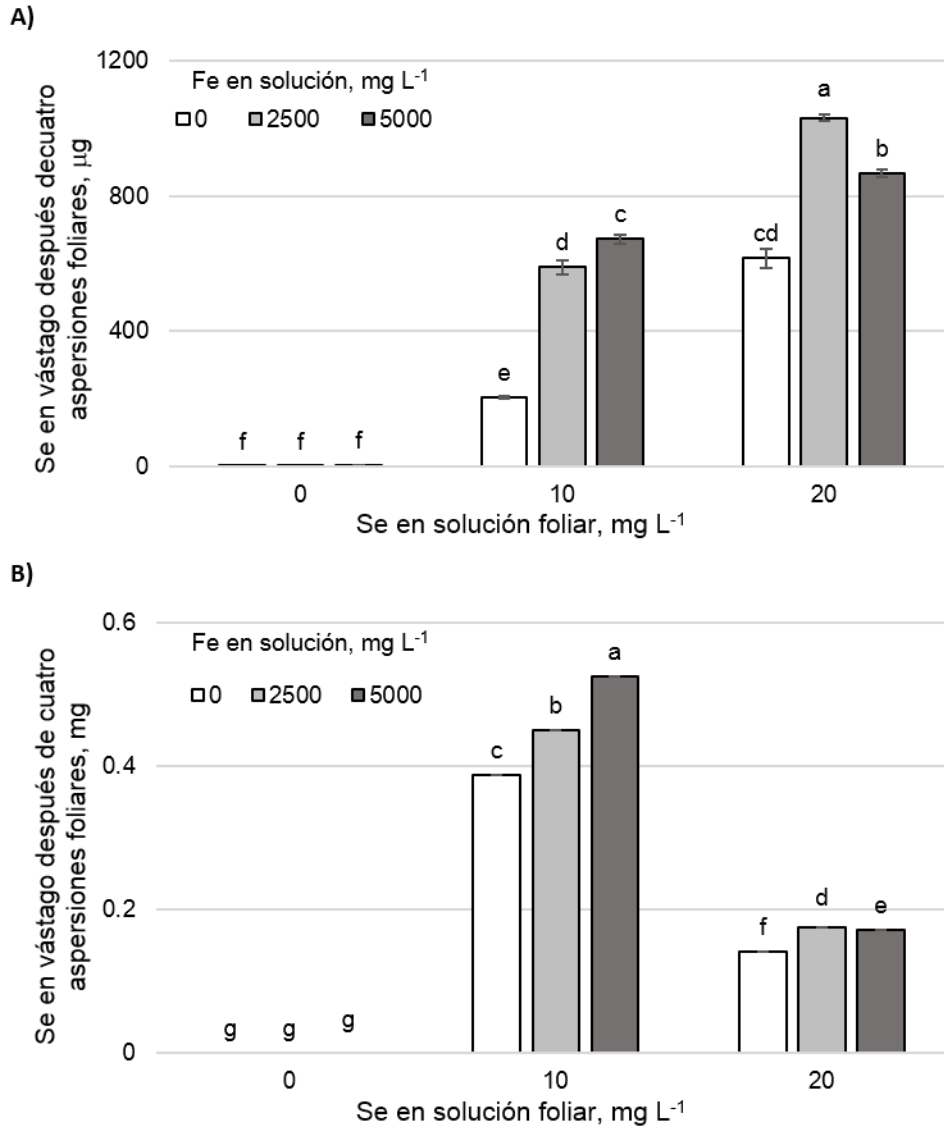


Figura 1.12 Efecto de la interacción de Fe y Se en la bioacumulación de Se en vástagos de acelga (A) y col (B) después de cuatro aspersiones foliares. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

Hay evidencia de que la ingestión complementaria de Se de 0.1 a 0.2 mg día⁻¹ ayuda a prevenir diversas enfermedades, entre estas algunos tipos de cáncer (Whanger, 2004), por ejemplo se reporta que la ingesta de 0.2 mg de Se diariamente, reduce la incidencia de cáncer de pulmón y de cáncer de próstata (Duffield *et al.*, 2002). Así también el Se previene trastornos cardiacos, infecciones virales y deficiencias de la tiroides (Hurtado y Gardea, 2007).

En el presente trabajo, después de cuatro aspersiones foliares en acelga y col, y de dos aspersiones para espinaca, se observó una acumulación de 488.66 y 838.11 μ g de Se

en acelga, 36 y 41 μg de Se en espinaca, y 453 y 162 μg de Se para col con aspersiones de 10 y 20 mg L^{-1} de Se en los tres cultivos respectivamente, si se considera una biomasa por planta aproximada de 300 g en acelga, 200 g en espinaca y 400 g en col, después de cuatro aspersiones foliares, y una ingesta recomendada por ración de 100 g, tendríamos que con los resultados obtenidos en la presente investigación, una persona estaría consumiendo entre 162 y 279 μg de Se con plantas de acelga, entre 18 y 20 μg de Se con plantas de espinaca y entre 113 y 40 μg de Se con plantas de col tratadas con 10 y 20 mg L^{-1} de Se, respectivamente.

Existe un amplio rango clasificación de las ingestas de Se en el ser humano, desde tóxicas (aproximadamente 500 $\mu\text{g d}^{-1}$), altas (de 200 a 724 $\mu\text{g d}^{-1}$), altas adecuadas (entre 100 y 200 $\mu\text{g d}^{-1}$), marginalmente adecuadas (de 30 a 90 $\mu\text{g d}^{-1}$), hasta bajas o deficientes (de 7 a 30 $\mu\text{g d}^{-1}$) (Rayman, 2008).

La Organización Mundial de la Salud (OMS), la Organización Mundial para la Agricultura y la Alimentación (FAO) y la Agencia Internacional de Energía Atómica (OEA) recomiendan la ingesta de Se de 40 y 30 $\mu\text{g d}^{-1}$, para hombres y mujeres respectivamente. Se ha reportado en este mismo sentido, que un consumo de 400 μg puede tener efectos perjudiciales en la salud (DRI, 2000). No obstante, Rayman (2004) al hacer una revisión acerca de los efectos que el Se en la salud humana, cuando éste es consumido vía levaduras biofortificadas, reporta que no existen evidencias de toxicidad, incluso con niveles de ingesta de Se de 800 $\mu\text{g d}^{-1}$ durante un periodo de 3 años o más.

La Norma Oficial Mexicana (NOM-051-SCFI/SSA1-2010) menciona que la ingesta diaria recomendada de Selenio es de 41 $\mu\text{g d}^{-1}$, sin embargo, la ingesta diaria recomendada (*Recommended Dietary Allowances* RDA, por sus siglas en inglés) es de 20, 30 y 55 $\mu\text{g d}^{-1}$, para bebés, niños y adultos, respectivamente (Institute of Medicine, 2000).

Por otro lado, la exposición prolongada a dosis altas de Se (mayor de 900 $\mu\text{g día}^{-1}$), puede producir selenosis, cuyos síntomas principales son caída del cabello, fragilidad de las uñas, elevada prevalencia de caries y problemas neurológicos (Broadley *et al.*, 2006).

1.3.5 Lecturas SPAD

El SPAD- 502 (Minolta Camera Co., Japan) es un equipo portátil, no destructivo, que determina el verdor de las hojas y cuyas lecturas tienen una alta correlación con el contenido de N en la planta (Sainz-Rozas y Echeverría, 1998; Zebarth *et al.*, 2002). El SPAD efectúa medidas instantáneas y no destructivas en hojas basándose en la cuantificación de la intensidad lumínica en dos longitudes de onda: a 650 nm, dentro de la región del rojo (que es absorbida por la muestra de tejido) y a 940 nm, en el infrarrojo cercano (que es emitida y permite compensar la lectura por el efecto del grosor de la hoja). Estos índices o ‘valores SPAD’ se basan en el principio de que parte de la luz que emite el medidor es absorbida por la clorofila y el resto entra en contacto con la celda detectora, siendo convertida en una señal eléctrica. La cantidad de luz captada por la celda es inversamente proporcional a la cantidad de luz utilizada por la clorofila. La señal es procesada y la absorbancia es cuantificada en valores adimensionales que van del 0 al 99 (Rodríguez *et al.*, 1998).

En este estudio se observaron efectos diferenciales de efectos principales de los factores de estudio y de su interacción en los valores de lecturas SPAD obtenidas como se muestra en el **Cuadro 1.7**. El efecto principal Fe sólo fue significativo en col en las dos evaluaciones realizadas; por el contrario, el efecto principal Se solo no fue significativo después de cuatro aspersiones en el cultivo de col. La interacción Fe x Se fue significativa después de cuatro aspersiones en acelga y col; y en acelga en la evaluación realizada después de dos aspersiones foliares.

Cuadro 1.7 Significancia estadística de factores de estudio y su interacción en las lecturas SPAD en acelga, espinaca y col, después de dos y cuatro aplicaciones foliares.

Fuente de Variación	Acelga		Espinaca		Col	
	Número de aspersiones foliares realizadas					
	Dos	Cuatro	Dos	Dos	Cuatro	
Fe	0.2446 ns	0.0650 ns	0.1031 ns	0.0131 *	0.0001 *	
Se	<.0001 *	<.0001 *	0.0001 *	0.0180 *	0.2597 ns	
Fe x Se	0.0981 ns	<.0001 *	<.0001 *	0.4437 ns	0.0003 *	
CV	4.31	2.82	4.52	8.91	4.23	

* Significativo (Tukey, $P \leq 0.05$); ns no significativo

Efecto principal del Fe en las lecturas SPAD. Los resultados en la presente investigación indican que después de dos y cuatro aspersiones foliares en el cultivo de

acelga y después de dos aspersiones en espinaca, no existe efecto significativo del Fe en lecturas SPAD (**Figuras 1.13A y 1.13B**). Por otro lado, el cultivo de col mostró una disminución en los valores de las lecturas SPAD después de dos aplicaciones, siendo esta reducción significativa a dosis de Fe de 5000 mg L⁻¹ en comparación con el testigo; después de cuatro aplicaciones foliares, las respuestas en col fueron opuestas; es decir, la presencia de Fe en la solución foliar, independientemente de su concentración incrementa significativamente los valores de las lecturas SPAD (**Figura 1.13C**).

Los resultados obtenidos permiten suponer *a priori* un mayor contenido de nitrógeno en el cultivo de col por efecto de la aplicación foliar de Fe, sobre todo después de cuatro aspersiones foliares; esta hipótesis es corroborada en la **Figura 1.17**. En el mismo sentido, [Rodríguez et al. \(1998\)](#) en tomate (*Lycopersicon esculentum*) y [Novoa y Villagran \(2002\)](#) en maíz (*Zea mays*), reportaron una correlación directa entre las lecturas SPAD y el contenido de nitrógeno de estas especies.

En papa, en un estudio cuyo objetivo fue determinar las lecturas clorofílicas en campo para valorar el estatus del nitrógeno, se obtuvieron tendencias cuadráticas y lineales altamente significativas del análisis de regresión entre distintas dosis de nitrógeno y lecturas del SPAD y con los rendimientos de tubérculos. Se concluyó que las medidas de lecturas SPAD pueden identificar deficiencias severas y excesos de nitrógeno en papa, pero serían de valor limitado para identificar ligeras deficiencias. La restricción más importante es que existen otros factores (variedad, estadio de crecimiento, estación de siembra, localización, etc.) aparte del nitrógeno disponible, que puede afectar al crecimiento de la planta, a la síntesis de clorofila y a los valores obtenidos con el SPAD ([Minotti et al., 1994](#)).

Efecto principal del Se en las lecturas SPAD. La aplicación foliar de Se afectó positivamente los valores SPAD evaluados después de dos aplicaciones foliares en acelga y espinaca, los cuales fueron más altos a dosis de Se de 10 y 20 mg L⁻¹ en acelga, y a dosis de Se de 20 mg L⁻¹ en espinaca; por el contrario, en plantas de col hubo una disminución significativa en las Lecturas SPAD en comparación con el testigo, cuando la dosis de Se fue de 10 mg L⁻¹ (**Figura 1.14**).

Después de cuatro aplicaciones foliares se observó un aumento en los valores SPAD en acelga cuando se adicionó Se vía foliar, registrándose la media más alta con la dosis de 10 mg L^{-1} de Se. En col no hubo efecto del factor Se para esta variable después de cuatro aspersiones foliares (**Figura 1.14**). Los resultados antes mencionados no tuvieron relación con los valores de acumulación de nitrógeno observados en acelga, espinaca y col en esta investigación (**Figuras 1.18 y 1.19**).

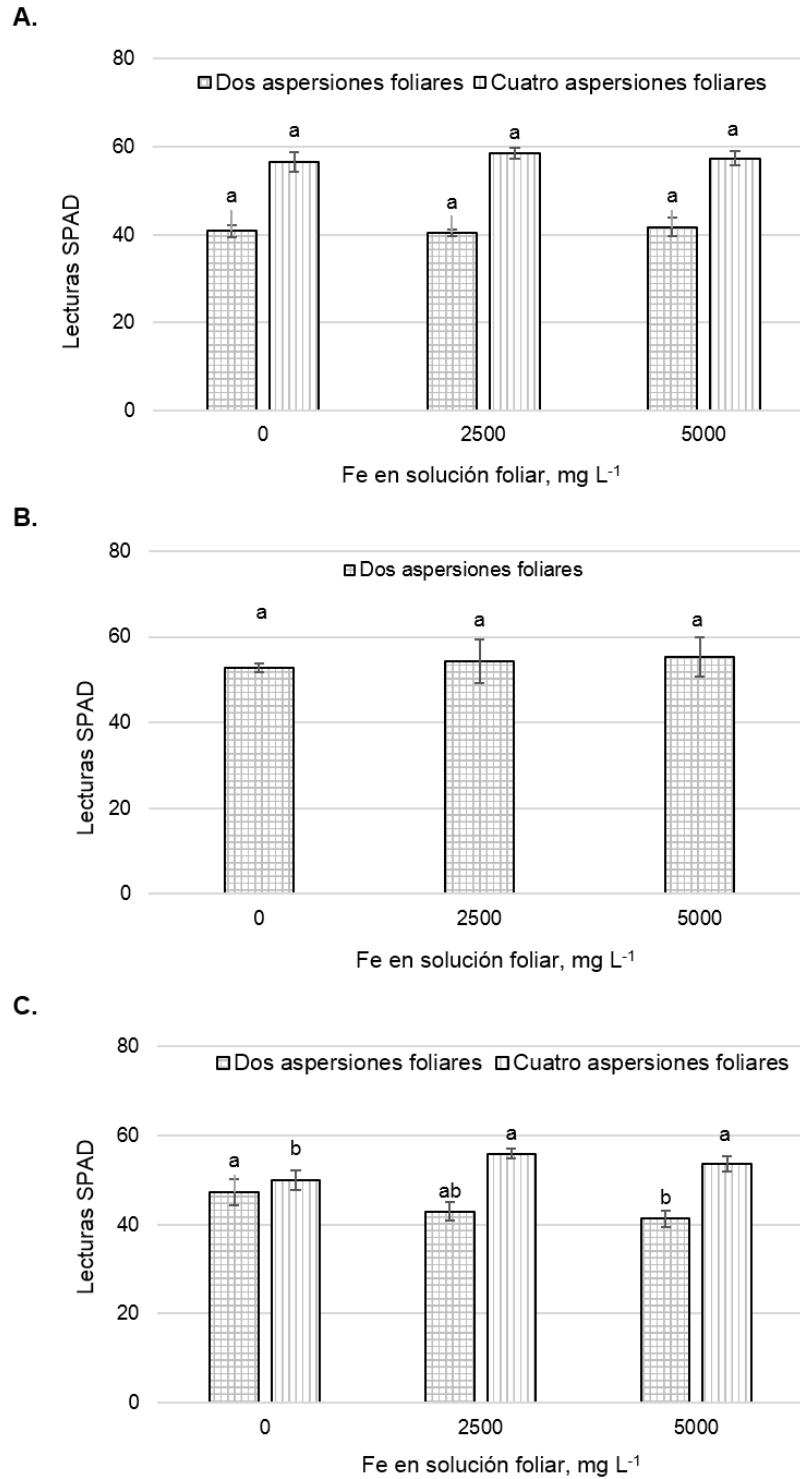


Figura 1.13 Efecto principal del Fe en lecturas SPAD de acelga (A), espinaca (B) y col (C). Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura para cada evaluación, indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

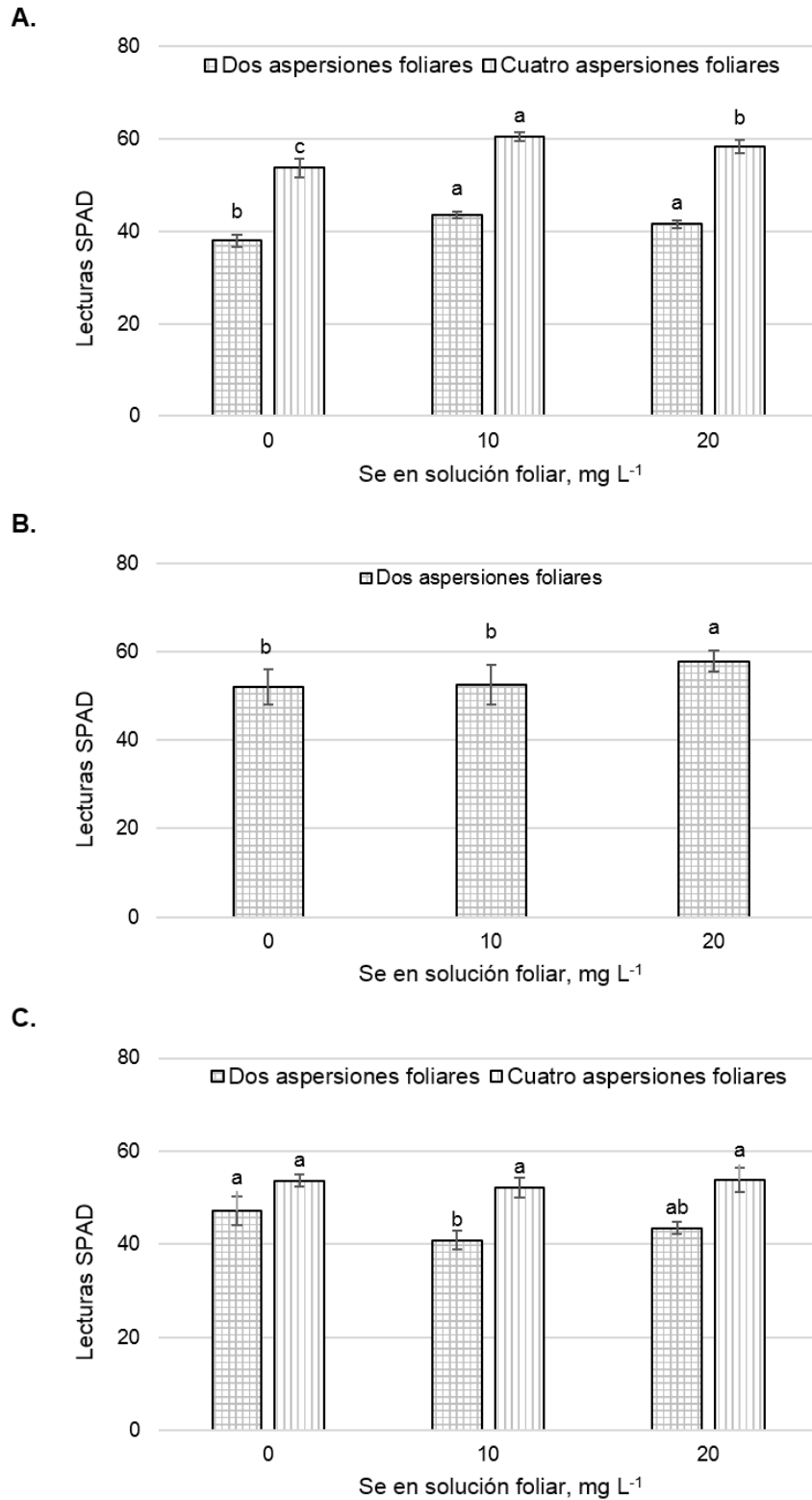


Figura 1.14 Efecto principal del Se en lecturas SPAD de acelga (A), espinaca (B) y col (C). Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura para cada evaluación, indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

Efecto de la interacción Fe x Se en las lecturas SPAD. En general la interacción Fe x Se mostró que la aplicación de Se en cada nivel de Fe aumentó los valores de las lecturas SPAD después de dos y cuatro aspersiones foliares en acelga (**Figuras 1.15A y 1.15B**); en espinaca solo a dosis de Fe de 2500 mg L⁻¹ después de dos aplicaciones aumentaron las Lecturas SPAD (**Figuras 1.15C**). En col se observó una relación negativa (efecto antagónico) entre la aplicación de Se y las Lecturas SPAD después de dos aspersiones foliares (**Figura 1.15D**), esta tendencia sin embargo, fue revertida después de cuatro aspersiones foliares es decir, existió un efecto positivo (sinérgico) entre el Se y las lecturas SPAD (**Figura 1.15E**).

La baja relación encontrada entre las lecturas SPAD y la acumulación de nitrógeno puede deberse a diversos factores. Algunos investigadores han presentado pruebas de las limitaciones inherentes a la utilización de medidores de clorofila, encontrando que las relaciones matemáticas entre las lecturas SPAD-502 y la clorofila foliar pueden variar con la etapa de crecimiento de las plantas ([Chapman y Barreto, 1997](#)), las condiciones de crecimiento ([Campbell et al., 1990](#)), la estación de crecimiento ([Bullock y Anderson, 1998](#)) y el genotipo ([Sibley et al., 1996](#)). Diversos autores aseguran que para que las lecturas con el SPAD-502 sean válidas, es necesario tomar múltiples lecturas de cada hoja y evitar en todo momento las nervaduras de las hojas y las zonas necróticas y cloróticas causadas por efectos ajenos a las deficiencias nutrimentales.

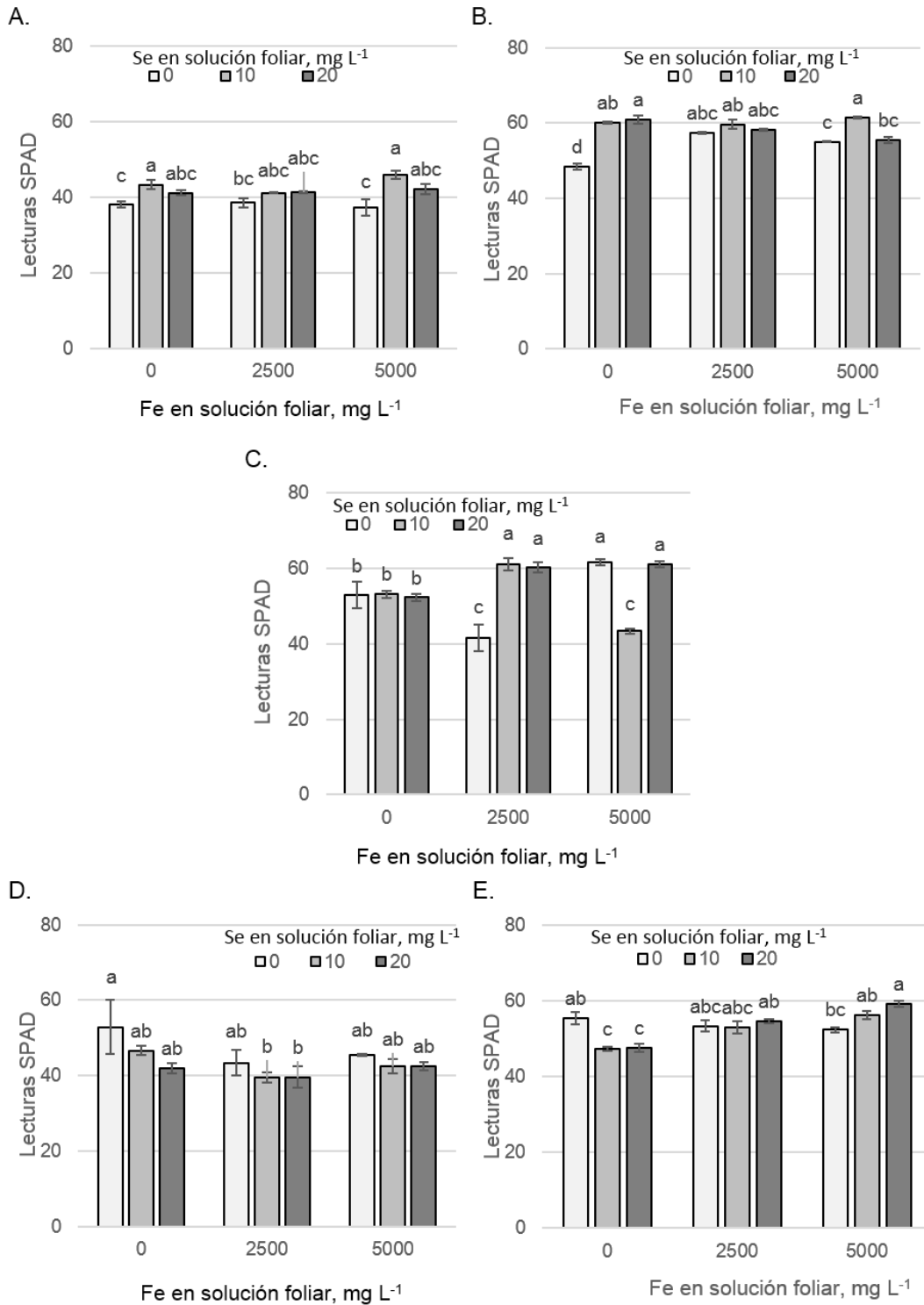


Figura 1.15 Efecto de la interacción de Fe y Se las lecturas SPAD en acelga (A y B, después de dos y cuatro aspersiones foliares respectivamente), espinaca (C, después de dos aspersiones foliares), y col (D y E, después de dos y cuatro aspersiones foliares respectivamente). Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

1.3.6 Acumulación de N y NO₃⁻ en vástago

El nitrógeno es un elemento esencial para las plantas, éstas lo necesitan en grandes cantidades para diversas funciones o procesos, desde formar parte de los aminoácidos esenciales que forman las proteínas necesarias para la planta, así como para formar ácidos nucleicos, enzimas o complejos enzimáticos que darán lugar a una gran cantidad de procesos esenciales para la vida vegetal (Raigón *et al.*, 2006).

En los tres cultivos analizados y fechas de medición se registraron efectos significativos de los factores Fe, Se y su interacción en la bioacumulación de N en vástagos, siendo la excepción el factor Fe después de dos aplicaciones en el cultivo de acelga (**Cuadro 1.8**).

Cuadro 1.8 Significancia estadística de factores de estudio y su interacción en la acumulación de N en vástago en acelga, espinaca y col, después de dos y cuatro aplicaciones foliares.

Fuente de Variación	Acelga		Espinaca		Col	
	Dos	Número de aspersiones foliares realizadas Cuatro	Dos	Dos	Cuatro	
Fe	0.5146 ns	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	
Se	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	
Fe x Se	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	
CV	10.85	1.91	3.07	3.51	6.45	

* Significativo (Tukey, $P \leq 0.05$); ns no significativo

Por otra parte, las dosis máximas permitidas de nitrato en el consumo han ido variando con el tiempo, avanzando siempre hacia mayores exigencias en el control de estos valores. La Organización Mundial de la Salud estipula como máximo admisible de ingestión diaria de 5 mg kg⁻¹ de nitrato y de 0.2 mg kg⁻¹ para nitrito (Bellapart, 1995). Sin embargo, una ingesta diaria aceptable del ion nitrato también es de 3.7 mg kg⁻¹ de peso (Hord *et al.*, 2011).

En cuanto a la acumulación de nitrato en los cultivos acelga, espinaca y col, el análisis mostró efectos significativos de los factores en estudio y de su interacción en los tiempos analizados, con excepción del efecto del factor Fe en el cultivo de acelga después de dos y cuatro aspersiones foliares en el cultivo de col (**Cuadro 1.9**).

Cuadro 1.9 Significancia estadística de factores de estudio y su interacción en la acumulación de NO_3^- en vástago en acelga, espinaca y col, después de dos y cuatro aplicaciones foliares.

Fuente de Variación	Acelga		Espinaca		Col	
	Dos	Cuatro	Dos	Dos	Cuatro	
Fe	0.0836 ns	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	0.0779 ns	
Se	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	
Fe x Se	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	
CV	6.49	4.81	13.88	20.63	7.89	

* Significativo (Tukey, $P \leq 0.05$); ns no significativo

Efecto principal del Fe en la acumulación de N y NO_3^- en vástago

Después de dos aspersiones foliares, se pudo apreciar un efecto diferencial en la acumulación de nitrógeno y nitrato por efecto del factor Fe en los tres cultivos investigados (**Figura 1.16**). En este sentido, en el cultivo de acelga no existieron efectos significativos del Fe tanto en la acumulación de nitrógeno como en la de nitrato (**Figura 1.16A**). En espinaca se observó una disminución tanto en la acumulación de nitrógeno como en la de nitrato con el aumento en la concentración de Fe en la solución foliar (**Figura 1.16B**). En col hubo un aumento en la acumulación de nitrógeno pero una disminución en la acumulación de nitrato conforme aumentó la dosis de Fe aplicada (**Figura 1.16C**). Al respecto, [Castignetti y Smarrelli \(1986\)](#) reportaron que en plantas de calabaza, la nitrato reductasa está involucrada en la adquisición de Fe y su adecuado funcionamiento requiere la intervención de este elemento. Así también el hierro interviene en la reducción del nitrato ya que se encarga de la transferencia de electrones vía la ferredoxina, y además forma parte estructural de la enzima nitrato reductasa, al poseer ésta un complejo Fe-S. Por tanto, una mayor concentración de hierro ayuda a disminuir la acumulación de nitrato y nitrito en la planta ([Raigón et al., 2006](#)).

Después de cuatro aspersiones foliares (**Figura 1.17**) los efectos del Fe en la acumulación de N y NO_3^- son distintos a los observados después de dos aplicaciones. El cultivo de acelga mostró aumentos significativos en el contenido de nitrógeno a dosis de Fe de 5000 mg L^{-1} y en la acumulación de nitrato en cualquiera de las dosis de Fe aplicadas; en ambos casos en comparación con el testigo (**Figura 1.17A**). Por otro lado, en el cultivo de col, después de cuatro aplicaciones aumentó significativamente la acumulación de nitrógeno con el tratamiento foliar con Fe en las dos dosis evaluadas, pero no hubo efecto de Fe en la acumulación de nitrato (**Figura 1.17B**).

Raigón *et al.* (2006) encontraron que los mayores contenidos de hierro en las hojas externas de plantas de lechuga tuvieron mayor actividad de nitrato reductasa, por lo que concluyen que este elemento favorece la acción de esta enzima y una disminución de la concentración de nitrato en el tejido vegetal.

Es probable que el incremento de Fe ocasionado después de cuatro aspersiones foliares provocara que en el cultivo de acelga aumentara la concentración de nitrato y por ello también mayor concentración de nitrógeno. Contrario a los resultados antes mencionados, Mohamadipoor *et al.* (2013) probaron aplicaciones foliares y al suelo con diferentes fuentes de Fe sobre el crecimiento de *Spathyphyllum illusion* y obtuvieron una menor concentración de nitrógeno foliar en plantas tratadas con Fe con respecto al tratamiento testigo.

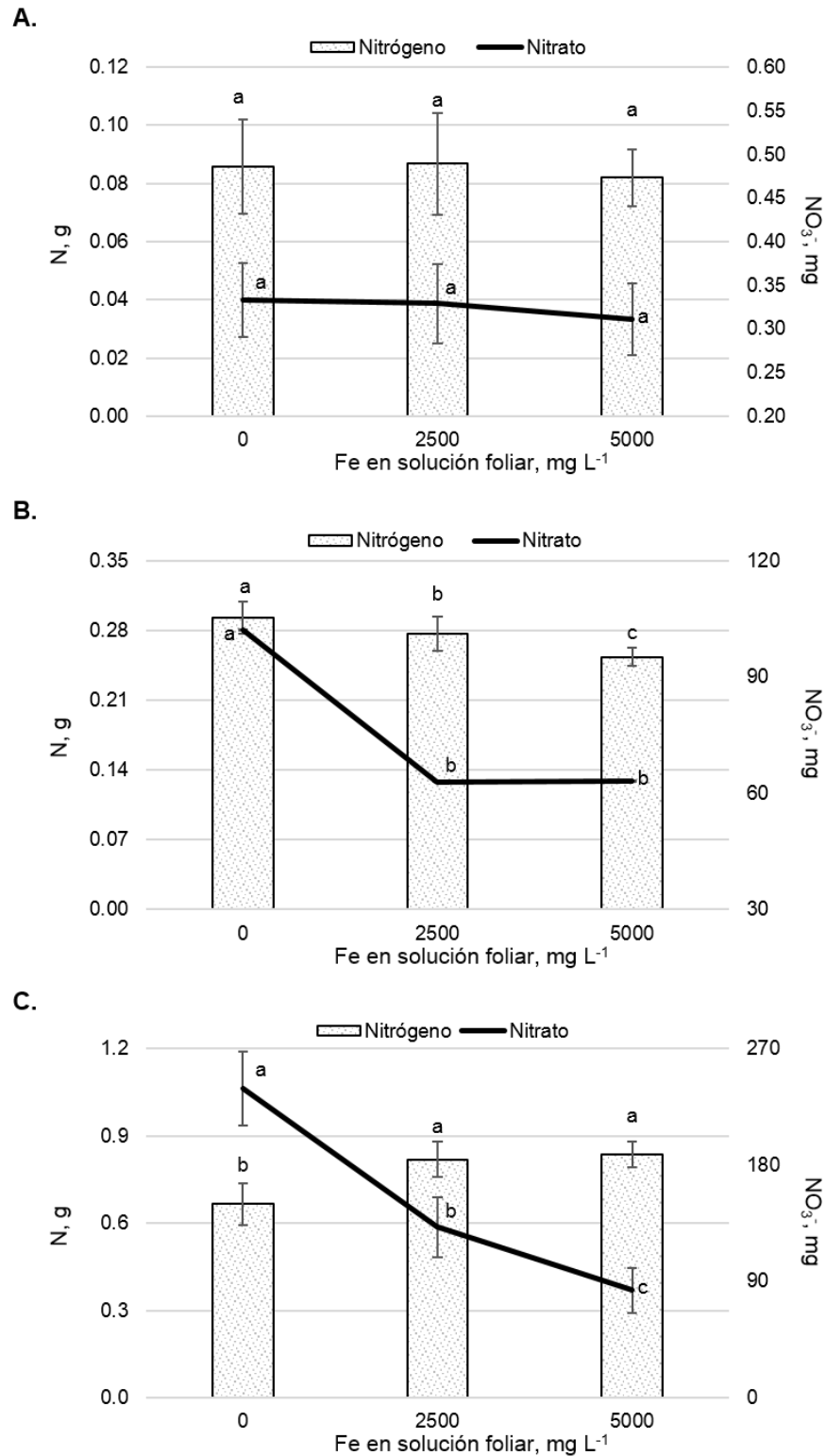


Figura 1.16 Efecto principal del Fe en la acumulación de N y NO₃⁻ de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de dos aspersiones foliares. Medias ± DE con letras distintas en cada subfigura y para cada variable indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

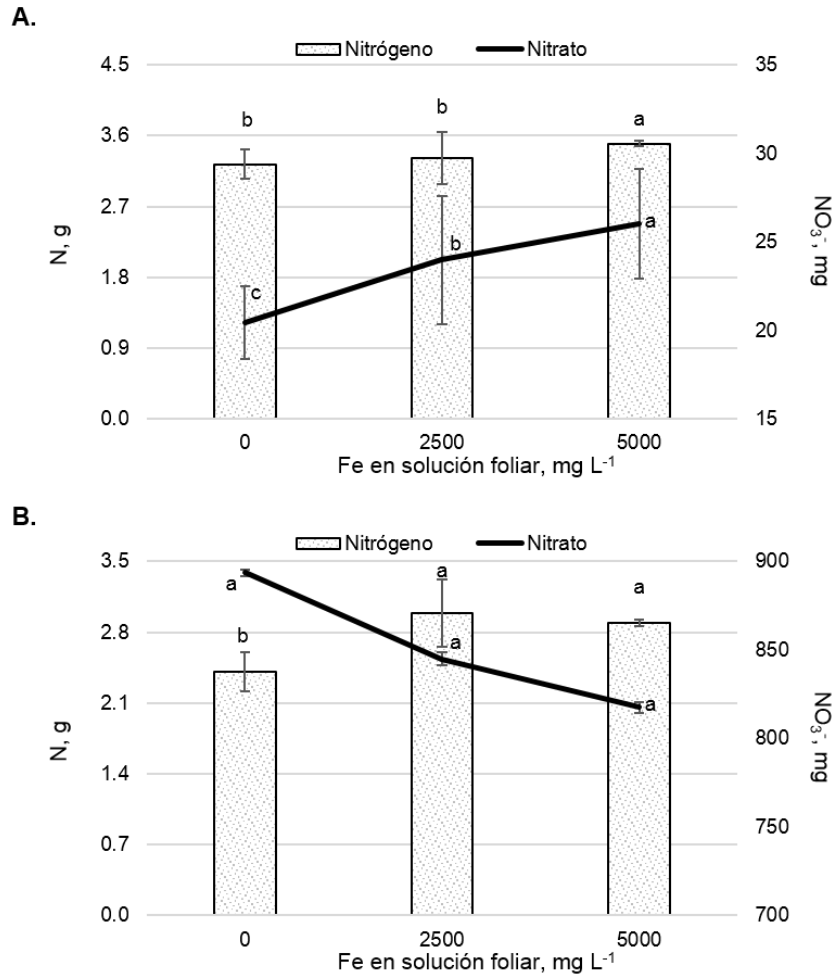


Figura 1.17 Efecto principal del Fe en la acumulación de N y NO₃⁻ en vástagos de acelga (A) y col (B) después de cuatro aspersiones foliares. Medias ± DE con letras distintas en cada subfigura y para cada variable indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, P ≤ 0.05).

Efecto principal de Se en la acumulación de N y NO₃⁻ en vástago. El efecto principal del Se al igual que en el caso del Fe, fue diferencial según el cultivo estudiado después de dos aplicaciones (**Figura 1.18**). En acelga, el Se redujo significativamente la acumulación de N y NO₃⁻, siendo en ambas variables los resultados obtenidos con la dosis más alta de Se (20 mg L⁻¹), estadísticamente inferiores al testigo (**Figura 1.18A**). En col, la misma tendencia observada en acelga fue registrada; es decir, la acumulación de nitrógeno y nitrato disminuyó conforme incrementó la concentración de Se (**Figura 1.18C**). En plantas de espinaca fue a dosis de Se de 10 mg L⁻¹, donde se observó mayor

acumulación de nitrógeno y nitrato, estos valores de acumulación se redujeron tanto a dosis de Se de 20 mg L⁻¹ como en ausencia de este elemento (**Figura 1.18B**).

Contrario a lo expuesto con anterioridad, en un experimento conducido con plantas de *Vigna sinensis*, [Mahendra y Narendra \(1979\)](#), encontraron una disminución en el nitrógeno soluble con aplicaciones de Se en concentraciones de 2.5 y 5 mg L⁻¹, a pesar de que el N forma parte del nitrato, este último incrementó en comparación con el tratamiento testigo. Por su parte, [Munshi et al. \(1990\)](#) encontraron que con aplicaciones de selenito de sodio de 0, 5.6, 11.2 y 18 kg ha⁻¹, se propició una reducción significativa de nitrógeno no proteico en cualquiera de los tratamientos en plantas de papa.

Según [Raigón et al. \(2006\)](#), la cantidad de nitrato que se acumula en el material vegetal está relacionada con diferentes factores, entre los que destaca: el sistema de producción, la intensidad luminosa durante el periodo de cultivo, la actividad de la enzima nitrato reductasa, así como la concentración de los diferentes cofactores de las enzimas vinculadas a los procesos de reducción de las fracciones nitrogenadas.

Los efectos principales del Se en la acumulación de nitrógeno y nitrato después de cuatro aplicaciones foliares son mostrados en la **Figura 1.19**. En acelga y en col la acumulación de nitrógeno disminuyó conforme incrementó la concentración de Se. De la misma manera en acelga, la acumulación de nitrato disminuyó en cualquiera de las dosis de Se aplicadas; en col, la acumulación de nitrato fue significativamente menor conforme aumentó la concentración de Se vía foliar en plantas de col (**Figuras 1.19A y 1.19B**).

Distintos estudios otorgan al Se una influencia negativa tanto a nivel de absorción de NO₃⁻ ([Aslam et al., 1990](#)), como de inhibición de la enzima nitrato reductasa (NR). Sin embargo, hay evidencia de un incremento de la NR cuando se aplica selenio en forma de selenito en plantas de trigo, lo que implica menor acumulación de nitrato ([Nowak et al., 2004](#)).

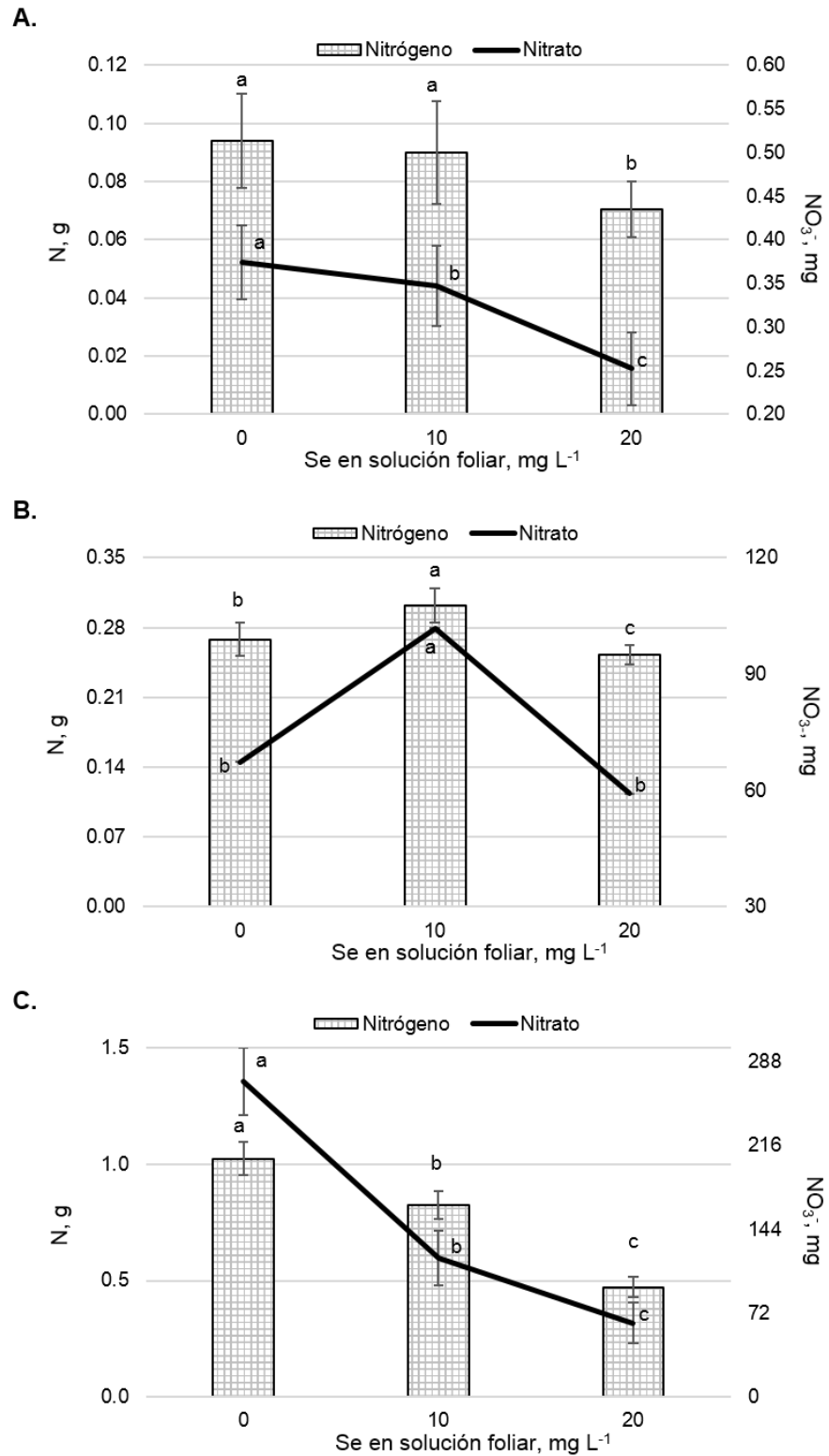


Figura 1.18 Efecto principal del Se en acumulación de N y NO₃⁻ en vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de dos aspersiones foliares. Medias ± DE con letras distintas en cada subfigura y para cada variable indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

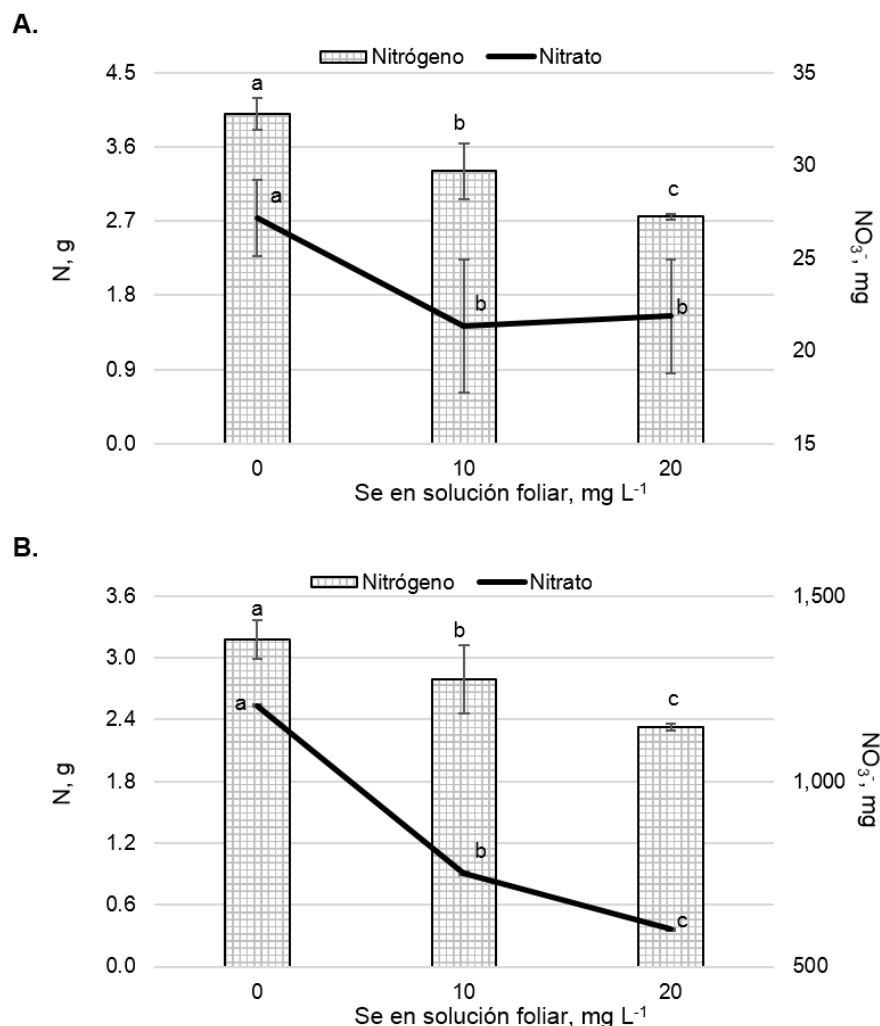


Figura 1.19 Efecto principal del Se en acumulación de N y NO_3^- en vástagos de acelga (A) y col (B) después de cuatro aspersiones foliares. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura y para cada variable indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

Efectos de la interacción Fe x Se en la acumulación de N y NO_3^- en vástago. La acumulación de nitrógeno en el cultivo de acelga por efecto de la interacción Fe y Se después de dos aplicaciones foliares (**Figura 1.20A**), fue menor cuando se aplicó Se sin la adición de Fe y en general, tal acumulación incrementó por la adición de Se sólo cuando la concentración de Fe suministrada fue alta (5000 mg L^{-1}). En espinaca después de dos aspersiones foliares, dosis de Se de 10 mg L^{-1} favorecieron una mayor bioacumulación de nitrógeno a concentraciones de 0 y 2500 mg L^{-1} de Fe, pero a concentraciones de Fe superiores (5000 mg L^{-1}), la adición de Se ocasionó menor acumulación de nitrógeno en el tejido foliar (**Figura 1.20B**). Para col, la adición de Fe

provocó un incremento en la bioacumulación de N, mientras que la adición de Se en cada nivel de Fe redujo la bioacumulación de nitrógeno (**Figura 1.20C**). En plantas de lechuga (*Lactuca sativa* L.), [Ríos \(2008\)](#) al aplicar de Se en forma de selenito, registró menor concentración de diversos elementos como N, P y Mg, a medida que incrementó la dosis aplicada. Además, este mismo autor observó que el Se puede promover la actividad de las enzimas involucradas en la incorporación de NH_4^+ en aminoácidos, lo que generó que no existieran diferencias estadísticas en la concentración de N entre tratamientos.

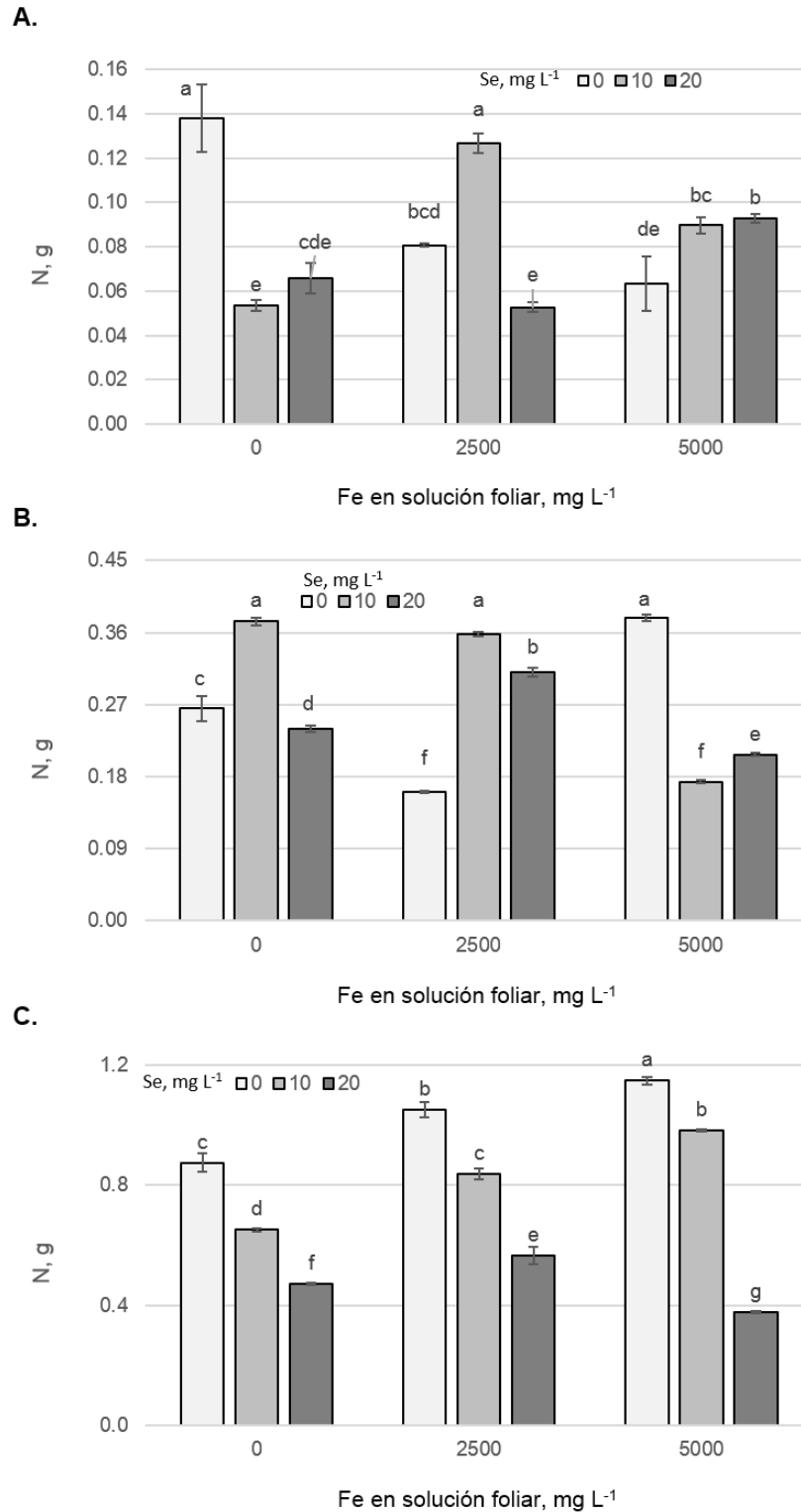


Figura 1.20 Efecto de la interacción de Fe y Se en la acumulación de N en vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C), después de dos aspersiones foliares. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

Después de cuatro aspersiones en acelga se observaron efectos negativos de dosis altas de Se en la acumulación de N; especialmente cuando se adicionó Fe a la solución foliar; registrándose la media más alta en ausencia de Se con la dosis más alta de Fe (5000 mg L⁻¹) (**Figura 1.21A**). De la misma manera, en col, el Se redujo significativamente la acumulación de N, de manera particular con el suministro de Fe en las dos dosis evaluadas; registrándose para este especie la media más alta con ausencia de Se y en presencia de Fe a una dosis de 2500 mg L⁻¹ (**Figura 1.21B**).

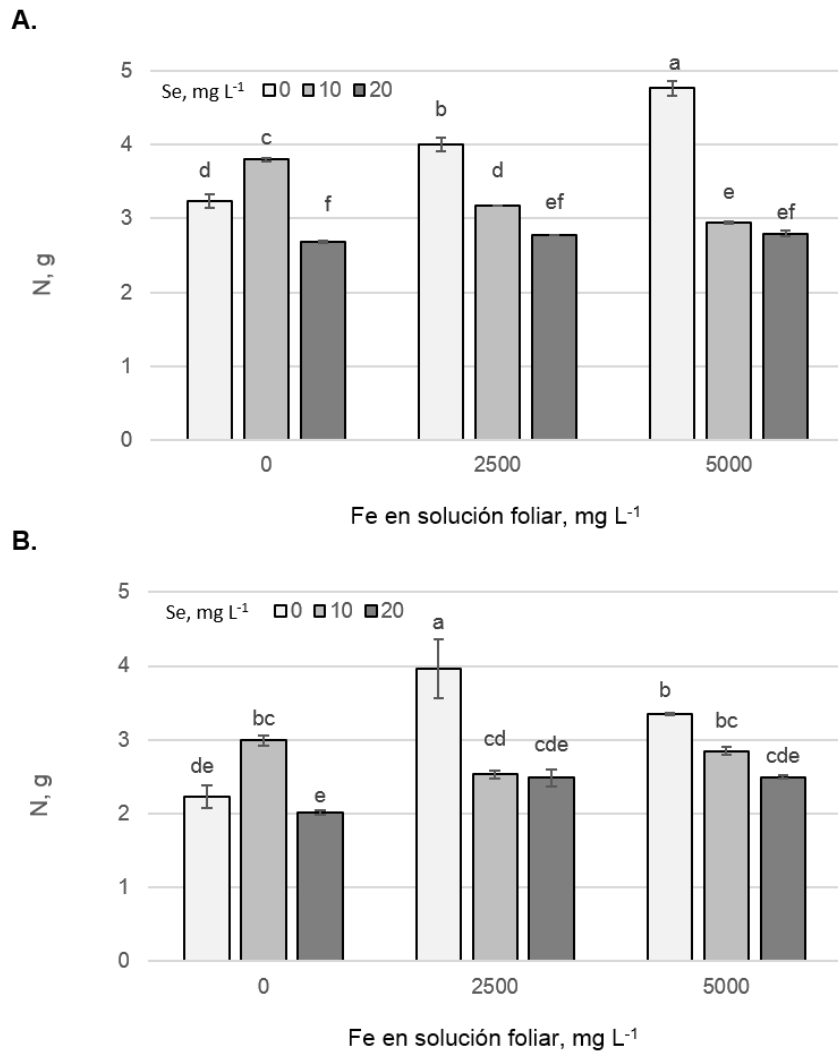


Figura 1.21 Efecto de la interacción de Fe y Se en la acumulación de N en vástagos de acelga (A) y col (B), después de cuatro aspersiones foliares. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

En lo que respecta a la acumulación de NO_3^- en acelga después de dos aspersiones, se observa que sin la adición de Fe, el suministro foliar de Se redujo la bioacumulación de NO_3^- , sin embargo, a dosis de Fe de 2500 mg L^{-1} , la aplicación de 10 mg L^{-1} de Se generó mayor acumulación de este elemento, y a dosis de 5000 mg L^{-1} la adición de Se incrementó el contenido de NO_3^- (**Figura 1.22A**). En espinaca después de dos aspersiones foliares, el tratamiento consistente en la adición de Fe con la aplicación de Se a una concentración de 10 mg L^{-1} aumentó la bioacumulación de NO_3^- . A dosis de Fe de 2500 mg L^{-1} , el Se en cualquiera de las concentraciones aplicadas favoreció una mayor acumulación de NO_3^- ; por el contrario, cuando el Fe se aplicó en concentración de 5000 mg L^{-1} , la adición de Se generó menor acumulación de nitrato (**Figura 1.22B**). En el caso de la col, después de dos aplicaciones foliares se observó que el incremento en la concentración de la solución foliar de ambos elementos (Fe y Se) disminuyó la bioacumulación de NO_3^- , observándose además que el aumento en la concentración de Se en cada nivel de Fe disminuyó la bioacumulación de NO_3^- (**Figura 1.22C**).

Existen trabajos donde se muestra una inhibición de la enzima nitrato reductasa por la adición de Se tanto en forma de selenito como selenato, lo que ocasiona una mayor acumulación de NO_3^- (Aslam *et al.*, 1990; Nowak *et al.*, 2002); no obstante, algunos autores han observado un aumento en la actividad de la nitrato reductasa debido a la aplicación de Se (Ríos, 2008; Nowak *et al.*, 2004).

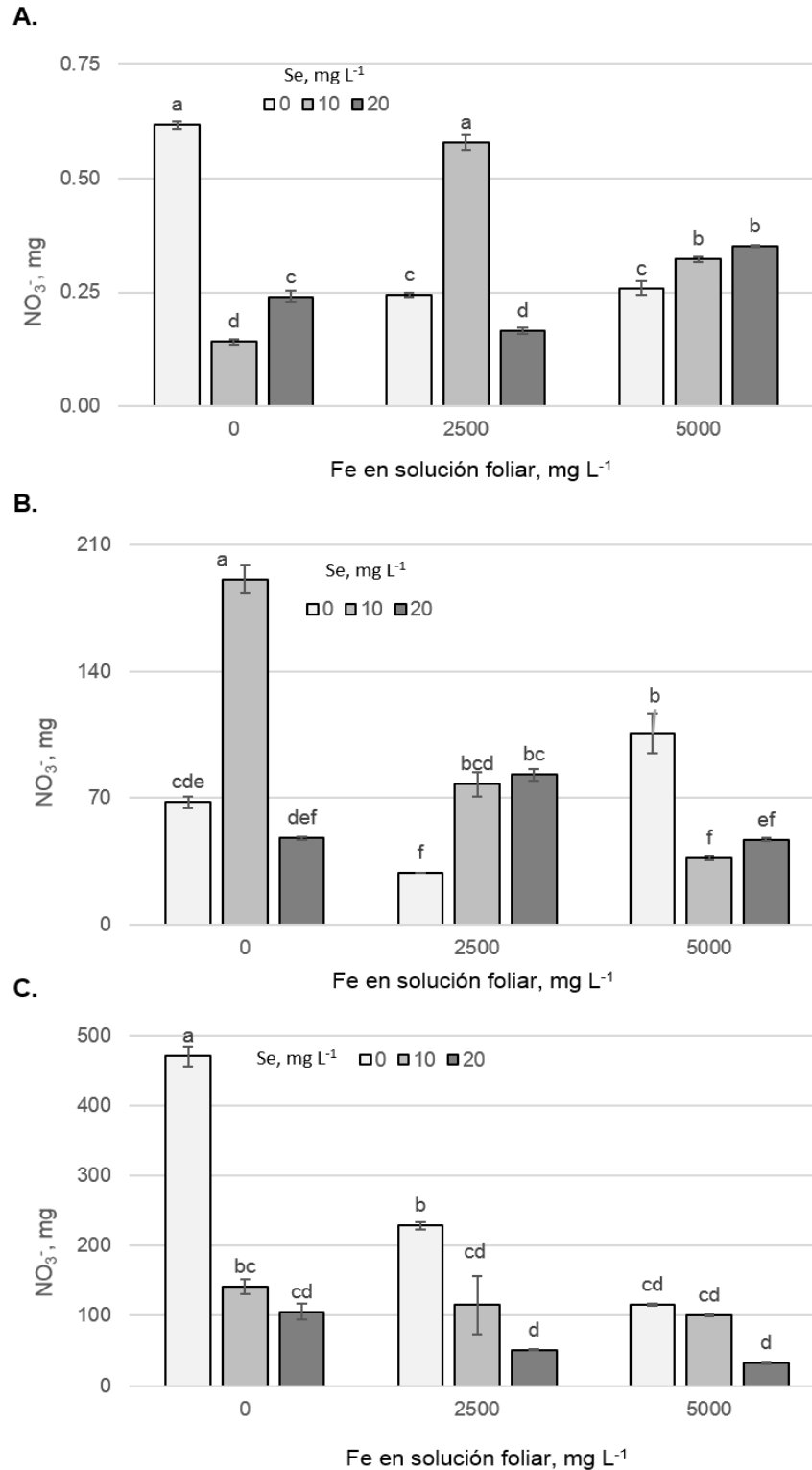
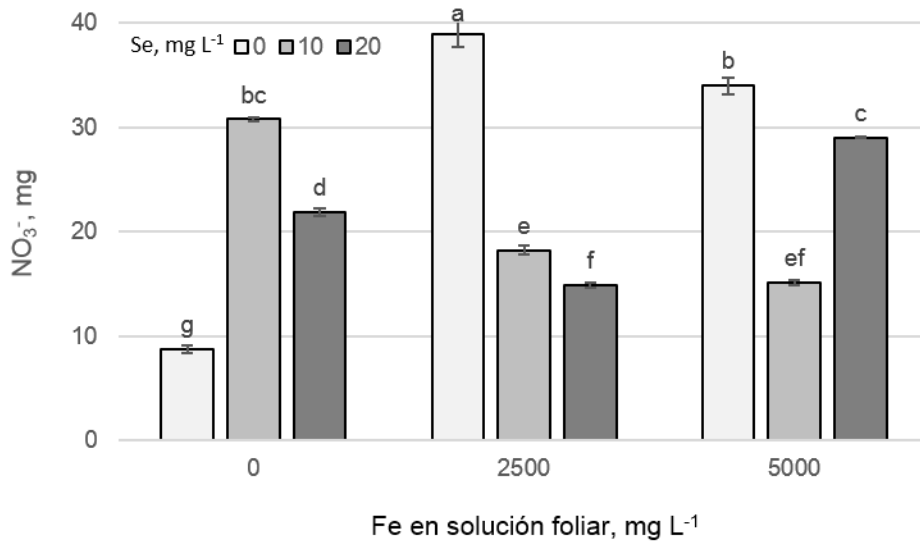


Figura 1.22 Efecto de la interacción de Fe y Se en la acumulación de NO₃⁻ en vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C), después de dos aspersiones foliares. Medias ± DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

Después de cuatro aspersiones foliares, en acelga la adición de Se aumentó la acumulación de nitrato; esta tendencia es particularmente evidente en presencia de Fe (2500 y 5000 mg L⁻¹) en la solución asperjada vía follaje (**Figura 1.23A**). En col, independientemente de la dosis de Fe aplicada, el Se redujo significativamente la acumulación de nitrato en vástago (**Figura 1.23B**).

A.



B.

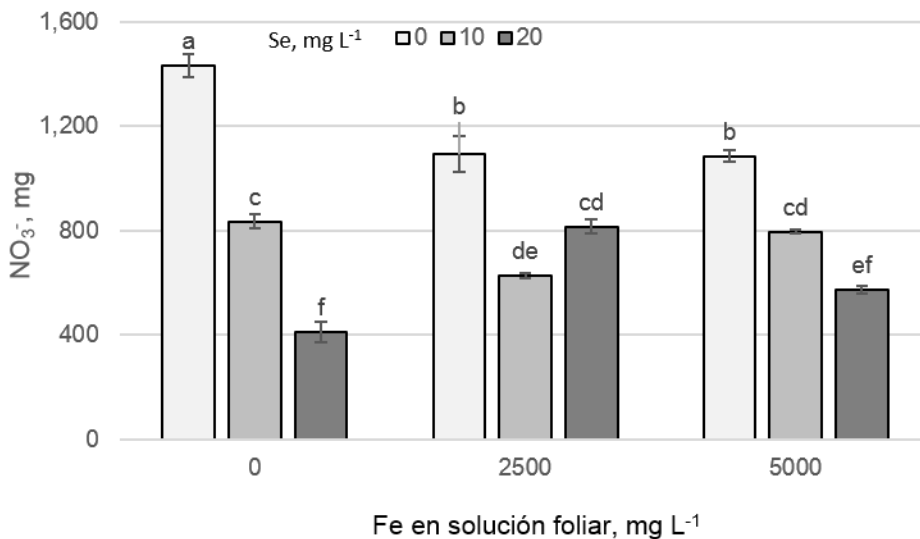


Figura 1.23 Efecto de la interacción de Fe y Se en la acumulación de NO₃⁻ en vástagos de acelga (A) y col (B), después de cuatro aspersiones foliares. Medias ± DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

1.3.7 Contenido de clorofila a en vástago

Tanto para los factores Fe y Se, como la interacción Fe x Se, en los diferentes tiempos de evaluación y en los tres cultivos evaluados, el análisis estadístico mostró efecto significativo sobre el contenido de clorofila a (**Cuadro 1.10**).

Cuadro 1.10 Significancia estadística de factores de estudio y su interacción en el contenido de clorofila a en vástagos de acelga, espinaca y col, después de dos y cuatro aplicaciones foliares.

Fuente de Variación	Acelga		Espinaca		Col	
	Número de aspersiones foliares realizadas					
	Dos	Cuatro	Dos	Dos	Cuatro	
Fe	0.0039 *	0.0221 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	
Se	<.0001 *	0.0041 *	<.0001 *	0.0010 *	<.0001 *	
Fe x Se	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	
CV	17.43	13.75	6.97	4.34	7.40	

* Significativo (Tukey, $P \leq 0.05$)

Efecto principal de Fe en el contenido de clorofila a en vástago. El contenido de clorofila a en acelga después de dos aplicaciones foliares disminuyó a medida que la concentración de Fe en la solución foliar aumentó; siendo con la dosis de 5000 mg L⁻¹ significativamente menor al testigo; por el contrario, después de cuatro aplicaciones foliares, la concentración de Fe favoreció el contenido de clorofila a (**Figura 1.24A**). En espinaca (**Figura 1.24B**) después de dos aplicaciones foliares, el Fe redujo también de manera significativa el contenido de clorofila a. Congruente con lo observado en acelga y espinaca, en col también se observaron efectos negativos de la adición foliar de Fe después de dos aplicaciones; esta tendencia para col, se mantuvo después de cuatro aplicaciones (**Figura 1.24C**).

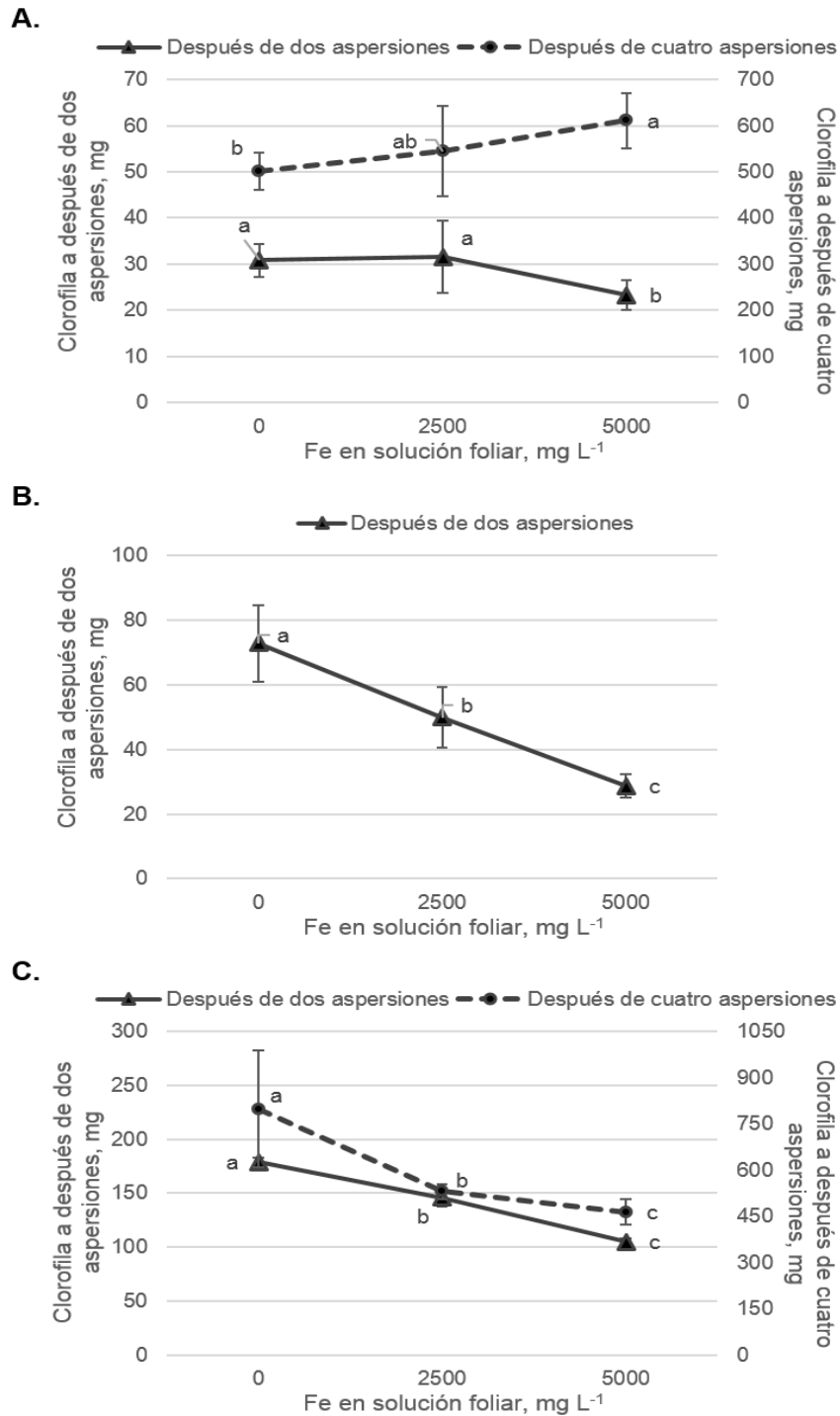


Figura 1.24 Efecto principal del Fe en el contenido de clorofila a en vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de dos y cuatro aspersiones foliares. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura y para cada variable indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

Algunos trabajos han mostrado que la respuesta que tienen las plantas a la aplicación foliar de Fe puede ser variable, dependiendo de la especie vegetal y las condiciones experimentales (Fernández y Ebert, 2005).

Los resultados obtenidos después de dos aplicaciones foliares pueden indicar un posible efecto tóxico por la adición de Fe. Los efectos mayormente descritos en la literatura sobre la toxicidad de los metales pesados en plantas, son el restringido crecimiento radical, foliar y de vástago además de clorosis general y de hojas jóvenes (Kaya y Higgs, 2002).

En la **Figura 1.24A**, se muestra que después de cuatro aspersiones foliares, el contenido de clorofila *a*, en el cultivo de acelga, aumentó conforme incrementó la dosis de Fe aplicado y una tendencia a disminuir el valor de esta variable a mayor dosis de Fe aplicado fue observada también en plantas de col (**Figura 1.24C**). De manera similar, en plantas de durazno (*Prunus persica* L.) se probaron aplicaciones con diferentes formulaciones conteniendo Fe y en todos los casos resultaron en un aumento de la concentración de clorofilas; estos resultados sin embargo dependieron de la fuente de Fe utilizada (Fernández *et al.*, 2008). Por su parte, Borowski y Michalek (2011) registraron un aumento significativo en el contenido de clorofilas *a+b* y de carotenoides en plantas de frijol francés o ejote (*Phaseolus vulgaris*) debido a la fertilización foliar con Fe suministrado a partir de sales inorgánicas.

Efecto principal de Se en el contenido de clorofila *a* en vástago. El efecto de dos aspersiones foliares de Se en acelga a una concentración de 10 mg L⁻¹ incrementó significativamente el contenido de clorofila *a*; mientras que después de cuatro aplicaciones, el contenido de clorofila *a* fue estadísticamente mayor al resto de los tratamientos cuando las plantas de acelga fueron tratadas con la dosis alta de Se que fue de 20 mg L⁻¹ (**Figura 1.25A**). De la misma manera, en espinaca la concentración baja de Se incrementó significativamente el contenido de clorofila después de dos aspersiones foliares (**Figura 1.25B**).

Así también en col, fue evidente el efecto positivo de la aspersion foliar de Se en dos y cuatro ocasiones, en el contenido de clorofila *a* (**Figura 1.25C**).

Hartikainen *et al.* (2000) mencionan que dosis de Se de 1 mg kg⁻¹ de suelo incrementó en pasto (*Lolium perenne*) la concentración de clorofila; misma que disminuyó cuando la dosis de Se incrementó a 10 mg kg⁻¹ de suelo. Lo anterior concuerda con lo descrito por Yao *et al.* (2009) quienes en plantas de trigo expuestas a estrés por sequía, obtuvieron

un incremento en la biomasa vegetal y en el contenido de clorofilas *a*, *b* y total con la aplicación de Se a dosis de 1, 2 y 3 mg kg⁻¹ de suelo.

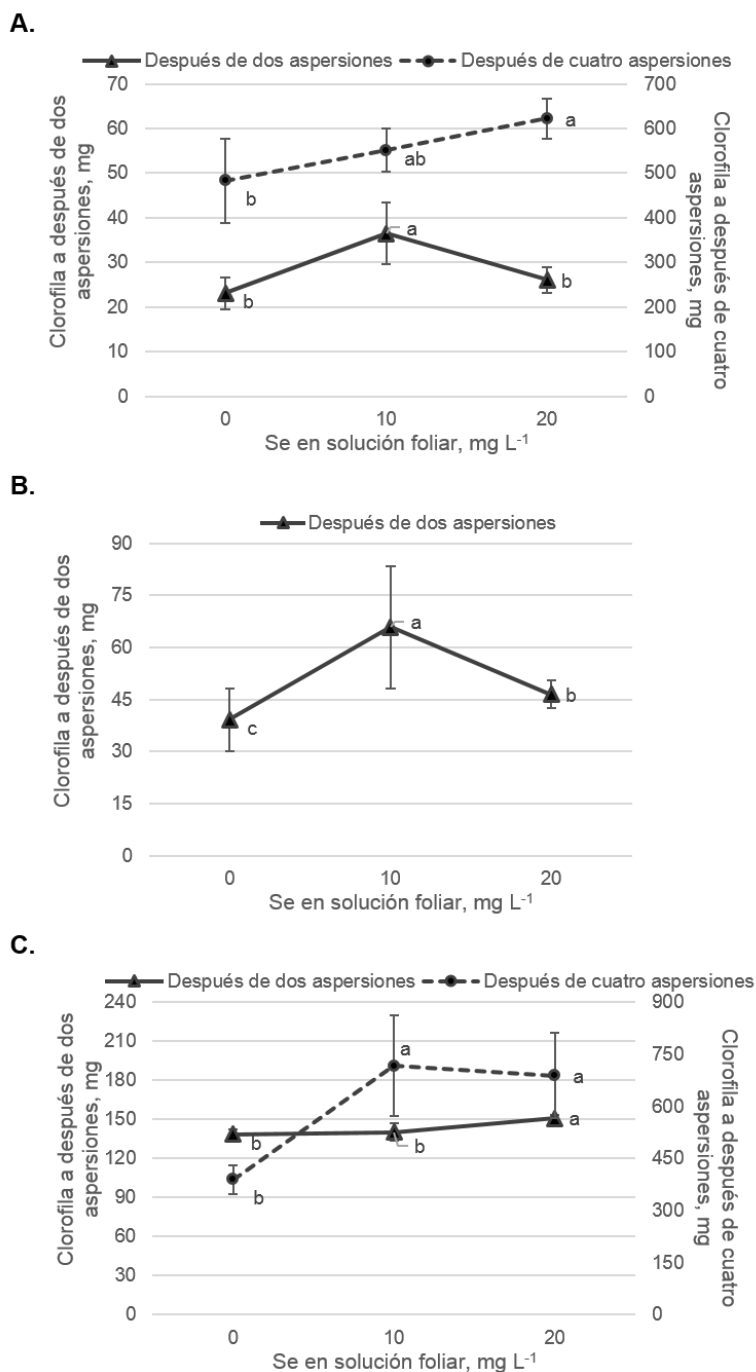


Figura 1.25 Efecto principal del Se en el contenido de clorofila *a* en vástagos de acelga (A), col (B) y espinaca (C) después de dos y cuatro aspersiones foliares. Medias ± DE con letras distintas en cada subfigura y para cada variable indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

Efecto de la interacción Fe x Se en el contenido de clorofila a. Al igual que en el análisis del efecto principal de Fe, se observa en la interacción de los factores de estudio la reducción en el contenido de clorofila *a* en acelga ocasionada por la aplicación de Fe en dos ocasiones; por el contrario, la concentración baja de Se (10 mg L^{-1}), ya sea en ausencia de Fe o con la dosis baja de éste (2500 mg L^{-1}) se tiene el mayor contenido de clorofila *a* en acelga (**Figura 1.26A**). En espinaca después de dos aspersiones foliares, la tendencia observada es similar a la de acelga; es decir, el Fe reduce significativamente en esta especie el contenido de clorofila *a*; y el Se de manera general en dosis baja, incrementa el contenido de clorofila *a* (**Figura 1.26B**). En col se observa de manera clara, que en ausencia de Fe, independientemente del nivel de Se suministrado, se incrementa significativamente el contenido de clorofila *a* (**Figura 1.26C**).

Diversos estudios otorgan al Se efectos benéficos sobre el desarrollo de las plantas, crecimiento vegetal, disminución del daño oxidativos inducido por radiación UV, aumento de la concentración de clorofilas en plantas estresadas por radiación e incremento en la actividad antioxidante se plantas senescentes (Yao *et al.*, 2009). Por otro lado, a pesar de que el Fe es esencial en los procesos de síntesis de clorofilas las cuales forman parte del aparato fotosintético de las plantas (Nishio *et al.*, 1985; Zocchi *et al.*, 2007); en los resultados aquí obtenidos no hay relación positiva entre producción de clorofila *a* y la concentración de Fe.

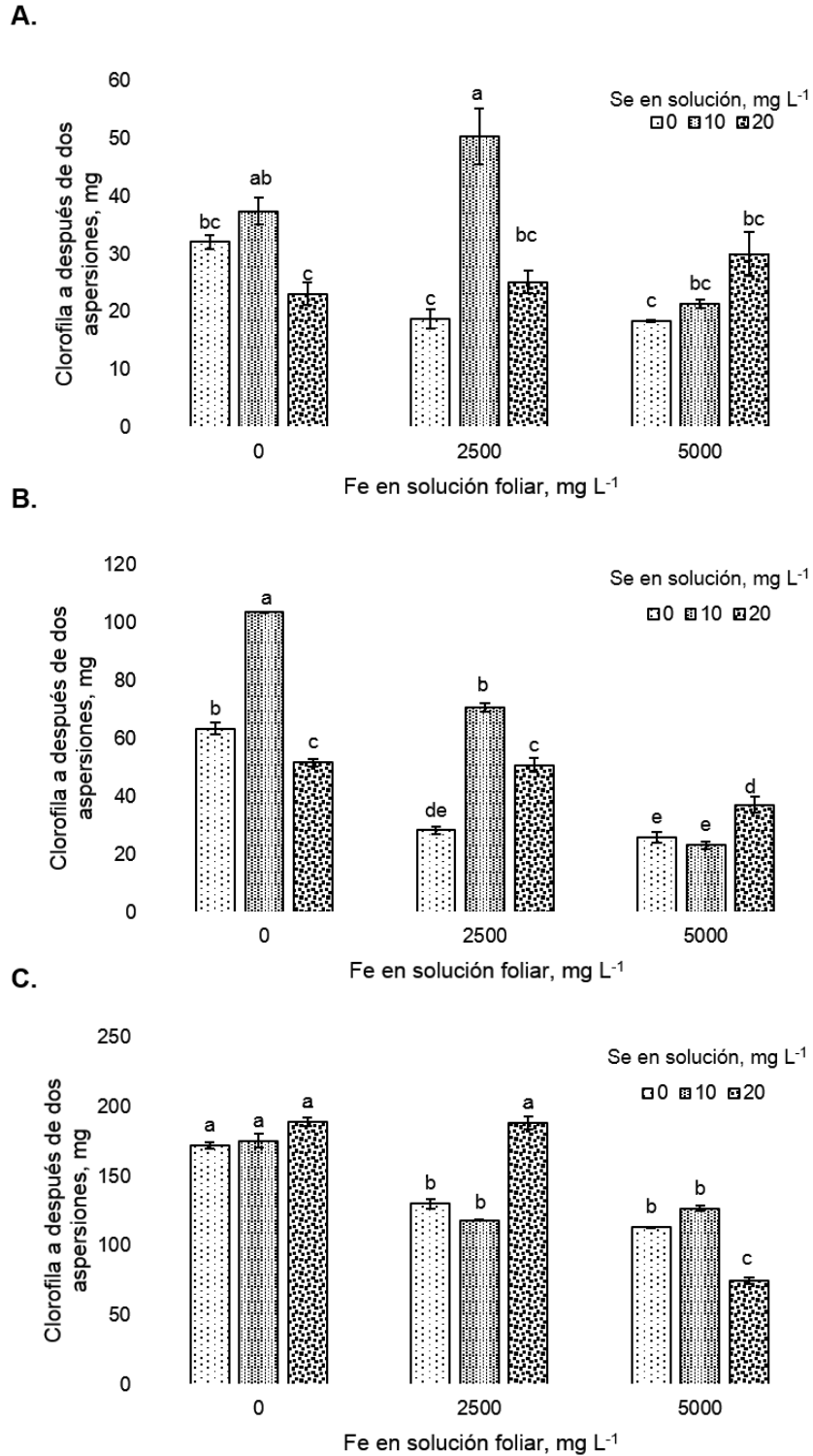
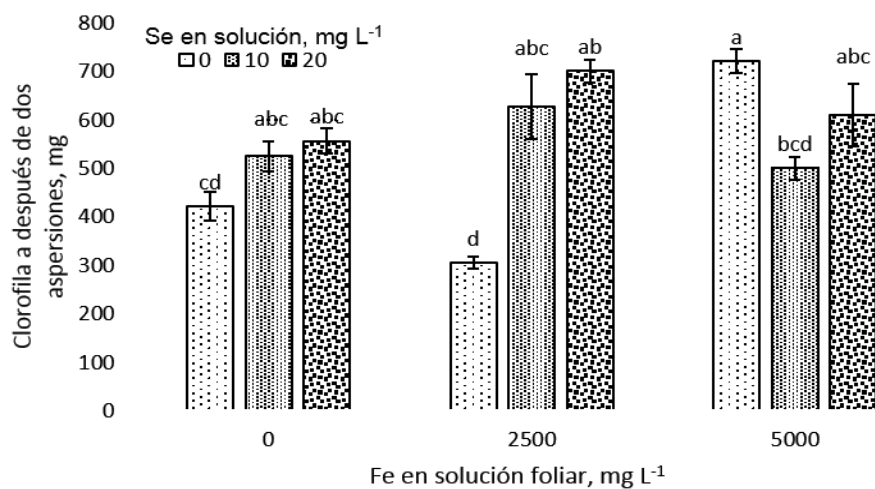


Figura 1.26 Efecto de la interacción de Fe y Se en el contenido de clorofila a en vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de dos aspersiones foliares. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

Después de cuatro aplicaciones foliares las tendencias en acelga fueron distintas; es decir, la media más alta es registrada con la dosis más alta de Fe en combinación con la ausencia de Se; empero este tratamiento no es estadísticamente diferente al que consiste en alta dosis de Fe y alta dosis de Se, así como a los tratamientos con baja y media concentración de Se en combinación con ausencia de Fe y la dosis baja de Fe (**Figura 1.27A**). En col después de cuatro aplicaciones foliares, hubo efecto positivo de la ausencia de Fe y de las dos dosis de Se en el contenido de clorofila a (**Figura 1.27B**).

A.



B.

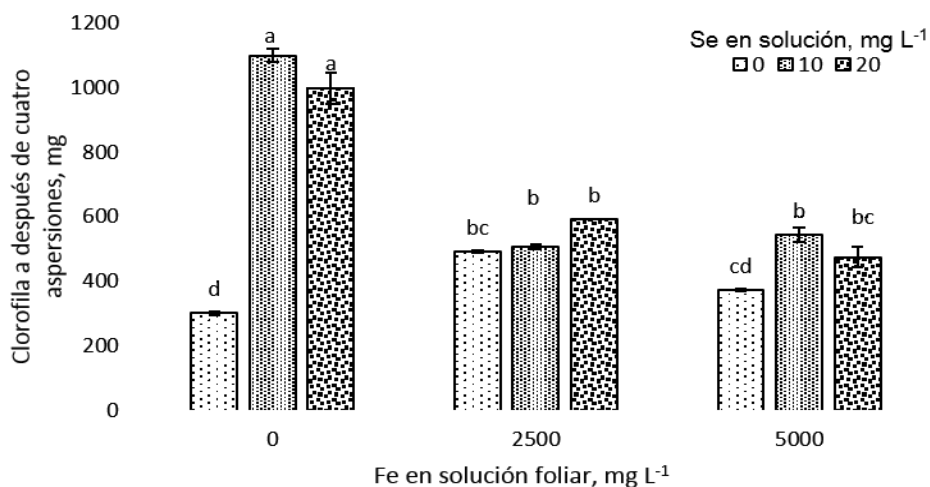


Figura 1.27 Efecto de la interacción de Fe y Se en el contenido de clorofila a en vástagos de acelga (A) y col (B) después de cuatro aspersiones foliares. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

1.3.8 Contenido de clorofila *b* en vástago

Los resultados del análisis estadístico mostraron que solo el efecto principal del Se en el cultivo de espinaca no fue significativo en el contenido de clorofila *b* (**Cuadro 1.11**).

Cuadro 1.11 Significancia estadística de factores de estudio y su interacción en el contenido de clorofila *b* en vástagos de acelga, espinaca y col, después de dos y cuatro aplicaciones foliares.

Fuente de Variación	Acelga		Espinaca		Col	
	Número de aspersiones foliares realizadas					
	Dos	Cuatro	Dos	Dos	Cuatro	
Fe	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *
Se	<.0001 *	<.0001 *	0.0587 ns	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *
Fe x Se	<.0001 *	<.0001 *	0.0002 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *
CV	8.46	4.67	23.40	7.39		12.45

* Significativo (Tukey, $P \leq 0.05$); ns no significativo

Efecto principal del Fe en el contenido de clorofila *b* en vástago. En acelga, por efecto principal del Fe, solo la concentración 2500 mg L⁻¹ aumentó significativamente el contenido de clorofila *b* evaluada después de dos aplicaciones foliares. Después de cuatro aplicaciones, se observó incrementos significativos en el contenido de clorofila *b* a medida que se aumentó la dosis de Fe en la solución foliar (**Figura 1.28A**). En espinaca y col por el contrario, la concentración de Fe se relacionó de manera negativa con el contenido de clorofila *b* (**Figuras 1.28B y 1.28C**); lo anterior después de dos aspersiones para el caso de espinaca y para dos y cuatro aspersiones para col.

De modo similar a lo observado después de cuatro aspersiones foliares en acelga, [Pestana et al. \(2006\)](#) mencionan que aplicaciones de Fe como sulfato a concentraciones de 500 mg L⁻¹ incrementaron la concentración de clorofila en árboles de naranja. De la misma manera, en un experimento para determinar el efecto de la aplicación foliar de Fe en plantas de espinaca establecidas en un suelo contaminado, la sola adición de Fe promovió un aumento en diversas características de crecimiento y pigmentos vegetales tales como clorofila *a* y *b* ([Abu et al., 2011](#)).

Por otra parte, existen estudios que muestran que dependiendo la dosis y la especie, el Fe puede provocar una disminución en la concentración de clorofilas. En plantas de lechuga, que fueron cosechadas después de siete y catorce semanas, [Xue et al. \(2001\)](#) revelaron que dosis bajas de Se (0.1 mg kg⁻¹ de suelo) estimularon el crecimiento en

plantas senescentes; sin embargo, promovieron la disminución en la concentración de clorofila total (Xue *et al.*, 2001).

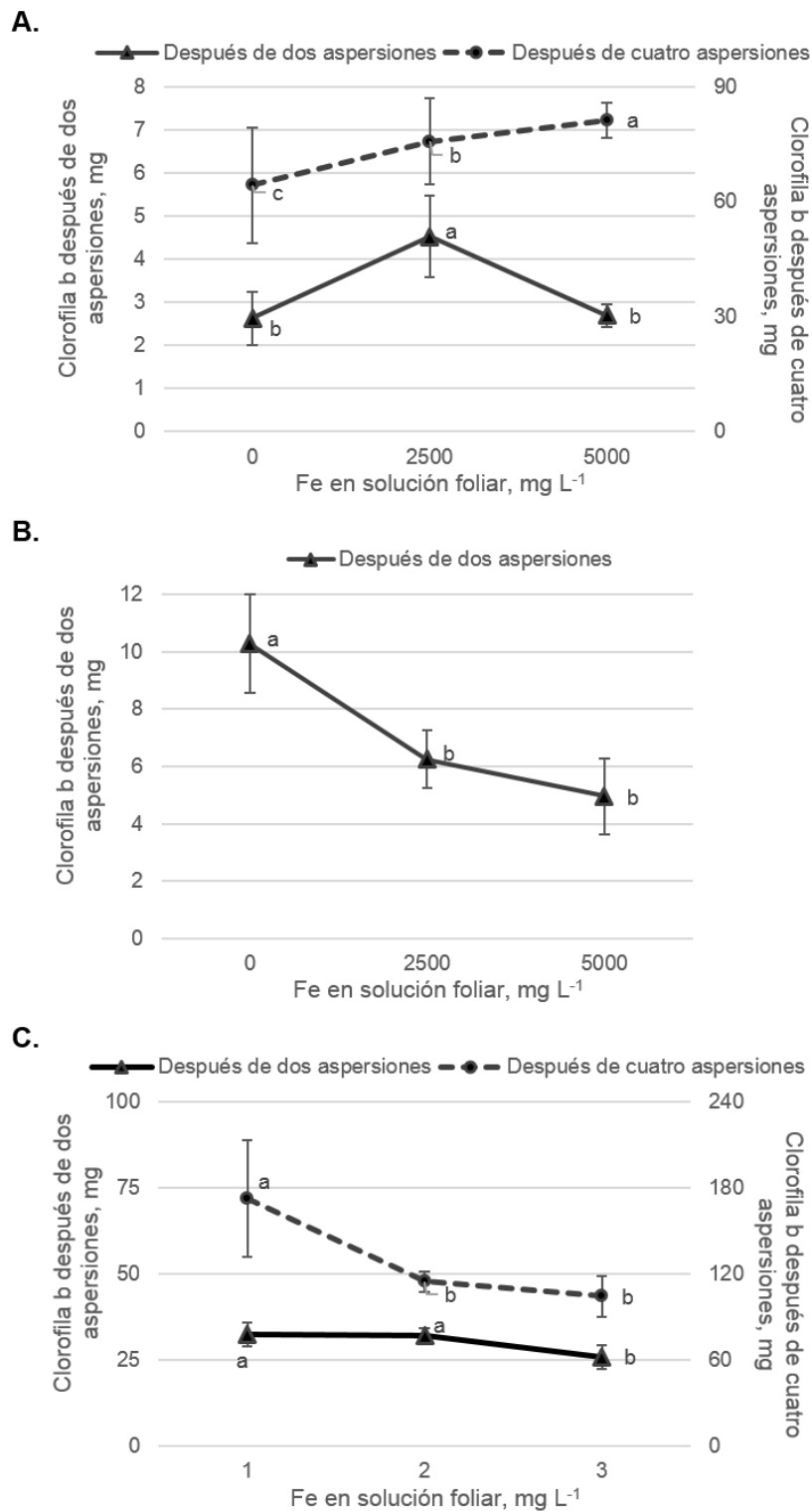


Figura 1.28 Efecto principal del Fe en el contenido de clorofila *b* en vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de dos y cuatro aspersiones foliares. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura y para cada variable indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

Efecto principal de Se en el contenido de clorofila b en vástago. La presente investigación mostró que el Se en acelga redujo el contenido de clorofila *b* cuando se aplicó a concentraciones de 20 mg L⁻¹ en dos ocasiones; por el contrario, después de cuatro aspersiones, el Se incrementó significativamente el contenido de clorofila *b* (**Figura 1.29A**). En espinaca, el factor Se no afectó de manera significativa el contenido de clorofila *b*, después de dos aplicaciones (**Figura 1.29B**). En col, el Se a dosis de 10 mg L⁻¹ aumentó significativamente el contenido de clorofila *b* después de dos aspersiones; después de cuatro aspersiones el contenido de clorofila *b* en col incrementó significativamente con cualquiera de las concentraciones de Se aplicadas (**Figura 1.29C**).

Una acumulación anormal de radicales libres o especies reactivas de oxígeno y sus derivados pueden provocar reacciones en cadena que causan daños a biomoléculas tales como las clorofilas, proteínas, lípidos y ácidos nucleicos, y promueven la senescencia y muerte celular (Xue *et al.*, 2001; Hartikainen *et al.*, 2000). Xue *et al.* (2001) reportan que en bajas concentraciones, el Se actúa como un antioxidante y puede estimular el crecimiento vegetal, mientras que en concentraciones altas actúa como un prooxidante, reduciendo el rendimiento y provocando daños a diversas biomoléculas.

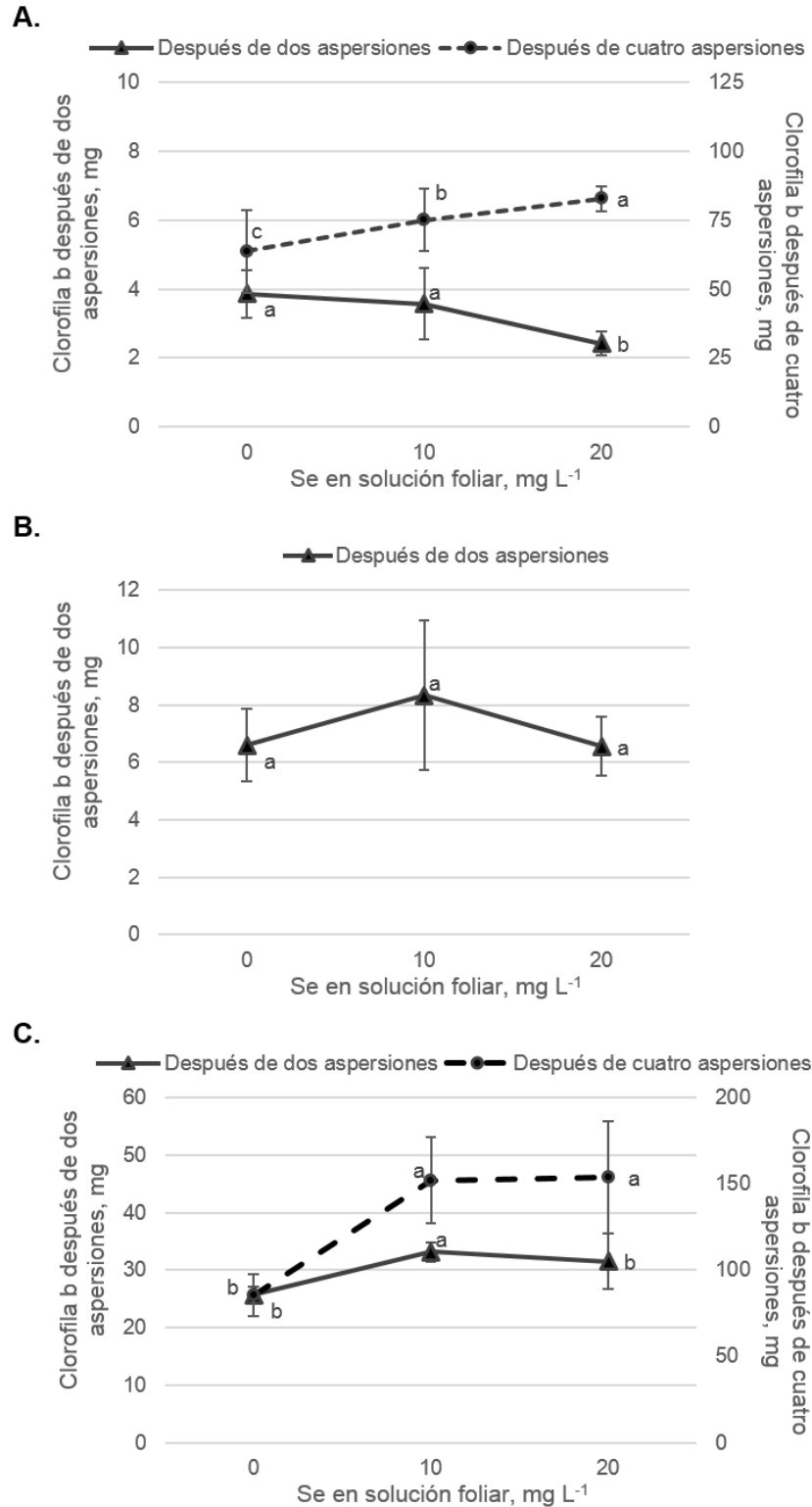


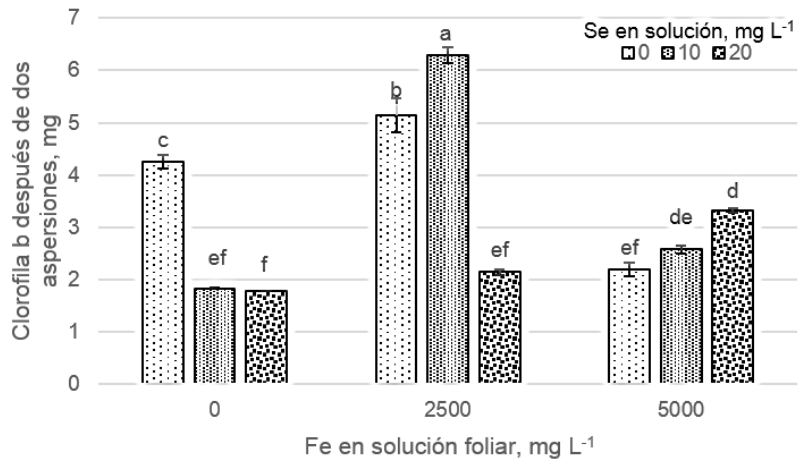
Figura 1.29 Efecto principal del Se en el contenido de clorofila *b* en vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de dos y cuatro aspersiones foliares. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura y para cada variable indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

Efecto de la interacción Fe x Se en el contenido de clorofila b en vástago. Después de dos aplicaciones foliares se observó en acelga que la adición de Se en ausencia de Fe disminuyó significativamente el contenido de clorofila *b*; mientras que hubo un efecto positivo del Se en el contenido de clorofila *b* solo cuando se aplicó la dosis más alta de Fe (5000 mg L⁻¹). Así también, la adición de Fe a una concentración de 2500 mg L⁻¹ en combinación con Se a dosis de 10 mg L⁻¹ incrementó el contenido de clorofila *b* en acelga después de dos aspersiones foliares (**Figura 1.30A**). El contenido de clorofila *b* en plantas de espinaca, se vio aumentado con el tratamiento con Se a dosis de 10 mg L⁻¹ sin la aplicación de Fe, además esta respuesta también aumentó por la aplicación de Se en cualquiera de las dosis evaluadas cuando se combinó con 2500 mg L⁻¹ de Fe; el Se provocó menor contenido de clorofila *b* en el tejido vegetal a dosis de 5000 mg L⁻¹ de Fe (**Figura 1.30B**). En el cultivo de col después de dos aspersiones foliares, en general se observó que, el contenido de clorofila *b* fue mayor con la aplicación de Se, independientemente del nivel de Fe evaluado (**Figura 1.30C**).

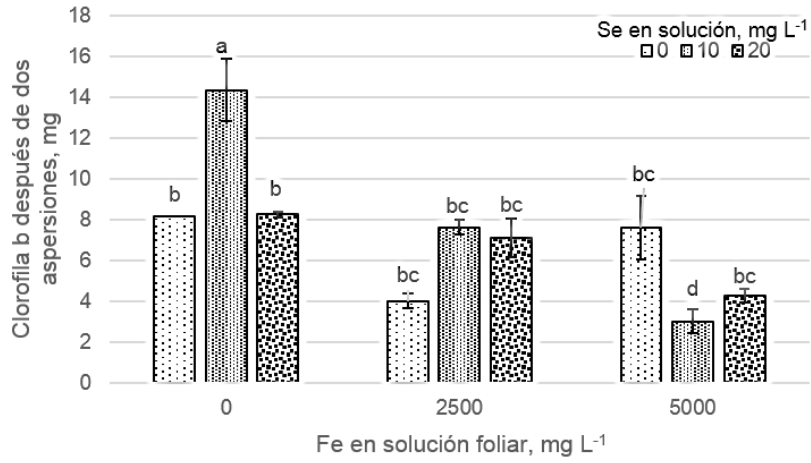
Después de cuatro aspersiones foliares el contenido de clorofila *b* en acelga se vio incrementado con dosis de Se de 20 mg L⁻¹ sin la adición de Fe y en el tratamiento resultante de la combinación de las dosis de Se y Fe de 10 mg L⁻¹ y 2500 mg L⁻¹, respectivamente, y con la adición de Se en cualquiera de las dosis trabajadas con 5000 mg L⁻¹ de Fe (**Figura 1.31A**). En col, se obtuvo también el mayor contenido de clorofila *b* con aplicación de Se y sin la adición de Fe; es decir, el contenido de clorofila *b* disminuyó con cualquiera de las concentraciones de Fe aplicadas (**Figura 1.31B**).

El hierro es un elemento considerado esencial en procesos de biosíntesis de clorofilas por lo que una baja concentración de este elemento puede inducir una disminución en la concentración de clorofila. En este sentido, [Zocchi et al. \(2007\)](#) encontraron una dramática disminución en el contenido de clorofila en plantas de soya deficientes de Fe. [Yao et al. \(2009\)](#) obtuvieron incrementos en la concentración de clorofila *b* con la aplicación de 1, 2 y 3 mg kg⁻¹ de Se.

A.



B.



C.

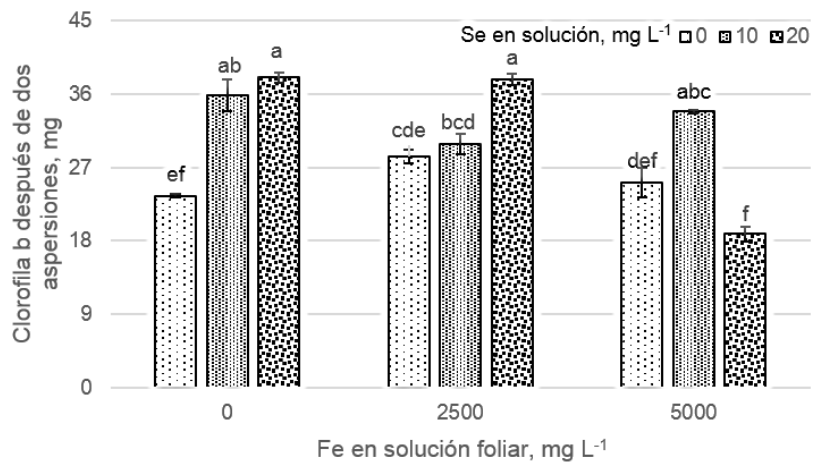


Figura 1.30 Efecto de la interacción de Fe y Se en el contenido de clorofila *b* en vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de dos aspersiones foliares. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

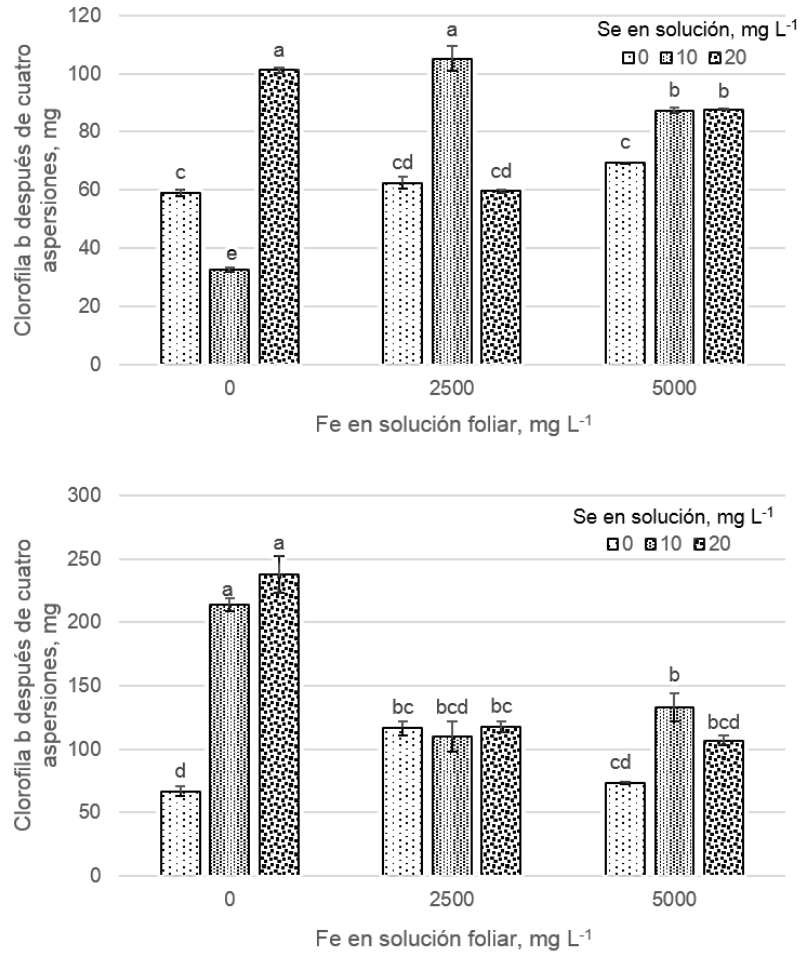


Figura 1.31 Efecto de la interacción de Fe y Se en el contenido de clorofila *b* en vástagos de acelga (A) y col (B) después de cuatro aspersiones foliares. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

1.3.9 Contenido de clorofila total en vástago

El contenido de clorofila total en vástagos fue significativamente afectada por los factores de estudio Fe y Se, así también por la interacción de éstos (**Cuadro 1.12**).

Cuadro 1.12 Significancia estadística de factores de estudio y su interacción en el contenido de clorofila total en vástagos de acelga, espinaca y col, después de dos y cuatro aplicaciones foliares.

Fuente de Variación	Acelga		Espinaca		Col
	Número de aspersiones foliares realizadas				
	Dos	Cuatro	Dos	Dos	Cuatro
Fe	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	0.0001 *	<.0001 *
Se	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *
Fe x Se	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *
CV	6.64	3.37	7.24	4.04	7.51

* Significativo (Tukey, $P \leq 0.05$); ns no significativo

Efecto principal de Fe en el contenido de clorofila total. Después de dos aspersiones foliares un mayor contenido de clorofilas totales se observó en acelga cuando el Fe se aplicó a dosis de 2500 mg L⁻¹; mientras que después de cuatro aplicaciones en esta misma especie se observó mayor contenido de clorofila total a mayor concentración de Fe. Por el contrario, en espinaca y col se obtuvo menor contenido de clorofila total conforme aumentó la dosis de Fe aplicada tanto en dos como en cuatro ocasiones (**Cuadro 1.13**).

Cuadro 1.13 Efectos principales de los factores Fe y Se, y su interacción en el contenido de clorofila total (mg) en vástagos de acelga, espinaca y col, después de dos y cuatro aspersiones foliares.

Fe, mg L ⁻¹	Se, mg L ⁻¹	Acelga		Espinaca		Col	
		Número de aspersiones foliares realizadas					
		Dos	Cuatro	Dos	Dos	Cuatro	
0	0	36.3±1.2 c	515.9±1.3 e	71.6±2.0bc	195.7±2.2 b	368.1±8.3 d	
	10	18.9±0.8 f	352.5±0.8 f	118.0±1.3 a	211.3±6.3 ab	1311.4±25.1 a	
	20	20.2±0.2 f	850.6±1.1a	59.9±1.1cd	227.3±3.0 a	1235.7±63.2 a	
2500	0	45.2±0.5 b	623.3±2.6 cd	32.3±.1.5ef	158.7±4.5 c	608.3±7.5 b	
	10	51.4±0.2 a	656.4±9.8 c	78.4±1.8 b	148.2±1.4 cd	617.5±15.9 b	
	20	23.5±0.1 def	534.2±7.3 e	57.9±2.9 d	226.4±4.1 a	708.9±4.9 b	
5000	0	23.2±1.0 ef	595.5±3.6 d	33.5±2.9ef	138.4±1.9 d	446.5±4.6 cd	
	10	27.8±2.0 de	761.7±2.4 b	26.2±1.7f	160.5±1.8 c	677.8±20.1 b	
	20	29.1±1.1 d	630.9±28.0cd	41.3±2.6 e	93.5±3.3 e	581.7±35.7bc	

Fe, mg L ⁻¹	Acelga		Espinaca		Col	
	Número de aspersiones foliares realizadas					
	Dos	Cuatro	Dos	Dos	Cuatro	
0	25.16±4.26 b	573.00±109.9 c	83.2±13.4 a	211.4±7.8a	971.7±229.5 a	
2500	40.05±6.34 a	604.62±28.0 b	56.17±10.2 b	177.8±18.6b	644.9±24.8 b	
5000	26.70±1.84 b	662.71±40.5 a	33.66±3.9 c	130.8±14.9 c	568.7±57.4 c	

Se, mg L ⁻¹	Acelga		Espinaca		Col	
	Número de aspersiones foliares realizadas					
	Dos	Cuatro	Dos	Dos	Cuatro	
0	34.92±4.85 a	578.21±24.2 b	45.78±9.9 c	164.3±12.9 c	474.3±53.4 b	
10	32.70±7.35 a	590.22±92.1 b	74.19±20.0 a	173.3±14.9 b	868.9±167.4 a	
20	24.25±2.06 a	671.90±71.7 a	53.03±4.9 b	182.4±33.5 a	842.1±154.5 a	

Medias ± DE con letras distintas en cada columna y factor de estudio, son estadísticamente diferentes (Tukey, $P \leq 0.05$).

El hierro es considerado un oligoelemento esencial para todos los organismos vivos incluyendo las plantas, ya que es un elemento de transición que toma parte fundamental en procesos biológicos de óxido-reducción, tal como la respiración, la fotosíntesis y la biosíntesis de clorofila (Zocchi *et al.*, 2007). Sin embargo, algunas investigaciones refieren que en algunos casos, el Fe presente en el tejido foliar no se encuentra directamente relacionado con la formación de pigmentos fotosintéticos. Así mismo,

Mohammad *et al.* (1998) observaron que la concentración de Fe total fue siempre más alta en hojas cloróticas comparado con hojas verdes y esta concentración no estuvo relacionada con el grado de clorosis. En este sentido, Cataldo *et al.* (1988) mencionan que el Fe puede encontrarse presente en forma no reactiva (Fe^{3+}), el cual no es fácilmente usado en reacciones de fotosíntesis y de formación pigmentos fotosintéticos.

Efecto principal del Se en el contenido de clorofilas totales en vástago. El factor Se no tuvo efecto en el contenido de clorofila total después de dos aplicaciones foliares en acelga; por el contrario en espinaca, cuando se adicionó Se a dosis de 10 mg L^{-1} en dos ocasiones, se incrementó el contenido de clorofilas totales. En col después de dos aplicaciones foliares de Se, se observan incremento en las clorofilas totales a medida que la concentración de Se en la solución foliar se aumenta (**Cuadro 1.13**).

Por otro lado, después de cuatro aplicaciones foliares se obtuvo mayor contenido de clorofila total en acelga cuando el Se fue aplicado a dosis de 20 mg L^{-1} en acelga; mientras que en col ambas dosis de Se estudiadas, incrementaron significativamente el contenido de clorofilas totales (**Cuadro 1.13**).

Seppänen *et al.* (2003) concluyeron que el Se es un antioxidante o bien activa mecanismos protectores, los cuales pueden aliviar el estrés oxidativo en los cloroplastos, lo que puede favorecer un incremento en el contenido de clorofila en el tejido foliar.

Efecto de la interacción Fe x Se en el contenido de clorofilas totales en v. Por efecto de la interacción Fe x Se después de dos aplicaciones, hubo mayor contenido de clorofila total en acelga a dosis de Fe y Se de 2500 mg L^{-1} y 10 mg L^{-1} respectivamente; mientras que en espinaca con la ausencia de Fe y concentración de Se de 10 mg L^{-1} se obtuvo esta misma respuesta. En el caso de col después de dos aspersiones foliares, el mayor contenido de clorofila total se registró en los tratamientos sin Fe y con las dos dosis de Se evaluadas, así como en el tratamiento consistente en las concentraciones de Fe y Se de 2500 y 20 mg L^{-1} , respectivamente (**Cuadro 1.13**).

En acelga cuatro aspersiones vía foliar, con Se a razón de 20 mg L^{-1} sin Fe produjo la mayor contenido de clorofilas totales. En col, los tratamientos sin Fe y con alguna de las

dosis de Se suministradas ocasionaron el más alto contenido de clorofila total (**Cuadro 1.13**).

En este sentido, se ha reportado que en bajas concentraciones, el Se actúa como un antioxidante promoviendo el crecimiento vegetal y reduciendo el estrés oxidativo que puede favorecer un incremento en la concentración de clorofila (Xue *et al.*, 2001; Seppänen *et al.*, 2003).

Como se mencionó anteriormente, existen investigaciones en las que se afirma que el Fe en el tejido foliar puede no encontrarse directamente relacionado con la formación de pigmentos (Mohammad *et al.*, 1998; Cataldo *et al.*, 1988). Contrario a lo anterior, Nishio *et al.* (1985) mencionan que la adición de Fe promueve un incremento en la concentración de clorofila total en plantas deficientes de este elemento. Ellos propusieron que el Fe actúa mediante dos distintas fases del desarrollo de cloroplastos mediados por la nutrición con Fe: a) la síntesis de algunos de los componentes de la matriz lipídica de la membrana de los tilacoides, incluyendo un completo funcionamiento del sistema de transporte de electrones (y fotosintético), y b) la formación de proteínas tilacoidales, incluyendo las proteínas clorofílicas del complejo cosechador de luz.

1.3.10 Contenido de aminoácidos en vástago

El análisis estadístico mostró efectos significativos de los factores de estudio y de su interacción en la variable contenido de aminoácidos en vástagos de los cultivos de acelga, espinaca y col después de dos y cuatro aspersiones foliares (**Cuadro 1.14**).

Cuadro 1.14 Significancia estadística de factores de estudio y su interacción en la variable contenido de aminoácidos libres en vástagos de acelga, espinaca y col, después de dos y cuatro aplicaciones foliares.

Fuente de Variación	Acelga		Espinaca		Col	
	Número de aspersiones foliares realizadas					
	Dos	Cuatro	Dos	Dos	Cuatro	
Fe	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	0.0012 *	<.0001 *	
Se	<.0001 *	<.0001 *	0.0019 *	<.0001 *	<.0001 *	
Fe x Se	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	0.0110 *	<.0001 *	
CV	6.81	8.04	9.40	31.82	2.97	

* Significativo (Tukey, $P \leq 0.05$)

Efecto principal del Fe en el contenido de aminoácidos en vástago. En acelga después de dos aplicaciones se registró incremento significativo en el contenido de

aminoácidos cuando las plantas fueron tratadas con Fe a una concentración de 2500 mg L⁻¹; mientras que después de cuatro aspersiones, se observa que una relación positiva entre los contenidos de aminoácidos y la dosis de Fe adicionada (**Figura 1.32A**). En plantas de espinaca también es evidente el efecto positivo del Fe en el contenido de aminoácidos, siendo el tratamiento testigo (sin Fe) significativamente menor al resto de los tratamientos (**Figura 1.32B**). El cultivo de col mostró respuestas distintas a las de acelga y espinaca; dado que la adición foliar de Fe tanto en dos como en cuatro ocasiones, redujo significativamente el contenido de aminoácidos (**Figura 1.32C**).

El Fe es un elemento que promueve la actividad de aminoácidos como histidina y metionina que derivan nicotianamina y que están involucrados en el transporte y solubilidad de este elemento. La nicotianamina es considerada un aminoácido proteinogénico el cual es capaz de unir varios metales diferentes incluyendo hierro ferroso y férrico ([Schuler y Bauer, 2012](#)).

Resultados similares a los observados en acelga y espinaca en la presente investigación fueron obtenidos por [Jin et al. \(2008\)](#) quienes probaron aplicaciones de diferentes formulaciones de Fe con aminoácidos, B y Zn, registrando un aumento en la concentración de proteínas y aminoácidos en un 30.9 y 37% en el grano de plantas de arroz. En las plantas, ácidos orgánicos como citrato y malato, el aminoácido histidina y la metionina específicamente de plantas que derivan nicotianamina, están principalmente involucrados en el transporte y solubilidad del Fe. La nicotianamina es un aminoácido proteinogénico el cual es capaz de unir varios metales diferentes incluyendo hierro ferroso y férrico ([Schuler y Bauer, 2012](#)).

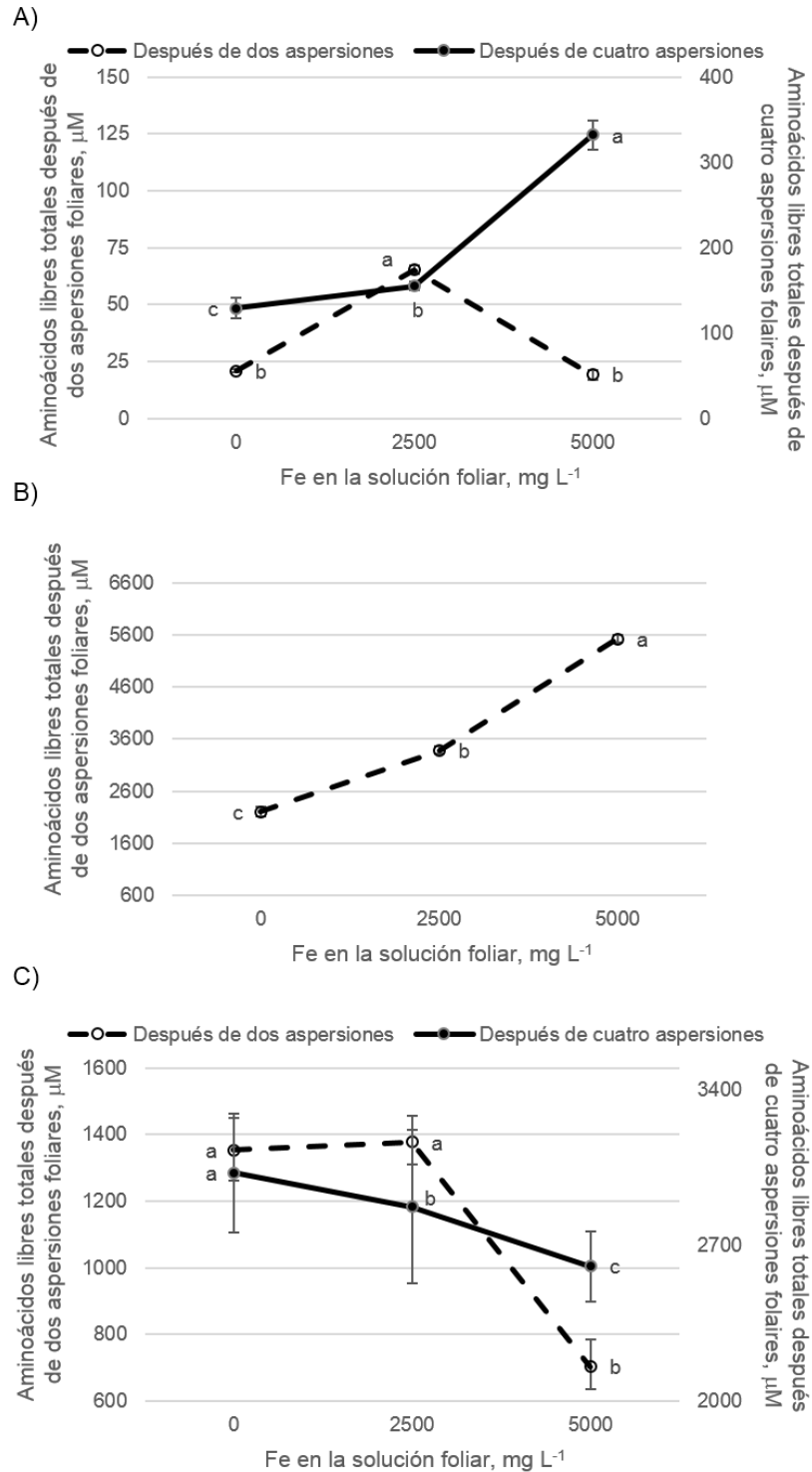


Figura 1.32 Efecto principal del Fe en el contenido de aminoácidos libres en vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de dos y cuatro aspersiones foliares. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura y para cada variable indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

Efecto principal del Se en el contenido de aminoácidos en vástago. En acelga se observan respuestas opuestas a la aplicación de Se después de dos y cuatro aspersiones foliares. En la primera evaluación (dos aspersiones foliares) se observó disminución significativa en el contenido de aminoácidos por efecto de Se; por el contrario, después de cuatro aspersiones, el contenido de aminoácidos se relacionó en forma positiva con la dosis de Se suministrada (**Figura 1.33A**). En col, el Se redujo significativamente el contenido de aminoácidos después de dos aspersiones foliares (**Figura 1.33B**). El cultivo de col mantuvo una tendencia similar de acumulación de aminoácidos en relación al tratamiento con Se en ambas evaluaciones; donde es evidente el efecto positivo que el Se tuvo sobre el contenido en vástagos de aminoácidos (**Figura 1.33C**). En este contexto, [Ríos \(2008\)](#) encontró un incremento en la concentración de aminoácidos y proteínas debido a la aplicación de selenito y selenato en plantas de lechuga. Por otro lado, [Guo y Wu \(1997\)](#) observaron un aumento de hasta cinco veces en la concentración de selenocisteína cuando la concentración de Se en el tejido vegetal fue de 5.07 a 22 mg kg⁻¹ de materia seca; sin embargo, se obtuvo solo un ligero aumento en la concentración de selenocisteína cuando la concentración de Se total incrementó de 22 a 117 mg kg⁻¹ de materia seca y la selenometionina constituyó más del 50% del total de selenoaminoácidos en la planta.

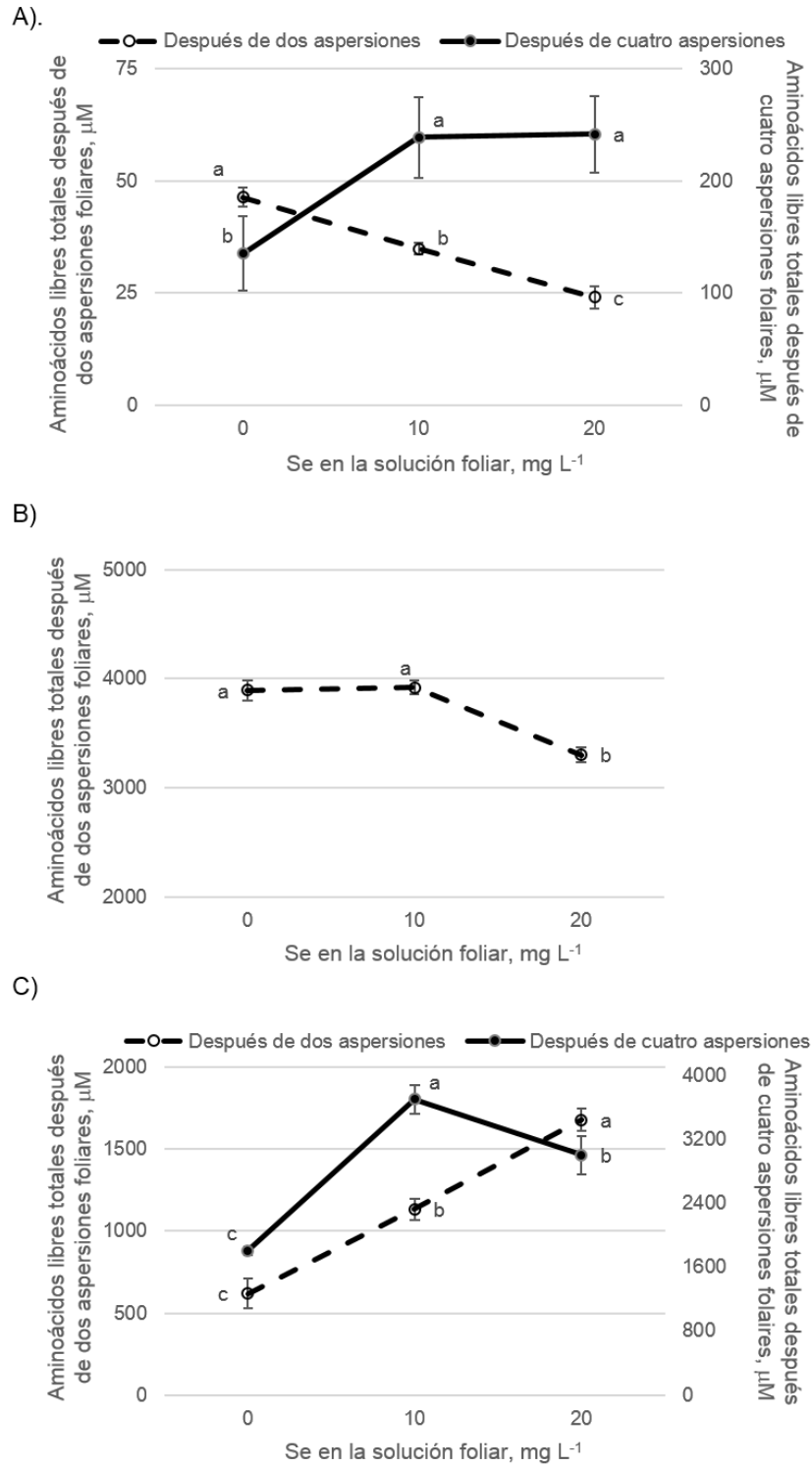


Figura 1.33 Efecto principal del Se en el contenido de aminoácidos libres en vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de dos y cuatro aspersiones foliares. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura y para cada variable indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

Efecto de la interacción Fe x Se en el contenido de aminoácidos en vástago. De manera coincidente en acelga y espinaca, después de dos aplicaciones foliares se observa que la ausencia de Se con adición de Fe ocasiona incremento significativo en el contenido de aminoácidos; en el caso de acelga con la dosis de Fe 2500 mg L⁻¹ y en espinaca con 5000 mg L⁻¹ (**Figuras 1.34A y 1.34B**). En col, se observó un incremento en el contenido de aminoácidos cuando se adicionó Se en la dosis alta (20 mg L⁻¹) ya sea en ausencia de Fe o con la dosis baja de este elemento (2500 mg L⁻¹) (**Figura 1.34C**).

El incremento en el contenido de aminoácidos, según [Ellis y Salt \(2003\)](#) se debe a que el Se en las plantas, es asimilado vía la ruta de asimilación del S, una vez absorbido, el selenio como selenato es convertido en selenito para su posterior reducción en la producción de selenoaminoácidos, tal como selenocisteína y selenometionina. Después, se puede dar una integración no específica de los selenoaminoácidos como selenocisteína y selenometionina en proteínas ([Sors et al., 2005](#)).

Uno de los parámetros que pueden ayudar a explicar la influencia del selenito y el selenato sobre la asimilación del S es la concentración de aminoácidos y proteínas solubles, dado que la formación de cisteína y su posterior transformación en metionina e incorporación a proteínas es un proceso importante en la regulación del metabolismo del S ([Leustek y Saito, 1999](#)).

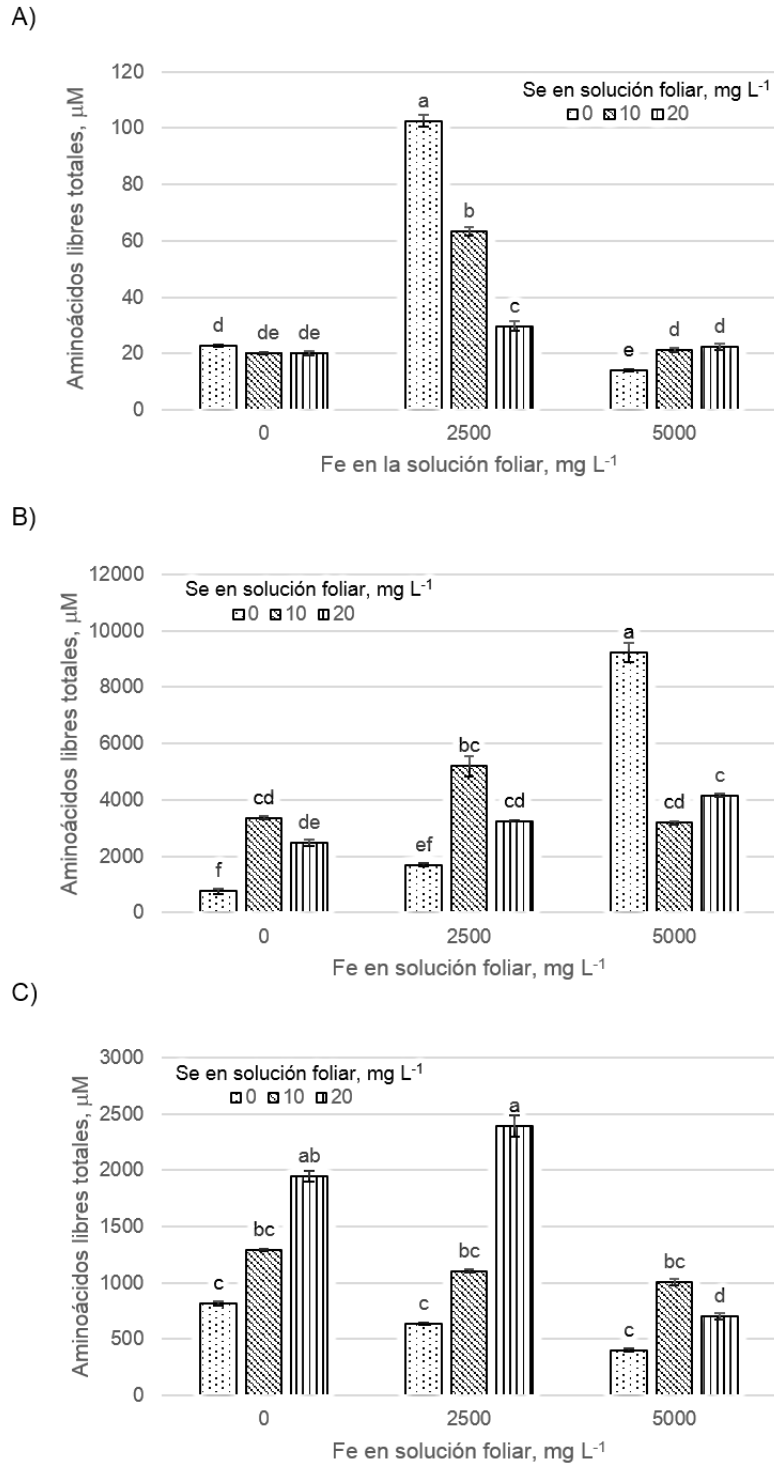
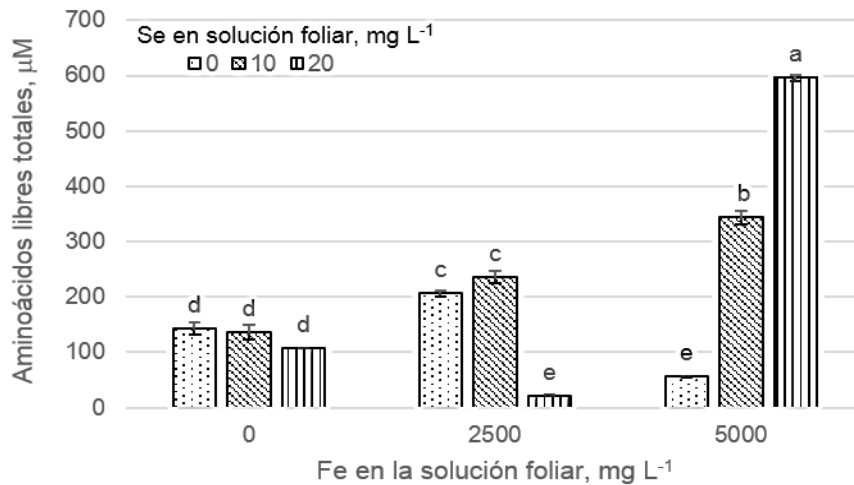


Figura 1.34 Efecto de la interacción de Fe y Se en el contenido de aminoácidos libres totales en vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de dos aspersiones foliares. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

Después de cuatro aspersiones foliares en acelga se obtuvo el mayor contenido de aminoácidos cuando se trataron las plantas con las dosis más altas tanto de Fe como de Se. Es importante destacar que en ausencia de Fe no hay efecto de adición de Se en esta especie (**Figura 1.35A**). En col, la dosis alta de Fe y la media de Se produjeron el mayor contenido de aminoácidos; en ausencia de Fe y en la dosis baja de este elemento, es evidente la relación positiva de los niveles de Se con el contenido de aminoácidos (**Figura 1.35B**).

A)



B)

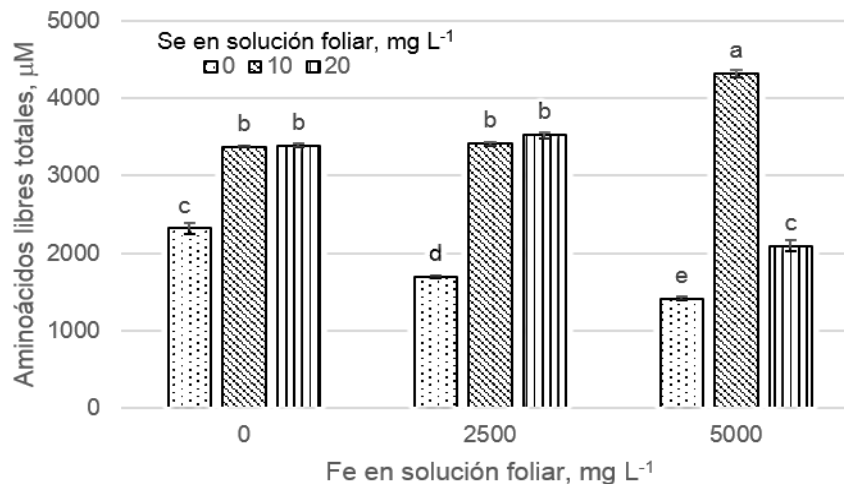


Figura 1.35 Efecto de la interacción de Fe y Se en el contenido de aminoácidos libres totales en vástagos de acelga (A) y col (B) después de cuatro aspersiones foliares. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

1.3.11. Contenido de proteínas solubles totales en vástago

Los resultados del análisis estadístico indican un efecto significativo en ambas fechas de evaluación realizadas (dos y cuatro aspersiones foliares) por efecto de los factores Fe, Se y la interacción Fe x Se en plantas de acelga, espinaca y col para el contenido de proteínas solubles totales (**Cuadro 1.15**).

Cuadro 1.15 Significancia estadística de factores de estudio y su interacción en la variable contenido de proteínas solubles totales en vástagos de acelga, espinaca y col, después de dos y cuatro aplicaciones foliares.

Fuente de Variación	Acelga		Espinaca	Col	
	Número de aspersiones foliares realizadas				
	Dos	Cuatro	Dos	Dos	Cuatro
Fe	<.0001 *	<.0001 *	0.0051 *	0.0013 *	<.0001 *
Se	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *
Fe x Se	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *
CV	12.26	5.94	11.78	10.60	8.33

* Significativo (Tukey, $P \leq 0.05$).

Efecto principal del Fe en el contenido de proteína en vástago. En el primer muestreo (después de dos aspersiones foliares), se observó en plantas de acelga un aumento en el contenido de proteínas solubles totales por efecto de la aplicación de Fe, la cual fue más alta a dosis de 2500 mg L^{-1} de Fe. En el segundo muestreo (después de cuatro aspersiones foliares) en acelga se tuvo un marcado aumento en el contenido de proteínas solo a dosis de 2500 mg L^{-1} (**Figura 1.36A**). Por otra parte, en plantas de espinaca la adición de Fe en cualquiera de las dosis en estudio disminuyó el contenido de proteínas en el tejido foliar (**Figura 1.36B**). En plantas de col, después de dos aplicaciones foliares con Fe se registró un incremento en el contenido de proteínas solo a dosis de 5000 mg L^{-1} ; mientras que después de cuatro aplicaciones, la dosis de Fe de 2500 mg L^{-1} incrementó de manera significativa el contenido de proteínas (**Figura 1.36C**).

Es importante destacar que dos aspersiones foliares de Fe en el cultivo de espinaca (**Figura 1.36B**) condujeron a una disminución en el contenido de nitrógeno, lo cual condujo también a una disminución síntesis de proteínas. Al respecto, [Nowak et al. \(2004\)](#), mencionan que cuando las enzimas NR y NiR, disminuyen su actividad, se ve afectado el metabolismo del N en general, lo cual conduce a una disminución en la cantidad de productos finales como las proteínas. Por su parte, [Laulhere et al. \(1995\)](#)

mencionan que altos niveles de Fe^{2+} libre son responsables de la generación de radicales oxígeno que forman radicales hidroxilo, los cuales son extremadamente perjudiciales para casi cualquier molécula biológica, incluyendo las proteínas.

Lo obtenido en la presente investigación en col, coincide con lo encontrado por [Jin *et al.* \(2008\)](#) quienes con aplicaciones foliares de un complejo de Fe (1000 mg L^{-1} como FeSO_4 y 4000 mg L^{-1} de aminoácidos) incrementaron la concentración de proteínas en un 30.9% y aminoácidos en un 37.0%, sin embargo, la dosis aplicada en la presente investigación fue mayor a la utilizada por estos autores.

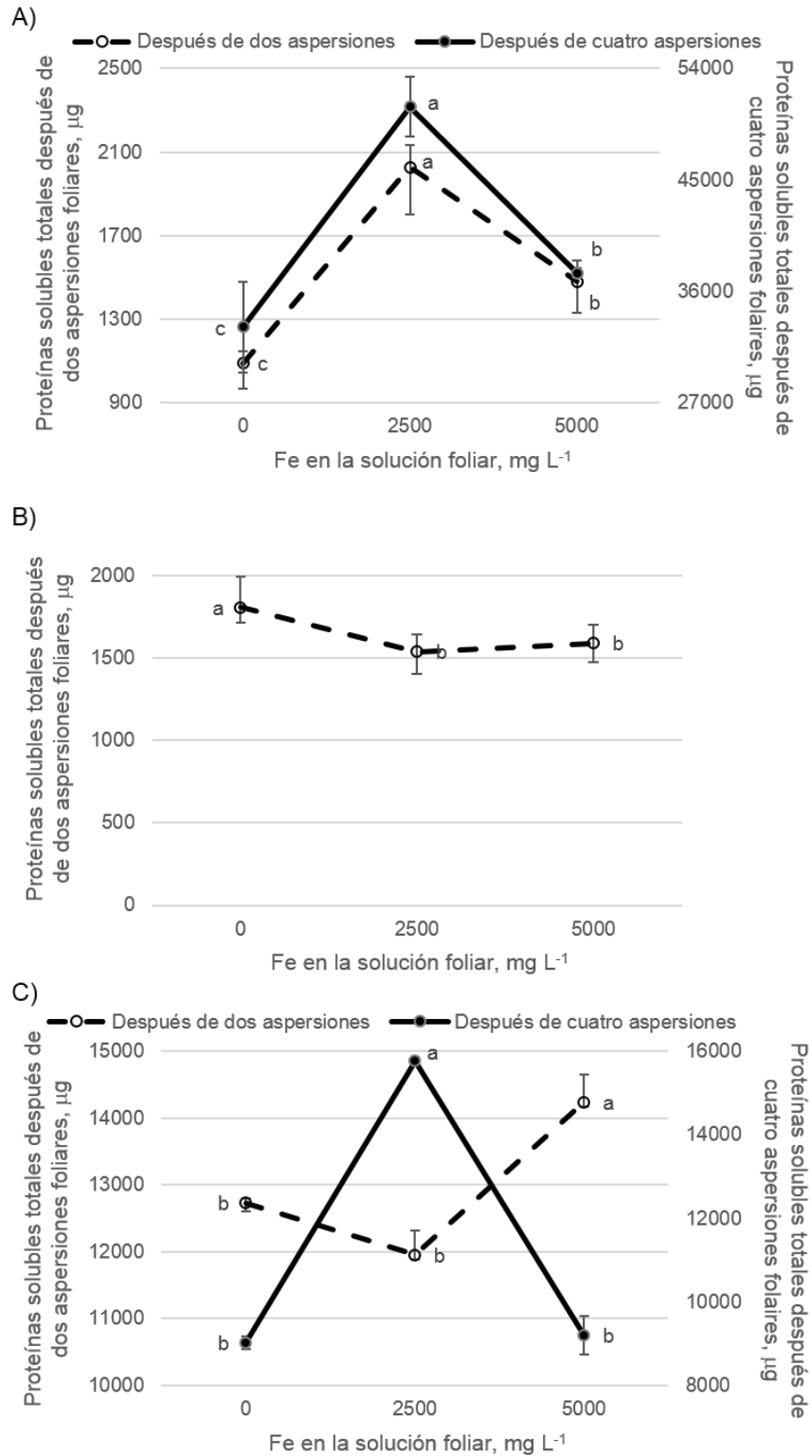


Figura 1.36 Efecto principal del Fe en el contenido de proteínas solubles totales en vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de dos y cuatro aspersiones foliares. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura y para cada variable indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

Efecto del Se en el contenido de proteínas en vástago. Se ha demostrado que el Se suministrado como selenato es transformado *in planta* en Se orgánico, al ser incorporado en biomoléculas, en cloroplastos, siguiendo la ruta metabólica del azufre (S), donde la cisteína es el producto final en la asimilación del S para la posterior formación de metionina e incorporación a proteínas u otros compuestos organosulfurados (White *et al.*, 2004). De manera similar, el Se siguiendo la ruta de asimilación del S, tiene como producto final la formación de Se-cisteína que después es incorporada en Se-metionina y finalmente en proteínas.

De manera general, la dosis baja de Se evaluada (10 mg L^{-1}) incrementó significativamente el contenido de proteínas en acelga después de cuatro aspersiones. Destaca que después de dos aspersiones foliares, los resultados con esta concentración no fueron estadísticamente diferentes al testigo (**Figura 1.37A**). En espinaca, después de dos aplicaciones foliares, de la misma manera que en acelga, con la dosis baja de Se se registró el mayor contenido de proteínas (**Figura 1.37B**). En el caso de col, la adición de 10 mg L^{-1} de Se, no fue estadísticamente diferente del testigo, sin embargo, a 20 mg L^{-1} se obtuvo una reducción en el contenido de proteínas (**Figura 1.37C**).

En canola (*Brassica napus*) y nabo (*Brassica rapa*), se concluye que la biofortificación agronómica con Se vía follaje y raíz, mejora la calidad nutritiva de estas especies por el incremento en la fracción proteica y en la cantidad de Se-metionina que ocasiona (Seppänen *et al.*, 2010); en la presente investigación se pudo observar esta respuesta con bajo suministro de Se. De la misma manera, Munshi *et al.* (1990) reportaron que aplicaciones de selenito (SeO_3^{2-}) incrementaron el contenido de proteína en tubérculos de papa (*Solanum tuberosum* L.) y redujeron el contenido de aminoácidos libres. Por su parte, Turakainen *et al.* (2004) reportaron que la mayoría del Se en tubérculos de papa (*Solanum tuberosum* L.) forma parte de la fracción de proteína (49-65%) y que la concentración es más baja que en hojas. Asimismo, Cuderman *et al.* (2008) reportaron que 30% del total de Se contenido en tubérculos de papa se encuentra como constituyente de proteínas.

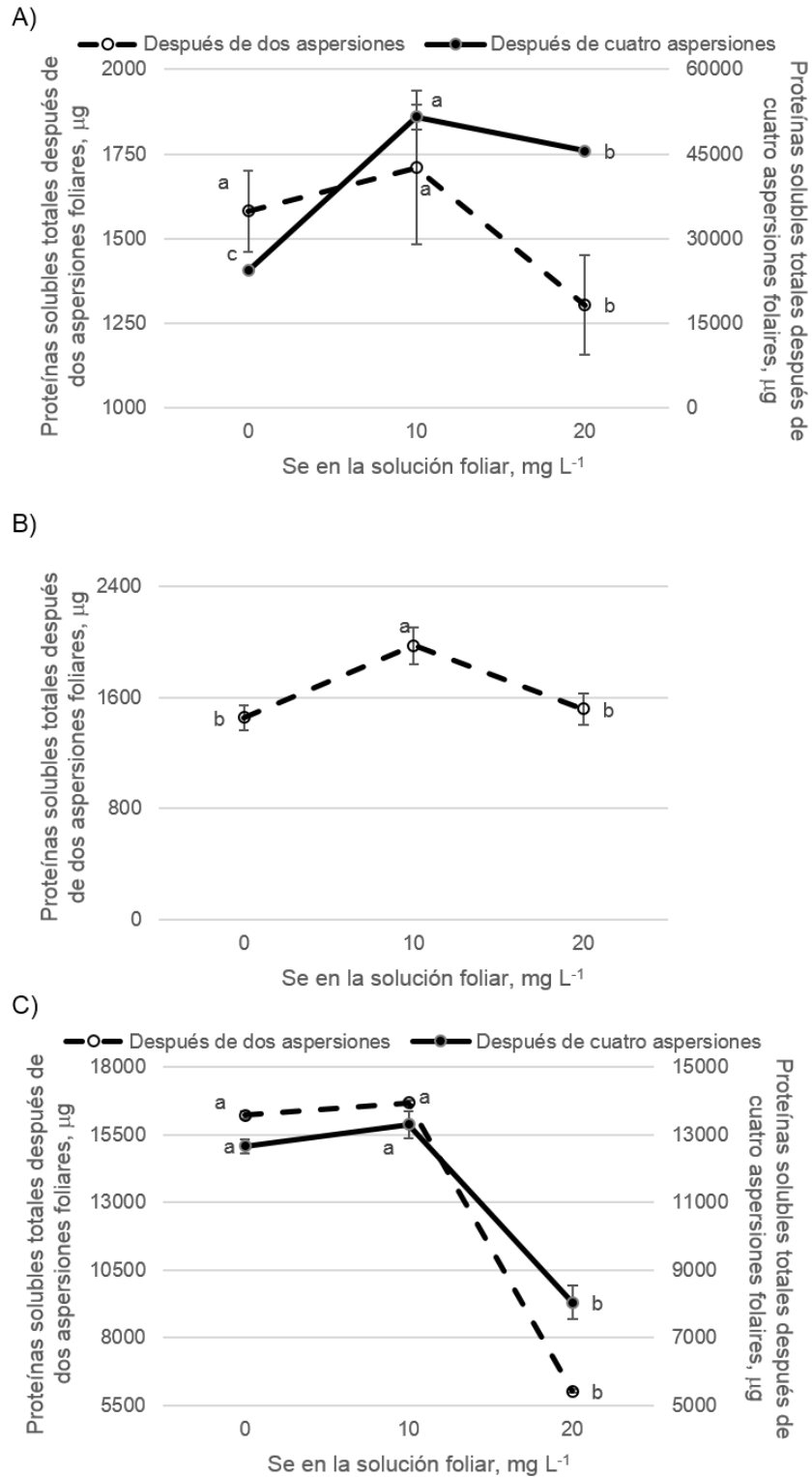


Figura 1.37 Efecto principal del Se en el contenido de proteínas solubles totales en vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de dos y cuatro aspersiones foliares. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura y para cada variable indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

Efecto de la interacción Fe x Se en el contenido de proteínas en vástago. La evaluación realizada en el primer muestreo mostró que la aplicación de Se en acelga disminuyó el contenido de proteínas cuando no se aplicó Fe. El mayor contenido de proteínas en esta especie se tuvo con las concentraciones bajas de Fe y Se (2500 y 10 mg L⁻¹, respectivamente) (**Figura 1.38A**). También, en el cultivo de espinaca, dosis de 10 mg L⁻¹ de Se y menores o iguales 2500 mg L⁻¹ de Fe estimularon una mayor acumulación de proteínas para este cultivo después de dos aspersiones (**Figura 1.38B**). Para col, se registraron incrementos en el contenido de proteínas conforme la dosis de Fe aumentó, pero se observó una disminución del contenido de proteínas cuando la dosis de Fe aplicada fue combinada con dosis de 20 mg L⁻¹ de Se (**Figura 1.38C**).

Después de cuatro aspersiones foliares en acelga se observó la misma tendencia que en la primera evaluación; es decir, el mayor contenido de proteínas se registró con las dosis bajas evaluadas tanto de Fe como de Se. Sin Fe y con la dosis más alta (5000 mg L⁻¹) se observan los efectos positivos de la adición de Se en el contenido de proteínas en acelga después de cuatro asperisones foliares (**Figura 1.39A**). Para col, la aplicación de Se incrementó el contenido de proteínas solo cuando no se adicionó Fe; por el contrario, la aplicación de Se redujo el contenido de proteínas en cada nivel de Fe asperjado (**Figura 1.39B**).

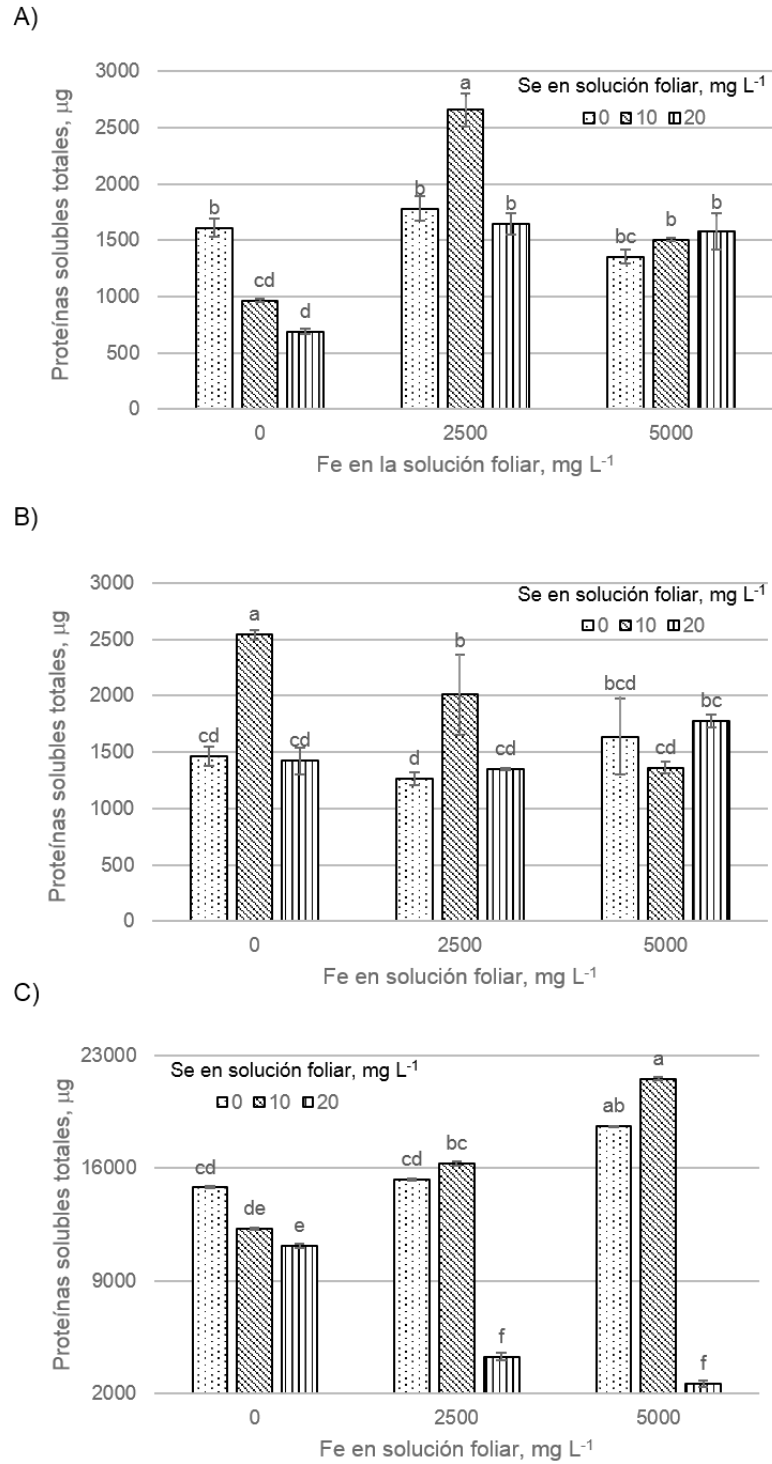


Figura 1.38 Efecto de la interacción de Fe y Se en el contenido de proteínas solubles totales en vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de dos aspersiones foliares. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

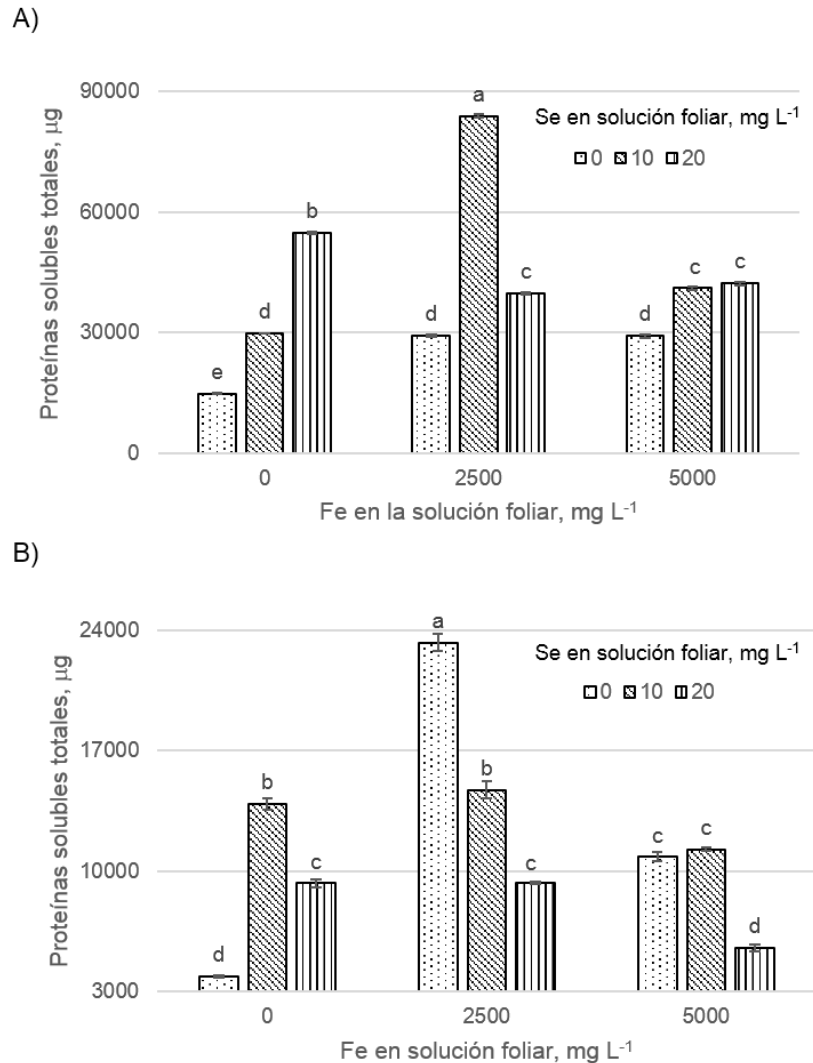


Figura 1.39 Efecto de la interacción de Fe y Se en el contenido de proteínas solubles totales en vástagos de acelga (A) y col (B) después de cuatro aspersiones foliares. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

Según [Droux \(2004\)](#) el Se puede inducir también síntesis y acumulación de cisteína que es utilizada para la formación de compuestos organosulfurados no protéicos, entre los que se encuentran vitaminas, cofactores y biomoléculas antioxidantes importantes como el glutatión. El glutatión tiene una función importante en la defensa y protección de la célula y protege a las proteínas de la desnaturalización causada durante el estrés ([Noctor et al., 2002](#)). Por el contrario, [Aslam et al. \(1990\)](#) reportaron influencia negativa del Se tanto a nivel de absorción de NO_3^- , como de inhibición de la enzima NR. En este mismo sentido, estudios más recientes, muestran que cuando las enzimas NR y NiR disminuyen su actividad, se ve afectado el metabolismo del N en general, ya que una

disminución en la reducción de NO_3^- implica una menor actividad de las enzimas de ciclo GS/GOGAT y por consiguiente una disminución en la cantidad de productos finales como aminoácidos y proteínas, que además va a dar lugar a una reducción en el crecimiento de la planta (Nowak *et al.*, 2004).

1.3.12 Contenido de azúcares totales en vástago

El contenido de azúcares totales en los cultivos de acelga, espinaca y col fue afectado significativamente por los factores Fe, Se y la interacción de ambos, en evaluaciones que se realizaron después de dos y cuatro aspersiones foliares como se muestra en Cuadro 1.16.

Cuadro 1.16 Significancia estadística de factores de estudio y su interacción en la variable contenido de azúcares totales en vástagos de acelga, espinaca y col, después de dos y cuatro aplicaciones foliares.

Fuente de Variación	Acelga		Espinaca		Col	
	Número de aspersiones foliares realizadas					
	Dos	Cuatro	Dos	Dos	Cuatro	
Fe	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	0.0003 *	
Se	<.0001 *	<0.001*	<.0001 *	0.0487 *	0.0003 *	
Fe x Se	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	0.0068 *	0.0125 *	
CV	5.96	6.33	7.07	19.08	15.45	

* Significativo (Tukey, $P \leq 0.05$); ns no significativo

Efecto principal del Fe en el contenido de azúcares en vástago. Las plantas verdes sintetizan los carbohidratos durante la fotosíntesis (Mc Murry, 2012). Las plantas realizan fotosíntesis a tasas que les permitan asegurar el suministro de carbohidratos suficientes para completar su ciclo de vida. El contenido de azúcares está muy relacionado con la interacción de procesos de síntesis y degradación de la sacarosa (Zhu *et al.*, 1997). Varios pasos en metabolismo de pigmentos fotosintéticos y ultraestructura de cloroplastos son dependientes de hierro, lo cual lo hace un elemento importante para el metabolismo de los carbohidratos (Jean *et al.*, 2007).

En acelga, después de dos aplicaciones foliares se observó que el Fe en la más alta dosis evaluada (5000 mg L^{-1}) redujo de manera significativa el contenido de azúcares en vástago. El efecto negativo de la adición de Fe en el contenido de azúcares se mantuvo después de la aplicación de cuatro aspersiones (Figura 1.40A). En espinaca el tratamiento foliar con Fe también ocasionó una reducción significativa del contenido de

azúcares (**Figura 1.40B**). En col después de dos y cuatro aspersiones foliares, se observaron relaciones negativas entre el contenido de azúcares y la dosis de Fe aplicada (**Figura 1.40C**).

Contrario a los resultados anteriores, [Majerus et al. \(2007\)](#) en plantas de arroz africano (*Oryza glaberrima*) con diferente adaptación al estrés por hierro y cultivadas en condiciones hidropónicas durante dos semanas a dosis de 0, 250 y 500 mg L⁻¹ de Fe, observaron que estas plantas incrementaron su concentración de prolina y azúcares solubles por efecto de la adición de Fe en solución nutritiva.

El hierro es un oligo-elemento esencial para todos los organismos vivos incluyendo las plantas, ya que es un elemento de transición, toma parte fundamental en procesos biológicos de óxido-reducción, tal como la respiración, la fotosíntesis y la biosíntesis de clorofila ([Zocchi et al., 2007](#)). En este sentido, [Zhu et al. \(1997\)](#) mencionan que las plantas realizan fotosíntesis a tasas que les permitan asegurar el suministro de carbohidratos suficientes para completar su ciclo de vida, por lo que una suficiente provisión de Fe será fundamental para obtener un contenido adecuado de azúcares solubles en el tejido vegetal.

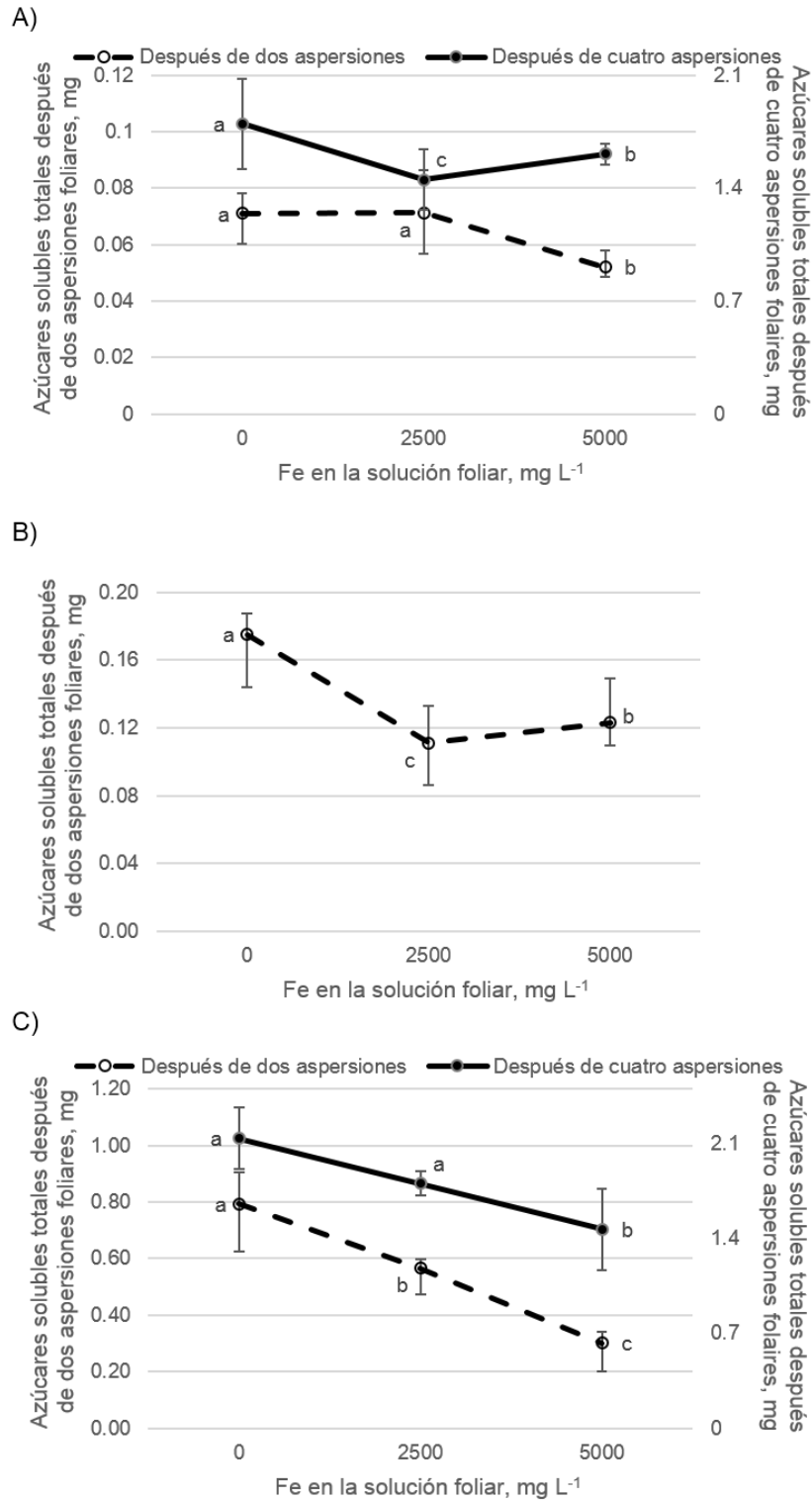


Figura 1.40 Efecto principal del Fe en el contenido de azúcares solubles totales en vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de dos y cuatro aspersiones foliares. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura y para cada variable indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

Efecto principal del Se en el contenido de azúcares en vástago. Cada vez hay más evidencia que indica una importante influencia del Se en el crecimiento y calidad de las plantas (Tian *et al.*, 2005). Si bien el Se no es un elemento esencial para el crecimiento vegetal, su efecto benéfico en el metabolismo de carbohidratos y crecimiento, incluyendo su función de resistencia al estrés han sido mostrados recientemente (Turakainen *et al.*, 2004).

En acelga y espinaca, se observó un comportamiento similar por efecto del Se en el contenido de azúcares después de dos aspersiones foliares, donde solo se muestra una menor acumulación a dosis de 20 mg L⁻¹ de Se (**Figuras 1.41A y 1.41B**). En plantas de col después de dos aspersiones foliares el Se a dosis de 20 mg L⁻¹ redujo significativamente el contenido de azúcares (**Figura 1.41C**).

Después de cuatro aplicaciones foliares, por efecto de factor Se en el cultivo de acelga, hubo un menor contenido de azúcares con el tratamiento de 10 mg L⁻¹, el cual incrementó nuevamente a dosis de 20 mg L⁻¹; empero, este último tratamiento no fue estadísticamente diferente al testigo (**Figura 1.42A**). Para col, la dosis de Se de 20 mg L⁻¹ redujo significativamente el contenido de azúcares y la dosis baja de este elemento no produjo contenidos diferentes estadísticamente al testigo (**Figura 1.42B**).

Por el contrario, Hu *et al.* (2003) observaron un aumento en aroma y azúcares en hojas de té verde por efecto de la aplicación foliar de Se, además de una reducción en lo amargo de esta planta. Por otra parte, en plantas de papa tratadas con Se, Ferri *et al.* (2007) estimaron un 2.7% más de azúcares en forma de almidón que en plantas en la que no se aplicó. Se ha reportado que la aplicación de selenito (SeO₃⁻²) incrementa la concentración de glucosa en hojas de frijol (*Phaseolus vulgaris*), y aumenta el crecimiento de la planta; así como la concentración de azúcares solubles y de cafeína en hojas de café (Turakainen *et al.*, 2004). Además, en plantas de catarantus (*Catharanthus roseus*) creciendo en medios deficientes de Se y con un contenido bajo de carbohidratos y alcaloides, la adición de Se restauró e incrementó la capacidad de las células para acumular estos compuestos, efectos que fueron dependientes de la forma y la cantidad de Se aplicado (Arvy *et al.*, 2008).

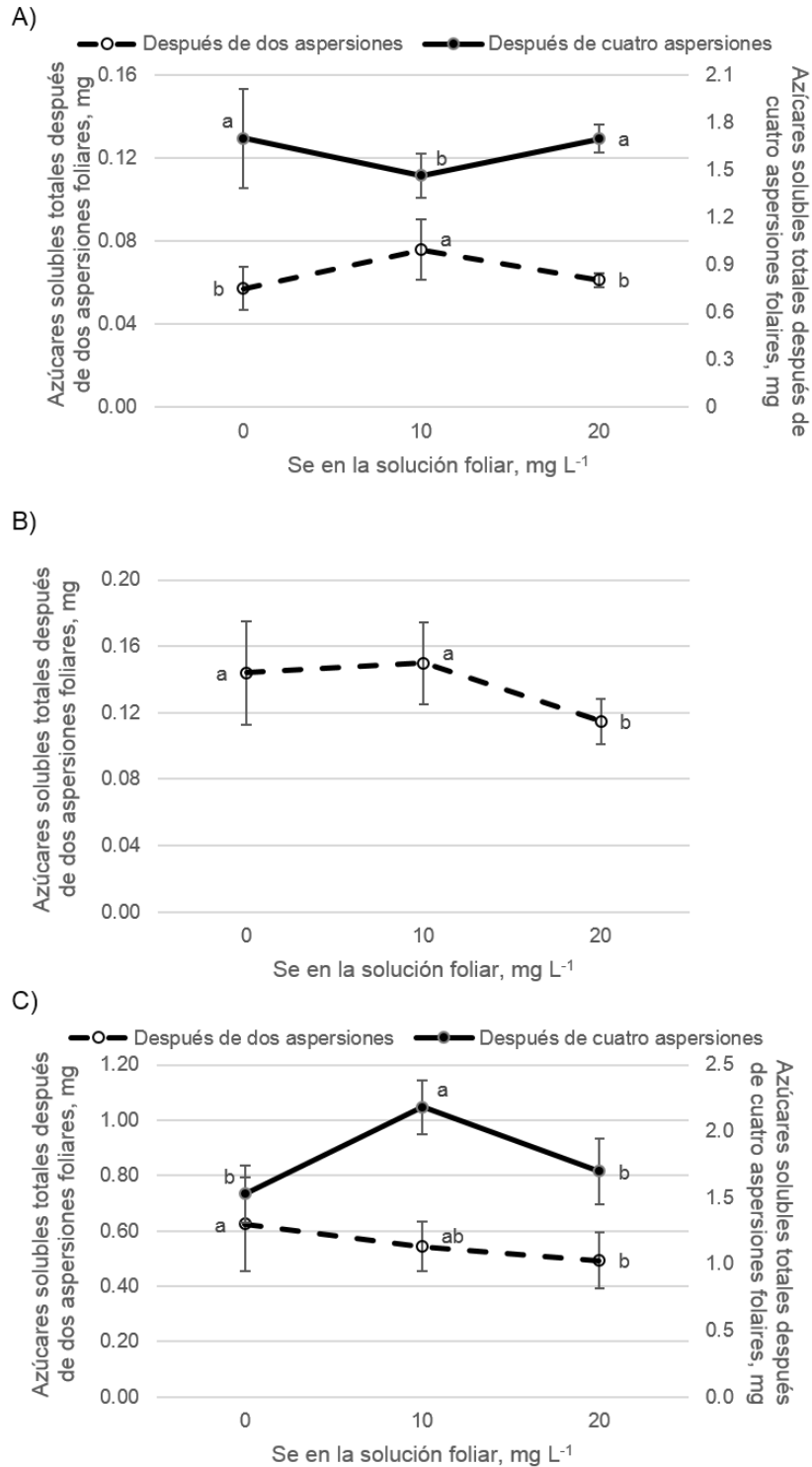


Figura 1.41 Efecto principal del Se en el contenido de azúcares solubles totales en vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de dos y cuatro aspersiones foliares. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura y para cada variable indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

Efecto de la interacción Fe x Se en el contenido de azúcares en vástago. Después de dos aplicaciones foliares, el tratamiento con las dosis bajas de Fe y Se (2500 y 10 mg L⁻¹) incrementaron el contenido de azúcares en vástago. Cuando no se suministró Fe en acelga, es evidente el efecto negativo del Se en el contenido de azúcares (**Figura 1.42A**). En espinaca, los tratamientos sin Fe en combinación con la ausencia de Se o bien con la dosis baja de éste ocasionaron un incremento significativo en el contenido de azúcares; así también el tratamiento consistente en la dosis más alta de Fe (5000 mg L⁻¹) y sin suministro de Se (**Figura 1.42B**). En el caso de la col, tanto la adición de Fe como de Se vía foliar mostraron efecto negativo en el contenido de azúcares (**Figura 1.42C**).

[Del Pozo et al. \(2002\)](#) mencionan que en pasto estrella, el contenido de carbohidratos solubles y estructurales está determinado, en alto grado, por factores metabólicos relacionados con la fotosíntesis, respiración y distribución de nutrientes.

Por su parte, [Sekyere et al. \(2013\)](#) observaron en plantas de alfalfa, el Se aplicado a la solución nutritiva, incrementó el contenido de azúcares solubles mediante la regulación del metabolismo de carbohidratos por alterar en el potencial redox. Estos efectos fueron sin embargo, dependientes de la concentración de Se y de la etapa de desarrollo de la planta.

La aplicación de Se sin adición de Fe produjo un menor contenido de azúcares en acelga después de cuatro aspersiones foliares (**Figura 1.43A**), pero promovió mayor contenido de azúcares cuando fue combinado con Fe a dosis de 2500 mg L⁻¹ y provocó una disminución de azúcares a dosis de 20 mg L⁻¹ de Se con 5000 mg L⁻¹ de Fe. Por otra parte en col, la adición de Se a razón de 10 mg L⁻¹ incrementó el contenido de azúcares en combinación con Fe a 0 y 5000 mg L⁻¹ y no se observó diferencias estadísticas por la adición de Se a dosis de 2500 mg L⁻¹ de Fe (**Figura 1.43B**).

Según [Turakainen et al. \(2004\)](#), el Se puede tener un efecto positivo en el rendimiento vía incremento del metabolismo de carbohidratos, y de manera más amplia, vía efectos antioxidantes de este elemento.

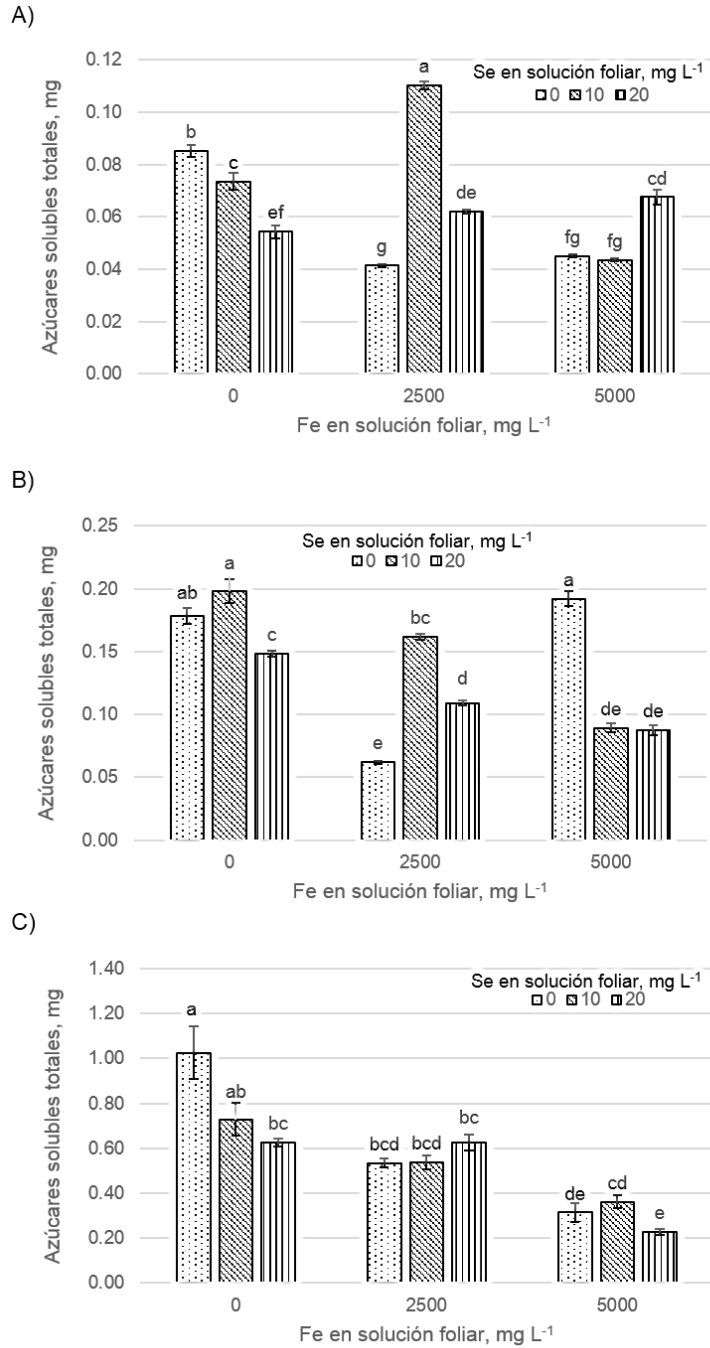


Figura 1.42 Efecto de la interacción de Fe y Se en el contenido de azúcares solubles totales en vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de dos aspersiones foliares. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

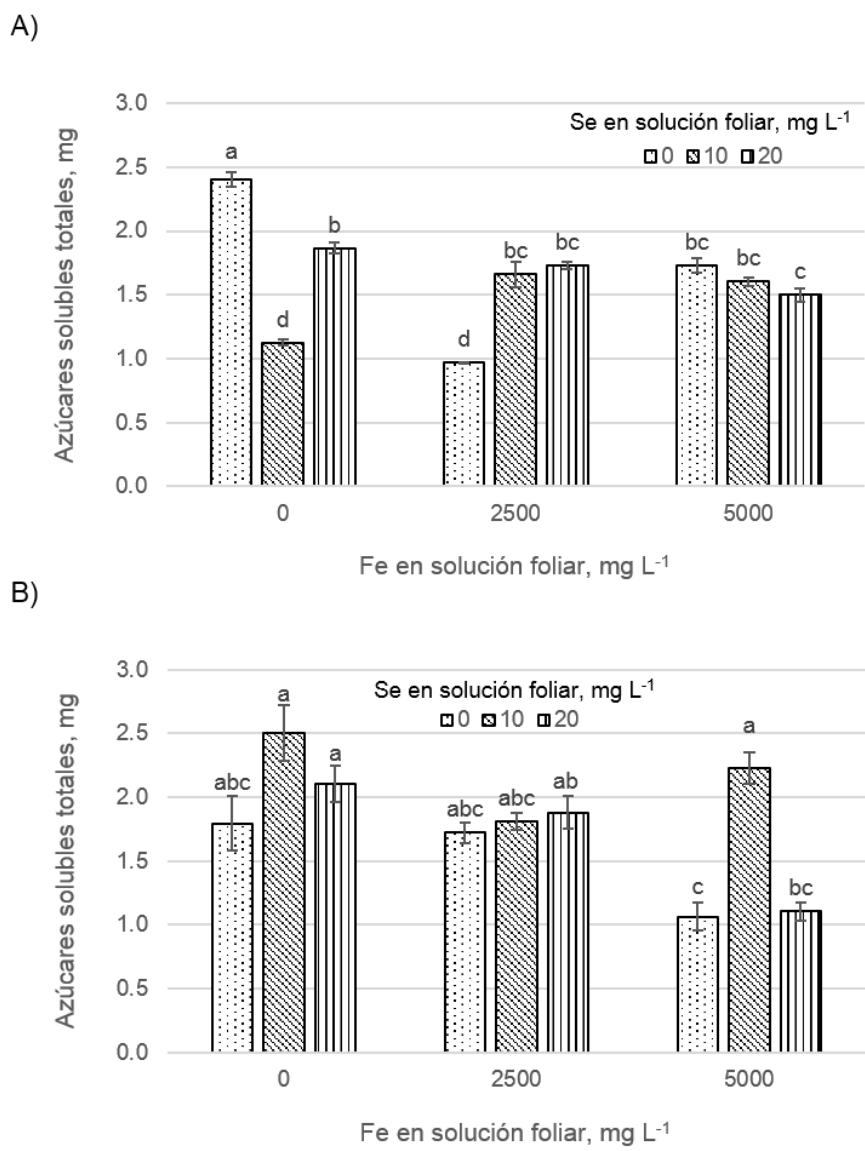


Figura 1.43 Efecto de la interacción de Fe y Se en el contenido de azúcares solubles totales en vástagos de acelga (A) y col (B) después de cuatro aspersiones foliares. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

1.3.13 Actividad antioxidante

Se ha demostrado que el estrés ambiental induce estrés oxidativo en tejidos vegetales. Para sobrellevar los efectos del estrés oxidativo, las plantas hacen uso de un complejo sistema antioxidante. Un incremento en la actividad de enzimas antioxidantes ha sido reportada en muchas plantas estresadas, lo que sugiere que los sistemas antioxidantes juegan un importante papel contra el estrés ambiental (Bybordi y Mamedov, 2010). El método utilizado en la presente investigación para cuantificar la actividad antioxidante

fue a través de medir la actividad del radical libre 2,2 difenil-1-picrilhidracil (DPPH), el cual se basa en una disminución de color que ocurre cuando un electrón de un átomo de nitrógeno en DPPH es reducido por recibir un átomo de hidrogeno de los compuestos antioxidantes. La actividad antioxidante puede ser expresada como microgramos de trólox (antioxidante sintético de referencia) (Chizzola *et al.*, 2008).

En el cultivo de acelga, para la variable capacidad antioxidante medida como equivalentes de trólox y determinada 15 min después de la adición de DPPH, se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas por efecto de los factores Fe, Se y la interacción Fe x Se evaluados después de dos aplicaciones foliares. Por el contrario, solo se mostró efecto significativo del Se y de la interacción Fe x Se en el cultivo de espinaca; mientras que en col, no existieron efectos principales ni de interacción significativos en la actividad antioxidante a los 15 min después de dos aplicaciones. Después de cuatro aplicaciones foliares solo el Se afectó significativamente la actividad antioxidante en acelga; mientras que en col fueron significativos efectos principales y de interacción en este muestreo (**Cuadro 1.17**).

Cuadro 1.17 Significancia estadística de factores de estudio y su interacción en la variable actividad antioxidante a los 15 min en vástagos de acelga, espinaca y col, después de dos y cuatro aplicaciones foliares.

Fuente de Variación	Acelga		Espinaca		Col	
	Dos	Cuatro	Dos	Dos	Cuatro	
Fe	<.0001 *	0.3105 ns	0.2564 ns	0.4975 ns	<.0001 *	
Se	0.0187 *	0.0005 *	0.0007 *	0.5985 ns	0.0328 *	
Fe x Se	<.0001 *	0.1508 ns	0.0287 *	0.5080 ns	0.0171 *	
CV	2.97	12.70	36.85	62.01	24.54	

* Significativo (Tukey, $P \leq 0.05$); ns no significativo

A los 30 min, en acelga después de dos aspersiones los efectos principales y de interacción fueron significativos; en el segundo muestreo solo los del efecto principal de Se. En el caso de espinaca, al igual que en la evaluación realizada a los 15 min, solo el Se tuvo efectos significativos. En col no existieron efectos significativos en la primera evaluación; por el contrario, después de cuatro aspersiones foliares tanto los efectos principales como la interacción fueron significativos como se observa en el **Cuadro 1.18**.

Cuadro 1.18 Significancia estadística de factores de estudio y su interacción en la variable actividad antioxidante a los 30 min en vástagos de acelga, espinaca y col, después de dos y cuatro aplicaciones foliares.

Fuente de Variación	Acelga		Espinaca		Col	
	Número de aspersiones foliares realizadas					
	Dos	Cuatro	Dos	Dos	Cuatro	
Fe	<.0001 *	0.1042 ns	0.1164 ns	0.5116 ns	<.0001 *	
Se	0.0130 *	0.0006 *	0.0035 *	0.6429 ns	0.0329 *	
Fe x Se	<.0001 *	0.0867 ns	0.0735 ns	0.5419 ns	0.0157 *	
CV	3.15	12.17	44.35	64.64	25.89	

* Significativo (Tukey, $P \leq 0.05$); ns no significativo

En este mismo contexto, en la evaluación de actividad antioxidante a los 60 min se observó en acelga efectos significativos principales y de interacción en ambos muestreos, siendo la excepción el efecto de interacción después de cuatro aspersiones. En espinaca, se mantuvo la respuesta observada en las evaluaciones anteriores; es decir, solo el Se influyó en forma significativa esta variable. En col después de dos aspersiones no se tuvieron efectos significativos de Fe y Se, así como de su interacción; mientras que después de cuatro aplicaciones fueron significativos tanto efectos principales como el de interacción (**Cuadro 1.19**).

Cuadro 1.19 Significancia estadística de factores de estudio y su interacción en la variable actividad antioxidante a los 60 min en vástagos de acelga, espinaca y col, después de dos y cuatro aplicaciones foliares.

Fuente de Variación	Acelga		Espinaca		Col	
	Número de aspersiones foliares realizadas					
	Dos	Cuatro	Dos	Dos	Cuatro	
Fe	<.0001 *	0.0402 *	0.0970 ns	0.5103 ns	<.0001 *	
Se	0.0114 *	0.0009 *	0.0067 *	0.6847 ns	0.0424 *	
Fe x Se	<.0001 *	0.0559 ns	0.1123 ns	0.5865 ns	0.0072 *	
CV	3.52	11.93	52.74	67.64	27.18	

* Significativo (Tukey, $P \leq 0.05$); ns no significativo

Efecto principal del Fe en la actividad antioxidante. De manera general, el Fe tuvo un efecto positivo en la actividad antioxidante en acelga y col después de dos y cuatro aspersiones foliares respectivamente. Por el contrario, en acelga después de cuatro aspersiones, en espinaca y en col después de dos aspersiones foliares el Fe no tuvo efecto significativo en la actividad antioxidante (**Cuadros 1.20, 1.21 y 1.22**).

Efecto principal del Se en la actividad antioxidante. Con excepción de la evaluación realizada en col después de dos aplicaciones foliares; en el resto de las mediciones

hechas en las especies en estudio, se observa un efecto positivo significativo del tratamiento con Se en la actividad antioxidante (**Cuadros 1.20, 1.21 y 1.22**).

Efecto de la interacción Fe x Se en la actividad antioxidante. En las tres determinaciones de actividad antioxidante realizadas (15, 30 y 60 min), se encontró que después de dos aspersiones foliares de Se a dosis de 10 mg L^{-1} sin la adición de Fe, o bien el tratamiento con 2500 mg L^{-1} Fe y Se a razón de 10 mg L^{-1} ; o de Fe a 5000 mg L^{-1} con cualquiera de las dosis de Se, se registra mayor capacidad antioxidante en el cultivo de acelga (**Cuadros 1.20, 1.21 y 1.22**).

Hubo además mayor actividad antioxidante después de dos aspersiones foliares en espinaca a dosis de 20 mg L^{-1} de Se con cualquiera de las dosis de Fe (a excepción de lo observado a dosis de 2500 mg L^{-1} de Fe con cualquiera de los tratamientos de Se en la determinación realizada a los 60 min, donde no se observó diferencias entre tratamientos) (**Cuadros 1.20, 1.21 y 1.22**).

En col, después de dos aspersiones foliares no existieron efectos significativos de la interacción Fe x Se en la actividad antioxidante (**Cuadros 1.20, 1.21 y 1.22**).

De manera general, después de cuatro aspersiones foliares (a los 15, 30 y 60 min de evaluación por el método del DPPH), la adición de Se promovió mayor actividad antioxidante en acelga a dosis de Fe de 0 y 5000 mg L^{-1} ; por el contrario, a dosis de Fe de 2500 mg L^{-1} con cualquiera de los tratamientos de Se no se observó diferencias entre tratamientos. En esta misma evaluación, sin la adición de Fe y con aplicaciones de Se de 20 mg L^{-1} , se registró un aumento en la actividad antioxidante, la cual, no fue estadísticamente diferente cuando se adicionó Fe en cada nivel de Se (**Cuadros 1.20, 1.21 y 1.22**).

Según [Bybordi y Mamedov \(2010\)](#) en el sistema antioxidante hay enzimas como la superóxido dismutasa que funciona como un eliminador de especies reactivas de oxígeno al convertir $\text{O}_2^{\cdot -}$ en H_2O_2 ([Bailly et al., 2000](#)). El peróxido de hidrógeno es convertido a oxígeno y agua por las enzimas catalasa y peroxidasa. Aunque una alta actividad de la superóxido dismutasa protege a las plantas contra los radicales superóxido, pueden no ser considerados como las únicas responsables de la protección de la membrana contra la peroxidación. En general, la aplicación de micronutrientes

tiene efectos diferentes sobre la actividad de las enzimas, que en algunos casos incrementan y en algunos casos disminuyen la actividad de éstas. Ha sido demostrado que el selenio es un componente de diferentes enzimas como la glutatión peroxidasa y tiorredoxina reductasa y juega un importante papel en la protección antioxidante de las células (Ferrarese *et al.*, 2012). Seppänen *et al.* (2003) cultivaron plantas de papa en solución nutritiva conteniendo diferentes tratamientos con selenio y obtuvieron un efecto antioxidante atribuido a la acumulación de enzimas como superóxido dismutasa y glutatión peroxidasa. De la misma forma, Inostroza *et al.* (2013) encontraron una disminución en la peroxidación lipídica por aumento de la actividad antioxidante cuando el Se fue suministrado vía solución nutritiva.

Por el contrario, en plantas de canola (*Brassica napus* L.) Bybordi y Mamedov (2010), mostraron que la aplicación foliar de Fe no tuvo efecto significativo en la actividad antioxidante, específicamente en enzimas antioxidantes como la peroxidasa, catalasa, glutatión reductasa, y se observó disminución en la actividad de la enzima superóxido dismutasa por efecto de la aplicación foliar de este elemento. Sin embargo, estos mismos autores obtuvieron un incremento de la actividad de la enzima glutatión reductasa por efecto de la aplicación de Fe vía radical.

En los resultados de la presente investigación se mostró un incremento en la actividad antioxidante (a los 15, 30 y 60 min) por efecto de la aplicación de Se después de dos aspersiones foliares en acelga y solo a dosis de 20 mg L⁻¹ de Se en espinaca, aunque también, la adición de Se no mostró diferencias estadísticas para esta variable en esta misma medición realizada en col. De manera similar, después de cuatro aplicaciones foliares, la adición de Se promovió un incremento en la actividad antioxidante en el cultivo de acelga y col en cualquiera de las dosis usadas. Estos resultados son similares a lo obtenido por Djanaguiraman *et al.* (2004) en plantas de soya donde aplicaciones de selenato de sodio vía foliar a 50 mg L⁻¹ promovieron positivamente el crecimiento y actuaron como un antioxidante inhibiendo peroxidación lipídica y porcentaje de daño de las membranas celulares.

Ramos *et al.* (2010) encontraron que la aplicación de selenio y selenito a bajas concentraciones incrementaron la actividad antioxidante relacionado con las enzimas superóxido dismutasa y glutatión peroxidasa, la cual disminuyó a dosis altas de este

elemento. El efecto antioxidante fue asociado con un incremento en la actividad de las enzimas superóxido dismutasa y glutatión peroxidasa. Yao *et al.* (2009) condujeron un experimento en plántulas de trigo donde observaron que aplicaciones de Se al suelo en dosis de 1, 2 y 3 mg kg⁻¹ incrementaron significativamente la actividad de enzimas antioxidantes como peroxidasa y catalasa. Además con aplicaciones de Se a razón de 0.1, 1, 10 y 30 mg kg⁻¹ en pasto (*Lolium perene*), Hartikainen *et al.* (2000), obtuvieron dos efectos: en bajas concentraciones (0.1 y 1 mg kg⁻¹) el Se actuó como un antioxidante inhibiendo la peroxidación lipídica, mientras que en altas concentraciones actuó de manera prooxidante.

Cuadro 1.20 Efectos principales de Fe y Se y de su interacción en la actividad antioxidante (μg trólox por 100 mg de peso fresco) a los 15 min en vástagos de acelga, espinaca y col, después de dos y cuatro aspersiones foliares.

Fe, mg L ⁻¹	Se, mg L ⁻¹	Acelga		Espinaca		Col	
		Número de aspersiones foliares realizadas					
		Dos	Cuatro	Dos	Dos	Cuatro	
0	0	2.55±0.08 c	2.57±0.06 b	0.45±0.08c	1.76±0.40 a	0.89±0.08 b	
	10	3.48±0.04 ab	3.87±0.11 a	0.99±0.19bc	3.12±0.51 a	1.22±0.19 b	
	20	3.22±0.04 b	3.88±0.09 a	2.42±0.59a	3.87±1.29 a	3.77±0.14 a	
2500	0	3.58±0.04 a	3.15±0.60 ab	1.04±.0.07bc	2.37±0.90 a	2.67±0.51 ab	
	10	3.32±0.03 ab	3.82±0.14 a	0.94±0.11bc	2.48±0.63 a	3.60±0.47 a	
	20	3.21±0.08 b	3.27±0.05 ab	1.15±0.04abc	1.60±0.87 a	3.12±0.97 ab	
5000	0	3.60±0.01 a	2.59±0.05 b	1.28±0.15abc	3.02±0.34 a	4.95±0.12 a	
	10	3.37±0.05 ab	3.28±0.05 ab	1.03±0.02bc	3.85±1.14 a	4.81±0.05 a	
	20	3.45±.03 ab	3.58±0.04 ab	1.94±0.24ab	2.16±0.92 a	4.89±0.09 a	

Fe, mg L ⁻¹	Acelga		Espinaca		Col	
	Número de aspersiones foliares realizadas					
	Dos	Cuatro	Dos	Dos	Cuatro	
0	3.08± 0.21 b	3.44±0.34 a	1.29±0.53 a	2.92±0.85a	1.96±0.69c	
2500	3.37±0.09 ab	3.41±0.35 a	1.05 ±0.08 a	2.15±0.74a	3.13±0.63 b	
5000	3.47±0.06 a	3.15±0.23 a	1.41 ±0.25 a	3.01±0.83a	4.88±0.08 a	

Se, mg L ⁻¹	Acelga		Espinaca		Col	
	Número de aspersiones foliares realizadas					
	Dos	Cuatro	Dos	Dos	Cuatro	
0	3.24±0.26 b	2.77±0.33 b	0.93±0.21 b	2.38±0.59 a	2.84±0.92 b	
10	3.39±0.05 a	3.66±0.17 a	0.99±0.11 b	3.15±0.75 a	3.21±0.83 ab	
20	3.29±0.08 ab	3.58±0.14 a	1.84±0.42 a	2.55±1.04 a	3.93±0.63 a	

Medias ± DE con letras distintas en cada columna y factor de estudio, son estadísticamente diferentes (Tukey, $P \leq 0.05$).

Cuadro 1.21 Efectos principales de Fe y Se y de su interacción en la actividad (μg Trólox por 100 mg de peso fresco) a los 30 min en vástagos de acelga, espinaca y col, después de dos y cuatro aspersiones foliares.

Fe, mg L ⁻¹	Se, mg L ⁻¹	Acelga		Espinaca		Col
		Número de aspersiones foliares realizadas				
		Dos	Cuatro	Dos	Dos	Cuatro
0	0	2.69±0.08 c	2.77±0.06 bc	0.61±0.10 b	1.95±0.48 a	0.87±0.07 b
	10	3.66±0.03 ab	4.08±0.09 a	1.31±0.21ab	3.39±0.57 a	1.13±0.22 b
	20	3.38±0.04 b	4.11±0.08 a	2.74±0.75a	4.21±1.45 a	3.97±0.15 a
2500	0	3.74±0.06 a	3.37±0.59abc	0.96±0.07b	2.53±1.01 a	2.79±0.59 ab
	10	3.52±0.04 ab	3.94±0.17 ab	0.87±0.16b	2.59±0.71 a	3.69±0.50 a
	20	3.38±0.07 b	3.38±0.06abc	1.08±0.06ab	1.73±0.94 a	3.26±1.01 ab
5000	0	3.73±0.02 a	2.65±0.04 c	1.27±0.19ab	3.18±0.36 a	5.03±0.14 a
	10	3.49±0.07 ab	3.34±0.06abc	0.96±0.02 b	4.07±1.23 a	4.86±0.04 a
	20	3.57±0.06 ab	3.69±0.06abc	1.97±0.23ab	2.26±1.03 a	4.93±0.09 a

Fe, mg L ⁻¹	Acelga		Espinaca		Col
	Número de aspersiones foliares realizadas				
	Dos	Cuatro	Dos	Dos	Cuatro
0	3.24±0.22 b	3.66±0.34 a	1.55±0.61 a	3.18±0.95a	1.99±0.75 c
2500	3.54±0.10 a	3.56±0.34 a	0.97±0.10 a	2.28±0.80a	3.25±0.67 b
5000	3.60±0.07 a	3.23±0.24 a	1.40±0.28 a	3.17±0.91a	4.94±0.09 a

Se, mg L ⁻¹	Acelga	Espinaca	Col	Acelga	Espinaca
	Número de aspersiones foliares realizadas				
	Dos	Cuatro	Dos	Dos	Cuatro
0	3.39±0.27 b	2.93±0.34 b	0.95±0.19 b	2.55±0.65 a	2.90±0.95 b
10	3.56±0.06 a	3.78±0.20 a	1.05±0.17 b	3.35±0.83 a	3.23±0.87ab
20	3.44±0.07 ab	3.73±0.17 a	1.93±0.54 a	2.72±1.15 a	4.05±0.63 a

Medias \pm DE con letras distintas en cada columna y factor de estudio, son estadísticamente diferentes (Tukey, $P \leq 0.05$).

Cuadro 1.22 Efectos principales de Fe y Se y de su interacción en la actividad antioxidante (μg trólox por 100 mg de peso fresco) a los 60 min en vástagos de acelga, espinaca y col, después de dos y cuatro aspersiones foliares.

Fe, mg L ⁻¹	Se, mg L ⁻¹	Acelga		Espinaca		Col
		Número de aspersiones foliares realizadas				
		Dos	Cuatro	Dos	Dos	Cuatro
0	0	2.77±0.08 d	2.93±0.05 bc	0.71±0.12b	2.23±0.56 a	0.77±0.07 b
	10	3.78±0.04abc	4.24±0.07 a	1.28±0.24ab	3.79±0.67 a	0.98±0.25 b
	20	3.46±0.04 c	4.25±0.08 a	3.03±0.90 a	4.71±1.69 a	4.17±0.17 a
2500	0	3.87±0.07 a	3.51±0.59abc	0.91±0.08b	2.77±1.13 a	2.90±0.67 ab
	10	3.67±0.04abc	4.03 0.18 ab	0.84±0.21b	2.79±0.84 a	3.98±0.61 a
	20	3.48±0.07 bc	3.41±0.06abc	1.00±0.09 b	1.88±1.09 a	3.17±1.00 ab
5000	0	3.82±0.03 ab	2.68±0.05 c	1.23±0.21ab	3.43±0.43 a	5.08±0.15 a
	10	3.59±0.08abc	3.35±0.06abc	0.89±0.01b	4.40±1.40 a	4.87±0.05 a
	20	3.66±0.08abc	3.76±0.08abc	2.03±0.32ab	2.44±1.16a	4.95±0.10 a

Fe, mg L ⁻¹	Acelga		Espinaca		Col
	Número de aspersiones foliares realizadas				
	Dos	Cuatro	Dos	Dos	Cuatro
0	3.34±0.23 b	3.81±0.34 a	1.67±0.70 a	3.58±1.10 a	1.97±0.84 c
2500	3.67±0.10 a	3.65±0.34 ab	0.92±0.13 a	2.48±0.92 a	3.35±0.72 b
5000	3.69±0.08 a	3.26±0.24 b	1.38±0.32 a	3.42±1.03 a	4.97±0.10 a

Se, mg L ⁻¹	Acelga		Espinaca		Col
	Número de aspersiones foliares realizadas				
	Dos	Cuatro	Dos	Dos	Cuatro
0	3.49±0.27 b	3.04±0.35 b	0.95±0.17 b	2.81±0.72 a	2.92±1.00 b
10	3.68±0.07 a	3.87±0.23 a	1.00±0.19 b	3.66±0.95 a	3.28±0.94ab
20	3.53±0.08 ab	3.81±0.20 a	2.02±0.65 a	3.01±1.33 a	4.10±0.64 a

Medias \pm DE con letras distintas en cada columna y factor de estudio, son estadísticamente diferentes (Tukey, $P \leq 0.05$).

1.4 CONCLUSIONES

1. En el cultivo de acelga después de cuatro aspersiones foliares se obtuvo un aumento en la bioacumulación de Fe en el tejido foliar. Se observó que la adición foliar de Fe puede favorecer un aumento en la acumulación de biomasa fresca y seca, acumulación de nitrógeno y nitrato, contenidos de clorofila a, b y total, contenido de aminoácidos, de proteínas, azúcares y de la capacidad antioxidante, además de un incremento en la bioacumulación de Se en plantas tratadas con este elemento. De igual manera en este mismo cultivo, la adición de Se promovió la mayor bioacumulación de Se a la dosis más alta probada en la presente investigación.

Se concluye además que el Se es un elemento que en determinadas dosis y tiempos de aplicación puede favorecer la bioacumulación de Se, biomasa fresca y seca, lecturas SPAD, contenidos de clorofila a, b y total, contenido de aminoácidos, de proteínas, de

azúcares y de la actividad antioxidante, además de favorecer la bioacumulación de Fe en plantas tratadas con este elemento.

2. En espinaca, los resultados obtenidos mostraron que la aplicación foliar de Fe favoreció la biofortificación de este elemento. Otras variables cuyos valores aumentaron por efecto de la adición de Fe vía foliar fueron el contenido de aminoácidos solubles totales y bioacumulación de Se, pero, por otro lado el factor Fe ocasionó una disminución en la acumulación de biomasa fresca y seca, nitrógeno, nitrato, así como en los contenidos de clorofilas *a*, *b* y total, proteínas y azúcares.

La aspersión foliar de Se, provocó una mayor acumulación del mismo en el tejido foliar conforme aumentó la dosis de Se aplicada. Además el Se mostró un efecto potencial para incrementar la bioacumulación de Se, biomasa fresca, nitrógeno, nitrato, clorofila *a*, *b* y total, proteínas, azúcares, lecturas SPAD, actividad antioxidante y favoreció la bioacumulación de Fe cuando es suministrado a ciertas dosis y tiempos de aplicación.

3. Para el caso de col, se obtuvo un aumento significativo en la bioacumulación foliar de Fe solo después de cuatro aspersiones foliares. También se obtuvo, dependiendo la dosis y número de aspersiones, un aumento en la acumulación de Se, nitrógeno, proteínas, lecturas Spad y actividad antioxidante.

Por otra parte, por efecto del factor Se, hubo un incremento en la acumulación de Se la cual fue mayor después de cuatro aplicaciones foliares. Este mismo factor en el cultivo de col, promovió en algunos casos, un aumento en la acumulación biomasa fresca y seca, clorofilas *a*, *b* y total, aminoácidos, azúcares, actividad antioxidante y bioacumulación de Fe.

1.5 LITERATURA CITADA

- Abu ZI, Abou AM, El Shakh AE. 2011. Impact of soil lead pollution and iron foliar application on *Spinacea oleracea* (L.). *Advances in Agriculture and Botany-International Journal of the Bioflux Society* 3(2): 116-126.
- AECOSAN. 2014. Cadenas alimentarias. Gestión de riesgos químicos. Nitratos. Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición. Disponible en: http://aesan.msssi.gob.es/AESAN/web/cadena_alimentaria/subdetalle/nitratos.shtml.
- Akbar MA, Ronaghi A. 2011. Influence of foliar and soil applications of iron and manganese on soybean dry matter yield and iron-manganese relationship in a Calcareous soil. *Australian Journal of Crop Science* 5(12): 1550-1556.
- Alcántar GG, Sandoval VM. 1999. Manual de análisis químico de tejido vegetal. Guía de muestreo, preparación, análisis e interpretación. Publicación Especial No. 10 de la Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo A. C., Chapingo, México.
- Arcott S, Goldman I. 2012. Biomass effects and selenium accumulation in Sprouts of three vegetables species grown in selenium-enriched conditions. *HortScience* 47 (4): 497-502.
- Arvy MP, Thiersault M, Doireau P. 2008. Relationships between selenium, micronutrients, carbohydrates, and alkaloid accumulation in *Catharanthus roseus* cells. *Journal of Plant Nutrition* 18 (8): 1535-1546.
- Aslam M, Harbit KB, Huffaker RC. 1990. Comparative effects of selenite and selenate on nitrate assimilation in barley seedlings. *Plant, Cell and Environment* 13: 773-782.
- Bahar AS, Yazici A, Ozturk L, Cakmak I. 2011. Biofortification of wheat with iron through soil and foliar application of nitrogen and iron fertilizers. *Plant and Soil* 349(1-2): 215-225.
- Bailly C, Benamar A, Corbineau F, Come D. 2000. Antioxidant systems in canola seeds as affected by priming. *Seed Science Research* 10(2): 35-42.
- Barroto J, Blanco MA, Tambara Y, Capdesuñer Y, Golle JL, Balbé A, Rivas M, León A, Hormaza J, Peralta H. 2003. Contenido de carbohidratos asociados al crecimiento y desarrollo de cuatro variedades de caña de azúcar (*Saccharum* sp.). *Agronomía Costarricense*. Vol. 27(1); 91-100.
- Becvort AA, Fuentes LOL, Benavides MA, Ramírez VH, Robledo T, Rodríguez M M. 2012. Aplicación de selenio en tomate: Crecimiento, productividad y estado antioxidante del fruto. *Terra Latinoamericana* 30(4): 291-301.
- Bellapart C. 1995. Peligrosidad de nuestra alimentación. Carácter patógeno de nuestra alimentación industrializada. *In: Ediciones Mundiprensa. Nueva agricultura biológica, Madrid*, pp: 215-254.
- Borowski E, Michalek S. 2011. The effect of foliar fertilization of French bean with iron salts and urea on some physiological processes in plants relative to iron uptake and translocation in leaves. *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus*. 10(2): 183-193.
- Bremner JM. 1965. Total nitrogen. *Agronomy* 9: 1149-1178.
- Broadley RM, Alcock J, Alford J, Cartwright P, Foot I, Fairweather SJ, Hart DJ, Hurst R, Knott P, McGrath SP, Meacham MC, Norman K, Mowat H, Scott P, Stroud JL, Tovey M, Tucker M, White PJ, Young SD, Zhao FJ. 2010. Selenium biofortification of high-yielding winter wheat (*Triticum aestivum* L.) by liquid or granular Se fertilization. *Plant and Soil* 332: 5-18.
- Broadley RM., White PJ, Bryson RJ, Meacham MC, Bowen HC, Johnson SE, Hawkesford MJ, McGrath SP, Zhao FJ, Breward N, Harriman M, Tucker M. 2006. Biofortification of UK food crops with selenium. *Proceedings of the Nutrition Society* 65(2): 169-181.

- Bullock DG, Anderson DS. 1998. Evaluation of the Minolta SPAD-502 chlorophyll meter for nitrogen management in corn. *Journal of Plant Nutrition* 21: 741-755.
- Bybordi A, Mamedov G. 2010. Evaluation of application methods efficiency of zinc and iron for canola (*Brassica napus* L.). *Notulae Scientia Biologicae* 2(1): 94-103.
- Campbell RJ, Mobley KN, Marini RP, Pfeiffer DG. 1990. Growing conditions alter the relationship between SPAD-501 values and apple leaf chlorophyll. *HortScience* 25: 330-331.
- Castignetti D, Smarrelli JJ. 1986. Siderophores, the iron nutrition of plants, and nitrate reductase. *Review-Hypothesis*. 209(2): 147-151.
- Cataldo DA, Mcfadden KM, Garland TR, Wildung RE. 1988. Organic constituents and complexation of nickel (II), iron (III), cadmium (II), and plutonium (IV) in soybean xylem exudates. *Plant Physiology* 86: 734-739.
- Chapman SC, Barreto HJ. 1997. Using a chlorophyll meter to estimate specific leaf nitrogen of tropical maize during vegetative growth. *Agron. J.* 89: 557-562.
- Chatterjee C, Gopal R, Dube BK. 2006. Impact of iron stress on biomass, yield metabolism and quality of potato (*Solanum tuberosum* L.). *Scientia Horticulturae* 108(1):1-6.
- Chizzola R, Michistschs H, Franz C. 2008. Antioxidative properties of *Thymus vulgaris* leaves comparison of different extracts and essential oil chemotypes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56: 6897-6904.
- Cuderman P, Kreft I, Germ M, Kovačević M, Stibilj V. 2008. Selenium species in selenium-enriched potatoes and drought-exposed potatoes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56: 9114–9120.
- Del Pozo PP, Herrera RS, García M. 2002. Dinámica de los contenidos de carbohidratos y proteína bruta en el pasto estrella (*Cynodon nlemfuensis*) con aplicación de nitrógeno y sin ella. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola* 36(3): 275-280.
- Djanaguiraman M, Durga DD, Shanker AK, Sheeba JA, Bangarusamy U. 2004. Selenium –an antioxidative protectant in soybean during senescence. *Plant and Soil* 272: 77-86.
- DRI. 2000. National Research Council. *In: National Academy Press. Washington*, pp: 284-319.
- Droux M. 2004. Sulfur assimilation and the role of sulphur in plant metabolism: A survey. *Photosynthesis Research* 79: 331-348.
- Ducsay L, Lozek O. 2006. Efecto de la aplicación foliar de selenio sobre su contenido en grano de trigo de invierno. *Plant, Soil and Environment* 52(2): 78-82.
- Duffield LAJ, Reid ME, Turnbull BW, Combs GF, Slate EH, Fischbach LA, Marshall JR, Clark LC. 2002. Baseline characteristics and the effect of selenium supplementation on cancer incidence in a randomized clinical trial: A summary report of the Nutritional Prevention of Cancer Trial. *Cancer Epidemiology Biomarker and prevention* 11: 630-639.
- Ellis DR, Salt DE. 2003. Plants, selenium and human health. *Current Opinion in Plant Biology* 6: 273-279.
- Fang Y, Wang L, Xin Z, Zhao L, An X, Hu Q. 2008. Effect of Foliar Application of Zinc, Selenium, and Iron Fertilizers on Nutrients Concentration and Yield of Rice Grain in China. *Journal Agricultural and Food Chemistry* 56(6): 2079-2084.
- FAO. 2011. Combating micronutrient deficiencies. Food-based approaches. Organization of the United Nations for Food and Agriculture. Rome, Italy, 397 p. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/013/am027e/am027e.pdf>

- Fernández V, Del Río V, Pumariño L, Igartua E, Abadía J, Abadía A. 2008. Foliar fertilization of peach (*Prunus persica* (L.) Batsch) with different iron formulations: Effects on re-greening iron concentration and mineral composition in treated and untreated leaf surfaces. *Scientia Horticulturae* 117: 241-248.
- Fernández, V, Ebert G, Winkelmann G. 2005. The use of microbial siderophores for foliar iron application studies. *Plant and Soil* 272: 245-252.
- Ferrarese M, Majmoodi SM, Quattrini E, Schiavi M, Ferrante A. 2012. Biofortification of spinach plants applying selenium in the nutrient solution of floating system. *Vegetable Crops Research Bulletin* 76: 127-136.
- Ferri T, Favero G, Frasconi M. 2007. Selenium speciation in foods: Preliminary results on potatoes. *Microchemical Journal* 85: 222-227.
- Geiger M, Walch-Liu P, Engels C, Harnecker J, Schulze ED, Ludewig F, Sonnewald U, Scheible WR, Stitt M. 1998. Enhanced carbon dioxide leads to a modified diurnal rhythm of nitrate reductase activity and higher levels of amino acids in young tobacco plants. *Plant Cell Environ.* 21: 253-268.
- Guo X, Wu L. 1997. Distribution of free seleno-amino acids in plant tissue of *Melilotus indica* L. grown in selenium-laden soils. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 39: 207-214.
- Hajiboland R, Keivanfar N. 2012. Selenium supplementation stimulates vegetative and reproductive growth in canola (*Brassica napus* L.) plants. *Acta Agriculturae Slovenica* 99(1): 13-19.
- Harborne JB. 1973. Chlorophyll extraction. *In: Phytochemical Methods. Recommended technique..* Harbone, J. B. (ed.). Chapman and Hall, London. pp. 205- 207.
- Hartikainen H, Xue T, Piironen V. 2000. Selenium as an antioxidant and pro-oxidant in ryegrass. *Plant and Soil* 225: 193-200.
- Hasanuzzaman M, Hossain MA, Fujita M. 2010. Selenium in higher plants: physiological role, antioxidant metabolism and abiotic stress tolerance. *Journal of Plant Sciences* 5: 354-375.
- Hermosillo-Cereceres MA, Sánchez-Chávez E, Guevara-Aguilar A, Muñoz-Márquez E, García-Bañuelos ML. 2013. Biofortification and distribution patterns of selenium in bean: Response to selenate and selenite. *Journal of Food, Agriculture and Environment* 11(2): 421-426.
- Hirschi KD. 2009. Nutrient biofortification of food crops. *Annual Review of Nutrition.* 29: 401-421.
- Höfner R, Vásquez-Moreno L, Abou-Mandour AA, Bohnert HJ, Schmitt JM. 1989. Two isoforms of phosphoenolpyruvate carboxylase in the facultative CAM plant *Mesembryanthemum crystallinum*. *Plant Physiol. Biochem.* 27: 803-810.
- Hord NG, Ghannam JS, Garg HK, Berens PD, Bryan NS. 2011. Nitrate and Nitrite Content of Human, Formula, Bovine, and Soy Milks: Implications for Dietary Nitrite and Nitrate Recommendations. *Breastfeeding Medicine* 6(6): 393-399.
- Hu O, Xu J, Pang G. 2003. Effect of selenium on the yield and quality of Green Tea Leaves Harvested in Early Spring. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51(11): 3379-3381.
- Hurtado JR, Gardea TJ. 2007. Evaluación de la exposición a selenio en Los Altos de Jalisco, México. *Salud Pública Mex.* 49(4): 312-315.
- Inostroza BC, Reyes DM, Alberdi M, Godoy K, Rojas LY, Cartes P, De la Luz MM. 2013. Influence of selenite on selenium uptake, differential antioxidant performance and gene expression of sulfate transporters. *Plant and Soil* 36. 47-59.
- Institute of Medicine. 2000. Selenium. *In: National Academy Press, 2000. Dietary reference intak Vitamin C, vitamin E, selenium, and carotenoids.* Washington, DC, pp: 284-324.

- Jay GR, Johnson BE. 2000. A comparison of three methods for reducing Iron-deficiency chlorosis in soybean. *Journal of the American Society of Agronomy* 92(6): 1135-1139.
- Jean FB, Curie C, Gaymard F. 2007. Iron utilization and metabolism in plants. *Current opinion in Plant Biology*. Vol. 10: 276-282.
- Ježek P, Škarpa P, Lošák T, Hlušek J, Jůzl M, Elzner P. 2012. Selenium – An Important Antioxidant in Crops Biofortification, Antioxidant Enzyme, Prof. Mohammed Amr El-Missiry (Ed.), ISBN: 978-953-51-0789-7, InTech, DOI: 10.5772/50356. Disponible en: <http://www.intechopen.com/books/antioxidant-enzyme/selenium-an-important-antioxidant-in-crops-biofortification>.
- Jin Z, Minyan W, Lianghuan W, Jianguo W, Chunhai S. 2008. Impacts of combination of foliar Iron and Boron application on Iron Biofortification and Nutritional Quality of Rice Grain. *Journal of plant nutrition*. 31(9): 1559-1611.
- Kaya C, Higgs D. 2002. Improvements in physiological and nutritional developments of tomato cultivars grown at high zinc by foliar application of phosphorus and iron. *Journal of Plant Nutrition* 25(9): 1881-1894.
- Kopsell DA, Randle WM, Mills HA. 2000. Nutrient accumulation in leaf tissue of rapid-cycling *Brassica oleracea* responds to increasing sodium selenate concentrations. *Journal of Plant Nutrition* 23: 927-935.
- Kopsell DA, Sams CE, Barickman TC, Deyton DE. 2009. Selenization of Basil and Cilantro through foliar applications of selenate-selenium and selenite-selenium. *HortScience* 44(2): 438-442.
- Laulhere JP, Barcelo F, Fontecave M. 1995. Dynamic equilibria in iron uptake and release by ferritin. *BioMetals* 9: 303-309.
- Lefsrud MG, Kopsell DA, Kopsell DE, Randle WM. 2006. Kale carotenoids are unaffected by, whereas Biomass production, Elemental concentrations, and selenium accumulation to, changes in selenium fertility. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54: 1764-1771.
- Leustek T, Saito K. 1999. Sulfate transport and assimilation in plants. *Plant Physiology* 120: 637-643.
- Mahendra S, Narendra S. 1979. The effect of forms of selenium on the accumulation of selenium, sulfur and forms of nitrogen and phosphorus in forage cowpea (*Vigna sinensis*). *Soil Science*. 127(5): 257-230.
- Majerus V, Bertin P, Lutts S. 2007. Effects of iron toxicity on osmotic potential, osmolytes and polyamines concentrations in the African rice (*Oryza glaberrima* Steud). *Plant Science* 173(2): 96-105.
- Manion LK, Kopsell DE, Kopsell DA, Sams CE, Rhykerd RL. 2014. Selenium Fertilization Influences Biomass, Elemental Accumulations, and Phytochemical Concentrations in Watercress. *Journal of Plant Nutrition* 37(2): 327-342.
- McMurry J. 2012. *Química orgánica*. Editorial Cengage Learning. Octava Edición. 1376 p.
- Minotti PL, Halseth DE, Sieczka JB. 1994. Field chlorophyll measurements to assess the nitrogen status of potato varieties. *HortScience* 27: 69 -71.
- Mohamad MJ, Husam N, Khresat S. 1998. Nitric acid –and o-phenanthroline-extractable iron for diagnosis of iron chlorosis in citrus lemon trees. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 29: 1035-1043.
- Mohamadipoor R, Sedaghatthoor S, Khomami AM. 2013. Effect of application of iron fertilizers in two methods 'foliar and soil application' on growth characteristics of *Spathyphyllu illusion*. *European Journal of Experimental Biology* 3(1): 232-240.

- Munshi CB, Gerald F, Combs J, Mondy NI. 1990. Effect of selenium on the nitrogenous constituents of the potato. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 38: 2000-2002.
- Nasiri Y, Zehtab-Salmasi S, Nasrullahzadeh S, Najafi N, Ghassemi-Golezani K. 2010. Effects of foliar application of micronutrients (Fe and Zn) on flower yield and essential oil of chamomile (*Matricaria chamomilla* L.). *Journal of Medicinal Plants Research* 4(17): 1733-1737.
- Nishio JN, Abadía J, Terry N. 1985. Chlorophyll-Proteins and electron transport during iron nutrition-mediated chloroplast development. *Plant Physiology* 78: 296-299.
- Noctor G, Gómez L, Vanacker H, Foyer C H. 2002. Interactions between biosynthesis, compartmentation and transport in the control of glutathione homeostasis and signalling. *Journal of Experimental Botany* 53: 1283-1304.
- NOM-051-SCFI/SSA1-2010. Especificaciones generales de etiquetado para alimentos y bebidas no alcohólicas preenvasados-Información comercial y sanitaria. Norma Oficial Mexicana, Diario Oficial de la Federación. Disponible en: http://dof.gob.mx/nota_detalle_popup.php?codigo=5137518
- Novoa R, Villagrán N. 2002. Evaluación de un instrumento medidor de clorofila en la determinación de niveles de nitrógeno foliar en maíz. *Agricultura Técnica* 62(1): 166:171.7
- Nowak J, Kaklewski K, Klódka D. 2002. Influence of various concentrations of selenic acid (IV) on the activity of soil enzymes. *The Science of the Total Environment* 291: 105-110.
- Nowak J, Kakiewski K, Ligocki M. 2004. Influence of selenium on oxidoreductive enzymes activity in soil and in plants. *Soil Biology and Biochemistry* 36(10): 1553-1558
- Oikeh SO, Menkir A, Maziya DB, Welch R, Glahn P. 2003. Assessment of concentration of Iron and Zinc and bioavailable iron in grain of early-maturing tropical maize varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51: 3688-3694.
- Pestana M, Correia PJ, De Varennes A, Abadía J, Faria AF. 2006. Effectiveness of different foliar iron applications to control iron chlorosis in orange trees grown on a calcareous soil. *Journal of Plant Nutrition* 24: 613-622.
- Raigón MD, García MMD, Guerrero C, Esteve P. 2006. Actividad de la Nitrato Reductasa y su relación con los factores productivos en lechuga. VII Congreso SEAE Zaragoza. No 157.
- Ramos SJ, Faquin V, Guilherme LRG, Castro EM, Ávila FW, Carvalho GS, Bastos CEA, Oliveira C. 2010. Selenium biofortification and antioxidant activity in lettuce plants fed with selenate and selenite. *Plant Soil and Environment* 56(12): 584-588.
- Rayman MP. 2004. The use of high-selenium yeast to raise selenium status: how does it measure up? *British Journal of Nutrition* 92: 557-573.
- Rayman MP. 2008. Food-Chain selenium and human health: emphasis on intake. *British Journal of Nutrition* 100: 254-268.
- Razeto B, Selles G, Stockie C, Cobo J. 1984. Tratamiento de la deficiencia de hierro en durazneros regados por goteo. *Agric. Tec. (Chile)* 44(1): 89-91.
- Reilly C. 2006. *Selenium in Food and Health*. Second Edition. Springer, New York, USA, 199 p.
- Ríos RJJ. 2008. Biofortificación con Se en plantas de lechuga: Estudio de la producción, calidad y estado nutricional. Tesis Doctoral. Universidad de Granada. Facultad de Ciencias. Granada España. 164 p.

- Rodríguez MMN, Alcántar GG, Aguilar SA, Etchevers BJD, Santizo RJA. 1998. Estimación de la concentración de nitrógeno y clorofila en tomate mediante un medidor portátil de clorofila. *Terra* 16: 135-141.
- Saffaryazdi A, Lahouti M, Ganjeali A, Bayat H. 2012. Impact of selenium supplementation on growth and selenium accumulation on spinach (*Spinacia oleracea* L.) plants. *Notulae Scientia Biologicae* 4(4): 95-100.
- Sainz-Rozas H, Echeverría HE 1998. Relación entre las lecturas del medidor de clorofila (Minolta SPAD 502) en distintos estadios del ciclo del cultivo de maíz y el rendimiento en grano. *Revista de la Facultad de Agronomía, La Plata* 103: 37-44.
- SAS. 2011. SAS Institute Inc., SAS/STAT Users Guide, Version 9.3. SAS Institute Inc. Cary, N. C., USA.
- Schuler M, Bauer P. 2012. Strategies for Iron biofortification on crop plants. *In: Food Quality* (2012). INTECH. Disponible en: <http://www.intechopen.com/books/food-quality/strategies-for-iron-biofortification-of-crop-plants>
- Sekyere OA, Kontturi J, Hajiboland R, Rahmat S, Aliasgharzard N, Hartikainen H, Sappanen M. 2013. Influence of selenium (Se) on carbohydrate metabolism, nodulation and growth in alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Plant and Soil* 373(1-2): 541-552.
- Seppänen M, Turakainen M, Hartikainen H. 2003. Selenium effects on oxidative stress in potato. *Plant Science* 165: 311-319.
- Seppänen MM, Kontturi J, Lopez HI, Madrid Y, Cámara C, Hartikainen, H. 2010. Agronomic biofortification of *Brassica* with selenium: enrichment of SeMet and its identification in *Brassica* seeds and meal. *Plant and Soil* 337: 273-283.
- Sibley JL, Eakes DJ, Gilliam CH, Keever GJ, Dozier Jr. WA. 1996. Growth and color of red maple selections in the southeastern United States. *Journal of Environmental Horticulture* 13(1): 51-53.
- Sors TG, Ellis DR, Salt DE. 2005. Selenium uptake, translocation, assimilation and metabolic fate in plant. *Photosynthesis Research* 86: 373-389.
- Steiner A. 1984. The universal nutrient solution. *In: I. S. O. S. C. Proceedings 6th International Congress on Soilless Culture, The Netherlands*. pp. 633-649.
- Thompson B. 2011. Combating iron deficiency. Food-based approaches. *In: FAO. Combating micronutrient deficiencies. Food-based approaches*. pp: 268-288. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/013/am027e/am027e.pdf>
- Tian YB, Chen FMB, Song Y. 2005. Uptake, distribution and accumulation of selenium by ryegrass. *Plant Nutrition and Fertilizing Science* 11(1): 122-127.
- Turakainen M, Hartikainen H, Seppänen M. 2004. Effect of selenium treatments on potato (*Solanum tuberosum* L.) growth and concentration of soluble sugars and starch. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52: 5378-5382.
- Voogt W, Holwerda HT, y Khodabaks R. 2010. Biofortification of lettuce (*Lactuca sativa* L.) with iodine: the effect of iodine form and concentration in the nutrient solution on growth, development and iodine uptake of lettuce grown in water culture. *J Sci Food Agric*. Vol. 90: 906-913.
- Wei Y, Shohag MJ, Yang X, Yibin Z. 2012. Effects of foliar iron application on iron concentration in Polished rice grain and its bioavailability. *Journal Agricultural and Food Chemistry* 60(45): 11433-11439.
- Whanger PD. 2004. Selenium and its relationship to cancer: an update. *British Journal of Nutrition* 91: 11-28.

- Whitam FH, Blaydes DF, Devlin RM. 1971. Experiments in Plant Physiology. Van Nostrand Reinhold C. New York, USA. 245 pp.
- White PJ, Bowen HC, Parmaguru P, Fritz M, Spracklen WP, Spiby RE, Meacham MC, Mead A, Harriman M, Trueman LJ, Smith BM, Thomas B, Broadley MR. 2004. Interactions between selenium and sulfur 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 on senescing lettuce. *Plant and Soil* 237: 55-61.
- Yadava VL. 1986. A rapid and non-destructive method to determine chlorophyll in intact leaves. *HortScience* 2: 1449-1495.
- Yao X, Chu J, Wang G. 2009. Effects of selenium on wheat seedlings under drought stress. *Biol. Trace Elem. Res.* 130: 283-290.
- Yassen AA, Safia MA, Sahar MZ. 2011. Impact of nitrogen fertilizer and foliar spray of selenium on growth, yield and chemical constituents of potato plants. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences* 5(11): 1296-1303.
- Zahedi H, Noormohammadi G, Shiranirad AH, Habibi D, Akbarboojar MM. 2009. Effect of zeolite and foliar application of Selenium on growth, yield and yield component of three canola cultivars under conditions of late season drought stress. *Notulae Scientia Biologicae* 1(1): 73-80.
- Zebarth BJ, Younie M, Paul JW, Bittman S. 2002. Evaluation of leaf chlorophyll index for making fertilizer nitrogen recommendations for silage corn in a high fertility environment. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 33: 665-684.
- Zhu YJ, Komor E, Moore PH. 1997. Sucrose accumulation in the sugarcane stem is regulated by the difference between the activities of soluble acid invertase and sucrose phosphate synthase. *Plant Physiology* 115: 609-616.
- Zocchi G, De Nisi P, Dell'Orto M, Espen L, Marino P. 2007. Iron deficiency differently affects metabolic responses in soybean roots. *Journal of Experimental Botany* 58(5): 993-1000.

CAPÍTULO II. BIOFORTIFICACIÓN RADICAL DE ACELGA, ESPINACA Y COL CON Fe y Se Y SUS EFECTOS AGRONÓMICOS, FISIOLÓGICOS Y BIOQUÍMICOS

RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue la biofortificación vía radical con hierro y selenio en plantas de acelga, col y espinaca y valorar sus efectos agronómicos, fisiológicos y bioquímicos. Las plantas de las especies antes mencionadas fueron instaladas en solución nutritiva Steiner bajo un sistema hidropónico de raíz flotante. El experimento fue diseñado bajo un experimento factorial 4^2 , donde los factores de estudio fueron la adición a la solución nutritiva de Fe (0, 5, 10 y 15 mg L⁻¹) y Se (0, 0.3978, 0.7896 y 1.1844 mg L⁻¹). Las variables evaluadas fueron biomasa fresca y seca de vástago, bioacumulación Fe y Se, lecturas SPAD, contenido total de nitrógeno y nitrato, contenido de clorofilas, contenido de aminoácidos, de proteínas, de azúcares solubles totales y la actividad antioxidante. Se realizaron dos muestreos por especie, a los 30 días después del tratamiento (ddt) y a los 60 ddt. Los resultados obtenidos mostraron que el suministro radical de Fe y Se incrementa el contenido de éstos en el tejido foliar de acelga, espinaca y col; así también que el contenido es dependiente del número de aplicaciones, dosis y especie biofortificada. Por otra parte, la adición a la solución nutritiva de Fe y Se, promovieron un aumento en la acumulación de biomasa fresca y seca, y en el contenido de azúcares. En acelga y espinaca, se obtuvo un incremento en los valores SPAD por efecto de la aplicación Fe y Se, pero en col, por efecto del factor Fe no se obtuvieron diferencias significativas entre tratamientos. Incrementos en la acumulación de nitrógeno y de nitrato en los cultivos de acelga y col, fueron obtenidos con el suministro de Fe. Por otro lado, la adición de Se promovió inicialmente la acumulación de nitrógeno; posteriormente una disminución del mismo en acelga y col, además de generar una reducción en el contenido foliar de nitrato en las tres especies evaluadas. El contenido de clorofila *a*, *b* y total fue favorecido por la aplicación de Fe vía radical en los tres cultivos analizados y la adición de Se incrementó el contenido de clorofilas, el cual no fue significativo entre tratamientos para el caso de col. A excepción de col a los 60 ddt, la aplicación de Fe y Se provocó un aumento en el contenido de aminoácidos en los tres cultivos. El Fe aplicado vía solución nutritiva propició un mayor

contenido de proteínas en los tres cultivos analizados; por el contrario, la aplicación de Se redujo la acumulación de proteínas en acelga y espinaca. Finalmente, se observó que la actividad antioxidante disminuyó en acelga por efecto del factor Fe, pero éste no tuvo efecto significativo en espinaca. En col, por efecto del factor Se, se obtuvo una disminución en la actividad antioxidante de plantas de espinaca, y un incremento de ésta en los cultivos de acelga y col.

Palabras clave: biofortificación, hierro, selenio, proteína, nitrato, acumulación nutrimental.

2.1 INTRODUCCIÓN

Las estimaciones del número de personas afectadas por la carencia de micronutrientes son altas ([Hotz y Brown, 2004](#)). La malnutrición aqueja a más de la mitad de la población en el mundo, especialmente las mujeres, y los niños en edad preescolar ([Nestel et al., 2006](#)). La deficiencia de micronutrientes tal como hierro, zinc y vitamina A afecta a más de tres billones de personas en el mundo (más del 50% de la población del planeta), la mayoría de ellos mujeres, infantes y niños en familias de escasos recursos en los países en desarrollo. Esta crisis global en salud nutricional es el resultado de sistemas de alimentación disfuncional que no proveen consistentemente suficientes nutrientes esenciales para cubrir los requerimientos nutricionales de los grupos de alto riesgo ([Welch, 2005](#)).

La seguridad alimentaria debe referirse no sólo a una adecuada ingesta de energía, sino también, garantizar la suficiente ingesta de micronutrientes esenciales ([Hotz y Brown, 2004](#)). Las intervenciones de salud pública para tratar la deficiencia de micronutrientes incluyen la fortificación (la harina con hierro, por ejemplo) y el uso de suplementos (dos veces al año las cápsulas de vitamina A para niños en edad preescolar). Sin embargo, son pocos los gobiernos que disponen de recursos para financiar ese tipo de programas en forma permanente.

La biofortificación, utiliza las técnicas de cultivo para incrementar el contenido de micronutrientes de los alimentos básicos ([Meenakshi et al., 2007](#)). Las estrategias para incrementar el contenido mineral de plantas se han concentrado principalmente en

hierro y zinc, los cuales son más frecuentemente deficientes en la dieta humana. De hecho, la deficiencia de hierro es el más prevalente problema nutricional en el mundo el día de hoy, afectando un estimado de 2.7 billones de personas (Hirschi, 2009).

El hierro (Fe) presenta una baja movilidad en el suelo debido a que el FeSO_4 es rápidamente atrapado por partículas del suelo y convertido en Fe(III); además aplicaciones de fertilizantes a base de Fe no han tenido resultados satisfactorios en esfuerzos de biofortificación (Hirschi, 2009).

Los pastos a diferencia de otras plantas, utilizan diferentes mecanismos para obtener Fe(II), sin embargo, todas deben primero tomar Fe(III) que es abundante en el suelo y convertirlo a Fe (II) (Hirschi, 2009).

A través del tiempo se han desarrollado estrategias de biofortificación mostrando satisfactorios progresos en biofortificación de vitamina E, provitamina A, yodo, Se, Fe, etc. (DellaPenna, 2007; Voogt *et al.*, 2010).

Por otra parte, el Se no tiene probada ninguna función en el metabolismo de plantas superiores; sin embargo, las plantas absorben este elemento de la solución del suelo principalmente como selenato y en mucho menor medida como selenito (Inostroza *et al.*, 2013).

Aunque el selenio no es esencial para las plantas, lo absorben e incorporan en sus aminoácidos y proteínas, el nivel de acumulación de selenio dependerá de la cantidad de este disponible, el valor de pH, potencial de óxido reducción, contenido de sesquióxido, arcillas, materia orgánica y actividad microbológica del suelo (Čuwardić, 2003).

La fracción de selenio soluble en el agua es considerada la forma más disponible para las plantas y su contenido en un suelo agrícola, no supera las 50 ppb (Čuwardić, 2003). Las plantas absorben el selenio del agua, suelo o sedimentos y pueden acumularlo en sus tejidos y volatilizarlo (Alcántar y Trejo, 2010). Las especies vegetales varían extensamente en su capacidad para tolerar Se, y diferencias en las dinámicas de acumulación han sido observadas entre plantas acumuladoras de selenio y las no acumuladoras (Inostroza *et al.*, 2013).

El selenio es un elemento considerado esencial para el metabolismo humano y animal; cumple un importante función en el sistema antioxidante del cuerpo, dado que sus

propiedades antioxidantes son comparables a las de la vitamina E que son extensamente conocidas (Ježek *et al.*, 2012). No obstante, cuando es absorbido en altas concentraciones, puede ser dañino y cataliza la oxidación de tioles y simultáneamente genera superóxido (O_2^-), lo cual significa que actúa como un prooxidante (Nowak *et al.*, 2004).

En algunos casos, la biofortificación a través de la aplicación de fertilizantes ha resultado muy satisfactoria, tal es el caso de la aplicación de Se para aumentar la concentración de este elemento en forrajes (Broadley *et al.*, 2006) o aplicación de yodo (I) y selenio (Se), los cuales son móviles en suelos y plantas (Hirschi, 2009).

Numerosos estudios han demostrado la factibilidad de incrementar la concentración de micronutrientes en diversos cultivos, aplicando pequeñas cantidades de fertilizantes que contienen el elemento deseado, directamente al suelo o vía foliar (Broadley *et al.*, 2006). Por lo anterior, el objetivo de la presente investigación es la biofortificación vía radical con hierro y selenio a plantas de acelga, espinaca y col y evaluar el efecto en variables de carácter agronómico, fisiológico y bioquímico.

2.2 MATERIALES Y MÉTODOS

2.2.1 Material vegetal y condiciones experimentales

Como material se utilizaron plántulas de acelga (*Beta vulgaris* L.) cv. Food Hoock Giant, espinaca (*Spinacia oleracea* L.) var. Imperial y col (*Brassica oleracea*) var. Blue vantage, que fueron instaladas en un sistema hidropónico de raíz-flotante, con una solución nutritiva Steiner completa a pH de 5.5 y 5.8 (Steiner, 1984).

La adición de micronutrientes en la solución nutritiva se realizó a partir de una solución conteniendo éstos, excepto Fe, la cual tuvo un pH de 5.8 (**Cuadro 2.1**), se suministró 1 mL de la mezcla por litro de solución nutritiva.

Cada unidad del sistema hidropónico de raíz-flotante estuvo constituida por una placa de fibra de vidrio con seis orificios donde se colocaron las plantas con vasos de plástico perforados y cubos de hule-espuma para sostenerlas. Un contenedor de madera de 40 L de capacidad forrado con plástico negro calibre 600, en el que se colocó la solución nutritiva y mangueras que fueron conectadas a compresoras de 2 HP cuya función fue oxigenar la solución nutritiva cada 3 h.

Cuadro 2.1 Solución de micronutrientos.

Fuente	g L ⁻¹
Ácido bórico (H ₃ BO ₃)	2.88
Sulfato de manganeso (MnSO ₄ H ₂ O)	1.81
Sulfato de zinc (ZnSO ₄ 7H ₂ O)	0.22
Sulfato de cobre (CuSO ₄ 5H ₂ O)	0.18
Ácido molíbdico (H ₂ MoO ₄ H ₂ O)	0.22

2.2.2 Diseño experimental y diseño de tratamientos

Se diseñó un experimento factorial 4², donde los factores de estudio fueron Fe y Se adicionados vía radical (a la solución nutritiva). El Fe fue aplicado a partir de FeSO₄ 7H₂O a dosis de 0, 5, 10 y 15 mg L⁻¹, mientras que en caso del Se la fuente utilizada fue Na₂SeO₄ a dosis de 0, 0.3978, 0.7896 y 1.1844 mg L⁻¹. Para cada especie trabajada, se realizó un experimento independiente. La unidad experimental fue un contenedor con seis plantas, y tres repeticiones por tratamiento. Las unidades experimentales fueron distribuidas completamente al azar en el invernadero.

Las determinaciones en espinaca se realizaron 30 días después de iniciado el tratamiento (ddt) y para acelga y col a los 30 y 60 días

2.2.3 Variables evaluadas

Peso de materia fresca y seca de vástago. La parte aérea (vástago) de cada especie se cosechó y pesó usando una balanza digital (OHAUS modelo GT410D), posteriormente el tejido fue secado en una estufa (marca CLIMATEST modelo SW-17TA), durante 72 h a 70 °C. Una vez concluido este período, el material vegetal se pesó usando una balanza digital (OHAUS modelo GT410D) y el valor de peso de biomasa fresca y seca se reportó en gramos (g).

Bioacumulación con Fe y Se. El análisis de la concentración de estos elementos en vástago se hizo mediante digestión húmeda del material seco con una mezcla de ácidos perclórico y nítrico (Alcántar y Sandoval, 1999). La lectura de los extractos obtenidos después de la digestión y filtrado se determinó con el equipo de espectroscopia de

emisión atómica de inducción por plasma (ICP-OES, Agilent 725-OES, Australia). Considerando la materia seca de parte aérea se estimó la acumulación de Fe y Se.

Lecturas SPAD. Para la variable lecturas SPAD, por cada planta se midieron tres hojas, y se tomó el promedio. La medición se realizó con el medidor SPAD modelo 502 Minolta, el cual mide la diferencia entre la luz infrarroja y la luz roja de la hoja (Yadava, 1986).

Acumulación de N. Se determinó la concentración de N en tejido foliar mediante el método micro-Kjeldahl (Bremner, 1965). Con el peso de biomasa seca de parte aérea se estimó la acumulación de N en parte aérea.

Acumulación de nitrato (NO_3^-). De acuerdo al procedimiento de extracción descrito Alcántar y Sandoval (1999), se determinó la concentración de nitrato en material seco de parte aérea usando un espectrofotómetro (Thermo Fisher Scientific, Genesys 10 UV, Madison, WI 53711, USA). De la misma manera que con N, la estimación del contenido de nitrato se hizo considerando el peso de biomasa seca total de la parte aérea.

Contenido de clorofilas. Se realizó una extracción etanólica en material vegetal fresco de parte aérea de acuerdo a la metodología descrita por Geiger *et al.* (1988); en la triple extracción etanólica resultante se determinó la concentración de clorofilas *a*, *b* y total. Con el peso de materia fresca de vástago se estimó el contenido de clorofilas.

Contenido de aminoácidos. En el mismo extracto empleado para la cuantificación de clorofilas, mediante el método de la ninhidrina se cuantificó la concentración de aminoácidos libres totales. Con los datos de concentración y de peso de biomasa en fresco total, se calculó el contenido de éstos.

Contenido de proteínas. En primera instancia se determinó la concentración de proteínas solubles totales en extractos foliares obtenidos de acuerdo a lo descrito por Höfner *et al.* (1989) empleando negro amido para la tinción y albúmina de suero bovino como estándar para la curva de calibración. La determinación se realizó en un espectrofotómetro (Thermo Fisher Scientific, Genesys 10 UV, Madison, WI 53711, USA) a una longitud de onda de 640 nm. Estos resultados y los obtenidos de peso de biomasa fresca fueron utilizados para la estimación de proteínas contenidas en vástago.

Contenido de azúcares solubles totales. Se determinó a partir de los datos de peso de biomasa fresca total de parte aérea y de los resultados de concentración de azúcares

solubles totales. Esta última determinación se realizó por el método de la antrona de acuerdo a lo descrito por [Whitam et al. \(1971\)](#). Para la determinación se utilizó en un espectrofotómetro (Thermo Fisher Scientific, Genesys 10 UV, Madison, WI 53711, USA) a una longitud de onda de 600 nm.

Actividad antioxidante. Se evaluó en tejido foliar por el método del DPPH a diferentes tiempos (15, 30 y 60 min), los resultados son reportados en equivalentes de trólox, el cual fue utilizado como antioxidante sintético de referencia.

2.2.4 Análisis estadístico

Con los resultados obtenidos en las distintas variables evaluadas, se realizó un análisis de varianza (PROC ANOVA) para un experimento factorial completamente al azar; así también se realizaron análisis de comparación de medias usando la prueba de Tukey ($\alpha \leq 0.05$ %), para lo cual se utilizó el programa estadístico System Analytic Statistical, versión 9.3 ([SAS, 2011](#)).

2.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

2.3.1 Biomasa fresca de vástago

Los resultados mostraron que la biomasa fresca de vástago fue afectada en forma significativa por los factores Fe y Se a los 30 y 60 ddt en acelga, y a los 30 ddt en el cultivo de espinaca; excepto col en el muestreo realizado 30 ddt por efecto de Se y a los 60 ddt por efecto de Fe. El efecto de la interacción de los factores de estudio solo no fue significativa para col en el muestreo realizado 60 ddt (**Cuadro 2.2**).

Cuadro 2.2 Significancia estadística de factores de estudio y su interacción en la variable biomasa fresca de vástagos en acelga, espinaca y col, después de 30 y 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva.

Fuente de Variación	Acelga		Espinaca		Col	
	Días de tratamiento					
	30	60	30	30	60	
Fe	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	0.0001 *	0.7906 ns	
Se	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	0.0816 ns	<.0001 *	
Fe x Se	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	0.0190 *	0.1526 ns	
CV	2.73	3.56	7.98	22.48	19.65	

* Significativo (Tukey, $P \leq 0.05$); ns no significativo

Efecto principal de Fe en biomasa fresca de vástago. Después de 30 ddt, en plantas de acelga se obtuvo una disminución en la biomasa fresca de vástago a medida que la dosis de Fe vía radical aumentó (**Figura 2.1A**); posteriormente, a los 60 ddt con dosis de 5 mg L⁻¹ de Fe se registró un aumento en la acumulación de biomasa fresca, la cual con aplicaciones de 10 y 15 mg L⁻¹ de Fe se vio significativamente disminuida (**Figura 2.1B**). En espinaca, la mayor acumulación de biomasa fresca se tuvo con las dosis de Fe de 5 y 15 mg L⁻¹ (**Figura 2.1C**). Por otro lado, tanto a los 30 como a los 60 ddt en plantas de col, no se registró un efecto significativo por efecto del factor Fe en la acumulación de biomasa fresca (**Figuras 2.1D y 2.1E**, respectivamente).

Existen varias evidencias de la respuesta positiva de hortalizas al suministro de Fe. Por ejemplo, Nenova (2006), reportaron un aumento significativo en la biomasa fresca de plantas de chícharo (*Pisum sativum* L. cv. Manuela) por efecto de la aplicación de Fe vía solución nutritiva a dosis de 2 y 10 mg L⁻¹. Así también, se han realizado estudios de ingeniería genética para potenciar esta capacidad, tal es el caso de Goto *et al.* (2000), quienes encontraron que plantas de lechuga que fueron modificadas genéticamente para almacenar más Fe, presentaron un incremento en su peso fresco de hasta el 42%, resultado de un aumento en su tasa fotosintética.

En plantas de garbanzo (*Cicer arietinum* L.), Pirdadeh *et al.* (2013) registraron aumento en la biomasa fresca en algunas variedades de esta especie, el cual, como en la presente investigación, fue dependiente de la dosis aplicada, obteniéndose valores más altos para esta variable a dosis de Fe de 10 mg L⁻¹ vía foliar en la variedad Great Local.

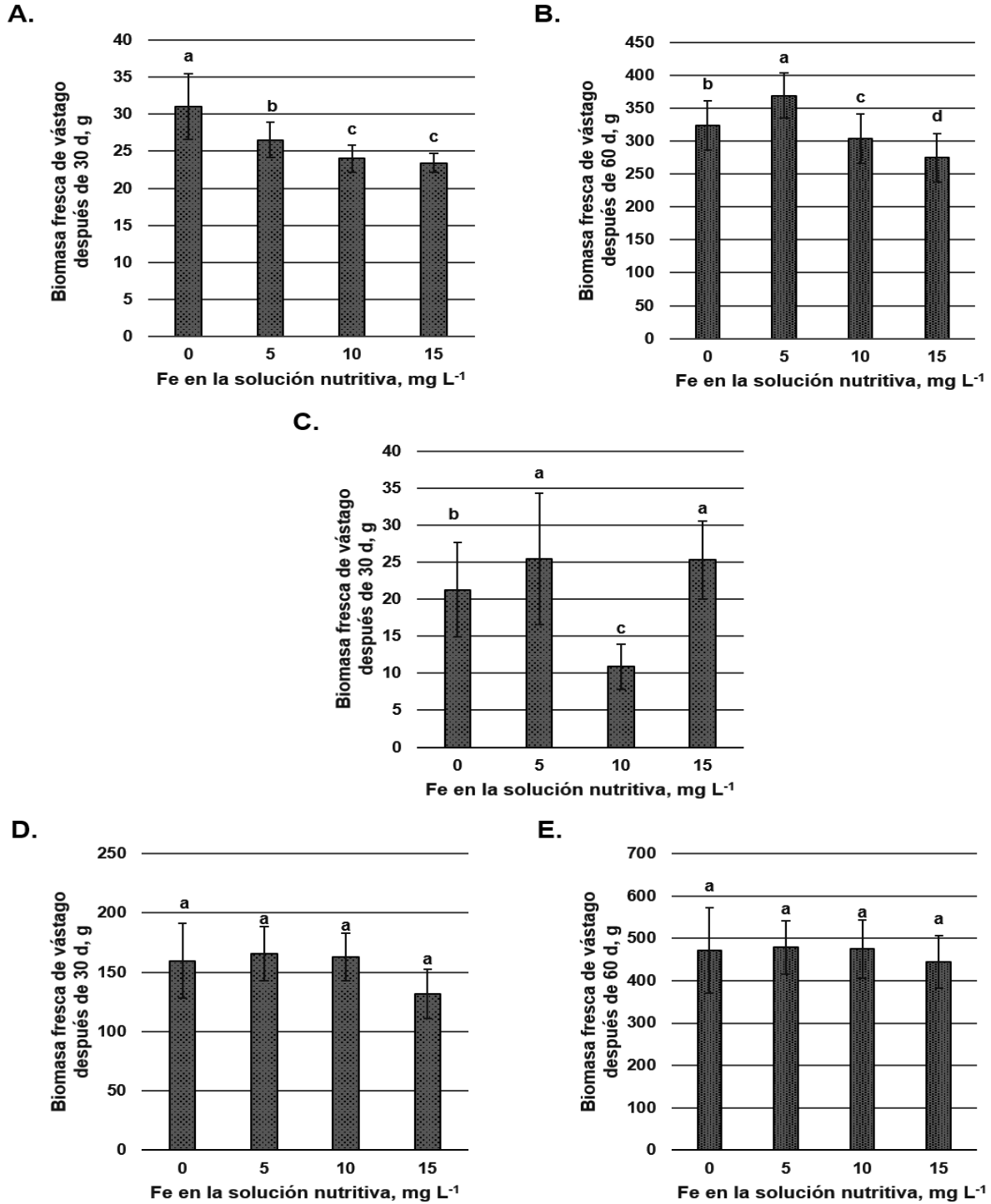


Figura 2.1 Efecto principal del Fe en el peso de biomasa fresca de vástagos de acelga (A y B, 30 y 60 ddt, respectivamente), espinaca (C, 30 ddt) y col (D y E, 30 y 60 ddt, respectivamente). Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

Efecto principal de Se en biomasa fresca de vástago. Por efecto del factor Se en plantas de acelga, a los 30 ddt hubo un incremento en la biomasa fresca conforme incrementó la dosis de Se aplicada en el intervalo de 0 a 0.7896 mg L⁻¹; concentraciones superiores de Se (1.1844 mg L⁻¹), redujeron significativamente el peso de biomasa fresca en comparación con el testigo (**Figura 2.2A**). A los 60 ddt, se observó, un incremento en la acumulación de biomasa fresca a dosis de Se de 0.7896 y 1.1844 mg L⁻¹, ambas estadísticamente superiores al testigo (**Figura 2.2B**). En espinaca, también se observó un aumento en la biomasa fresca por efecto de la adición radical de Se en cualquiera de las dosis aplicadas, aunque a diferencia de lo obtenido en acelga, fue con la dosis de 0.7896 mg L⁻¹ donde se obtuvo la mayor acumulación de biomasa fresca (**Figura 2.2C**). Al respecto, [Saffaryazdi et al. \(2012\)](#), reportan mayor acumulación de biomasa fresca en espinaca por efecto de la aplicación de Se en forma de selenito de sodio con dosis de Se de 1 mg L⁻¹ de solución nutritiva, por encima del cual, la acumulación de biomasa disminuyó. Otros autores por el contrario, reportan efecto negativo de la aplicación de Se vía solución nutritiva en la biomasa fresca en especies como brócoli, frijol y cebolla ([Arscott y Goldman, 2012](#)). En este contexto, [Ferrarese et al. \(2012\)](#) mencionan que aplicaciones de Se en forma de selenato de sodio a dosis de 0, 2.6, 3.9 y 5.2 µM vía solución nutritiva en plantas de espinaca (*Spinacia oleracea* L.) no provocaron un efecto significativo en el rendimiento de este cultivo. [Hartikainen et al. \(2000\)](#) mencionan una disminución del peso fresco con aplicaciones de Se a 10 mg kg⁻¹ de suelo. Para el caso de col, la adición vía solución nutritiva de Se después de 30 y 60 ddt aumentó la acumulación de biomasa fresca en cualquiera de las dosis probadas en la presente investigación, con respecto al testigo, pero sin ser estadísticamente diferente entre ellas. Contrario a los resultados observados en col, en plantas de berro (*Nasturtium officinale*) cultivadas bajo condiciones de invernadero y en solución nutritiva, el tratamiento con Se en forma de selenato de sodio a dosis de 0, 0.125, 0.25, 0.5, 1.0, 2.0 y 4.0 mg L⁻¹ no afectó significativamente los valores de biomasa fresca, a pesar de haberse obtenido un aumento lineal en la concentración de Se en el tejido foliar ([Manion et al., 2014](#)).

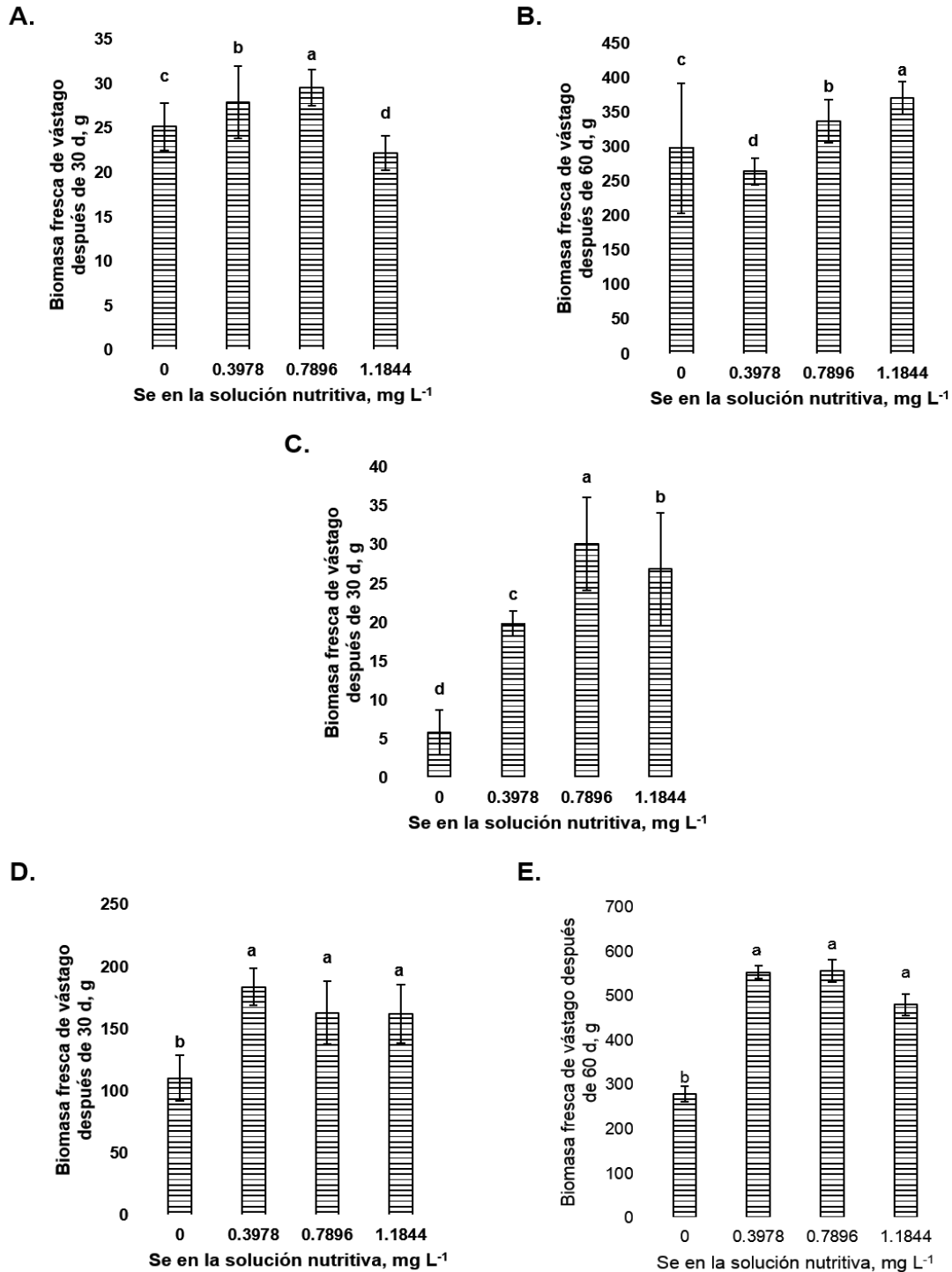


Figura 2.2 Efecto principal del Se en el peso de biomasa fresca de vástagos de acelga (A y B, 30 y 60 ddt, respectivamente), espinaca (C, 30 ddt) y col (D y E, 30 y 60 ddt, respectivamente). Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

Efectos de la interacción Fe y Se en la biomasa fresca de vástago. Por efecto de la interacción Fe y Se en el muestreo realizado a los 30 ddt en plantas de acelga, se observó una mayor acumulación de biomasa a dosis de Se de 0.3978 mg L^{-1} en ausencia de Fe.

La máxima reducción de la biomasa fresca en acelga se tuvo con la dosis alta de Se y con la ausencia de Fe o bien la dosis baja de éste (**Figura 2.3A**). En espinaca, las dosis altas de Se 0.7896 y 1.1844 mg L^{-1} , en combinación con las dosis de Fe de 5 y 15 mg L^{-1} , respectivamente, ocasionaron la mayor acumulación de materia fresca. En el intervalo de dosis de Fe de 0 a 5 mg L^{-1} , es evidente el efecto negativo de la ausencia de Se en la acumulación de materia fresca (**Figura 2.3B**).

En col, a los 30 ddt, por efecto de la aplicación de Se sin la adición de Fe se observó una mayor acumulación en la biomasa fresca en cualquiera de las dosis probadas, sin embargo, por efecto de la adición de Fe a 5 mg L^{-1} se registró una disminución en la biomasa fresca solo cuando se combinó con Se a dosis de 1.1844 mg L^{-1} y en general, la adición de Se en cualquiera de las dosis aplicadas promovió un incremento en la biomasa fresca tanto a 10 como 15 mg L^{-1} de Fe (**Figura 2.3C**).

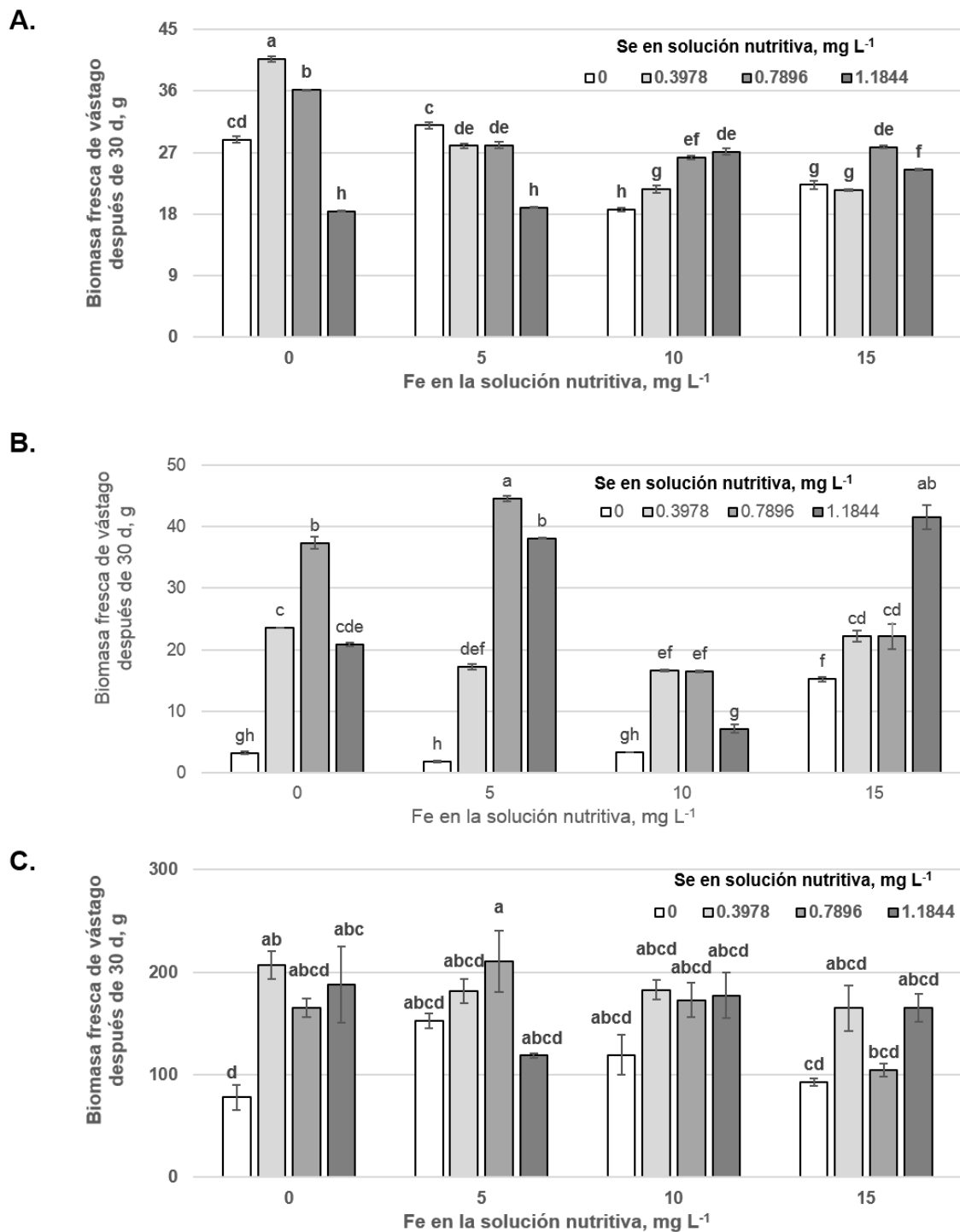


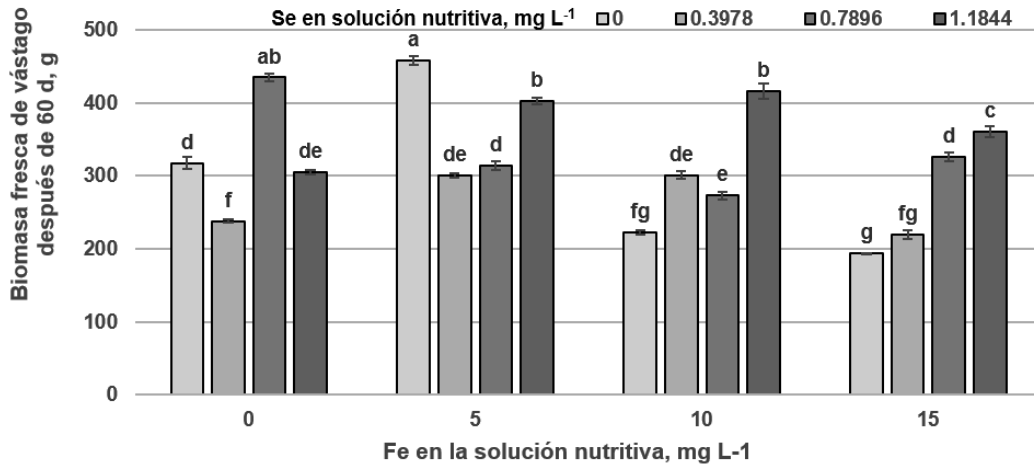
Figura 2.3 Efecto de la interacción Fe x Se en el peso de biomasa fresca de vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C), después de 30 ddt. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

A los 60 ddt, por efecto de la interacción Fe y Se, en acelga, el mayor aumento en la biomasa fresca se obtuvo a dosis de 0.7896 mg L^{-1} de Se sin la aplicación de Fe, además, la adición de Se combinado con 5 mg L^{-1} de Fe provocó una disminución en la biomasa fresca y por efecto de la aplicación de Se a dosis de 10 y 15 mg L^{-1} de Fe promovió un incremento en la acumulación de biomasa, la cual fue mayor a 1.1844 mg L^{-1} de Se (**Figura 2.4A**). En esta misma determinación (60 ddt) la aplicación vía radical de Se incrementó la acumulación biomasa fresca en plantas de col en cualquiera de las dosis de Fe aplicadas (**Figura 2.4B**).

Las especies vegetales varían extensamente en su capacidad para tolerar Se ([Inostroza et al., 2013](#)). Diferencias en cuanto a la absorción y movimiento de Se debidas a la variación en la especie química de Se suministrada y especie vegetal utilizada han sido observadas ([Terry et al., 2000](#)).

[Hawrylak et al. \(2010\)](#) en plantas de pepino (*Cucumis sativus* L.) no observaron un efecto significativo en la acumulación de biomasa fresca debido a la aplicación de Se a la solución nutritiva en dosis de 0.1989 a 0.7896 mg L^{-1} , pero sí una disminución de la misma con dosis de 1.5792 mg L^{-1} . [Hartikainen et al. \(2000\)](#) mencionan que la reducción en biomasa puede deberse al carácter pro-oxidante del Se que se produce cuando éste se encuentra en alta concentración en los tejidos fotosintéticos.

A.



B.

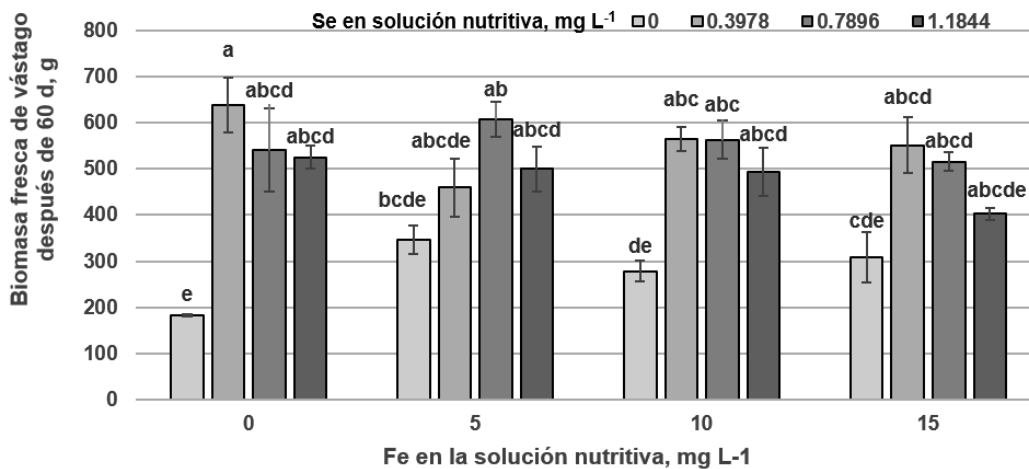


Figura 2.4 Efecto de la interacción Fe x Se en el peso de biomasa fresca de vástagos de acelga (A) y col (B), después de 60 ddt. Medias ± DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

2.3.2 Biomasa seca de vástago

El análisis estadístico mostró un efecto significativo por efecto del factor Fe, Se y la interacción Fe x Se para la variable biomasa seca medida a los 30 ddt en espinaca y para esta misma variable a los 30 y 60 ddt en acelga, además, solo se obtuvo un efecto significativo en la acumulación de biomasa seca por efecto del factor Se en el cultivo de col (**Cuadro 2.3**).

Cuadro 2.3 Significancia estadística de factores de estudio y su interacción en la variable biomasa seca en vástagos de acelga, espinaca y col, después de 30 y 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva.

Fuente de Variación	Acelga		Espinaca		Col	
	Días de tratamiento					
	30	60	30	30	60	
Fe	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	0.3371 ns	0.5994 ns	
Se	0.0002 *	<.0001 *	<.0001 *	0.0003 *	<.0001 *	
Fe x Se	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	0.1064 ns	0.2021 ns	
CV	6.94	7.82	9.04	32.51	21.48	

* Significativo (Tukey, $P \leq 0.05$); ns no significativo

Efecto principal del factor Fe en biomasa seca de vástago. En el caso de acelga, en la primera medición realizada a los 30 ddt, la aplicación de 5 y 10 mg L⁻¹ de Fe vía solución nutritiva incrementó la acumulación de biomasa seca, pero ocasionó una disminución para esta variable cuando se aplicó a dosis de 15 mg L⁻¹. (**Figura 2.5A**). Por otro lado, a los 60 ddt, la adición de Se a dosis de 0, 5 y 10 mg L⁻¹ no provocó un efecto significativo sobre la biomasa seca de vástago y solo se observó que a dosis de 15 mg L⁻¹ de Fe a la solución nutritiva en acelga, provocó una menor acumulación en la biomasa seca (**Figura 2.5 B**). En espinaca, se registró un incremento en la acumulación de la biomasa seca por efecto del factor Fe solo a dosis de 5 y 15 mg L⁻¹, la cual fue determinada a los 30 ddt (**Figura 2.5C**). Efectos similares fueron obtenidos en plantas de cítricos por [Pestana et al. \(2005\)](#), donde plantas de naranja creciendo con diferentes niveles de Fe (0, 5, 10 15 y 20 μM L⁻¹ de Fe), mostraron un aumento en su acumulación de biomasa seca de vástago por efecto de la aplicación radical de este elemento a dosis de 10 μM L⁻¹ para unas variedades (Troyer y Taiwanica) y a dosis de 20 μM L⁻¹ para otra (Swingle).

Por su parte, en el cultivo de col tanto a los 30 como a los 60 ddt no se registró efecto estadístico significativo por la adición de Fe en la solución nutritiva para la acumulación de biomasa seca (**Figuras 2.5D y 2.5E**). A este respecto, [Chatterjee et al. \(2006\)](#) encontraron en plantas de papa una disminución en el rendimiento de tubérculos por la adición de dosis altas y bajas de Fe (0.001 mM y >0.1 mM Fe) en el suelo.

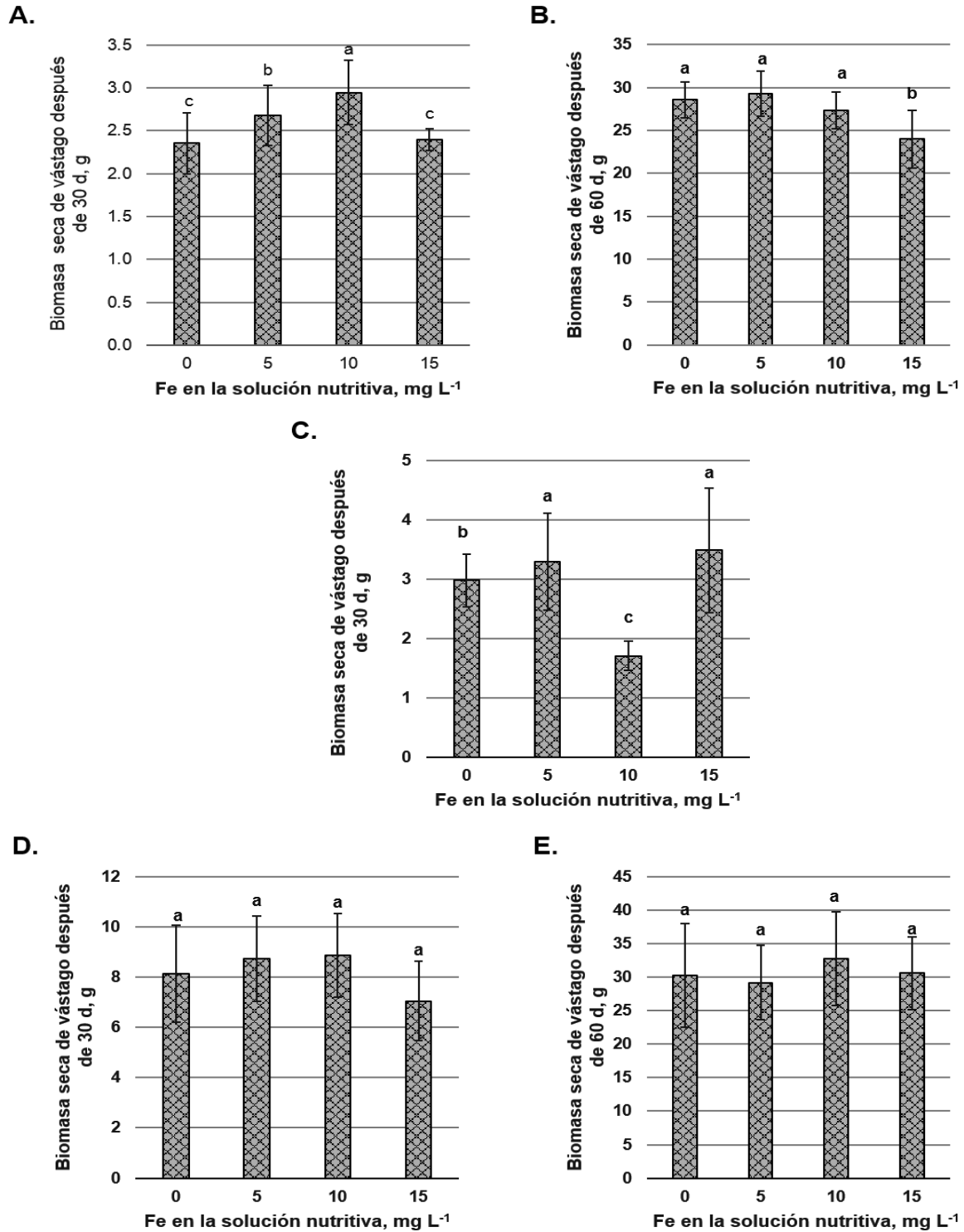


Figura 2.5 Efecto principal del Fe en el peso de biomasa seca de vástagos de acelga (A y B, 30 y 60 ddt, respectivamente), espinaca (C, 30 ddt) y col (D y E, 30 y 60 ddt, respectivamente). Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

Efecto principal del Se en la biomasa seca de vástago. A los 30 ddt se observó que por efecto de la aplicación de Se, solo se obtuvo una mayor acumulación de biomasa seca cuando éste fue adicionado a 1.1844 mg L^{-1} en el cultivo de acelga (**Figura 2.6A**), sin embargo, a los 60 ddt se obtuvieron valores más altos para esta variable conforme aumentó la dosis de Se en el cultivo de acelga (**Figura 2.6B**), efecto que fue similar en espinaca a los 30 ddt (**Figura 2.6C**). Así mismo, [Saffaryazdi et al. \(2012\)](#) obtuvieron que el peso seco de vástago de plantas de espinaca aumentó 15% debido a la aplicación de 1 mg L^{-1} de selenito de sodio a la solución nutritiva. [Hajiboland y Keivanfar \(2012\)](#) por otro lado, obtuvieron en colza (*Brassica napus* L.) un incremento significativo de 112.44 y 51.67 % en biomasa seca de vástago, a dosis de 10 y 20 μg de Se planta⁻¹.

Para col, la acumulación de biomasa fue mayor al testigo por efecto de la aplicación radical de Se en cualquiera de las dosis y tiempos analizados (**Figuras 2.6D y E**, respectivamente). [Manion et al. \(2014\)](#) en plantas de berro cultivadas bajo condiciones de invernadero y solución nutritiva, no se registraron efectos significativos en los valores de biomasa seca con aplicaciones de Se a dosis de 0, 0.125, 0.25, 0.5, 1.0, 2.0 y 4.0 mg L^{-1} .

Por su parte, [Valkama et al. \(2003\)](#) en plantas de fresa (*Fragaria x ananassa*) y cebada (*Hordeum vulgare*) no obtuvieron un efecto en la biomasa seca por efecto de la aplicación de Se a dosis de 0.1 y 1 mg L^{-1} , salvo con la combinación de diversos niveles de radiación UV-A o UV-B.

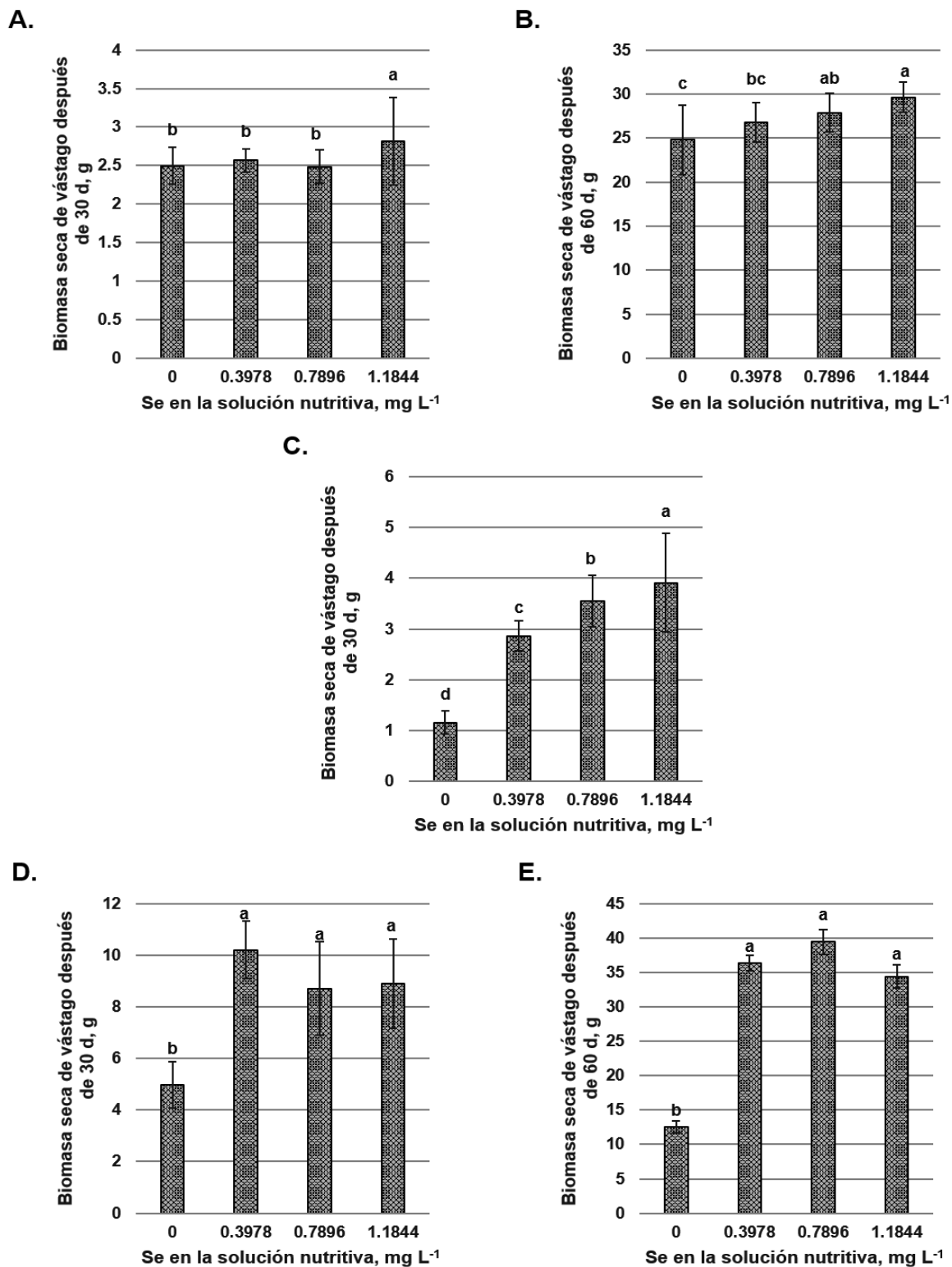


Figura 2.6 Efecto principal del Se en el peso de biomasa seca de vástagos de acelga (A y B, 30 y 60 ddt, respectivamente), espinaca (C, 30 ddt) y col (D y E, 30 y 60 ddt, respectivamente). Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

Efecto de la interacción Fe x Se en la biomasa seca de vástago. En acelga se obtuvo un aumento de la acumulación de biomasa seca por la aplicación de Se a 0.3978 y 0.7896 mg L⁻¹ sin la adición de Fe y a los 15 mg L⁻¹ de este elemento, pero a dosis de 5 y 10 mg L⁻¹ de Fe por el contrario, la aplicación de Se a 0.3978 y 0.7896 mg L⁻¹ promovieron una disminución en la biomasa seca que incrementó de manera significativa cuando se adicionaron 1.1844 mg L⁻¹ de Se (**Figura 2.7A**).

En el caso de espinaca, a los 30 ddt se obtuvo un aumento en la acumulación de biomasa seca que fue mayor a 0.3978 y 0.7896 mg L⁻¹ de Se con 0 y 10 mg L⁻¹ de Fe, e incrementó además conforme aumentó la adición de Se a dosis de 5 y 15 mg L⁻¹ de Fe (**Figura 2.7B**). En col, la aplicación de Se aumentó significativamente la acumulación de biomasa seca cuando fue combinado con dosis de 0 y 5 mg L⁻¹ de Fe, pero en las demás combinaciones Fe x Se no se observaron efectos estadísticamente diferentes (**Figura 2.7C**).

Por otra parte, a los 60 ddt, en plantas de acelga se registró una mayor acumulación en la biomasa seca a 0.7896 mg L⁻¹ de Se con 0 mg L⁻¹ de Fe; a 0 mg L⁻¹ de Se con 5 mg L⁻¹ de Fe y a dosis de Se de 1.1844 mg L⁻¹ con 5 mg L⁻¹ de Fe; a 0.3978 mg L⁻¹ de Se con 10 mg L⁻¹ de Fe; a mayor dosis de Se con 15 mg L⁻¹ de Fe (**Figura 2.8A**). Para col, en cualquiera de las dosis de Fe aplicadas, el Se favoreció la acumulación de biomasa seca sin ser estadísticamente diferente entre los niveles probados de este elemento (**Figura 2.8B**).

Los resultados anteriores muestran un aumento en la acumulación de biomasa seca en combinaciones Fe x Se específicas para cada cultivo. Según [Arscott y Goldman \(2012\)](#), aunque una alta concentración de Se en el medio de crecimiento puede conducir a una alta concentración de Se en el tejido vegetal, la producción óptima vegetal en términos de biomasa y concentración de Se debe tomar en consideración los niveles de Se que son tóxicos en cada especie.

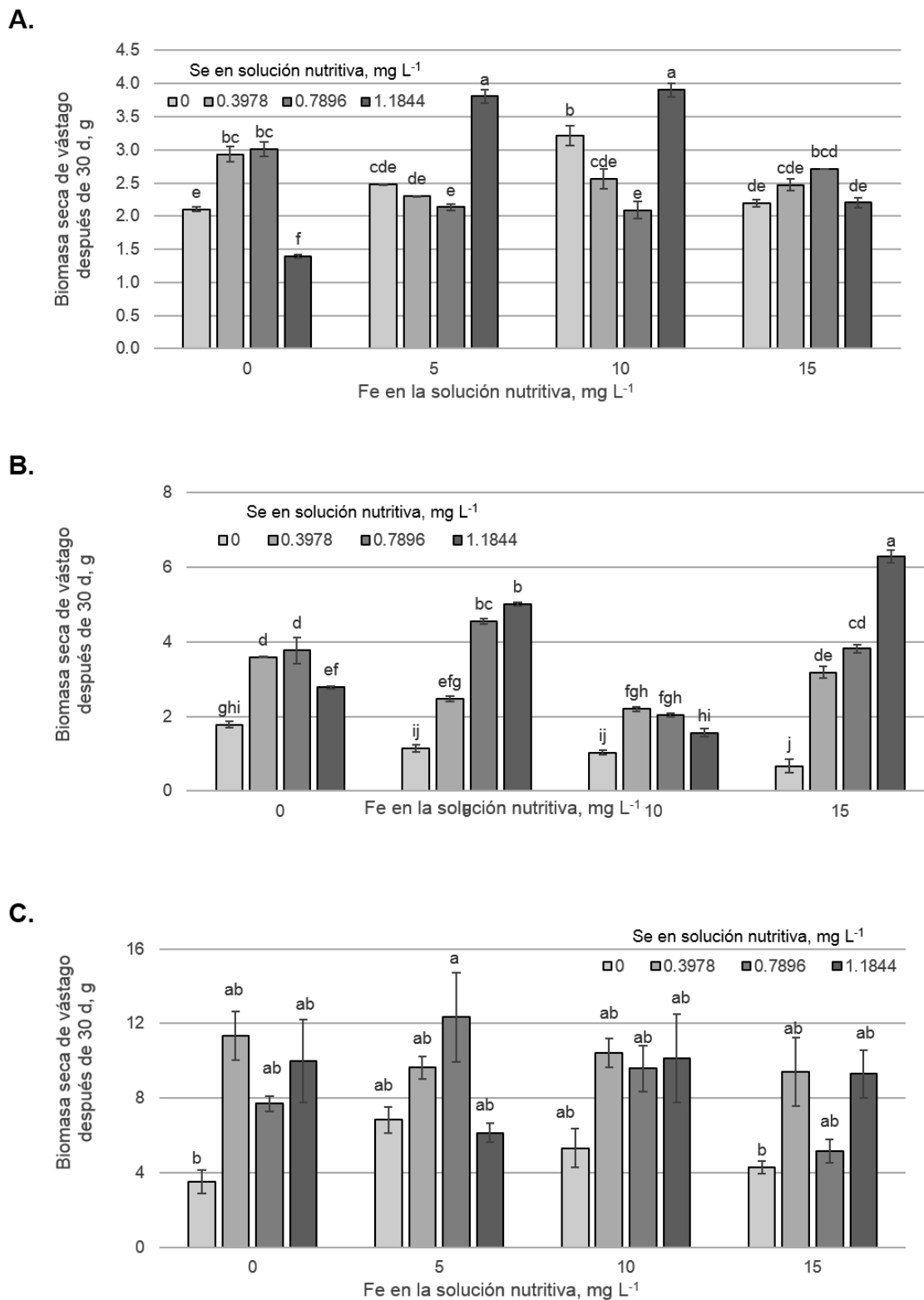


Figura 2.7 Efecto de la interacción Fe x Se en el peso de biomasa seca de vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C), después de 30 ddt. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

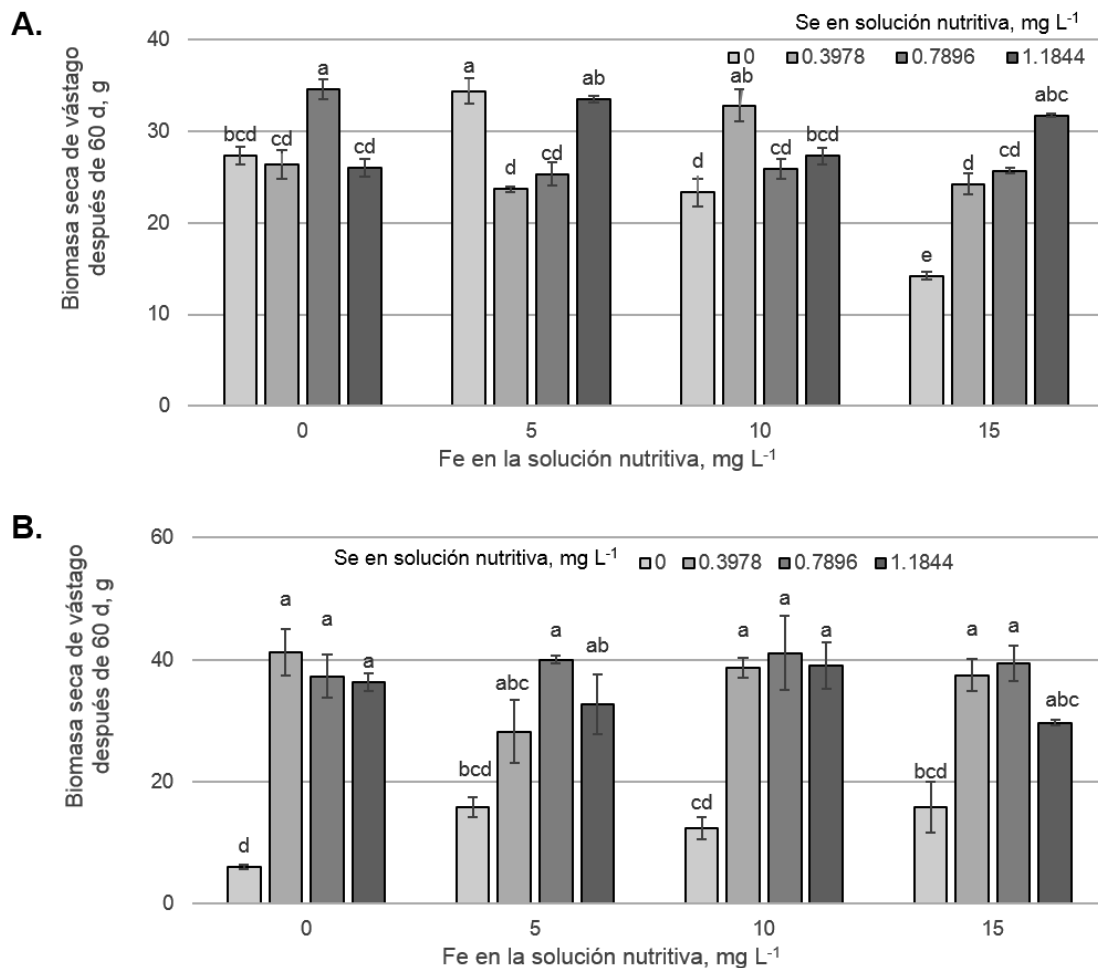


Figura 2.8. Efecto de la interacción Fe x Se en el peso de biomasa seca de vástagos de acelga (A) y col (B), después de 60 ddt. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

2.3.3 Bioacumulación de Fe en vástago

El análisis de varianza muestra que por efecto de los factores en estudio (Fe, Se y la interacción Fe x Se), en las diferentes fechas de medición (30 y 60 ddt), como en los diferentes cultivos (acelga, espinaca y col), se registró un efecto significativo sobre la bioacumulación de Fe en el tejido foliar (**Cuadro 2.4**).

Cuadro 2.4 Significancia estadística de factores de estudio y su interacción en la bioacumulación de Fe en vástagos de acelga, espinaca y col, después de 30 y 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva.

Fuente de Variación	Acelga		Espinaca		Col	
	Días de tratamiento					
	30	60	30	30	60	
Fe	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *
Se	<.0001 *	0.0005 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *
Fe x Se	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *
CV	7.36	8.04	11.95	3.24	4.45	

* Significativo (Tukey, $P \leq 0.05$); ns no significativo

Efecto principal de Fe en la bioacumulación de Fe en vástago. Existe una gran variación en la disponibilidad de Fe en el suelo, y la deficiencia o exceso pueden causar severos desórdenes nutricionales, los cuales afectan significativamente la fisiología de la planta (Dos Santos y De Oliveira, 2007; Briat y Lobréaux, 1997).

En la presente investigación se observó que a los 30 ddt, en las plantas de acelga a dosis de 10 y 15 mg L⁻¹ de Fe, la bioacumulación de Fe fue significativamente mayor con respecto al tratamiento testigo, siendo a 15 mg L⁻¹ de Fe donde se observó un mayor incremento en la bioacumulación de este elemento (**Figura 2.9A**). En este mismo sentido, a los 30 ddt, en plantas de espinaca se registró aumento en la bioacumulación de Fe en el tejido foliar conforme la dosis de Fe aplicada fue incrementándose (**Figura 2.9C**), no obstante, en las plantas de col a los 30 ddt, se obtuvo mayor bioacumulación de Fe en el tejido foliar en cualquiera de las dosis de Fe aplicadas con respecto al testigo pero mayor a dosis de 5 mg L⁻¹ de Fe (**Figura 2.9E**).

Por otra parte, a los 60 ddt en acelga, en cualquiera de las dosis de Fe aplicadas aumentó la bioacumulación de este elemento en el tejido foliar y fue estadísticamente más alta conforme aumentó la dosis de Fe (**Figura 2.10A**). Para col, se obtuvo a los 60 ddt una mayor bioacumulación de Fe en cualquiera de los niveles de Fe probados pero fue significativamente mayor a dosis de 10 mg L⁻¹ de Fe vía radical (**Figura 2.10B**).

En el mismo sentido a nuestros resultados, diversos autores mencionan un aumento en la bioacumulación de Fe por efecto de la aplicación foliar de este elemento (Wei *et al.*, 2012; Fang *et al.*, 2008; Bahar *et al.*, 2011). Sin embargo, de manera contraria a los resultados obtenidos, Cakmak (2010) menciona que la fertilización inorgánica de Fe vía foliar o radical no ha sido efectiva para incrementar la concentración de Fe en granos de trigo, aunque se ha observado que fertilizantes como el Fe-EDTA parecen ser la mejor

fuelle de Fe para incrementar la concentración de este elemento en el tejido foliar, la suficiencia de N parece ser un factor determinante para aumentar la concentración de Fe en esta especie (Cakmak, 2010).

Existen diversas investigaciones que indican que la aplicación de varios tipos de fertilizantes permanece inefectiva para incrementar la concentración de Fe en cultivos como trigo (Cakmak, 2010) y arroz (Sperotto *et al.*, 2012; Wirth *et al.*, 2009).

Efecto principal del Se en la bioacumulación de Fe en vástago. Por efecto principal del Se en plantas de acelga evaluadas a los 30 ddt hubo un incremento en la bioacumulación de Fe a dosis de 0.3978 y 0.7896 mg L⁻¹ de Se, la cual disminuyó por debajo del testigo a dosis de 1.1844 mg L⁻¹ de Se (**Figura 2.9B**). En el caso de espinaca, tanto a dosis de 0.3978 como a 1.1844 mg L⁻¹ de Se hubo un aumento en la bioacumulación de Fe en el tejido foliar pero fue significativamente más alta a dosis de 0.3978 mg L⁻¹ de Se aplicado (**Figura 2.9D**), pero en col, la adición de estas mismas dosis de Se (0.3978 y 1.1844 mg L⁻¹ de Se) ocasionaron una disminución de la bioacumulación de Fe en el tejido foliar de esta especie (**Figura 2.9F**).

Por otro lado, se observó que a los 60 ddt nuevamente las dosis de 0.3978 y 0.7896 mg L⁻¹ de Se promovieron un incremento en la bioacumulación de Fe en acelga, el cual disminuyó con aplicaciones de 1.1844 mg L⁻¹ aunque por encima del tratamiento testigo (**Figura 2.10B**), sin embargo, la adición de Se vía radical en cualquiera de las dosis probadas disminuyó la bioacumulación de Fe en plantas de col (**Figura 2.10D**), siendo menor la bioacumulación a dosis de 1.1844 mg L⁻¹ de Se.

Al respecto, Kopsell *et al.* (2000) observaron una reducción en la bioacumulación de Fe en tejido foliar de plantas de col (*Brassica oleracea*) debido a la aplicación de selenio como selenato a dosis de 3.8 mg L⁻¹ vía radical.

Contrario a los resultados obtenidos, Lefsrud y Kopsell (2006) no encontraron diferencias estadísticas para la bioacumulación de Fe obtenida en plantas de col rizada (*Brassica oleracea* L. var. acephala) debido a la aplicación de Se como selenato y selenito a dosis de 0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0 y 3.5 mg L⁻¹ de Se en solución nutritiva.

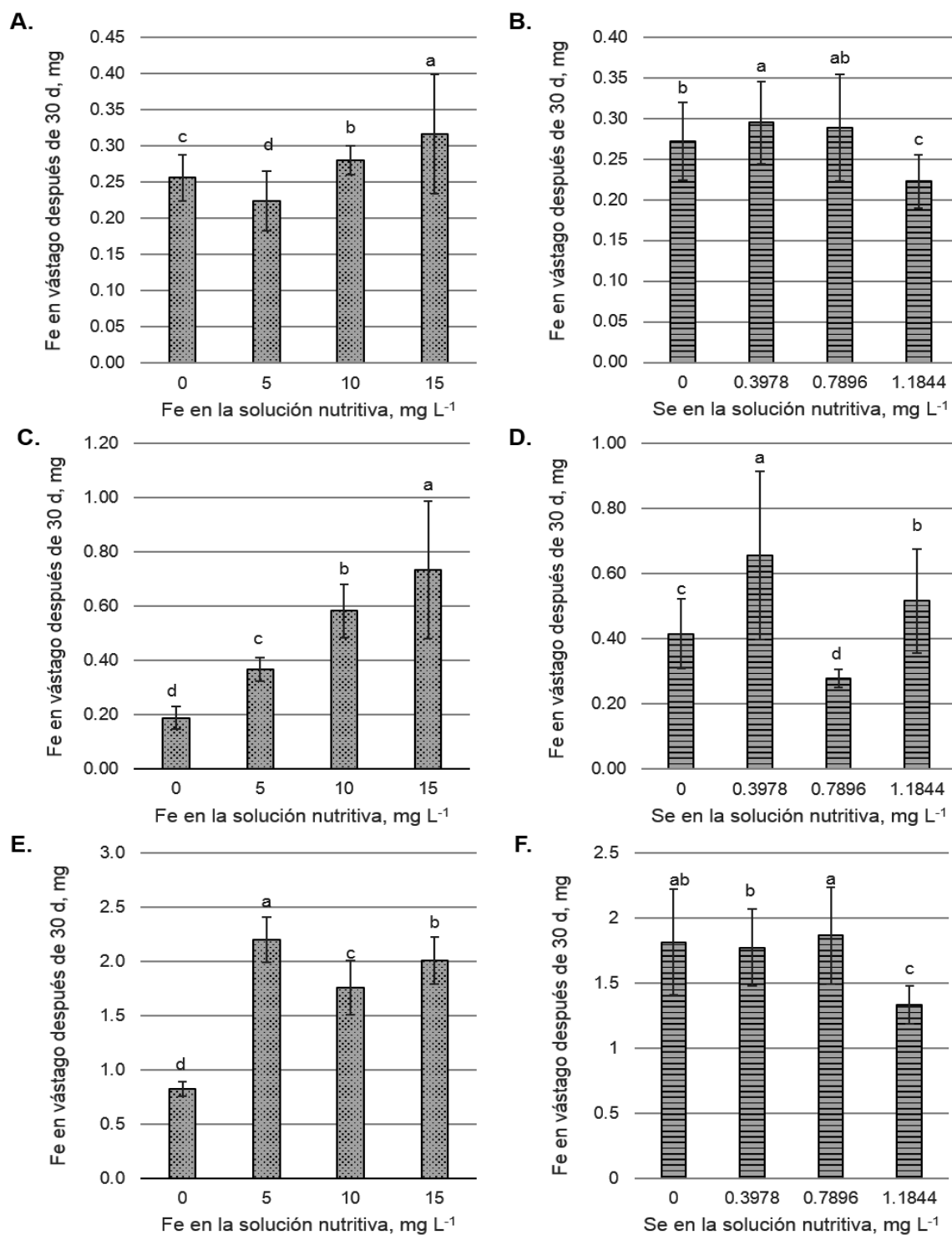


Figura 2.9 Efectos principales del Fe y Se en la bioacumulación de Fe en vástagos después de 30 ddt en la solución nutritiva. A, C y E: Efecto principal del Fe en acelga, espinaca y col, respectivamente. B, D Y F: Efecto principal del Se en acelga, espinaca y col, respectivamente. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

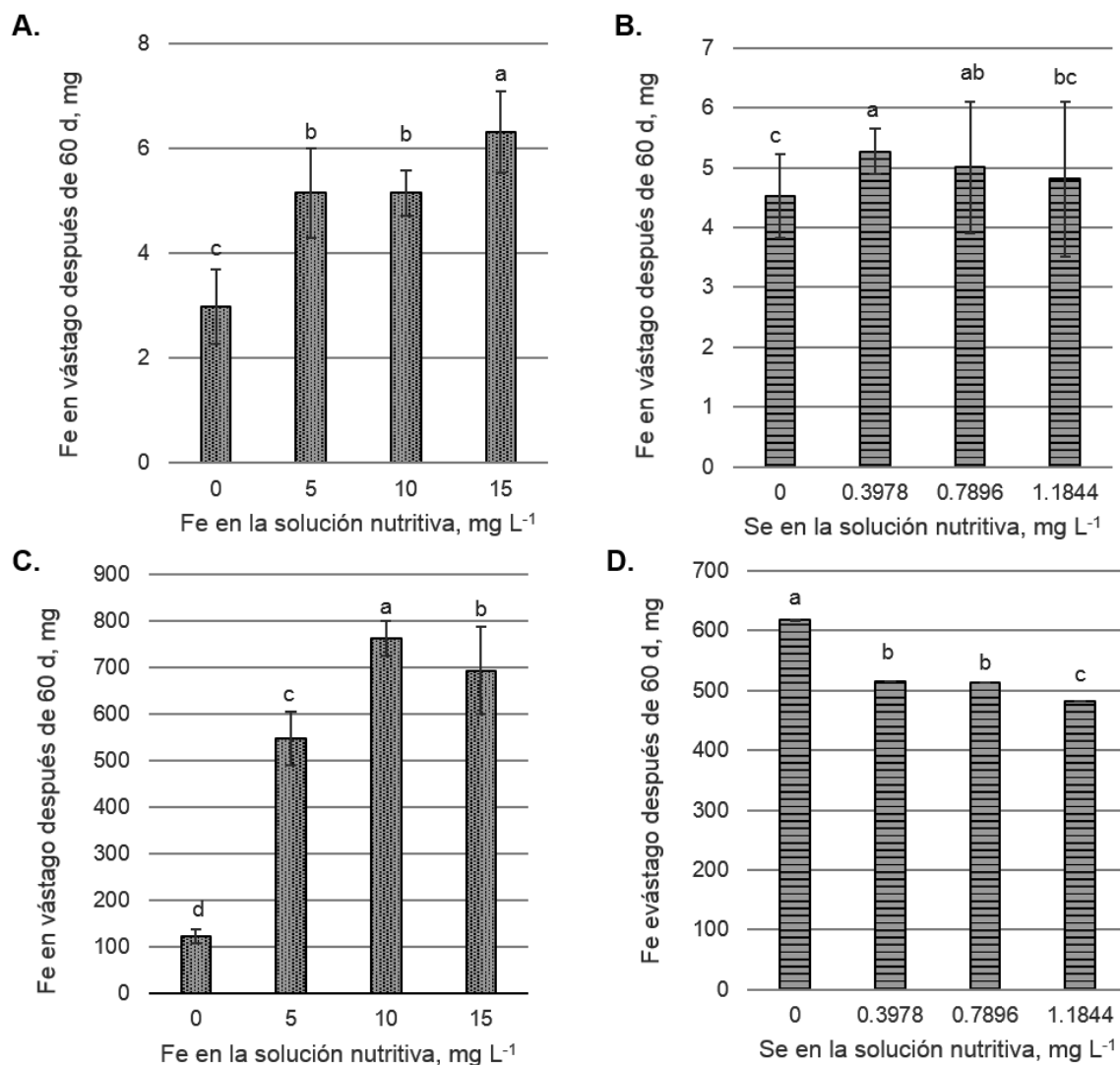


Figura 2.10 Efectos principales del Fe y Se en la bioacumulación de Fe en vástagos después de 60 ddt en la solución nutritiva. A y C: Efecto principal del Fe en acelga y col, respectivamente. B y D: Efecto principal del Se en acelga y col, respectivamente. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

Efecto de la interacción Fe x Se en la bioacumulación de Fe en vástago. La interacción Fe x Se en acelga a 30 ddt mostró que a dosis de 0 mg L⁻¹ de Fe, la aplicación de Se a dosis de 0.3978 y 1.1844 mg L⁻¹ ocasionaron una menor acumulación de Fe en el tejido foliar, además, a dosis de 5 mg L⁻¹ de Fe la adición de Se promovió una disminución en la bioacumulación de Fe mayor a 0.7896 y 1.1844 mg L⁻¹ de Se; con la adición de 10 mg L⁻¹ de Fe la aplicación de 0.3978 y 0.7896 mg L⁻¹ de Se provocó una disminución en la bioacumulación de Fe, no obstante, estas mismas dosis de Se aplicadas generaron un incremento significativo cuando fueron combinadas con 15

mg L⁻¹ de Fe (**Figura 2.11A**). A los 60 ddt en este mismo cultivo, sin la adición de Fe solo la aplicación de Se a 0.3978 mg L⁻¹ incrementaron la bioacumulación de Fe, las demás dosis generaron una disminución para esta variable, pero por otro lado, cuando se adicionaron 5 mg L⁻¹ de Fe se obtuvo un aumento en la bioacumulación solo combinado con dosis de 0.7896 mg L⁻¹ de Se (**Figura 2.12A**).

También se observó en espinaca (30 ddt) que sin la adición de Fe y dosis de 0.3978 mg L⁻¹ de Se, cuando se adicionaron 5 mg L⁻¹ de Fe con 0.7896 mg L⁻¹ de Se, y a dosis de Fe de 10 mg L⁻¹ con dosis de Se de 0.7896 y 1.1844 mg L⁻¹ se obtuvo una menor bioacumulación foliar de Fe, pero a dosis de 15 mg L⁻¹ de Fe con 0.3978 mg L⁻¹ de Se, se registró la mayor bioacumulación de Fe en el tejido foliar de espinaca, seguido de la obtenida a dosis de 15 mg L⁻¹ de Fe y 1.1844 mg L⁻¹ de Se (**Figura 2.11B**).

A los 30 ddt en col, por efecto de la interacción Fe x Se se observó que sin la aplicación de Fe con cualquiera de las dosis de Se evaluadas aumentó la bioacumulación de Fe. Por otro lado, cuando se adicionaron 5 mg L⁻¹ de Fe con 0.3978 y 1.1844 mg L⁻¹ de Se hubo una disminución en la bioacumulación de Fe, sin embargo, a dosis de 10 mg L⁻¹ de Fe con 0.3978 y 0.7896 mg L⁻¹ de Se incrementaron la bioacumulación de Fe en el tejido foliar, siendo en esta última dosis donde se obtuvo una mayor bioacumulación,

A dosis de 15 mg L⁻¹ de Fe con cualquier dosis de Se aplicada se observó una disminución en la bioacumulación foliar de Fe la cual fue menor con aplicaciones de 0.7896 y 1.1844 mg L⁻¹ de Se (**Figura 2.11C**).

En este mismo cultivo (col), a los 60 ddt se obtuvo que la bioacumulación de Fe aumentó conforme incrementó la dosis de Fe aplicada, y a dosis de 5 mg L⁻¹ de Fe la aplicación de Se disminuyó la bioacumulación de Fe en el tejido foliar conforme incrementó la dosis de Se aplicada, a dosis de 10 mg L⁻¹ de Fe con 0.3978 y 1.1844 mg L⁻¹ de Se favorecieron un aumento en la bioacumulación de Fe, no obstante, a dosis de 15 mg L⁻¹ de Fe, la adición de Se provocó una menor bioacumulación de este elemento en plantas de col siendo más evidente a niveles de 0.3978 y 1.1844 mg L⁻¹ de Se (**Figura 2.12B**).

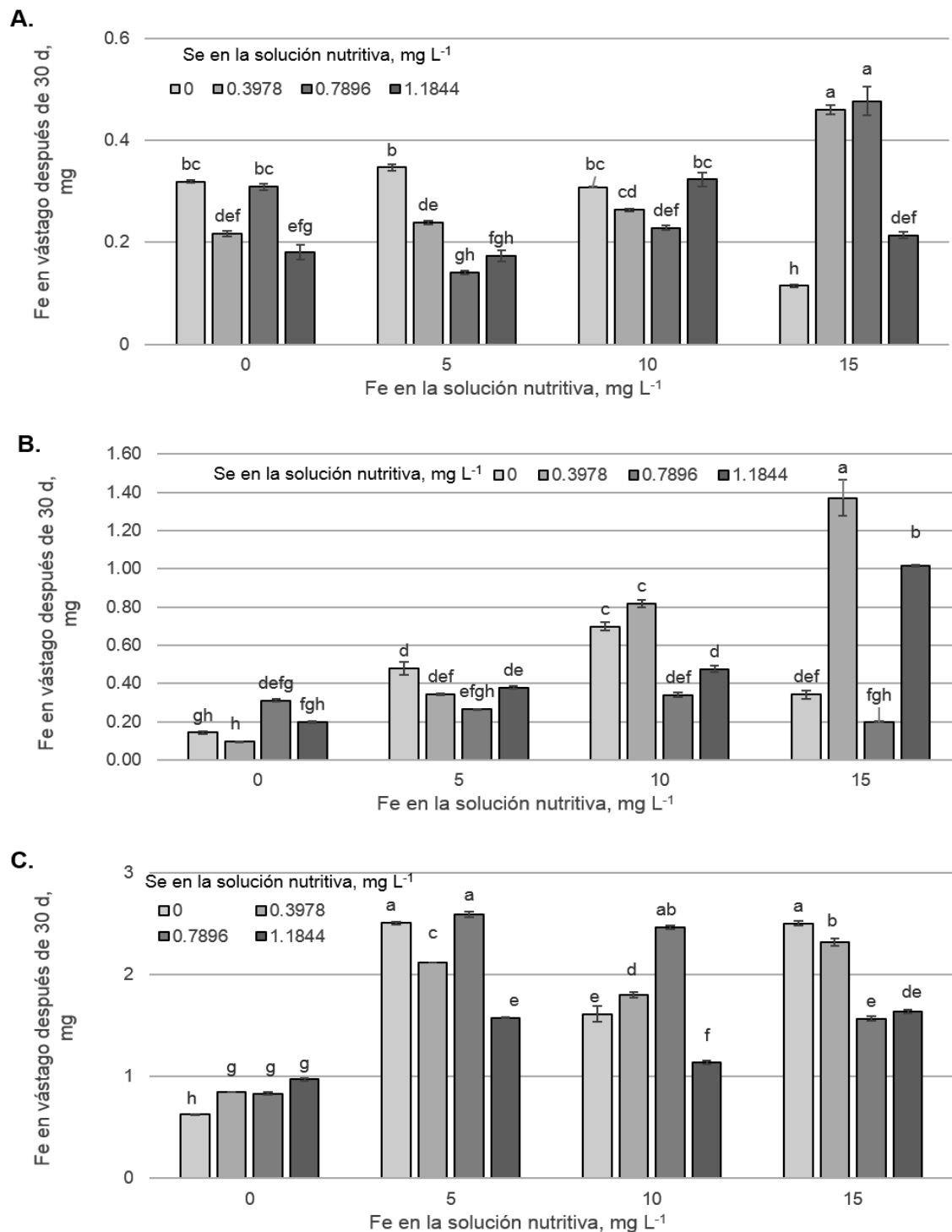


Figura 2.11 Efecto de la interacción de Fe y Se en la bioacumulación de Fe en yástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de 30 ddt en la solución nutritiva. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

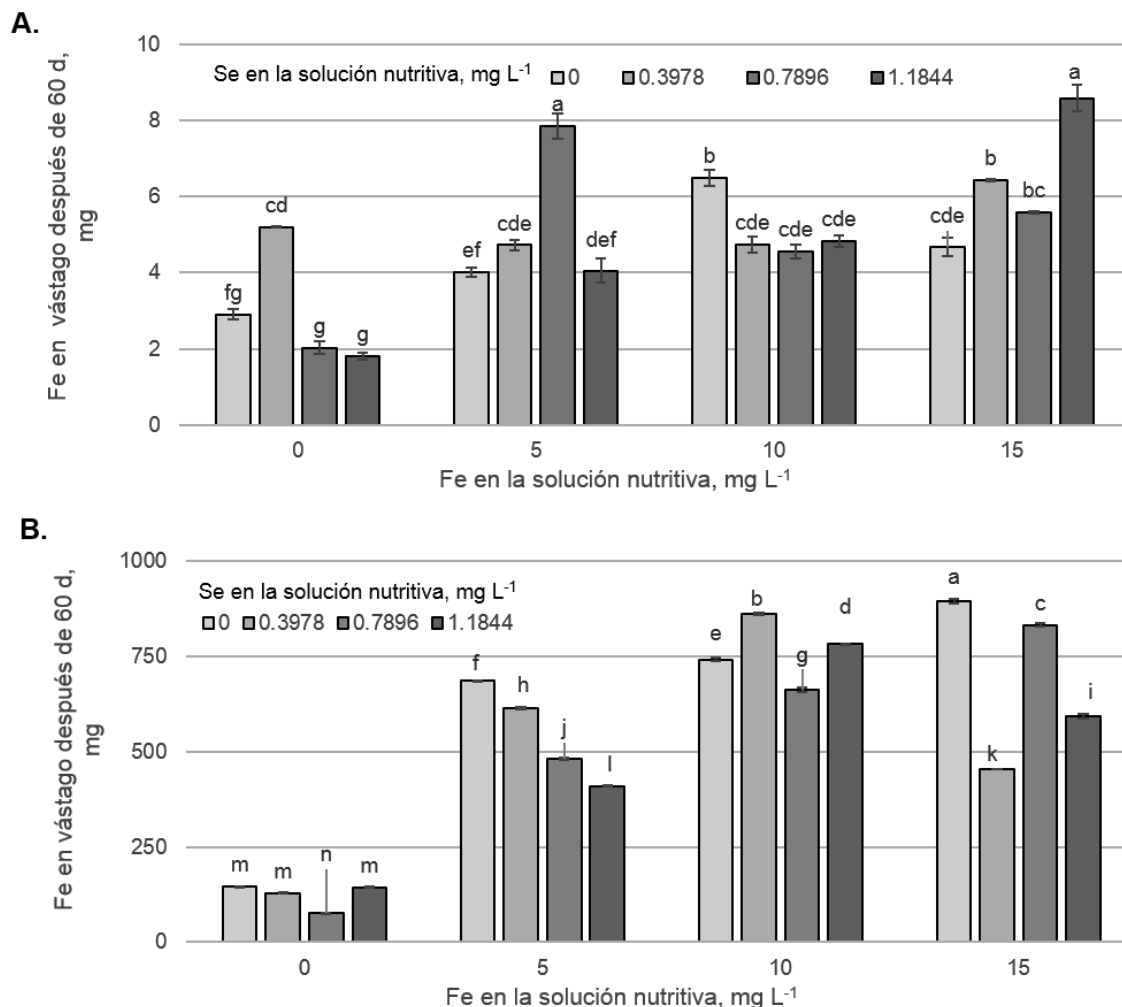


Figura 2. 12 Efecto de la interacción de Fe y Se en la bioacumulación de Fe en vástagos de acelga (A) y col (B) después de 60 ddt en la solución nutritiva. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

2.3.4 Bioacumulación de Se en vástago

Los resultados del análisis estadístico revelaron un efecto significativo por efecto de los factores Fe, Se y la interacción Fe x Se para la bioacumulación de Se a los 30 y 60 ddt en el tejido foliar en plantas de acelga y col, y a los 30 ddt en plantas de espinaca (**Cuadro 2.5**).

Cuadro 2.5 Significancia estadística de factores de estudio y su interacción en la bioacumulación de Se en vástagos en acelga, espinaca y col, después de 30 y 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva.

Fuente de Variación	Acelga		Espinaca		Col	
	Número de aspersiones foliares realizadas					
	30	60	30	30	60	60
Fe	<.0001 *	<.0001 *	0.0004 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *
Se	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *
Fe x Se	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *
CV	7.26	5.94	38.79	1.27		7.84

* Significativo (Tukey, $P \leq 0.05$)

Efecto principal del Fe en la bioacumulación de Se en vástago. A los 30 ddt en plantas de acelga se obtuvo que la aplicación de Fe en cualquiera de los niveles adicionados provocaron un menor contenido de Se en el tejido foliar, pero con aplicaciones de 5 mg L^{-1} de Fe, esta disminución fue más notoria (**Figura 2.13A**). Contrario a esto, a los 60 ddt, con cualquiera de las dosis de Fe aplicadas se favoreció la acumulación de Se y con aplicaciones de 5 y 15 mg L^{-1} de Fe se obtuvieron los valores más altos (**Figura 2.14A**).

A los 30 ddt en plantas de espinaca se registró un incremento en la bioacumulación de Se por efecto de la aplicación de Fe en solución nutritiva a dosis de 5 y 15 mg L^{-1} (**Figura 2.13C**). En plantas de col, en la misma evaluación, (30 ddt) solo se obtuvo un aumento en la bioacumulación de Se por efecto de la adición de Fe a dosis de 5 mg L^{-1} ya que las dosis más altas de este elemento generaron una disminución en la bioacumulación de Se por debajo del tratamiento testigo (**Figura 2.13E**), lo cual, en el cultivo de col no fue consistente a los 60 ddt donde hubo una mayor bioacumulación de Se a dosis más altas de este elemento (**Figura 2.14C**).

Efecto principal de Se en la bioacumulación de Se en vástago. Como era de esperarse, a los 30 y 60 ddt conforme aumentó la dosis de Se aplicada se obtuvo una creciente acumulación de Se en vástagos de acelga, siendo significativamente mayor conforme incrementó la dosis adicionada (**Figura 2.13B y Figura 2.14 B**).

En espinaca y col, la adición de Se en cualquiera de las dosis investigadas promovió un incremento en la bioacumulación foliar de este elemento, el cual fue más alto a dosis de 1.1844 mg L^{-1} a los 30 ddt (**Figura 2.13D y F**). Para col, por otra parte, a los 60 ddt se

obtuvo un aumento en la bioacumulación de Se a dosis más altas de este elemento **(Figura 2.14D)**.

En especies como col (*Brassica oleracea* variedad acephala) y espinaca al igual que en la presente investigación, el incremento en la adición de selenio vía solución nutritiva, aumentó significativamente la concentración foliar de este elemento (Lefsrud y Kopsell, 2006; Ferrarese *et al.*, 2012). Además se han obtenido efectos similares en otras especies como brócoli (*Brasica oleracea*), frijol (*Vigna radiata*) y cebolla (*Allium cepa*) donde aplicaciones de 9.945 mg L⁻¹ de Se provocaron un aumento muy pronunciado de Se en el tejido foliar (Arscott y Goldman, 2012).

La concentración de Se total en plantas de Kenaf (*Hibiscus cannabinus*) creciendo en suelos tratados con hasta 4 mg Se kg de suelo⁻¹ a partir de selenato aumentó alrededor de 1019 más menos 136 mg Se kg⁻¹ de peso seco (Srikath *et al.*, 2013).

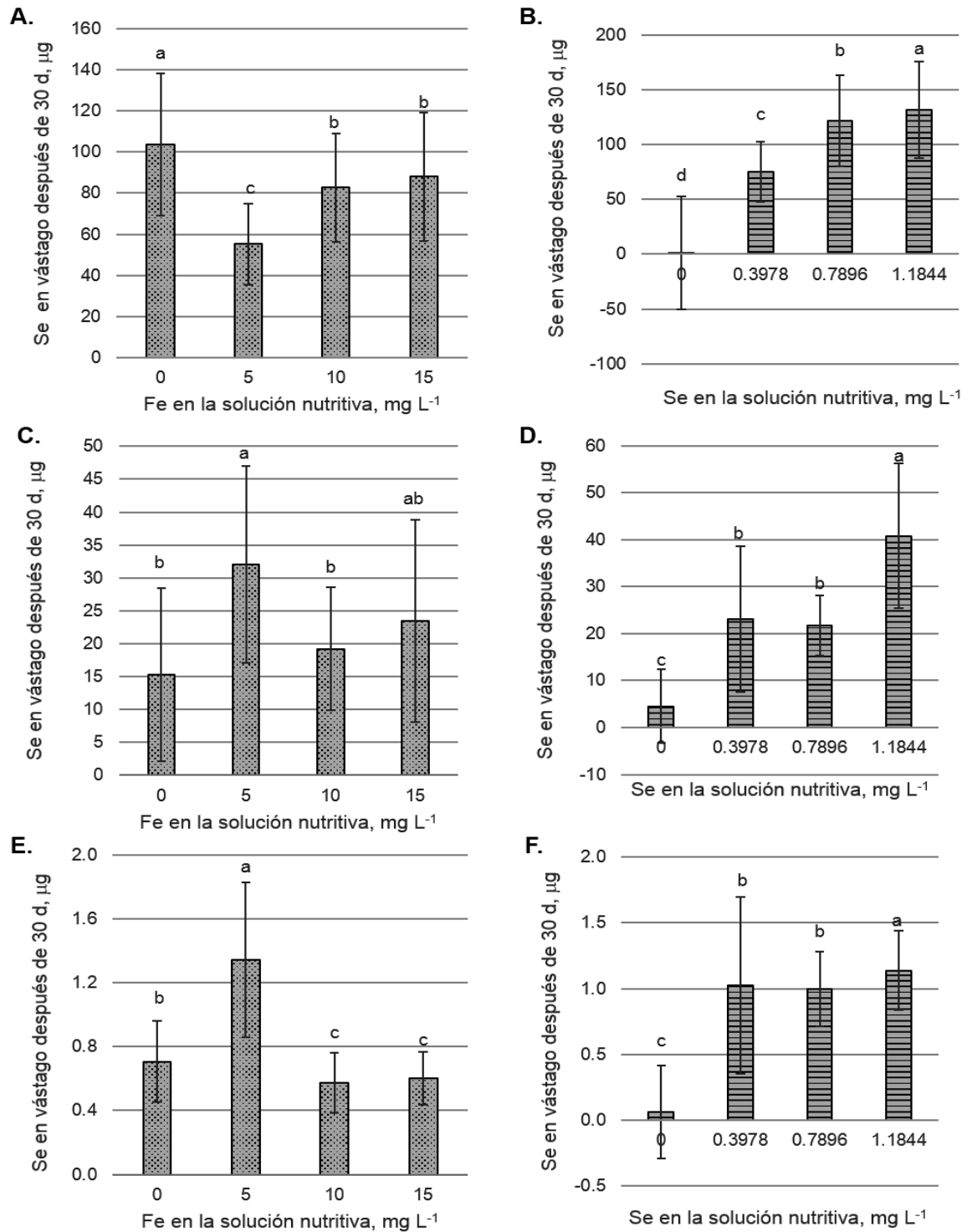


Figura 2.13 Efecto principal del Fe y Se en la bioacumulación de Se en vástagos después de 30 ddt en la solución nutritiva. A, C y E: Efecto principal del Fe en acelga, espinaca y col, respectivamente. B, D Y F: Efecto principal del Se en acelga, espinaca y col, respectivamente. Medias ± DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

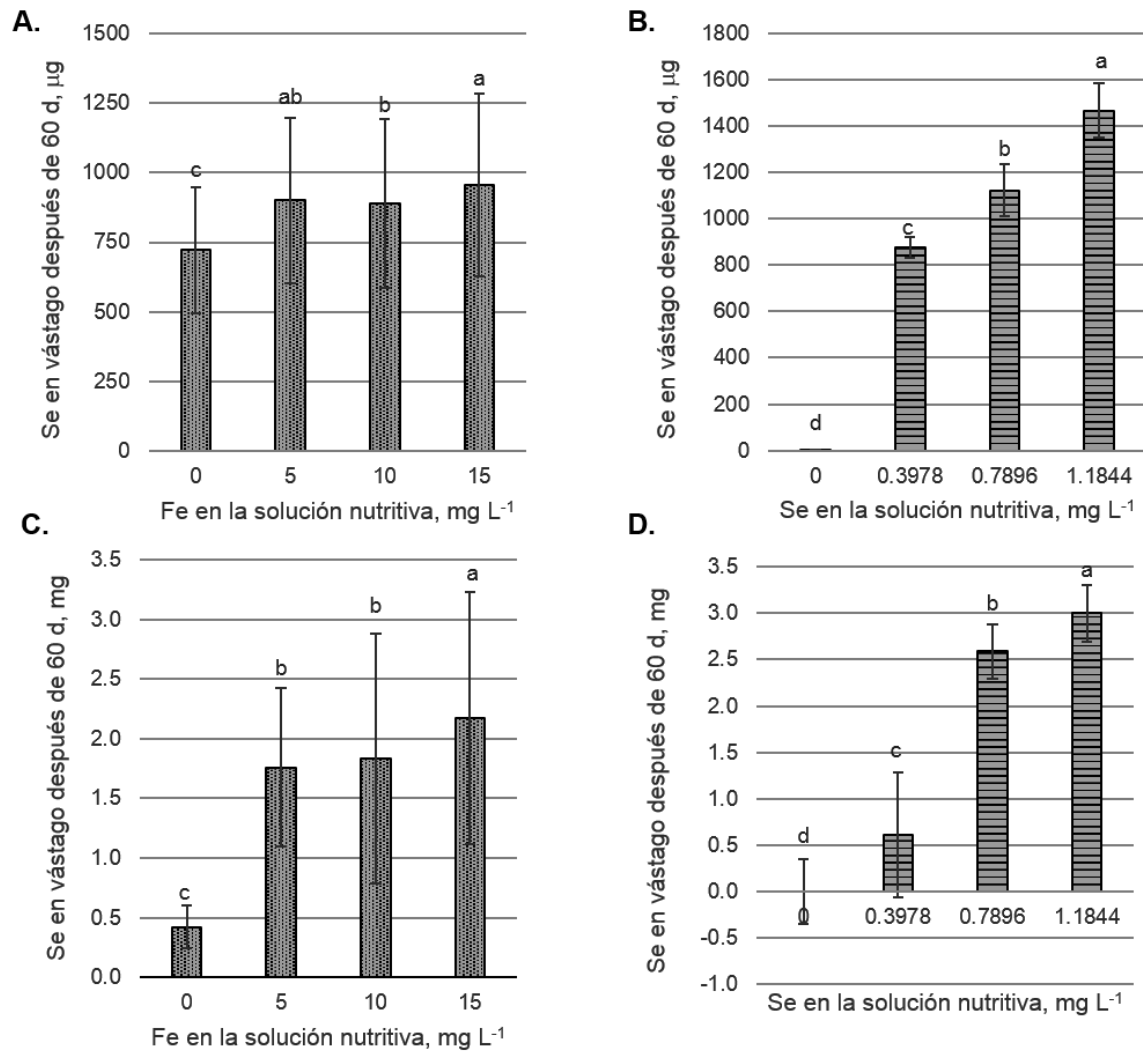


Figura 2.14 Efectos principales del Fe y Se en la bioacumulación de Se en vástagos después de 60 ddt en la solución nutritiva. A y C: Efecto principal del Fe en acelga y col, respectivamente. B y D: Efecto principal del Se en acelga y col, respectivamente. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

Efecto de la interacción Fe x Se en la bioacumulación de Se en vástago. En la interacción Fe x Se se obtuvo que en cada nivel de Fe la aplicación de Se promovió una mayor acumulación de Se en plantas de acelga, sin embargo con aplicaciones de 0.7896 y 1.1844 mg L^{-1} de Se sin la adición de Fe y, 0.7896 mg L^{-1} de Se con 15 mg L^{-1} de Fe hubo un aumento significativo de la acumulación de Se en el tejido foliar a los 30 ddt (**Figura 2.15A**). Por otra parte, a los 60 ddt en acelga, se observó una mayor acumulación de Se conforme incrementó la concentración de Se en cada nivel de Fe,

siendo estadísticamente mayor a dosis de 1.1844 mg L⁻¹ de Se con 10 y 15 mg L⁻¹ de Fe (**Figura 2.16A**).

En general, a los 30 ddt, con niveles de 0 y 5 mg L⁻¹ de Fe la aplicación de Se promovió una mayor acumulación foliar de este elemento en el tejido foliar de plantas de espinaca, la cual fue más alta a mayor dosis aplicada, sin embargo a 10 mg L⁻¹ de Fe con la adición de 0.3978 mg L⁻¹ de Se generó una menor acumulación de Se en vástago y a dosis de 15 mg L⁻¹ de Fe se observó una mayor acumulación de Se con 0.3978 mg L⁻¹ de Se y una disminución en la bioacumulación a niveles de 0, 0.7896 y 1.1844 mg L⁻¹ de Se siendo menor en esta última dosis (**Figura 2.15B**). Se observó además a los 30 ddt en col un incremento en la bioacumulación de Se en estas plantas a medida que incrementó la adición de Se con niveles de 0 y 15 mg L⁻¹ de Fe, pero, a dosis de 5 mg L⁻¹ de Fe se obtuvo mayor bioacumulación de Se con cualquiera de las dosis de Se aplicadas y fue mayor a 0.3978 mg L⁻¹ de Se con respecto a las demás,

Por otro lado, con aplicaciones de 10 mg L⁻¹ de Fe con cualquier dosis de Se, se vio incrementada la bioacumulación de Se en el tejido foliar en col y significativamente más alta con aplicaciones de 0.7896 y 1.1844 mg L⁻¹ de Se (**Figura 2.15C**).

En col, a los 60 ddt con cualquiera de las dosis de Fe probadas se registró mayor bioacumulación de Se por efecto de la aplicación de este elemento vía solución nutritiva, sin embargo a dosis de 0 mg L⁻¹ de Fe la mayor bioacumulación se obtuvo a 0.7896 y 1.1844 mg L⁻¹ de Se; a dosis de 5 y 15 mg L⁻¹ de Fe, la bioacumulación más alta se obtuvo a dosis de 0.7896 mg L⁻¹ de Se seguido de la bioacumulación obtenida a 1.1844 y 0.3978 mg L⁻¹ de Se y, a dosis de 10 mg L⁻¹ de Fe la bioacumulación de Se fue mayor conforme aumentó la dosis de Se aplicada (**Figura 2.16**).

De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud (OMS), la Organización Mundial para la Agricultura y la Alimentación (FAO) y la Agencia Internacional de Energía Atómica (OEA) la ingesta diaria recomendada de Se es de 40 y 30 µg d⁻¹, para hombres y mujeres respectivamente.

La Norma Oficial Mexicana (NOM-051-SCFI/SSA1-2010) por su parte menciona que la ingesta recomendada de Selenio es de 41 µg d⁻¹. Sin embargo, existe un amplio intervalo en la clasificación de las ingestas de Se en el ser humano, desde tóxicas (aproximadamente 500 µg d⁻¹), altas (de 200 a 724 µg d⁻¹), altas adecuadas (entre 100 y

200 $\mu\text{g d}^{-1}$), marginalmente adecuadas (de 30 a 90 $\mu\text{g d}^{-1}$), hasta bajas o deficientes (de 7 a 30 $\mu\text{g d}^{-1}$) (Rayman, 2008).

La exposición prolongada a dosis altas de Se (mayor de 900 $\mu\text{g día}^{-1}$), puede producir selenosis, cuyos síntomas principales son caída del cabello, fragilidad de las uñas, elevada prevalencia de caries y problemas neurológicos (Broadley *et al.*, 2006).

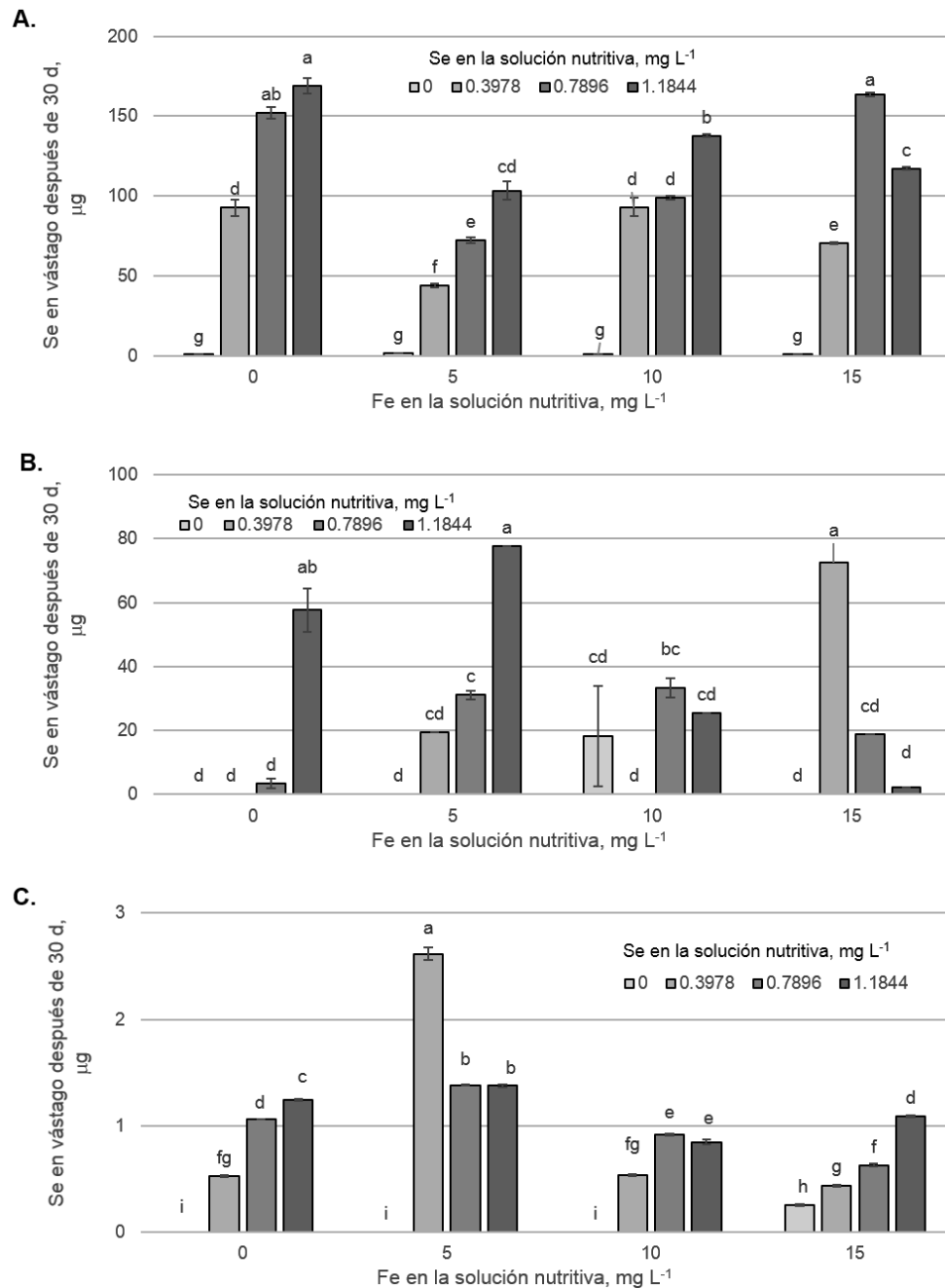


Figura 2.15 Efecto de la interacción de Fe y Se en la acumulación de Se en vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de 30 ddt en la solución nutritiva. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

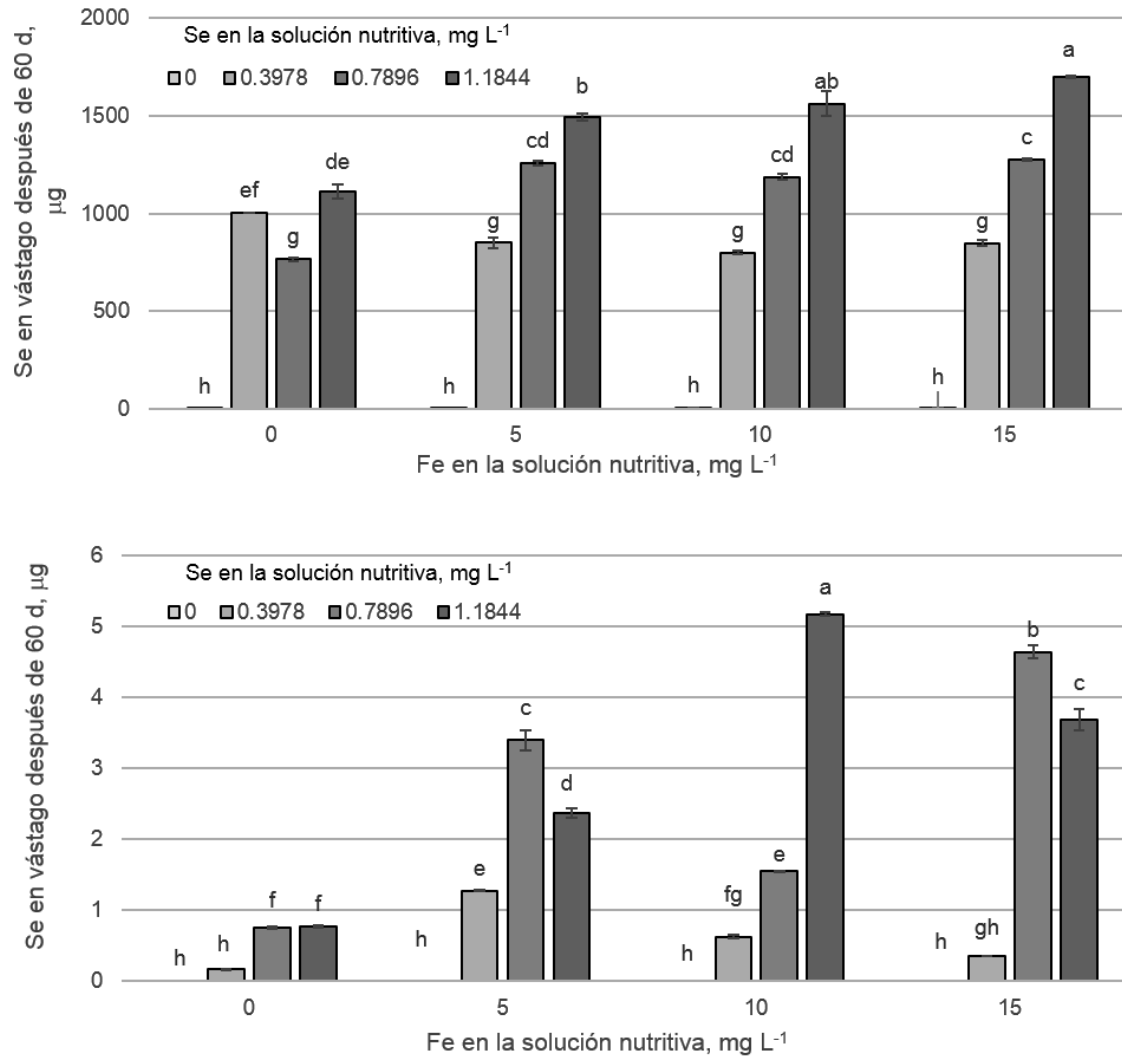


Figura 2.16 Efecto de la interacción de Fe y Se en la acumulación de Se en vástagos de acelga (A) y col (B) después de 60 ddt en la solución nutritiva. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

2.3.5 Lecturas SPAD

Como fue mencionado en el primer capítulo, los índices o valores SPAD, son una medida del verdor de las hojas que puede ser correlacionada con la presencia de algunos elementos como N y Fe además de la molécula de clorofila (Sainz-Rozas y Echeverría, 1998; Zebarth *et al.*, 2002; Hawkins *et al.*, 2009).

En la presente investigación, se obtuvo que a los 30 ddt en acelga y espinaca, y a los 60 ddt en plantas de acelga hubo diferencias estadísticas significativas para la variable lecturas SPAD por efecto de los factores Fe, Se y la interacción Fe x Se. Solo por efecto

del factor Se a los 30 ddt y por efecto del factor Se e interacción Fe x Se a los 60 ddt el análisis estadístico reveló también efectos significativos en plantas de col (**Cuadro 2.6**).

Cuadro 2.6 Significancia estadística de factores de estudio y su interacción en las lecturas SPAD en acelga, espinaca y col, después de 30 y 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva.

Fuente de Variación	Acelga		Espinaca		Col	
	Días de tratamiento					
	30	60	30	30	60	
Fe	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	0.9626 ns	0.1214 ns	
Se	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	
Fe x Se	0.0014 *	<.0001 *	<.0001 *	0.1267 ns	0.0019 *	
CV	4.35	2.70	4.35	10.60	7.13	

* Significativo (Tukey, $P \leq 0.05$); ns no significativo

Efecto principal del Fe en las lecturas SPAD. No se observaron diferencias significativas para la variable lecturas SPAD en plantas de acelga a los 30 ddt con niveles de aplicación de 0, 5 y 10 mg L⁻¹ de Fe, sin embargo, a dosis de 15 mg L⁻¹ se obtuvo una disminución en los valores SPAD. Por otra parte, con aplicaciones de 10 y 15 mg L⁻¹ de Fe, las plantas de acelga registraron un aumento en los valores de SPAD a los 60 ddt (**Figura 2.17A**).

En plantas de espinaca a los 30 ddt por efecto del factor Fe se obtuvo un incremento en los valores de las lecturas SPAD solo con la adición de 10 mg L⁻¹ de Fe (**Figura 2.17B**), no obstante en plantas de col tanto a los 30 como a los 60 ddt no se observaron diferencias significativas por efecto del factor Fe sobre las lecturas SPAD (**Figura 2.17C**).

Los valores SPAD pueden ser correlacionados con el contenido de clorofila, y por lo tanto con el contenido de elementos relacionados con esta biomolécula (nitrógeno, hierro y magnesio). La deficiencia de Fe por ejemplo, disminuye el contenido de clorofilas y carotenoides (Morales *et al.*, 2000). La deficiencia o baja actividad de Fe en las plantas causa que la clorofila no sea producida en cantidades suficientes y las hojas sean pálidas, la disminución de clorofila conduce a la reducción de los procesos metabólicos vegetales y finalmente a la reducción del rendimiento (Mohamadipoor *et al.*, 2013).

Los valores en los medidores SPAD pueden proveer una medida cuantitativa de la severidad de clorosis de hojas de árboles de pera (*Pyrus communis* L. cv. Bartlett) asociadas con la deficiencia de Fe (Peryea y Kammereck, 1997).

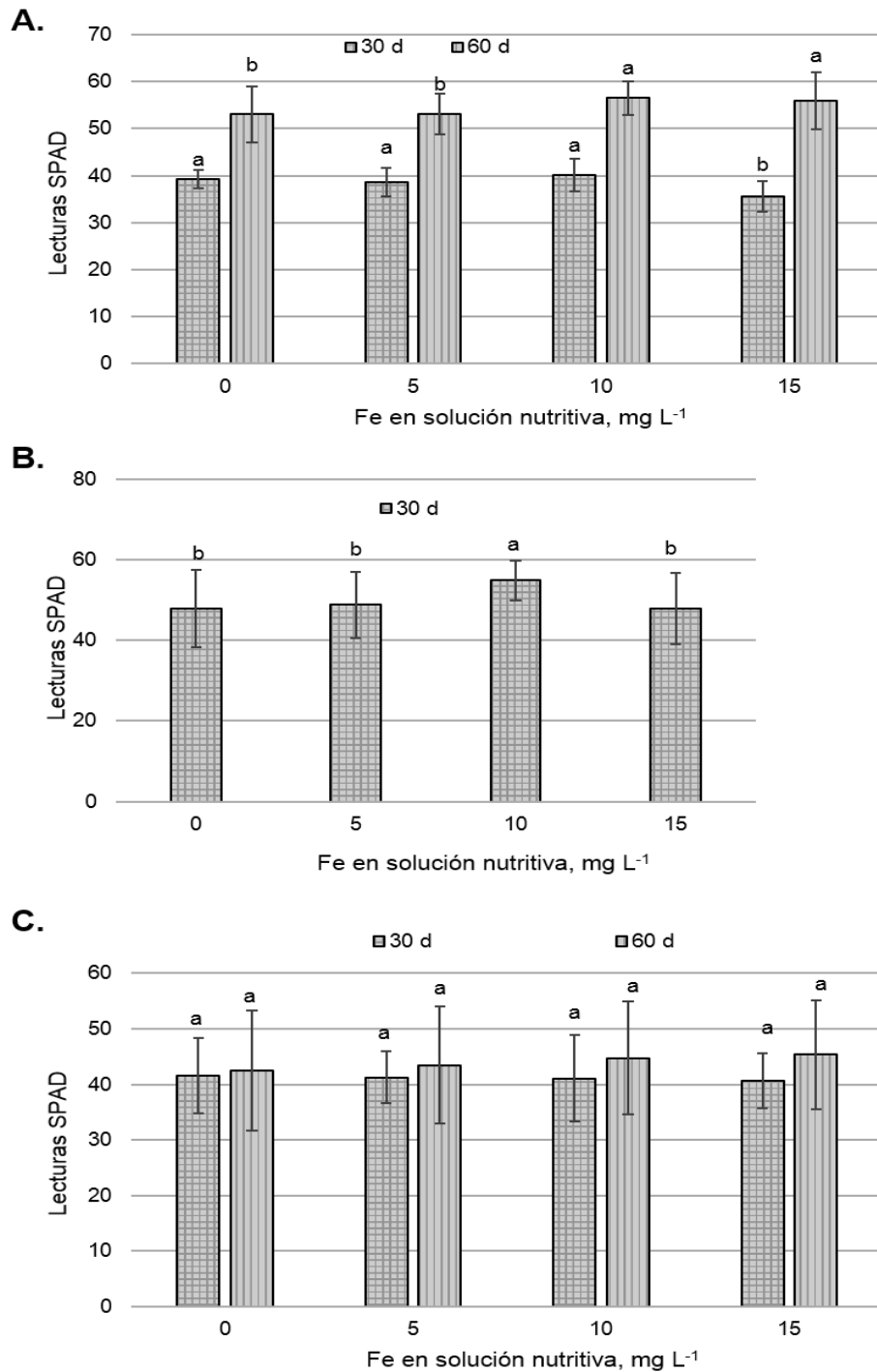


Figura 2.17 Efecto principal del Fe en lecturas SPAD de acerola (A), espinaca (B) y col (C) después de 30 y 60 días de tratamiento en la solución nutritiva. Medias ± DE con letras distintas en cada subfigura para cada evaluación, indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

Efecto principal del Se en las lecturas SPAD. Por efecto del factor Se hubo un aumento en los valores SPAD en plantas de acelga con todos los valores de Se evaluados, los cuales fueron más altos a dosis de 0.7896 y 1.1844 mg L⁻¹ de Se a los 30 ddt, por el contrario, hubo un incremento en las lecturas SPAD en cualquiera de las dosis de Se aplicadas a los 60 ddt9 (**Figura 2.18A**).

Después de 30 ddt en espinaca, la adición de Se favoreció también un aumento en los valores SPAD los cuales fueron estadísticamente más altos a 0.7896 y 1.1844 mg L⁻¹ de Se (**Figura 2.18B**).

La adición de Se en cualquiera de las dosis aplicadas promovió un aumento de los valores SPAD en plantas de col a los 30 ddt, sin embargo, en este mismo cultivo a los 60 ddt el aumento en los valores SPAD fue creciente conforme aumentó la dosis de Se aplicada (**Figura 2.18C**).

Al respecto, en plantas de kenaf (*Hibiscus cannabinus*), una planta africana con potencial forrajero, las unidades SPAD disminuyeron cuando las plantas fueron cultivadas en suelos tratados con altas dosis de selenio de hasta 4 mg de Se kg⁻¹ de suelo ([Srikath et al., 2013](#)).

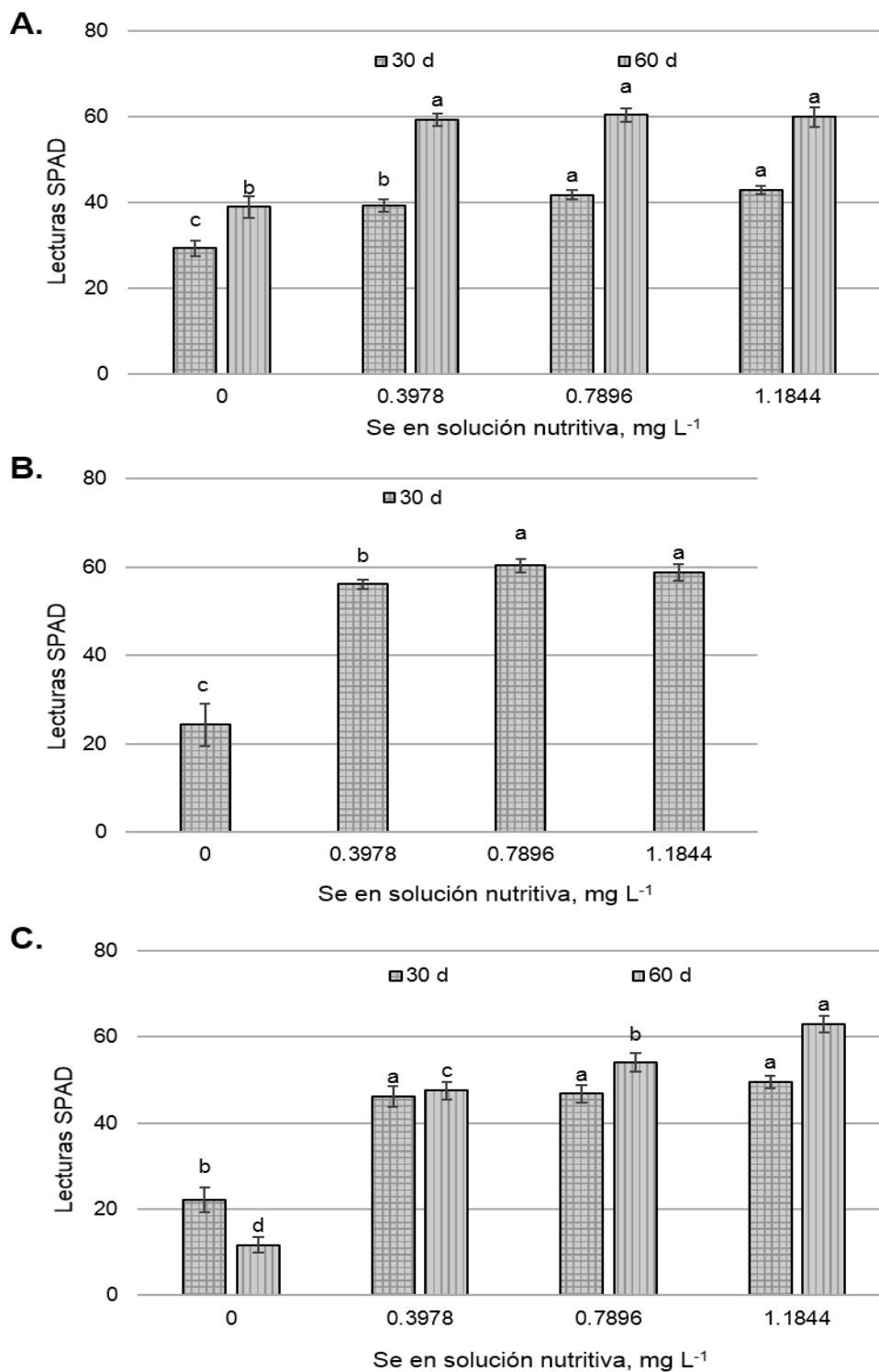


Figura 2.18 Efecto principal del Se en lecturas SPAD de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de 30 y 60 días de tratamiento en la solución nutritiva. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura para cada evaluación, indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

Efecto de la interacción Fe x Se en las lecturas SPAD. Por efecto de la interacción Fe x Se a los 30 ddt en el cultivo de acelga se obtuvo que a dosis de 0 y 10 mg L⁻¹ de Fe y en cualquiera de las dosis de Se aplicado hubo un aumento en los valores SPAD comparados con aquellos tratamientos sin la adición de Se, este aumento fue mayor con dosis de 0.7896 y 1.1844 mg L⁻¹ de Se con dosis de 5 mg L⁻¹ de Fe y cuando se adicionaron 15 mg L⁻¹ de Fe, a niveles crecientes de Se en solución nutritiva se obtuvo un aumento en las lecturas SPAD.

A los 60 ddt en plantas de acelga tanto a los 0 y 15 mg L⁻¹ de Fe se observó incremento en los valores SPAD similar con cualquiera de los niveles de Se aplicados, no obstante a dosis de 5 mg L⁻¹ de Fe se tuvieron mayores valores en las lecturas SPAD por efecto de la adición de Se en solución nutritiva el cual fue significativamente mayor a 0.7896 mg L⁻¹ de Se. A dosis de 15 mg L⁻¹ de Fe la adición de Se promovió un aumentó en los valores SPAD a los 60 ddt en acelga, que fueron estadísticamente más altos con aplicaciones de 0.3978 y 1.1844 mg L⁻¹ de Se (**Figuras 2.19A y 2.20A**).

Las lecturas SPAD en el cultivo de espinaca por efecto de la interacción Fe x Se a los 30 ddt (**Figura 2.19B**) mostraron una tendencia a aumentar por la adición de Se en cada nivel de Fe, observándose que a dosis de 0 mg L⁻¹ de Fe los valores SPAD fueron más altos con 0.3978 y 0.7896 mg L⁻¹ de Se; a dosis de 5 y 15 mg L⁻¹ de Fe las lecturas SPAD fueron más altas con aplicaciones de 0.7896 y 1.1844 mg L⁻¹ de Se y con 10 mg L⁻¹ de Fe los valores de las lecturas SPAD tuvieron un efecto similar por la adición de Se en cualquiera de las dosis aplicadas pero superiores al testigo (**Figura 2.19B**). Sin embargo para col, a los 30 ddt, la adición de Se en cualquiera de las dosis en estudio, incrementó los valores SPAD en cada nivel de Fe aplicado (**Figura 2.20C**), pero a los 60 ddt en este cultivo, con aplicaciones crecientes de Se con dosis de 0 y 10 mg L⁻¹ de Fe hubo un medias más altas en los valores SPAD, a dosis de 5 mg L⁻¹ de Fe la adición de selenio ocasionó un aumento en los valores SPAD más alto con aplicaciones de 0.7896 y 1.1844 mg L⁻¹ de Se y con aplicaciones de 15 mg L⁻¹ de Fe, la adición de Se promovió mayores lecturas SPAD que fueron más altas con 1.1844 mg L⁻¹ de Se (**Figura 2.20B**).

Los valores SPAD no parecen tener una relación directa con el aumento en la concentración de Fe y N registrados en este trabajo, lo cual probablemente se debe a la falta de una adecuada calibración del método ya que es importante tener en cuenta que

el éxito de este método de determinación depende de una adecuada calibración del equipo, dado que los valores SPAD varían entre especies de plantas, lugares, etapas fenológicas y aún entre partes de la planta (Giletto *et al.*, 2010).

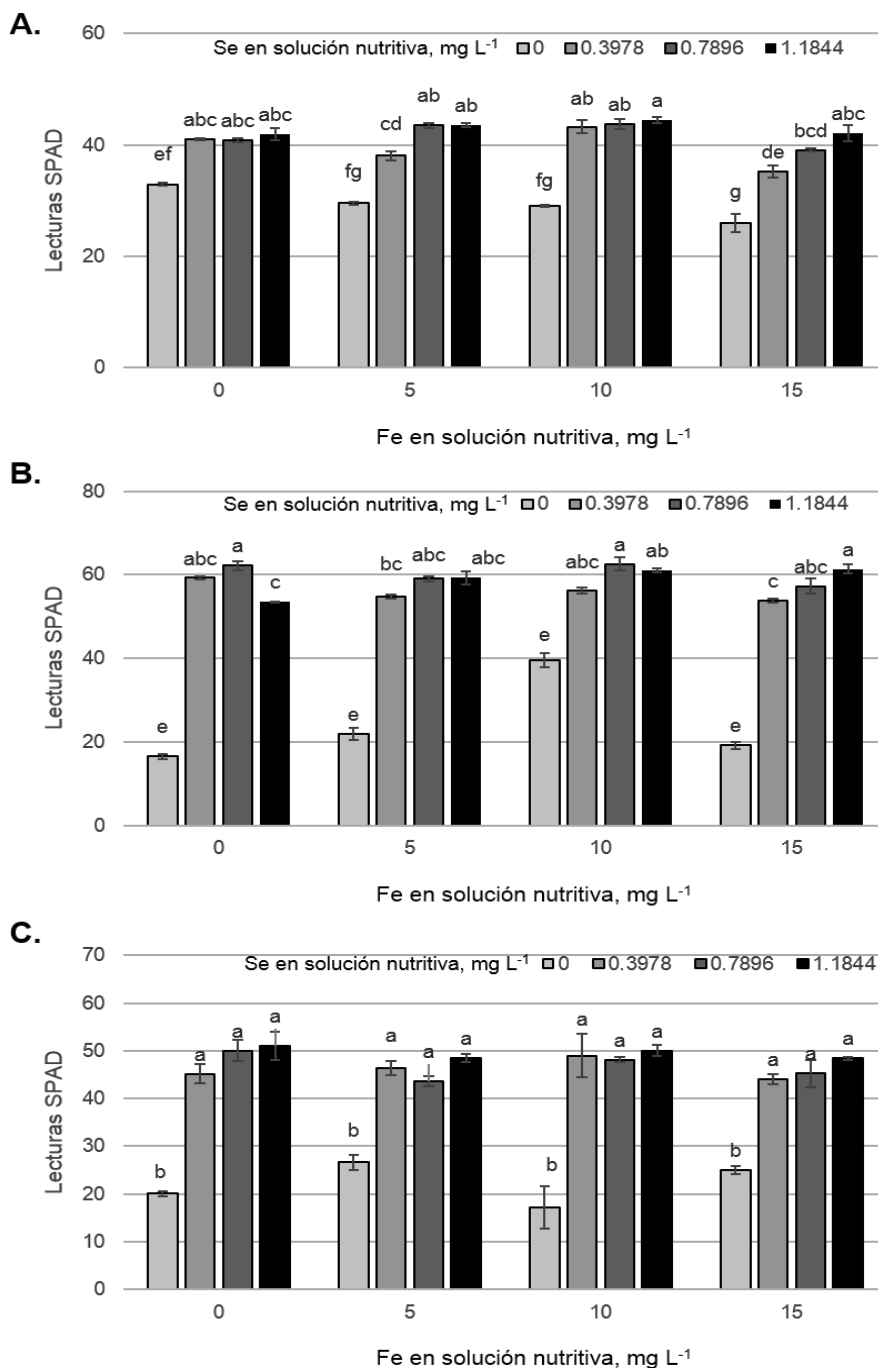


Figura 2.19 Efecto de la interacción de Fe y Se en las lecturas SPAD en acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de 30 días de tratamiento en la solución nutritiva. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura, indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

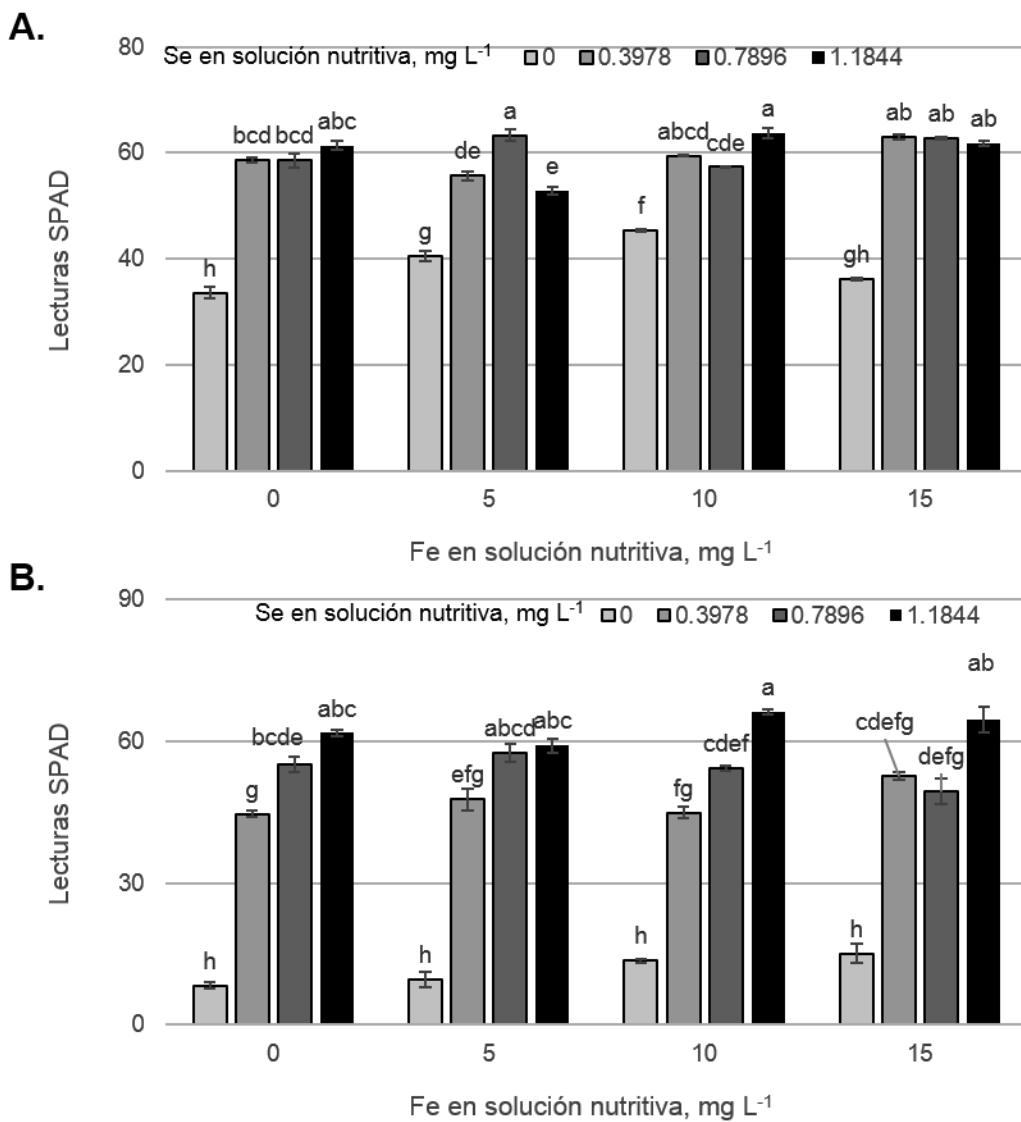


Figura 2.20 Efecto de la interacción de Fe y Se en las lecturas SPAD en acelga (A) y col (B) después de 60 días de tratamiento en la solución nutritiva. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura, indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

2.3.6 Acumulación de N y NO₃⁻ en vástago

Los resultados (**Cuadros 2.7 y 2.8**) muestran un efecto estadístico significativo por efecto de los factores Fe, Se y la interacción de ambos sobre los valores de las variables N y NO₃⁻ en plantas de acelga, espinaca y col a los 30 ddt, y en acelga y col a los 60 ddt.

La existencia de nitrógeno de forma abundante colabora en la formación de clorofila, que aumenta la actividad fotosintética y por tanto el desarrollo vegetal. Una gran

cantidad de nitrógeno hace que las células de las plantas lleguen más tarde a la senectud, manteniéndolas turgentes. En general, el nitrógeno acelera y mantiene buen desarrollo en la planta cultivada (Raigon *et al.*, 2006).

El nitrato está tomando cada vez más fuerza como parámetro de calidad en los alimentos debido a los riesgos que pueden ocasionar a la salud del consumidor (Raigón *et al.*, 2006). Las fuentes de nitrógeno significativamente influyen en la eficiencia de absorción de N en los cultivos. La fertilización con nitrógeno basada en nitrato frecuentemente incluye un excesivo contenido de nitrato en las partes vegetales comestibles, pero también existen otros factores influenciando la acumulación de nitrato incluyendo el genotipo, estación de cultivo, ambiente, fertilización con otros elementos como el S (Elwan y El-Hamed, 2011) y otros elementos como el Fe y Se (Mohamadipoor *et al.*, 2013).

Cuadro 2.7 Significancia estadística de factores de estudio y su interacción en la acumulación de N en vástagos en acelga, espinaca y col, después de 30 y 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva.

Fuente de variación	Acelga		Espinaca		Col
	Días de tratamiento				
	30	60	30	30	60
Fe	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *
Se	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *
Fe x Se	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *
CV	7.94	2.69	2.75	14.34	7.12

* Significativo (Tukey, $P \leq 0.05$)

Cuadro 2.8 Significancia estadística de factores de estudio y su interacción en la acumulación de NO_3^- en vástagos en acelga, espinaca y col, después de 30 y 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva.

Fuente de Variación	Acelga		Espinaca		Col
	Días de tratamiento				
	30	60	30	30	60
Fe	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *
Se	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *
Fe x Se	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	0.0002 *	<.0001 *
CV	6.25	4.53	17.76	14.90	8.54

* Significativo (Tukey, $P \leq 0.05$)

Efecto principal del Fe en la acumulación de N y NO_3^- en vástago. En plantas de acelga evaluadas a los 30 ddt se observó por efecto del factor Fe, un aumento en la acumulación nitrógeno a dosis de 15 mg L^{-1} de Fe, pero una disminución en la

acumulación de nitrato en cualquiera de las dosis de Fe aplicadas (**Figura 2.21A**). En este mismo cultivo pero a los 60 ddt, se obtuvo un incremento en la acumulación de nitrógeno y nitrato en cualquiera de las dosis de Fe probadas pero más alta con aplicaciones de 10 mg L⁻¹ de Fe para nitrógeno y con aplicaciones de 10 y 15 mg L⁻¹ de Fe para nitrato (**Figura 2.22B**). Los resultados en espinaca, mostraron que la acumulación de nitrógeno aumentó en el tejido foliar por efecto de la aplicación radical de Fe a dosis de 5 y 15 mg L⁻¹, además hubo un mayor acumulación de nitrato solo con aplicaciones de 5 y 10 mg L⁻¹ de Fe en este mismo cultivo (**Figura 2.21B**).

En col los resultados mostraron un aumento en la acumulación de nitrógeno por efecto de la adición radical de Fe pero significativamente mayor con aplicaciones de 5 mg L⁻¹. Para nitrato, sólo a esta misma dosis (5 mg L⁻¹ de Fe) hubo un aumento en la concentración de nitrato a los 30 ddt (**Figura 2.21C**), pero a los 60 ddt se observó un incremento en la acumulación de nitrógeno por efecto de la adición de Fe en cualquiera de las dosis de este elemento aplicadas, siendo más alta con 5 y 15 mg L⁻¹ de Fe; sin embargo, hubo un aumento en la acumulación de nitrato con cualquiera de las dosis de Fe aplicadas que fue más alta nuevamente con 5 y 10 mg L⁻¹ de Fe (**Figura 2.22B**).

[Mohamadipoor et al. \(2013\)](#) con aplicaciones de Fe foliares y al suelo a plantas de *Spathyphyllum illusion* obtuvieron una menor concentración de nitrógeno en el tejido foliar de esta especie. Lo anterior puede deberse a que en plantas superiores, la primera enzima en la ruta de asimilación del nitrato es la nitrato reductasa, enzima que junto con la nitrito reductasa catalizan la reducción del nitrato ([Castignetty y Smarelli, 1986](#)), enzima que se es promovida por la presencia de Fe.

Otros resultados fueron descritos por [Raigon et al. \(2006\)](#) quienes encontraron una relación positiva entre la actividad de la enzima nitrato reductasa y la concentración de hierro en el material vegetal de lechuga. El hierro interviene en la reducción del nitrato a través de la transferencia de electrones vía la ferredoxina, y de su función estructural de la enzima nitrito reductasa.

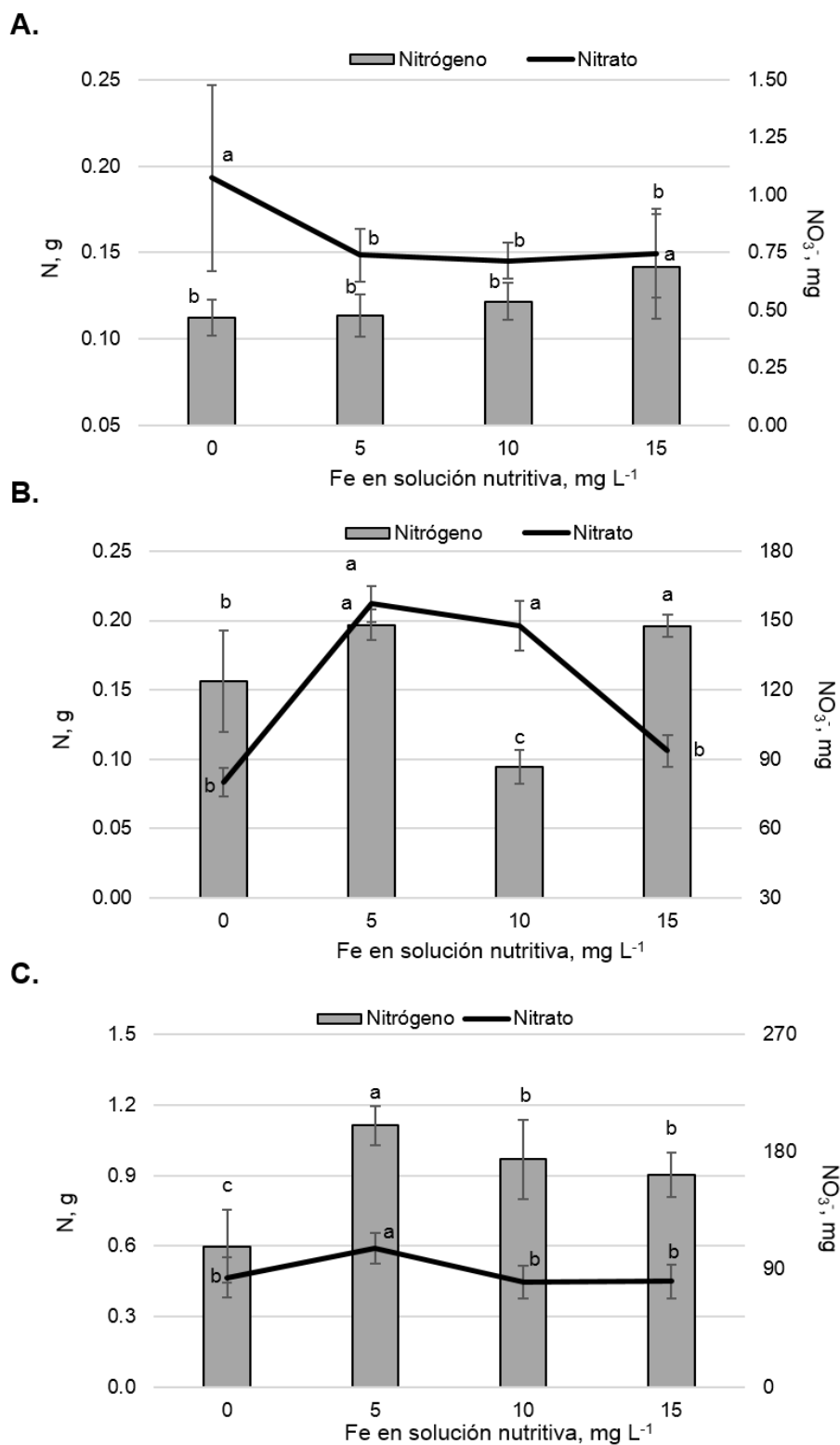


Figura 2.21 Efecto principal del Fe en la acumulación de N y NO₃⁻ en vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de 30 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva. Medias ± DE con letras distintas en cada subfigura y para cada variable indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

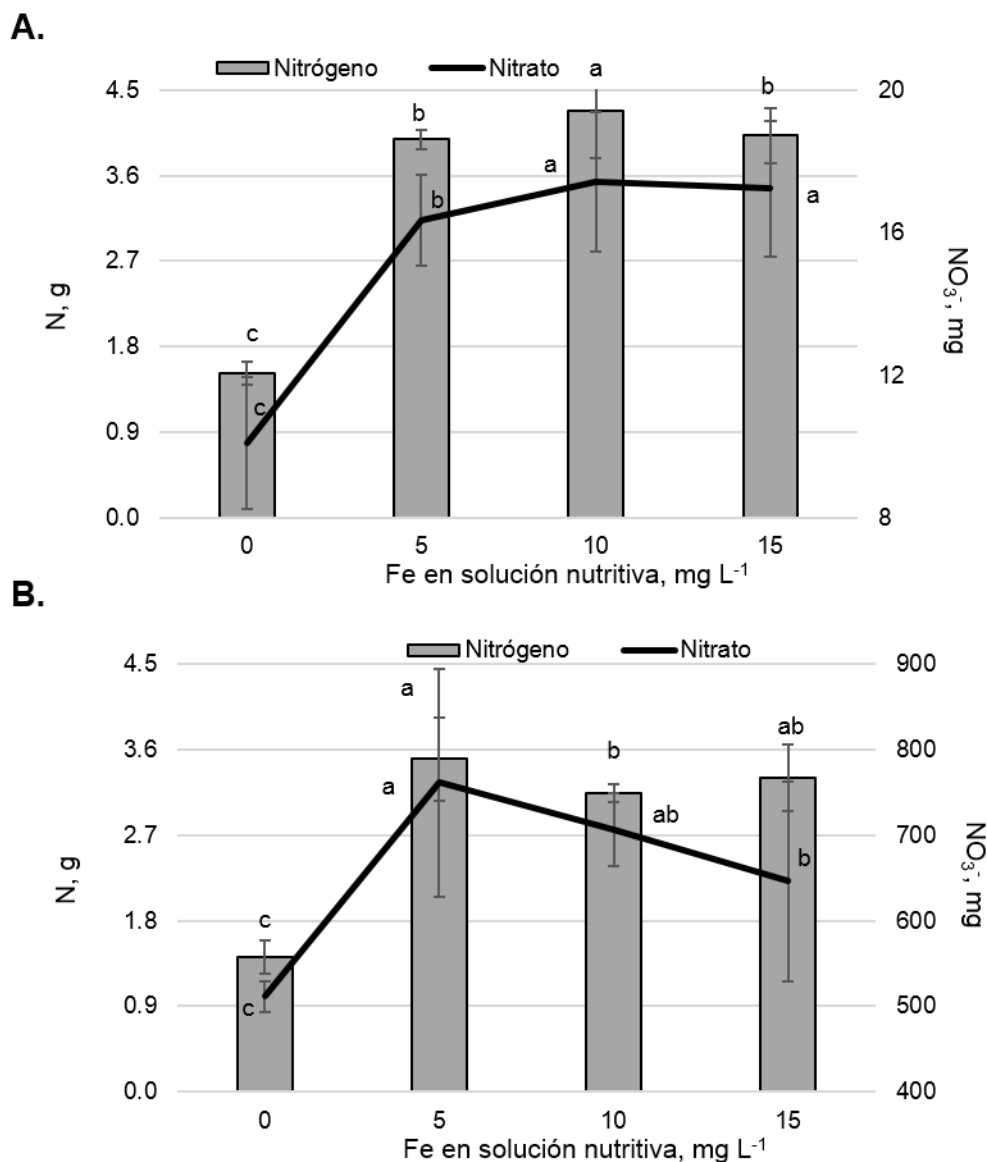


Figura 2.22 Efecto principal del Fe en la acumulación de N y NO₃⁻ en vástagos de acelga (A) y col (B) después de 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva. Medias ± DE con letras distintas en cada subfigura y para cada variable indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

Efecto principal de Se en la acumulación de N y NO₃⁻ en vástago. La adición radical de Se a los 30 ddt en plantas de acelga promovió un aumento en la acumulación de nitrógeno a niveles de 0.3978 y 0.7896 mg L⁻¹ y una disminución en la acumulación de nitrato con cualquiera de las dosis de Se aplicadas (**Figura 2.23A**). A los 60 ddt la adición de Se a 0.3978 y 1.1844 mg L⁻¹ disminuyó la acumulación de nitrógeno y con cualquiera de las dosis de Se disminuyó también la acumulación de nitrato siendo más

baja a 0.3978 y 1.1844 mg L⁻¹ (**Figura 2.24A**). Para espinaca, la acumulación de nitrógeno y nitrato evaluada a los 30 ddt mostró que la acumulación de nitrógeno incrementó conforme aumentó la concentración de Se en solución nutritiva y la acumulación de nitrato disminuyó a 0.3978 mg L⁻¹ de Se, e incrementó a niveles de 0.7896 y 1.1844 mg L⁻¹ siendo más alta con la primera dosis (**Figura 2.23B**).

La acumulación de nitrógeno determinado a los 30 ddt en plantas de col aumentó con 0.3978 y 0.7896 mg L⁻¹ de Se, pero disminuyó por debajo del testigo a dosis de 1.1844 mg L⁻¹, aunque para nitrato, la bioacumulación fue estadísticamente similar en cualquiera de los niveles de Se adicionados a excepción de la aplicación de Se a dosis de 1.1844 mg L⁻¹ donde se observó una disminución significativa en la bioacumulación de nitrato (**Figura 2.23C**). Por otra parte, en col a los 60 ddt, la aplicación de 0.3978 y 1.1844 mg L⁻¹ de Se promovieron una disminución en la bioacumulación de nitrógeno y la adición de Se en cualquiera de los niveles probados produjo una menor bioacumulación de nitrato en el tejido vegetal de este cultivo (**Figura 2.24B**).

Los resultados evidencian un aumento en el contenido de nitrógeno y una disminución en el nitrato por efecto principal del Se. En este sentido, existen antecedentes de un incremento en la actividad de la nitrato reductasa (NR) cuando se aplica selenio en forma de selenito en plantas de trigo, lo que implica menor acumulación de nitrato ([Nowak et al., 2004](#)). [Munshi et al. \(1990\)](#) encontraron que aplicaciones de selenito de sodio de 0, 5.6, 11.2 y 18 kg ha⁻¹, causaron una reducción significativa de nitrógeno en plantas de papa.

El Se influye en mayor medida en la acumulación de nitrógeno y nitrato, se ha determinado que el Se puede afectar también a las enzimas NR y NiR (nitrito reductasa) disminuyendo su actividad y por tanto afectando negativamente al metabolismo del N en general ya que la disminución en la reducción del nitrato, implica una menor actividad de las enzimas del ciclo GS/GOGAT y por consiguiente hay una mayor acumulación de esta molécula además de una disminución de aminoácidos y proteínas, dando lugar a una reducción del crecimiento ([Nowak et al., 2002](#); [Ríos, 2008](#)).

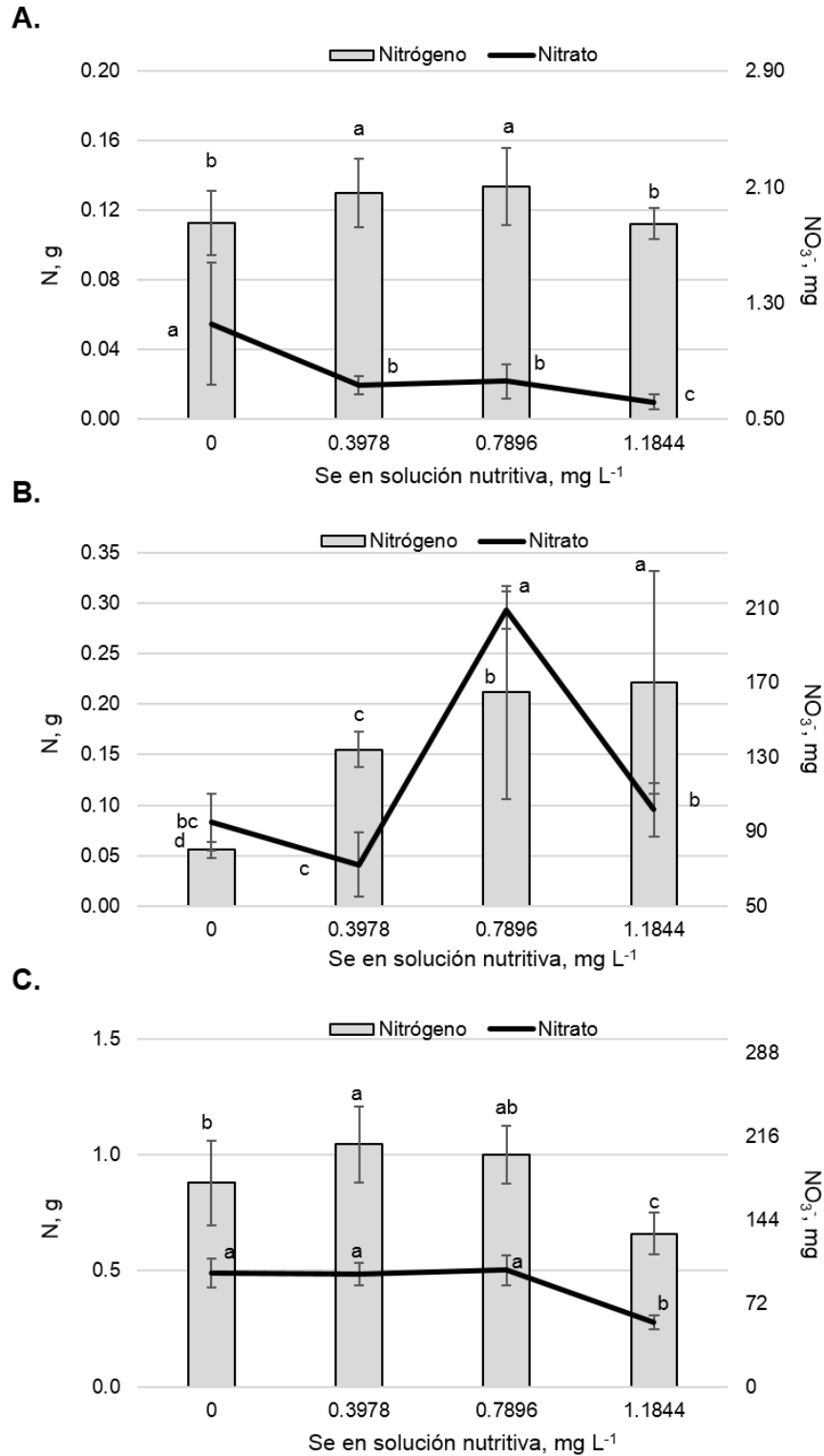


Figura 2.23 Efecto principal del Se en la acumulación de N y NO₃⁻ en vástados de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de 30 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva. Medias ± DE con letras distintas en cada subfigura y para cada variable indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

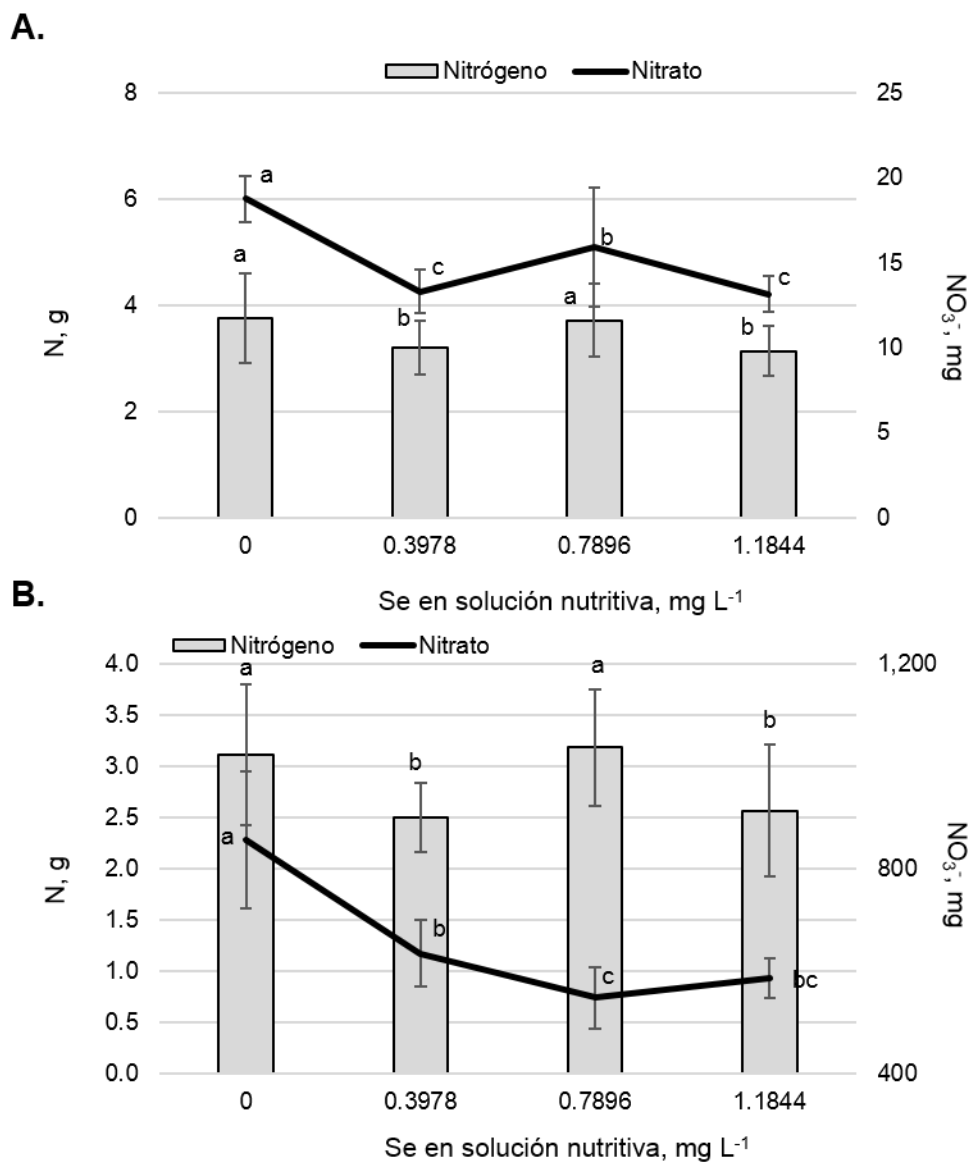


Figura 2.24 Efecto principal del Se en la acumulación de N y NO₃⁻ en vástagos de acelga (A) y col (B) después de 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva. Medias ± DE con letras distintas en cada subfigura y para cada variable indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

Efectos de la interacción Fe x Se en la acumulación de N y NO₃⁻ en vástago. Por efecto de la interacción Fe x Se en acelga a los 30 ddt se observó que a dosis de 0 mg L⁻¹ de Fe, la aplicación de 0.7896 mg L⁻¹ de Se incrementó la bioacumulación de nitrógeno; a dosis de 5 mg L⁻¹ de Fe la adición de Se provocó una disminución en la acumulación de nitrógeno, con 10 mg L⁻¹ de Fe la aplicación de 0.3978 y 0.7896 mg L⁻¹ de Se ocasionaron una menor bioacumulación de nitrógeno y con 15 mg L⁻¹ de Fe la

aplicación de Se provocó una mayor acumulación de nitrógeno en cualquiera de las dosis en estudio pero mayor a 0.3978 y 0.7896 mg L⁻¹ de Se (**Figura 2.25A**).

A los 60 ddt en acelga, por efecto de la aplicación de Fe en cualquier dosis, hubo una mayor bioacumulación de nitrógeno. Con aplicaciones de 0 mg L⁻¹ de Fe la bioacumulación de nitrógeno aumentó con la adición de Se en todas las dosis en estudio, a dosis de 5 mg L⁻¹ de Fe se obtuvo una disminución en la bioacumulación de nitrógeno solo a dosis de 0.7896 mg L⁻¹ de Se, a dosis de 10 mg L⁻¹ hubo una disminución en la bioacumulación de nitrógeno en todas las dosis de Se probadas pero menor con 0.3978 y 1.1844 mg L⁻¹ de Se y a dosis de 15 mg L⁻¹ se obtuvo una disminución de nitrógeno con aplicaciones de 0.3978 y 1.1844 mg L⁻¹ de Se (**Figura 2.26A**).

Por otra parte, en plantas de espinaca evaluadas a los 30 ddt se obtuvo un aumento en la bioacumulación de nitrógeno por la adición de Se en cada nivel de Fe, donde a dosis de 0 mg L⁻¹ de Fe se observó un aumento en la bioacumulación de nitrógeno mayor a dosis de 0.7896 mg L⁻¹, a dosis de 5 mg L⁻¹ de Fe hubo una mayor bioacumulación de nitrógeno con cualquiera de las aplicaciones de Se pero estadísticamente más alta a 0.7896 y 1.1844 mg L⁻¹ de Se.

A dosis de 10 mg L⁻¹ de Fe en espinaca, hubo una mayor acumulación de nitrógeno con 0.3978 y 0.7896 mg L⁻¹ de Se y se registró un aumento en la bioacumulación de nitrógeno conforme la dosis de Se aumentó con aplicaciones de 15 mg L⁻¹ de Fe (**Figura 2.25B**).

En col, a los 30 ddt con 0 y 10 mg L⁻¹ de Fe se obtuvo una mayor acumulación de nitrógeno con aplicaciones de 0.3978 mg L⁻¹ de Se y con 5 y 15 mg L⁻¹ de Fe hubo una menor bioacumulación de nitrógeno solo a dosis de 0.3978 y 1.1844 mg L⁻¹ de Se (**Figura 2.25C**). De manera similar, a los 60 ddt se obtuvo un aumento en la bioacumulación de nitrógeno a dosis de 0 mg L⁻¹ de Fe con cualquiera de las dosis de Se evaluadas, además con aplicaciones de 5 y 15 mg L⁻¹ de Fe se hubo una disminución en la bioacumulación de nitrógeno con aplicaciones de 0.3978 y 1.1844 mg L⁻¹ de Se y, a dosis de 10 mg L⁻¹ de Fe con cualquiera de las aplicaciones de Se no hubo diferencia estadística significativa con los niveles de Se aplicados (**Figura 2.26B**).

La bioacumulación de nitratos por efecto de la interacción Fe x Se en plantas de acelga a los 30 ddt se observó que la adición de Se a niveles de 0, 5 y 10 mg L⁻¹ de Fe ocasionó una disminución en la bioacumulación de nitrato, a dosis de 15 mg L⁻¹ la adición de Se incrementó la bioacumulación de nitrato sobre todo con aplicaciones de Se de 0.7896 mg L⁻¹ (**Figura 2.27A**). Una tendencia similar fue observada a los 60 ddt en plantas de acelga con dosis de 0, 5 y 15 mg L⁻¹ de Fe combinadas con aplicaciones de Se, donde en todos los casos, la adición de este elemento provocó una disminución en la bioacumulación de nitrato (**Figura 2.28A**).

Contrario a lo anterior a los 30 ddt, en plantas de espinaca, algunas dosis de Se en cada nivel de Fe promovieron un incremento en la bioacumulación de nitrato en el tejido foliar obteniéndose un aumento en la bioacumulación de nitrato a dosis de 0.7896 mg L⁻¹ de Se con aplicaciones de Fe de 0, 5 y 10 mg L⁻¹ y un aumento con aplicaciones de Se de 1.1844 mg L⁻¹ con 15 mg de Fe L⁻¹ (**Figura 2.27B**).

Aplicaciones de 0.7896 y 1.1844 mg L⁻¹ y de 1.1844 mg L⁻¹ de Se disminuyeron la bioacumulación de nitrato a los 30 ddt en plantas de col a dosis de 0 y de 5 y 15 mg L⁻¹ de Fe respectivamente, efecto que fue diferente con aplicaciones de 10 mg L⁻¹ de Fe donde con 0.3978 y 0.7896 mg L⁻¹ de Se hubo un incremento en la bioacumulación de nitrato en el tejido foliar de esta especie (**Figura 2.27C**). En los resultados de la segunda evaluación a los 60 ddt en plantas de col, se observó que sin la aplicación de Fe, con la adición de Se no hubo diferencias significativas sobre la acumulación de nitrato pero con la adición de Fe, la aplicación de Se provocó una disminución en la acumulación de nitrato en el tejido vegetal en cada nivel de Fe (**Figura 2.28B**).

Ríos (2008), al aplicar de Se en forma de selenito, registró menor concentración de diversos elementos como N, P y Mg a medida que incrementó la dosis aplicada. Además, este mismo autor observó que el Se puede promover la actividad de las enzimas involucradas en la incorporación de NH₄⁺ en aminoácidos, lo que provocó que no existieran diferencias estadísticas en la concentración de N entre tratamientos.

Existen trabajos donde se muestra una inhibición de la enzima nitrato reductasa por la adición de Se tanto en forma de selenito como selenato, lo que ocasiona una mayor acumulación de NO₃⁻ (Aslam *et al.*, 1990; Nowak *et al.*, 2002); no obstante, algunos autores han observado un aumento en la actividad de la enzima mencionada debido a la

aplicación de Se, provocando una menor acumulación de nitrato (Ríos, 2008; Nowak *et al.*, 2004).

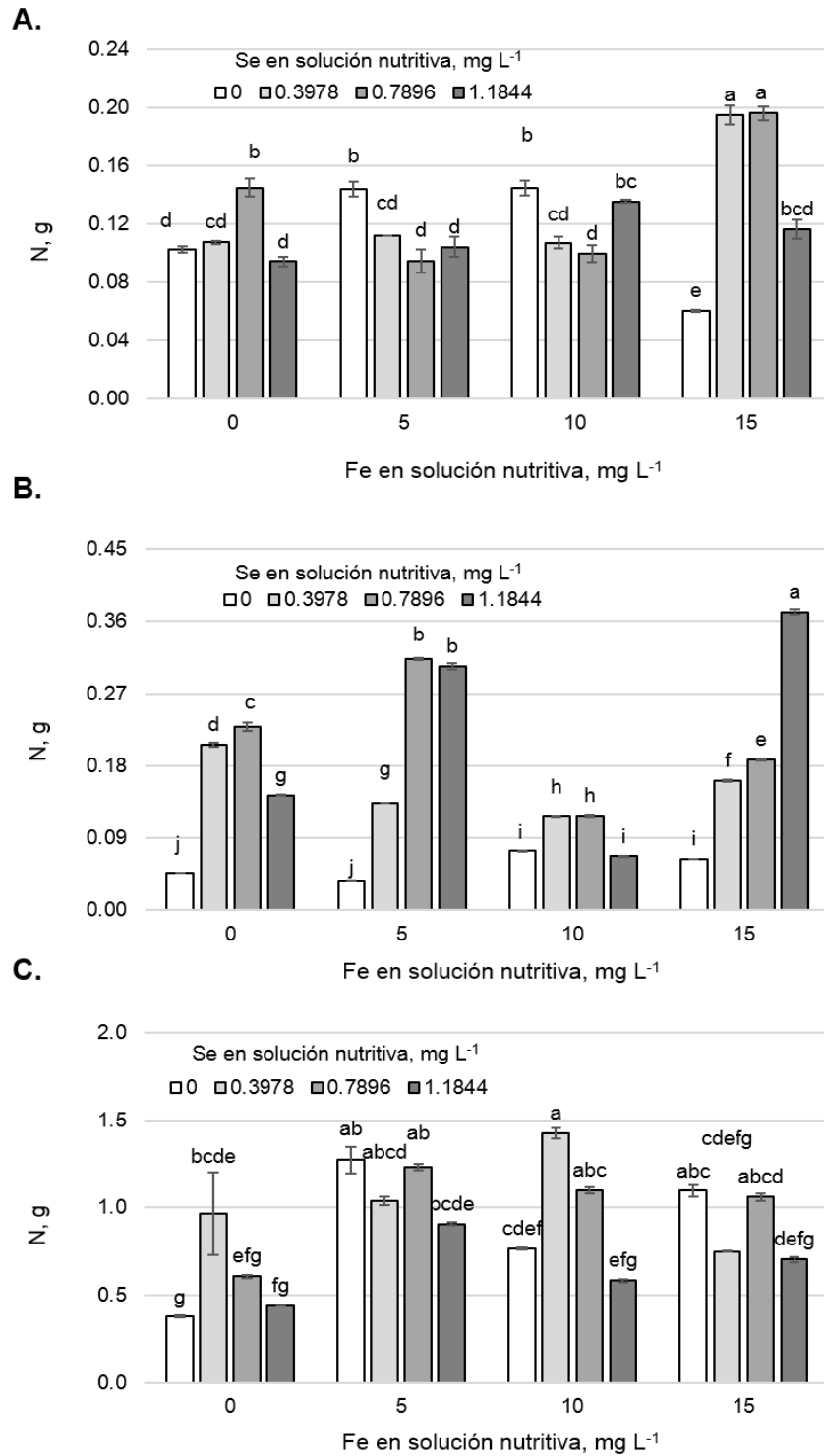


Figura 2.25 Efecto de la interacción de Fe y Se en la bioacumulación de N en vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C), después de 30 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

A.

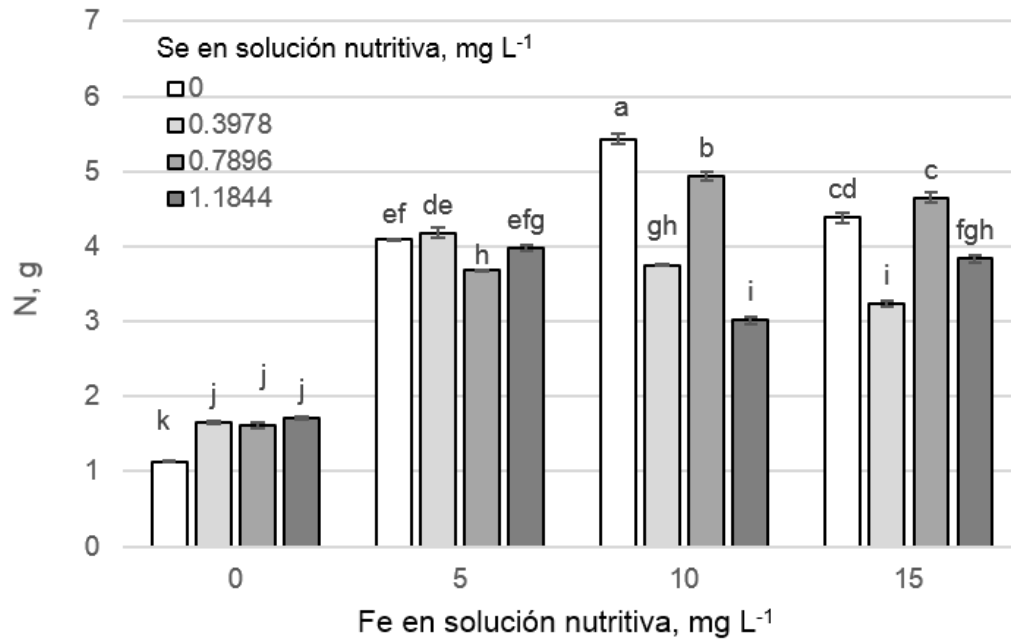


Figura 2.26 Efecto de la interacción de Fe y Se en la acumulación de N en vástagos de acelga (A) y col (C), después de 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva. Medias ± DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

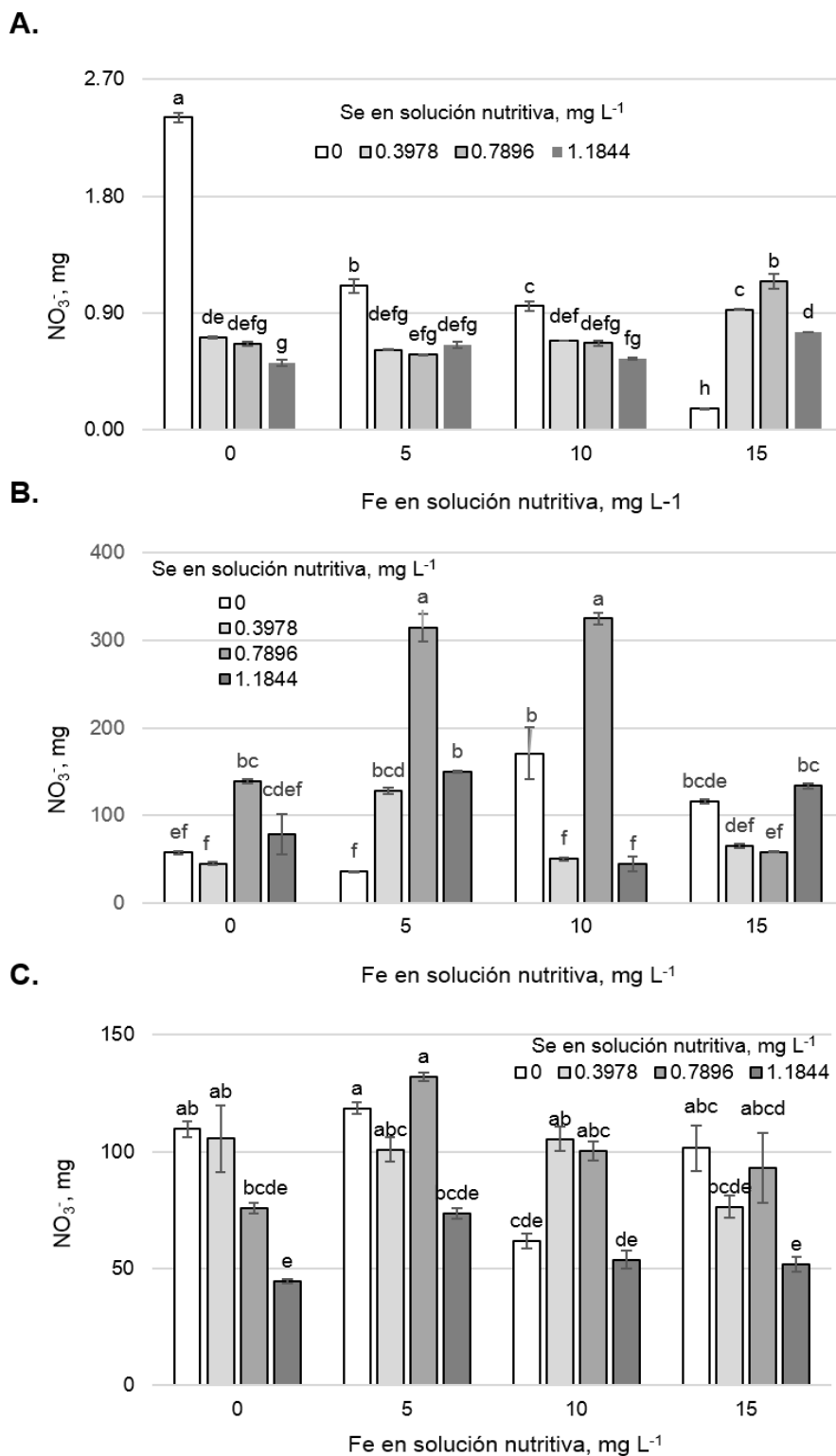


Figura 2.27 Efecto de la interacción de Fe y Se en la acumulación de NO_3^- en vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C), después de 30 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

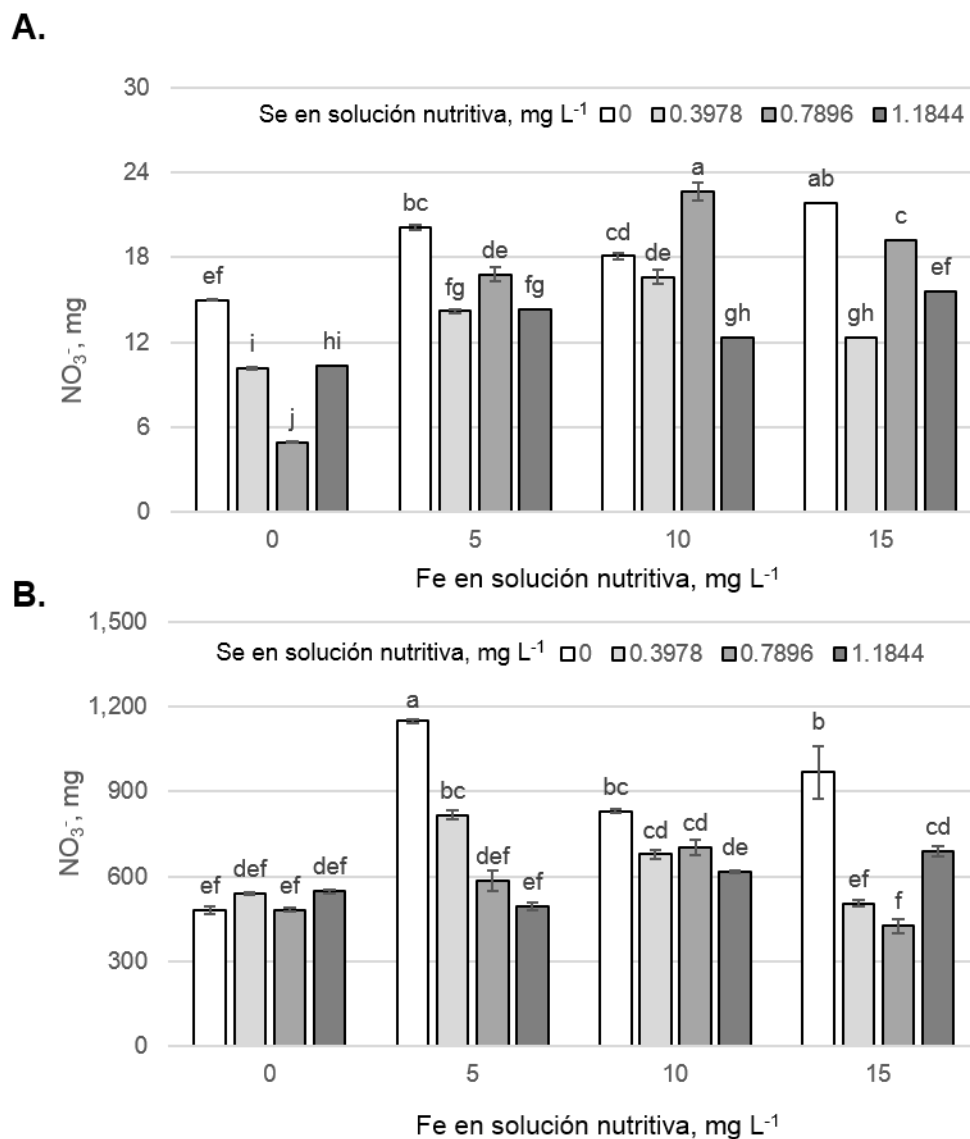


Figura 2.28 Efecto de la interacción de Fe y Se en la acumulación de NO₃⁻ en vástagos de acelga y col (B), después de 60 de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva. Medias ± DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

2.3.7 Contenido de clorofila a

Tanto por efecto del factor Fe, Se y la interacción Fe x Se los resultados del análisis estadístico revelaron un efecto significativo sobre el contenido de clorofila a en los tres cultivos analizados en la presente investigación (**Cuadro 2.9**).

Cuadro 2.9 Significancia estadística de factores de estudio y su interacción en el contenido de clorofila *a* en vástagos de acelga, espinaca y col, después de 30 y 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución foliar.

Fuente de Variación	Acelga		Espinaca		Col	
	Días de tratamiento					
	30	60	30	30	60	
Fe	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001	<.0001 *	
Se	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	0.0002 *	0.0665 *	
Fe x Se	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	
CV	7.61	7.17	8.20	11.12	10.96	

* Significativo (Tukey, $P \leq 0.05$)

Efecto principal de Fe en el contenido de clorofila *a* en vástago. En acelga, la aplicación de Fe a los 30 ddt incremento el contenido de clorofila *a* con la adición de Fe de 5 y 10 mg L⁻¹ sin ser estadísticamente diferente entre estas dosis, y a los 60 ddt se obtuvo que conforme aumentó la dosis de Fe aplicada el contenido de clorofila *a* incrementó (**Figura 2.29A**). En el caso de espinaca, la adición de 5 y 15 mg L⁻¹ de Fe aumentaron el contenido de clorofila *a* en este cultivo, siendo mayor con la última dosis mencionada, aunque a dosis de 10 mg L⁻¹ de Fe vía radical se obtuvo una marcada disminución en los valores de esta variable (**Figura 2.29B**).

Los resultados de la primera medición (30 ddt) en col mostraron mayor contenido de clorofila *a* con aplicaciones de 5 y 10 mg L⁻¹ de Fe y disminuyó ligeramente a dosis de 15 mg L⁻¹ aunque por encima del testigo. En la segunda medición (60 ddt) en col, el contenido de clorofila *a* aumentó a los 5 mg L⁻¹ de Fe, fue el más alto a los 10 mg L⁻¹ y disminuyó con aplicaciones de 15 mg L⁻¹ de Fe (**Figura 2.29C**).

De manera similar, la concentración de clorofila estimada a través de unidades SPAD en plantas de pera (*Prunus persica* L) aumentó siempre con tratamientos foliares conteniendo Fe en solución (Fernández *et al.*, 2008). Borowski y Michalek (2011) registraron un aumento significativo en el contenido de clorofilas *a+b* y de carotenoides en plantas de frijol francés o ejote (*Phaseolus vulgaris*) debido a la fertilización foliar con Fe suministrado a partir de sales inorgánicas.

Pestana *et al.* (2004) obtuvieron que el portainjerto Troyer de naranjo crecieron adecuadamente y acumularon mayor cantidad de clorofila (estimada a partir de unidades SPAD) y nutrientes que otras especies bajo deficiencia de Fe. Por el contrario, la concentración de clorofila *a* y *b* se redujo en plantas de remolacha azucarera (*Beta vulgaris* L.) estresadas por deficiencia de Fe (Miller *et al.*, 2008).

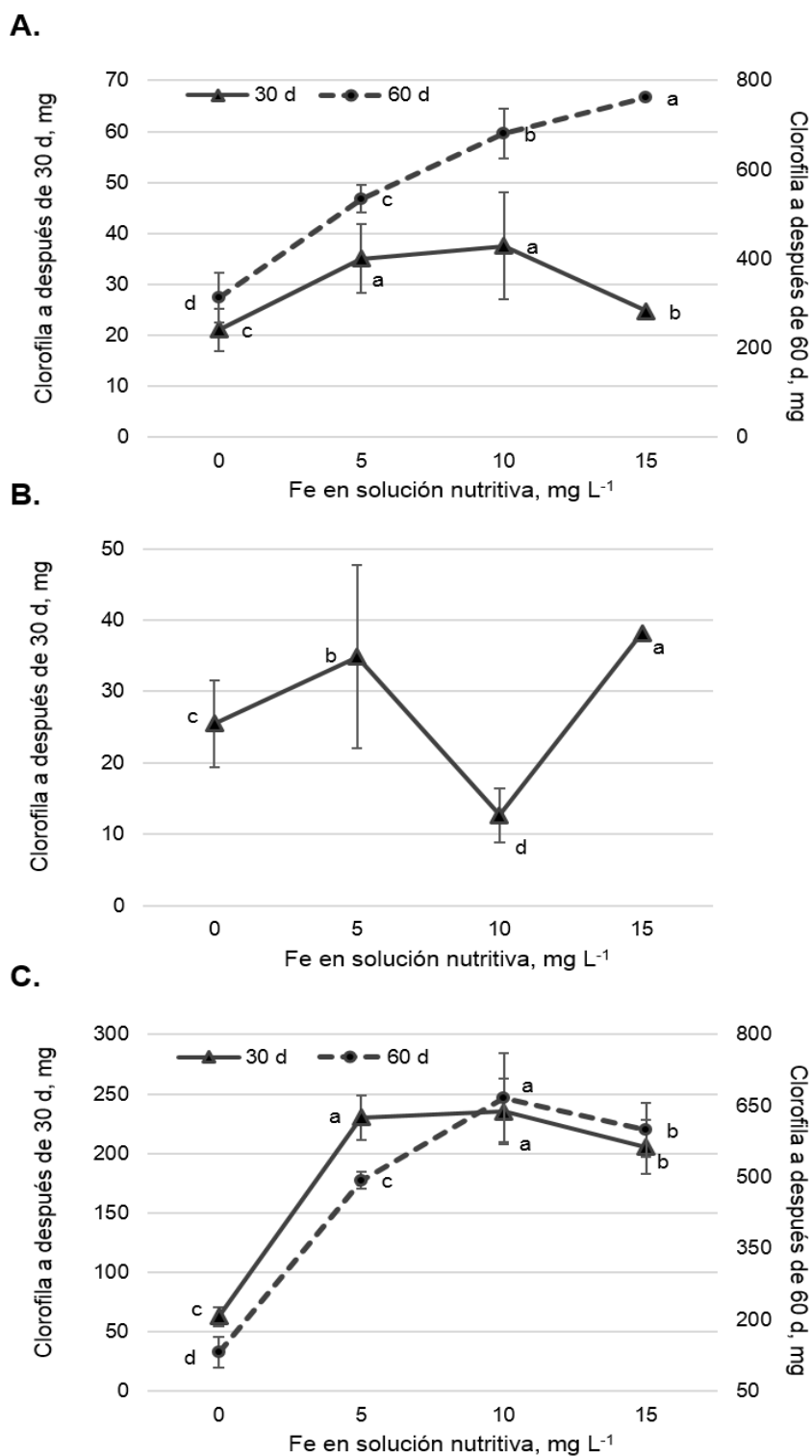


Figura 2.29 Efecto principal del Fe en el contenido de clorofila a en vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de 30 y 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura y para cada variable indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

Efecto principal de Se en la acumulación de clorofila a en vástago. Se obtuvo una disminución en el contenido de clorofila *a* debido a la aplicación creciente de Se vía radical en el cultivo de acelga a los 30 ddt; sin embargo, a los 60 ddt la adición de Se en cualquiera de los niveles aplicados generó un aumento en el contenido de esta biomolécula sin haber diferencias estadísticas entre estos (**Figura 2.30A**).

Un aumento creciente en el contenido de clorofila *a* fue registrado por efecto de la aplicación creciente de Se vía radical en el cultivo de espinaca a los 30 ddt (**Figura 2.30B**), aunque en esta misma evaluación pero en el cultivo de col hubo un incremento en el contenido de clorofila *a* en cualquiera de las dosis de Se aplicadas. No hubo un efecto diferencial por efecto de la aplicación radical de Se en cualquiera de los niveles de este elemento evaluados en la presente investigación para el cultivo de col a los 60 ddt (**Figura 2.30C**).

De la misma forma, [Saffaryazdi et al. \(2012\)](#) mencionan que plantas de espinaca a dosis de Se superiores a 1 mg L⁻¹ vía radical, aumentaron los niveles de clorofila *a* y *b* en un 87 y 165 % respectivamente, mientras niveles más altos de Se provocaron efectos tóxicos.

Plantas de pasto (*Lolium perenne*) cultivadas en suelos adicionados con Se a dosis de 0.1, 1.0, 10 y 30 mg de Se kg⁻¹ de suelo incrementaron su concentración de clorofila total conforme aumentó la dosis de Se en la que fueron cultivadas ([Hartikainen et al., 2000](#)).

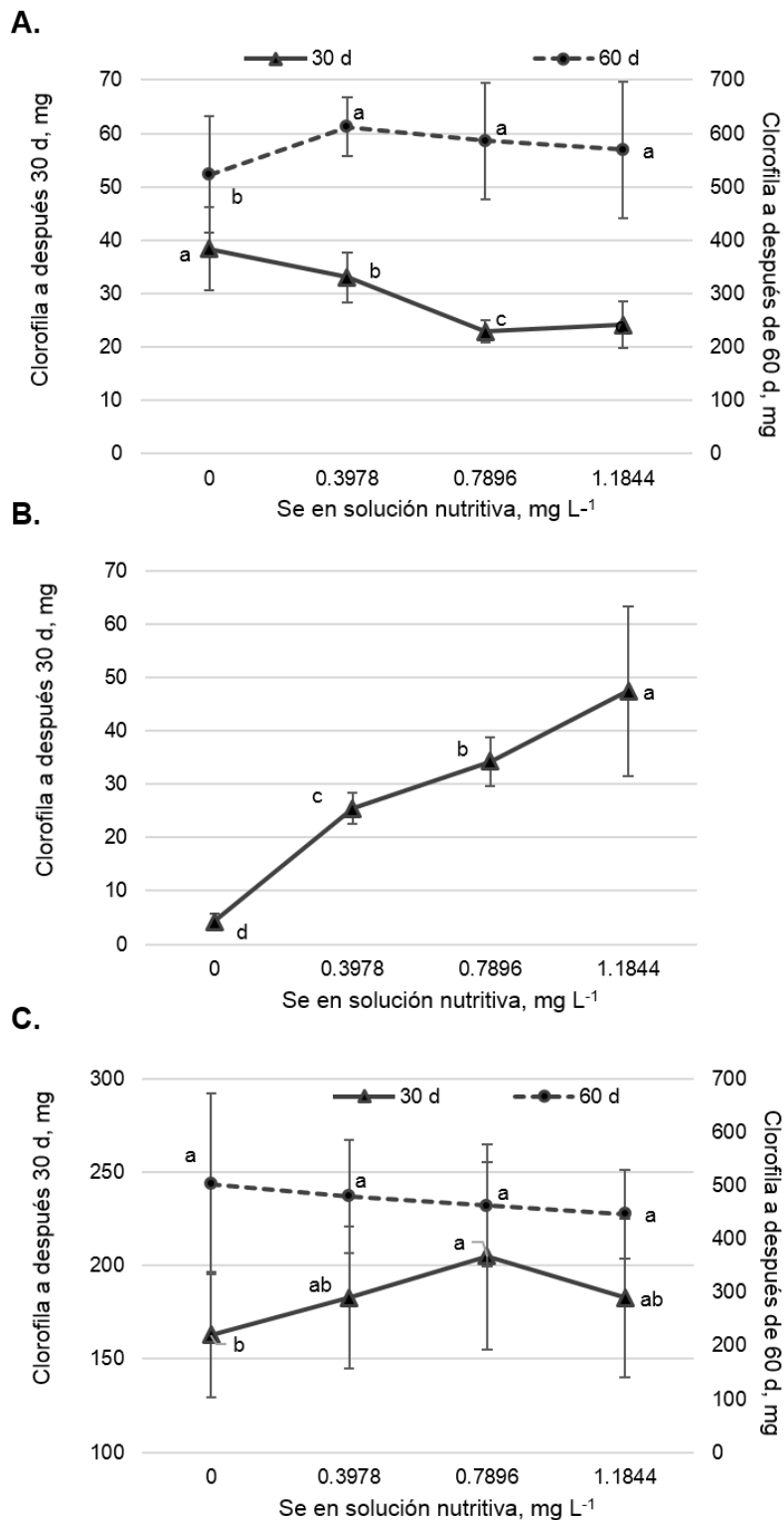


Figura 2.30 Efecto principal del Se en el contenido de clorofila a en vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de 30 y 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura y para cada variable indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

Efecto de la interacción Fe x Se en la acumulación de clorofila a en vástago.

Debido al efecto de la interacción, se obtuvo un aumento en la acumulación de clorofila *a*, a dosis de 5 y 10 mg L⁻¹ de Fe la cual sufrió una disminución por la adición de Se que fue más baja a 0.7896 y 1.1844 mg L⁻¹ de Se, pero sin la adición de Fe y con dosis de 15 mg L⁻¹ de este mismo, aplicaciones de 0.3978 y de 1.1844 mg L⁻¹ de Se incrementaron la acumulación de clorofila *a* en el cultivo de acelga respectivamente a los 30 ddt (**Figura 2.31A**). Por otro lado, en acelga, a los 60 ddt sin la adición de Fe y con 15 mg L⁻¹, dosis de 0.3978 y de 0.7896 y 1.1844 mg L⁻¹ de Se respectivamente, generaron un incremento significativo en la acumulación de clorofila *a* para este cultivo; no obstante a dosis de 5 mg L⁻¹ de Fe con cualquiera de las aplicaciones de Se no se obtuvo un efecto estadísticamente distinto y, con la adición de 10 mg L⁻¹ de Fe la aplicación de Se ocasionó una disminución para esta variable que fue mayor a 0.7896 mg L⁻¹ de Se (**Figura 2.32A**).

Para espinaca, la aplicación de Se en cada nivel de Fe incrementó el contenido de clorofila *a*, siendo un efecto creciente por efecto de la adición creciente de Se combinado con dosis de 5 y 15 mg L⁻¹ de Fe, y con aplicaciones de 0 y 10 mg L⁻¹ de Fe, se obtuvo mayor acumulación de clorofila *a* con 0.3978 mg L⁻¹ de Se, después el mayor incremento con dosis de 0.7896 mg L⁻¹ y finalmente una disminución a dosis de 1.1844 mg L⁻¹ de Se (**Figura 2.31B**).

Además, la aplicación de Se a niveles de 1.1844, de 0.3978 y 0.7896, y de 0.7896 y 1.1844 mg L⁻¹ de Se con 5, 10 y 15 mg L⁻¹ de Fe respectivamente aumentaron significativamente el contenido de clorofila *a* en el cultivo de col 30 ddt (**Figura 2.31C**). Los resultados anteriores no fueron consistentes con los obtenidos en la segunda determinación (a los 60 ddt) en este mismo cultivo, donde se observó una disminución en la acumulación de clorofila *a* por efecto de la aplicación de Se combinado con dosis de 10 mg L⁻¹ de Fe y un incremento en los valores de esta variable solo a dosis de 0.3978 mg L⁻¹ de Se con 15 mg L⁻¹ de Fe, para todo los demás tratamientos no se obtuvo una diferencia significativa entre los niveles de los elementos probados (**Figura 2.32B**).

En este contexto, se sabe que el Fe es esencial en los procesos de síntesis de clorofilas las cuales forman parte del aparato fotosintético de las plantas ([Nishio *et al.*, 1985](#);

Zocchi *et al.*, 2007). Por ello, en crecimiento vegetativo, el Se favorece una alta tasa de fotosíntesis y carbohidratos (Hajiboland y Keivanfar, 2012), debido a que el Se promueve un aumento en el contenido de clorofila de distintas especies (Saffaryzdi *et al.*, 2012; Hartikainen *et al.*, 2000; Yao *et al.*, 2009).

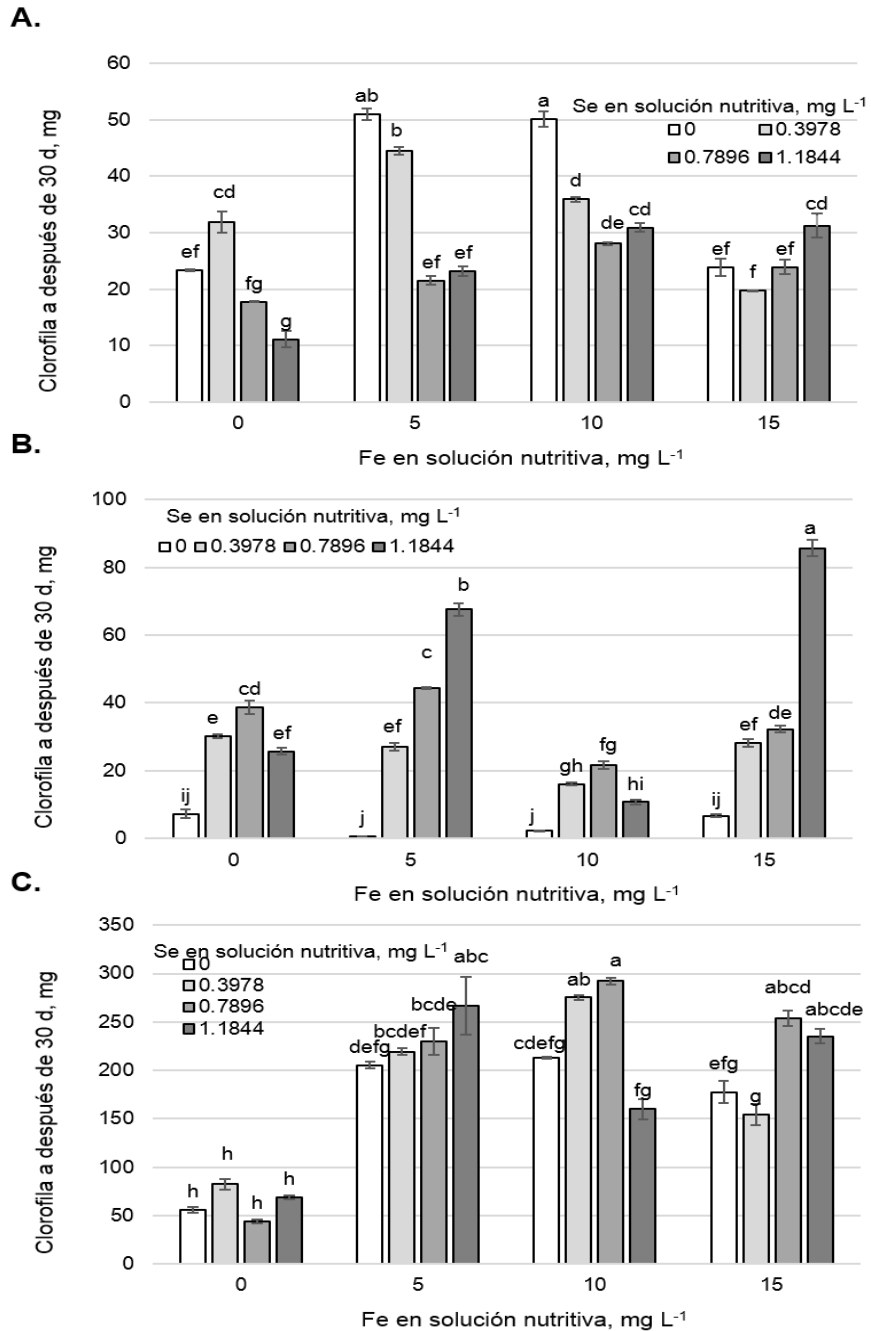


Figura 2.31 Efecto de la interacción de Fe y Se en el contenido de clorofila a en vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de 30 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

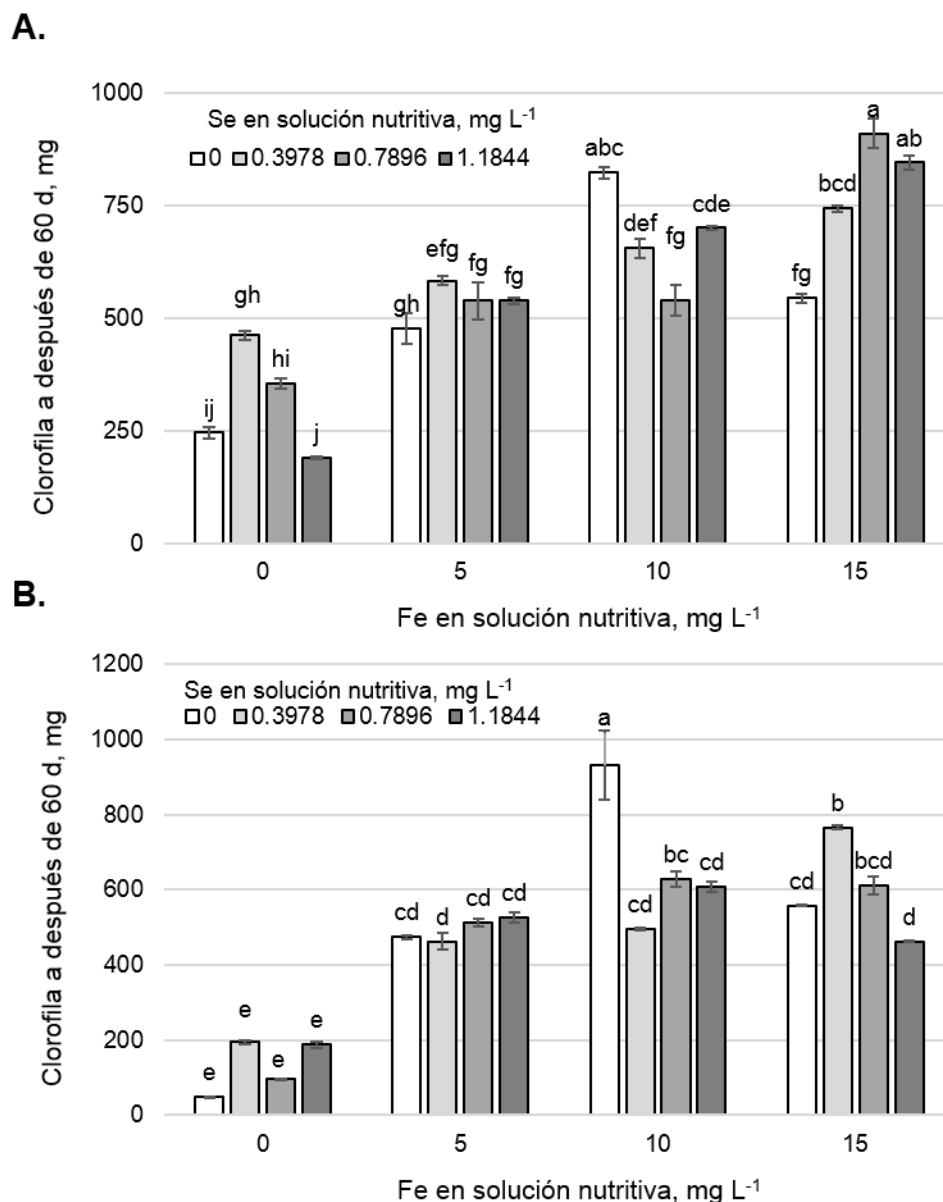


Figura 2.32 Efecto de la interacción de Fe y Se en la acumulación de clorofila *a* en vástagos de acelga (A) y col (B) después de 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

2.3.8 Contenido de clorofila *b* en vástago. En el caso del contenido de clorofila *b*, se obtuvieron efectos estadísticos significativos por efecto del factor Fe, Se, y la interacción Fe x Se en los cultivos de acelga, espinaca y col a los 30 y 60 días según fue el caso (Cuadro 2.10).

Cuadro 2.10 Significancia estadística de factores de estudio y su interacción en el contenido de clorofila *b* en vástagos de acelga, espinaca y col, después de 30 y 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución foliar.

Fuente de Variación	Acelga		Espinaca		Col	
	Días de tratamiento					
	30	60	30	30	60	
Fe	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *
Se	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	0.0002 *	0.0001 *	0.0001 *
Fe x Se	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	0.0007 *	0.0007 *
CV	7.58	5.05	7.65	10.40	13.17	

* Significativo (Tukey, $P \leq 0.05$)

Efecto principal del Fe en la acumulación de clorofila *b* en vástago. La aplicación de Fe a los 30 ddt provocó un mayor contenido de clorofila *b* en plantas de acelga, con la adición de 5 y 10 mg L⁻¹ de Fe hubo un mayor incremento sin ser estadísticamente diferente entre estas dosis, y a los 60 ddt el contenido de clorofila *b* en el tejido vegetal fue más alto con aplicaciones de Fe de 10 y 15 mg L⁻¹ (**Figura 2.33A**).

Por la adición de 5 y 15 mg L⁻¹ de Fe en espinaca, se obtuvo un aumento en el contenido de clorofila *b* en este cultivo, observándose que a dosis de 10 mg L⁻¹ de Fe hubo una marcada disminución en los valores (**Figura 2.33B**).

En la primera medición (30 ddt), el cultivo de col mostró un mayor contenido de clorofila *b* con aplicaciones de 5 y 10 mg L⁻¹ de Fe y disminuyó ligeramente a dosis de 15 mg L⁻¹, pero por encima del tratamiento testigo. En la segunda medición (60 ddt), el contenido de clorofila *b* aumentó con 5 mg L⁻¹ de Fe, pero fue más alto con aplicaciones de 10 y 15 mg L⁻¹ de Fe (**Figura 2.33C**).

El déficit de Fe en plantas, disminuye el contenido de pigmentos fotosintéticos (Terry, 1980). En este contexto, se han registrado aumentos significativos en el contenido de clorofilas *a* y *b* de plantas de frijol (Borowski y Michalek, 2011), de espinaca (Abu *et al.*, 2011), y otras especies como árboles de naranja (Pestana *et al.*, 2006) por efecto de la adición de Fe vía radical y foliar.

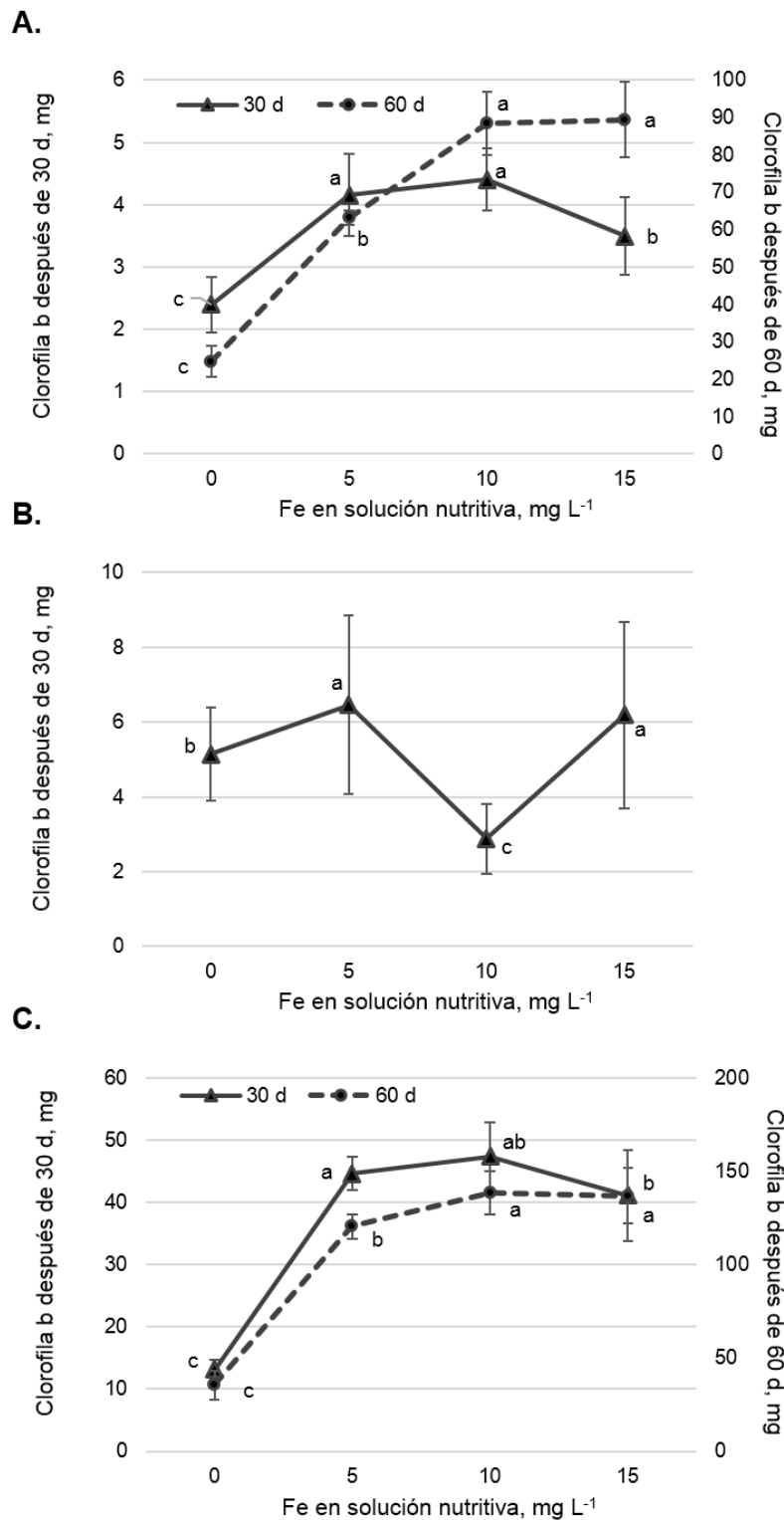


Figura 2.33 Efecto principal del Fe en el contenido de clorofila *b* en vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de 30 y 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura y para cada variable indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

Efecto principal de Se en la acumulación de clorofila b en vástago. Una disminución en el contenido de clorofila *b* a los 30 ddt fue observada debido a la aplicación de Se vía radical en el cultivo de acelga, la que fue menor con dosis de 1.1844 mg L⁻¹ de Se. A los 60 ddt, la adición de Se en cualquiera de los niveles aplicados en acelga, provocó un aumento en el contenido de clorofila *b*, la cual fue estadísticamente mayor con aplicaciones de 0.3978 y 1.1844 mg L⁻¹ de Se (**Figura 2.34A**).

El contenido de clorofila *b* en espinaca, registró un aumento gradual por efecto de la aplicación creciente de Se vía radical a los 30 ddt (**Figura 2.34B**), sin embargo, en esta misma medición en el cultivo de col, se obtuvo un incremento en el contenido de clorofila *b* solo con la adición de 0.7896 mg L⁻¹ de Se. En este mismo cultivo, a los 60 ddt, se observó un aumento en el contenido de clorofila *b* por efecto de la aplicación radical de Se en cualquiera de los niveles de este elemento adicionados (**Figura 2.34C**).

[Saffaryazdi et al. \(2012\)](#) encontraron un aumento proporcional en los niveles de clorofilas *a* y *b* de plantas de espinaca tratadas con dosis de Se superiores a 1 mg L⁻¹ vía radical, mientras niveles más altos de Se provocaron efectos tóxicos. Los efectos fitotóxicos del Se pueden ocurrir principalmente debido a las interferencias de este elemento con el metabolismo normal del azufre, resultando en clorosis (afectación a clorofilas) y disminución en la síntesis de proteínas y materia seca ([Lefsrud y Kopsell, 2006](#)).

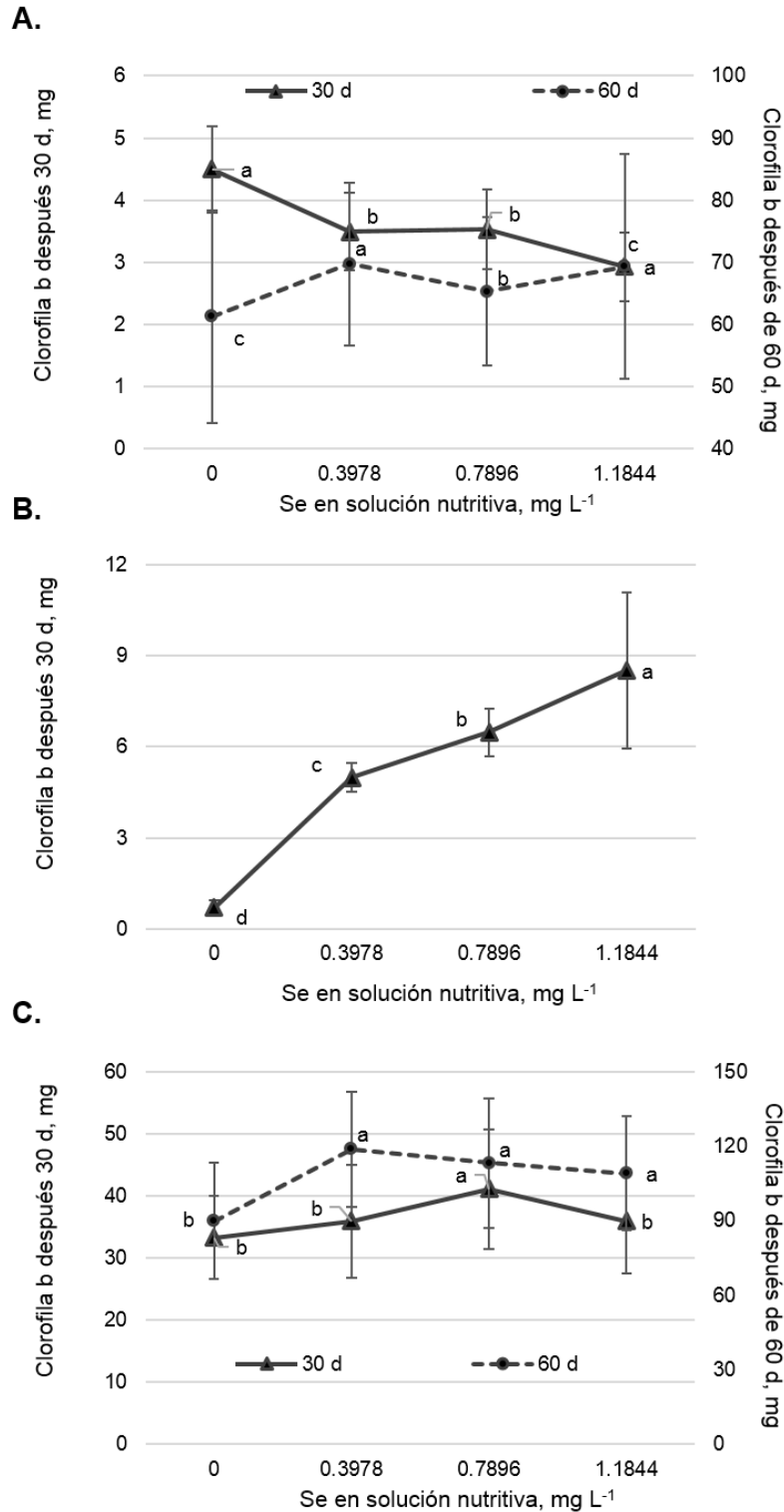


Figura 2.34 Efecto principal del Se en el contenido de clorofila *b* en vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de 30 y 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura y para cada variable indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

Efecto de la interacción Fe x Se en el contenido de clorofila b en vástago. Por efecto de la interacción Fe x Se, en acelga, se obtuvo un aumento gradual en la acumulación de clorofila *b*, con incrementos en la dosis de Fe hasta los 10 mg L⁻¹, después de la cual se observó una disminución en los valores de esta variable. A dosis de 0, 5 mg L⁻¹, la bioacumulación de clorofila *b* disminuyó a medida que la dosis de Se aumentó, aunque con aplicaciones de 10 mg L⁻¹ la disminución en el contenido de clorofila *b* fue estadísticamente similar en cualquiera de las dosis de Se aplicadas, pero además, con dosis de 15 mg L⁻¹ de Fe, aplicaciones de 0.7896 y de 1.1844 mg L⁻¹ de Se incrementaron la acumulación de clorofila *b* de manera significativa (**Figura 2.35A**). En acelga, a los 60 ddt sin la adición de Fe y con 15 mg L⁻¹, la aplicación de 0.3978 y de 0.7896 mg L⁻¹ de Se y la adición gradual de Se respectivamente, promovieron una mayor acumulación de clorofila *b*, que sin embargo, a dosis de 5 mg L⁻¹ de Fe con cualquiera de las aplicaciones de Se no fue significativa y, con la adición de 10 mg L⁻¹ de Fe la aplicación de Se ocasionó una disminución solo a 0.7896 y 1.1844 mg L⁻¹ de Se (**Figura 2.36A**).

La aplicación de Se en cada nivel de Fe incrementó el contenido de clorofila *b* en plantas de espinaca, obteniéndose un aumento por efecto de la adición creciente de Se combinado con dosis de 5 y 15 mg L⁻¹ de Fe. En espinaca con aplicaciones de 0 y 10 mg L⁻¹ de Fe, se obtuvo un incremento en la acumulación de clorofila *b* con 0.3978 mg L⁻¹ de Se y una mayor acumulación con dosis de 0.7896 mg L⁻¹ de Se, aunque una disminución con aplicaciones de 1.1844 mg L⁻¹ de este mismo elemento (**Figura 2.35B**). También, debido a la aplicación de Se a niveles de 1.1844, de 0.3978 y 0.7896, y de 0.7896 y 1.1844 mg L⁻¹ de Se con 5, 10 y 15 mg L⁻¹ de Fe, respectivamente, se observó un aumento significativo en el contenido de clorofila *b* del cultivo de col a los 30 ddt (**Figura 2.35C**), lo cual fue diferente a los 60 ddt, donde se observó un incremento en la acumulación de clorofila *b* por efecto de la aplicación de 0.7896 y 1.1844 mg L⁻¹ de Se combinado con dosis de 10 mg L⁻¹ de Fe y un aumento en los valores de esta variable a dosis de 0.3978 y 0.7896 mg L⁻¹ de Se con 15 mg L⁻¹ de Fe, donde además para todos los demás tratamientos no se obtuvo una diferencia significativa (**Figura 2.36B**).

Un mayor contenido de clorofila *b* y carotenos en hojas de plantas tratadas con Se pueden apoyar la fotoquímica de las hojas a través de la mejora en la protección de los centros de reacción contra las especies reactivas de oxígeno producidas inevitablemente por la luz (Hajiboland y Keivanfar, 2012).

En la presente investigación la proporción de clorofila *a* en todas las mediciones fue mayor sobre el contenido de clorofila *b*. Yao *et al.* (2009) obtuvieron incrementos en la concentración de clorofila *b* con la aplicación de 1, 2 y 3 mg kg⁻¹ de Se. Con la adición de 10 µg de Se planta⁻¹ vía radical, un incremento significativo en la concentración de clorofila *b* fue obtenido en plantas de canola (*Brassica napus* L.), lo cual, no representó un aumento estadísticamente significativo en la concentración de clorofila *a* (Hajiboland y Keivanfar, 2012).

Por otro lado, en remolacha azucarera bajo estrés por hierro, la proporción de clorofila *a* y clorofila *b* es la misma. Esto sugiere que la proporción de complejos proteínicos cosechadores de luz clorofila *a/b* dentro de las unidades fotosintéticas permanecen constantes (Miller *et al.*, 2008).

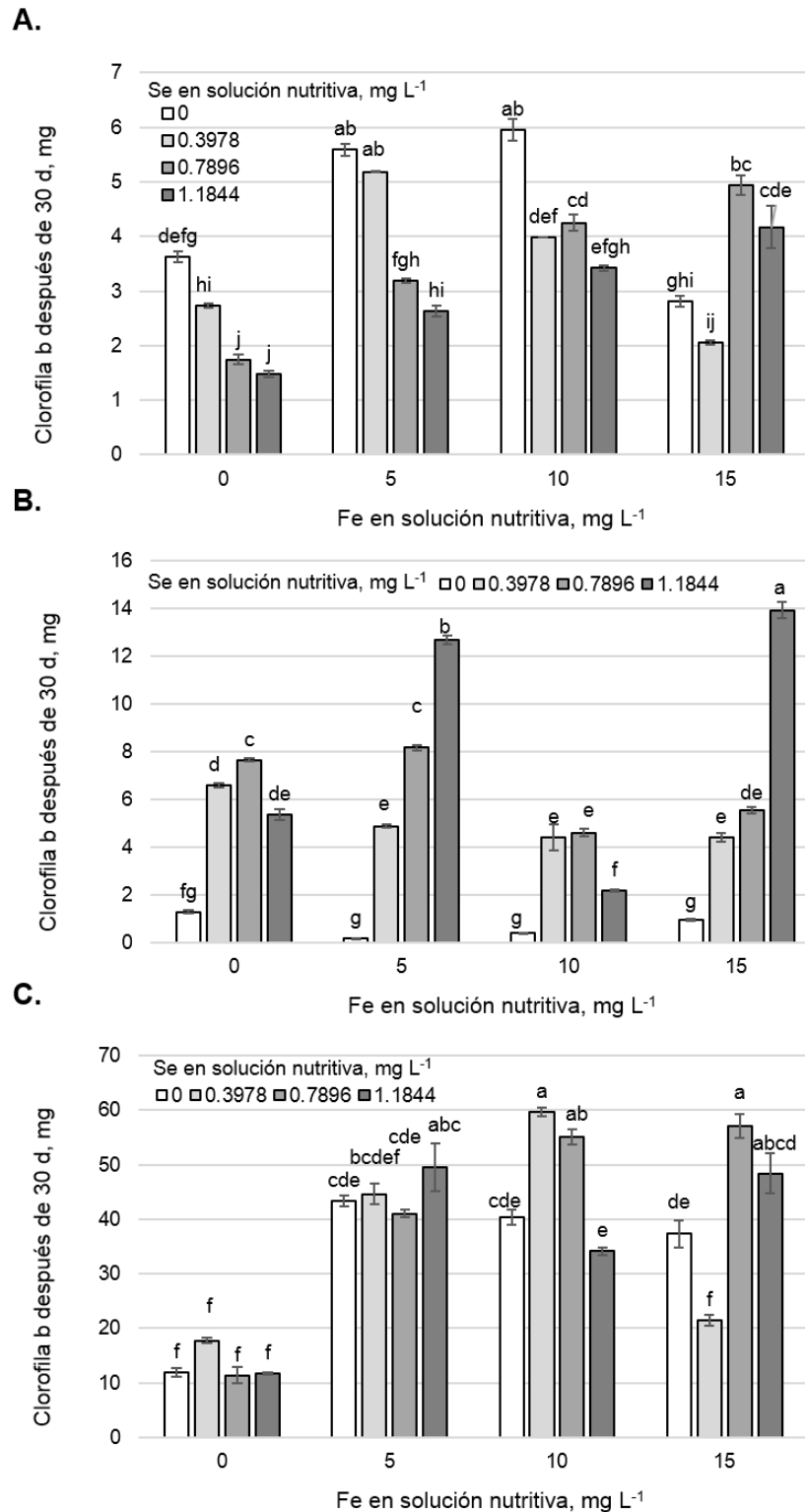


Figura 2.35 Efecto de la interacción de Fe y Se en el contenido de clorofila *b* en vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de 30 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

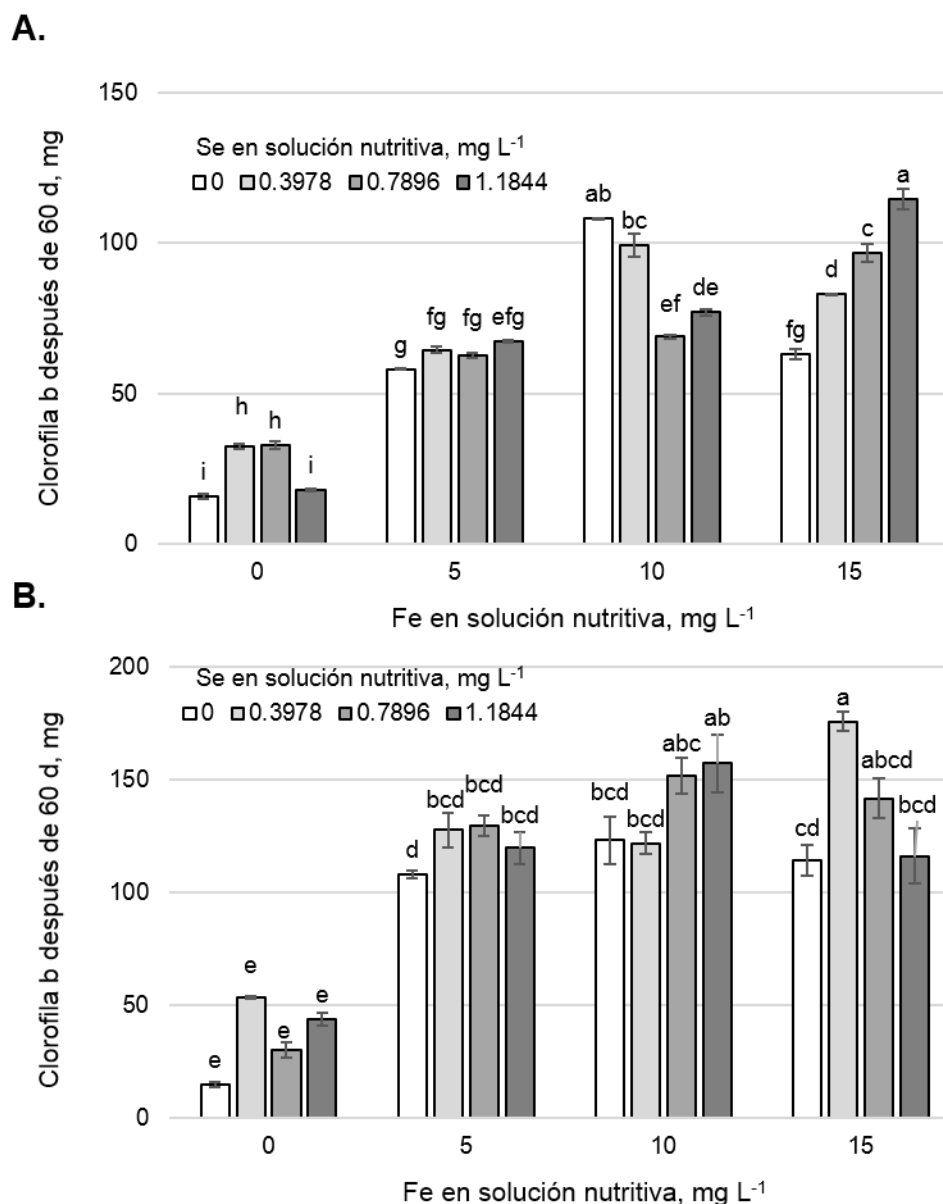


Figura 2.36 Efecto de la interacción de Fe y Se en el contenido de clorofila *b* en vástagos de acelga (A) y col (B) después de 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

2.3.9 Contenido de clorofila total en vástago

A excepción del efecto no significativo a los 60 ddt en plantas de col, en el análisis estadístico se obtuvo un efecto estadístico significativo por efecto del factor Fe, Se y la interacción Fe x Se sobre la acumulación de clorofila total en los cultivos de acelga, espinaca y col (**Cuadro 2.11**).

Cuadro 2.11 Significancia estadística de factores de estudio y su interacción en el contenido de clorofila total en vástagos de acelga, espinaca y col, después de 30 y 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva.

Fuente de Variación	Acelga		Espinaca		Col	
	Días de tratamiento					
	30	60	30	30	60	
Fe	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *
Se	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	0.0001	0.2067 ns	
Fe x Se	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *
CV	7.28	6.53	7.38	10.49	9.18	

* Significativo (Tukey, $P \leq 0.05$); ns no significativo

Efecto principal de Fe en el contenido de clorofila total. Para acelga, la aplicación de Fe a los 30 ddt provocó un mayor contenido de clorofila total por la adición de 5 y 10 mg L⁻¹ siendo estadísticamente mayor a 10 mg L⁻¹. A los 60 ddt en este mismo cultivo conforme aumentó la dosis de Fe aplicada el contenido de clorofila total en el tejido vegetal incrementó (**Cuadro 2.12**).

En espinaca, la adición de 5 y 15 mg L⁻¹ de Fe aumentaron el contenido de clorofila total, donde a 15 mg L⁻¹ de Fe fue mayor, aunque a dosis de 10 mg L⁻¹ de Fe aplicado hubo una marcada disminución en los valores de esta variable (**Cuadro 2.12**).

En la primera medición realizada en col se registró un mayor contenido de clorofila total con aplicaciones de 5 y 10 mg L⁻¹ de Fe y disminuyó ligeramente a dosis de 15 mg L⁻¹. Para la segunda medición en col a los 60 ddt, el contenido de clorofila total incrementó a los 10 y 15 mg L⁻¹ de Fe, pero fue más alto a los 10 mg L⁻¹ de Fe (**Cuadro 2.12**).

El aumento en el contenido de clorofila total debido al incremento en la concentración de hierro, se debe a que varios pasos en el metabolismo de los pigmentos fotosintéticos y ultraestructura del cloroplasto son dependientes de hierro. De hecho, el síntoma característico de la deficiencia de hierro vegetal es la clorosis, un amarillamiento intervenal de las hojas causada por la disminución en el contenido de clorofila. Por otra parte, la composición de proteoma del cloroplasto se modifica en respuesta a la deficiencia de hierro debido a que la cantidad de proteínas a partir de complejos de transferencia de electrones disminuyen (Francois *et al.*, 2007).

No obstante, Cataldo *et al.* (1988) mencionan que el Fe puede encontrarse presente en forma no reactiva (Fe³⁺), por lo cual no es fácilmente usado en reacciones de fotosíntesis y de formación pigmentos fotosintéticos.

Cuadro 2.12 Efecto principal de Fe en la clorofila total (mg) en vástagos de acelga, espinaca y col, después de 30 y 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva.

Fe, mg L ⁻¹	Acelga		Espinaca		Col	
	Días de tratamiento					
	30	60	30	30	60	
0	23.47±4.40 d	338.13±58.82 d	30.65±7.34 c	75.88±9.2 c	167.2±40.3 d	
5	39.21±7.24b	598.07±31.54 c	41.35±15.16 b	274.98±20.9 a	613.91±20.4 d	
10	41.93±5.95a	768.61±63.31 b	15.56±4.65 d	282.46±33.1 a	804.7±91.7 a	
15	28.19±2.92 c	851.00±82.53 a	44.42±17.72a	246.30±29.7 b	736.37±71.4 b	

Medias ± DE con letras distintas en cada columna, son estadísticamente diferentes (Tukey, $P \leq 0.05$).

Efecto principal de Se en el contenido de clorofila total en vástago. Un menor contenido de clorofila total se obtuvo a los 30 ddt a medida que incrementó la aplicación de Se en el cultivo de acelga, pero a los 60 ddt la adición de Se en cualquiera de los niveles aplicados generó un aumento en el contenido de clorofila total. Además un incremento gradual en el contenido de clorofila total fue registrado por efecto de la aplicación creciente de Se vía radical en el cultivo de espinaca a los 30 ddt. También a los 30 ddt en el cultivo de col, el contenido de clorofila total aumentó pero solo a dosis de 0.7896 mg L⁻¹ de Se, pero a los 60 ddt no se observó efecto estadístico significativo por efecto de la aplicación radical de Se (**Cuadro 2.13**).

De la misma manera, en plantas de lechuga, que fueron cosechadas después de siete y catorce semanas, [Xue et al. \(2001\)](#) revelaron que dosis bajas de Se (0.1 mg kg⁻¹ de suelo) estimularon el crecimiento en plantas senescentes; sin embargo, promovieron la disminución en la concentración de clorofila total ([Xue et al., 2001](#)). Por su parte, con aplicaciones de 0.1, 1.0, 10 y 30 mg de Se kg⁻¹ de suelo, [Hartikainen et al. \(2000\)](#) mencionan haber obtenido una mayor concentración de clorofila total en plantas de pasto (*Lolium perenne*) conforme aumentó el nivel de Se aplicado.

Cuadro 2.13 Efecto principal de Se en la clorofila total (mg) en vástagos de acelga, espinaca y col, después de 30 y 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva.

Se, mg L ⁻¹	Acelga		Espinaca		Col	
	Días de tratamiento					
	30	60	30	30	60	
0	42.83±8.45a	584.34±125.7 b	4.92±1.74 d	196.14±40.0 b	592.8±158.6 a	
0.3978	36.50±5.34b	681.40±66.5 a	30.41±3.24 d	218.61±46.7 b	598.7±124.0 a	
0.7896	26.39±2.58 c	651.61±120.1 a	40.69±5.27b	246.28±59.8 a	575.5±139.4 a	
1.1844	27.08±4.95 c	638.46± 145.6a	55.94±18.4 a	218.58± 50.6b	555.3±104.6 a	

Medias ± DE con letras distintas en cada columna, son estadísticamente diferentes (Tukey, $P \leq 0.05$).

Efecto de la interacción Fe x Se en el contenido de clorofilas totales en vástago.

Se obtuvo un aumento en la acumulación de clorofila total conforme aumentó la dosis de Fe aplicada hasta los 10 mg L⁻¹ de Fe en plantas de acelga a los 30 ddt. La adición de Se promovió una disminución en el contenido de clorofila total y fue más bajo a 0.7896 y 1.1844 mg L⁻¹ de Se con 5 y 10 mg L⁻¹ de Fe, aunque sin la adición de Fe y con dosis de 15 mg L⁻¹, las aplicaciones de 0.7896 y de 1.1844 mg L⁻¹ de Se incrementaron la acumulación de clorofila total en el cultivo de acelga respectivamente a los 30 ddt. Por otro lado, en acelga, a los 60 ddt sin la adición de Fe y con 15 mg L⁻¹, dosis de 0.3978 y, de 0.7896 y 1.1844 mg L⁻¹ de Se respectivamente, generaron un incremento significativo en la acumulación de clorofila total. Además, a dosis de 5 mg L⁻¹ de Fe con cualquiera de las aplicaciones de Se no se obtuvo un efecto estadístico significativo y, con la adición de 10 mg L⁻¹ de Fe la aplicación de Se ocasionó una disminución para esta variable que fue mayor a 0.7896 mg L⁻¹ de Se (**Cuadro 2.14**).

En espinaca la aplicación de Se en cada nivel de Fe, incrementó el contenido de clorofila total, obteniéndose valores crecientes por efecto del aumento en la dosis de Se combinado con dosis de 5 y 15 mg L⁻¹ de Fe. Con aplicaciones de 0 y 10 mg L⁻¹ de Fe, se obtuvo un mayor acumulación de clorofila total con 0.3978 mg L⁻¹ de Se, el mayor incremento con dosis de 0.7896 mg L⁻¹ y una disminución a dosis de 1.1844 mg L⁻¹ de Se (**Cuadro 2.14**).

La aplicación de Se en col a dosis de 1.1844, de 0.3978 y 0.7896, y de 0.7896 y 1.1844 mg L⁻¹ de Se con 5, 10 y 15 mg L⁻¹ de Fe, respectivamente aumentaron significativamente el contenido de clorofila total a los 30 ddt. En la segunda determinación (60 ddt) realizada en el cultivo de col, se observó sin la adición de Fe un incremento en la acumulación de clorofila total a dosis de 0.3978 y 1.1844 mg L⁻¹ de Se; se observó además que con 5 mg L⁻¹ de Fe con cualquiera de Se no hubo efecto significativo y se obtuvo también una disminución en la acumulación de clorofila total por efecto de la aplicación de Se combinado con dosis de 10 mg L⁻¹ de Fe y un incremento en los valores de esta variable solo a dosis de 0.3978 mg L⁻¹ de Se con 15 mg L⁻¹ de Fe (**Cuadro 2.14**).

En algunos trabajos con Se, se ha observado un incremento en el contenido de clorofila, lo cual podría ser atribuido al eficiente control de ROS por SOD y GSH-Px

(Djanaguiraman *et al.*, 2010), aunque se ha reportado una inhibición de la biosíntesis de clorofila debido al efecto sobre la enzima porphobilinogen sintasa a dosis de 12.5 a 62.5 μM de Se (Padmaja *et al.*, 1989), lo que revela la importancia de la actividad de esta enzima en la regulación de la síntesis de clorofila. La promoción del crecimiento por efecto del Se podría en parte ser atribuible a una mayor antioxidación que contrarresta el estrés oxidativo (Hartikainen *et al.*, 2000).

La sobre acumulación de hierro dentro de las células vegetales puede conducir a estrés oxidativo (Walker y Connolly, 2008), teniendo como consecuencia una disminución la concentración de clorofila, disminución del crecimiento y una regulación en los sistemas de absorción de este elemento.

Cuadro 2.14 Efectos principales de Fe y Se en la clorofila total en vástagos de acelga, espinaca y col, después de 30 y 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva.

Fe, mg L ⁻¹	Se, mg L ⁻¹	Acelga		Espinaca		Col	
		Días de tratamiento					
		30	60	30	30	60	
Clorofila total (mg)							
0	0	27.0±0.31ef	262.0±11.6hi	8.56±1.24gh	67.6±3.66g	62.6±1.8g	
	0.3978	34.6±1.92 cd	494.7± 10.0fg	36.57±0.63d	100.1±5.45g	248.2±4.7f	
	0.7896	19.6±0.08gh	388.2±11.5gh	46.37±1.91c	55.6±2.92g	126.3±4.4fg	
	1.1844	12.7±1.49 h	207.7±2.9 i	31.10±1.22de	80.2±1.72g	231.8 ±11.1f	
5	0	56.6±1.08 ab	535.0±33.9ef	0.84±0.08i	248.6±4.6cde	581.8±7.9e	
	0.3978	49.7±0.69 b	648.0±9.2de	31.90±1.05de	263.9±4.9cde	587.6±20.4e	
	0.7896	24.7 fg±0.77	601.8±41.5ef	52.44±0.38c	271.0±14.7bcd	641.3±14.3cde	
	1.1844	25.8±0.97efg	607.4±7.1ef	80.20±1.58b	316.58±34.2abc	645.0±17.9cde	
10	0	61.1±1.56 a	931.9±13.5ab	2.65±0.14hi	253.4±1.75cde	1054.3±87.7a	
	0.3978	39.9±0.39c	755.5±23.6cd	20.48±0.67f	334.9±3.65ab	617.1±8.5de	
	0.7896	32.4±0.39 de	609.1±35.9ef	26.19±1.25ef	347.4±4.81a	781.8±25.2bc	
	1.1844	34.4±0.77cd	778.0±5.8c	12.90±0.60g	194.1±11.2ef	765.8±22.4cd	
15	0	26.7±1.60efg	608.5±9.4ef	7.62±0.47ghi	215.0±13.89def	672.6±8.6cde	
	0.3978	21.8±0.10 fg	827.4±6.9c	32.72±1.25de	175.5±10.29f	941.8±0.1ab	
	0.7896	28.8±1.38def	1007.4±32.1a	37.77±1.12d	311.2±7.15abc	752.6±32.4cd	
	1.1844	35.4±2.52 cd	960.7±18.5a	99.55±2.74a	283.6±11.4abcd	578.6±12.5e	

Medias ± DE con letras distintas en cada columna, son estadísticamente diferentes (Tukey, $P \leq 0.05$).

2.3.10 Contenido de aminoácidos en vástago.

El contenido de aminoácidos fue estadísticamente significativo por efecto del factor Fe, Se y la interacción Fe x Se en los tres cultivos evaluados y en las diferentes mediciones realizadas en cada cultivo (**Cuadro 2.15**).

Cuadro 2.15 Significancia estadística de factores de estudio y su interacción en la variable contenido de aminoácidos libres en vástagos de acelga, espinaca y col, después de 30 y 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva.

Fuente de Variación	Acelga		Espinaca		Col
	Días de tratamiento				
	30	60	30	30	60
Fe	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *
Se	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *
Fe x Se	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *
CV	6.83	44.07	0.99	14.96	7.30

* Significativo (Tukey, $P \leq 0.05$)

Efecto principal del Fe en el contenido de aminoácidos en vástago. La adición de Fe a los 30 ddt en el cultivo de acelga, promovió una disminución en el contenido de aminoácidos. En la segunda determinación, solo hubo un aumento significativo de aminoácidos con aplicaciones de 10 mg L⁻¹ (**Figura 2.37A**).

Por otro lado, en espinaca a los 30 ddt se incrementó el contenido de aminoácidos con 5 y 15 mg L⁻¹ de Fe, con un incremento significativamente mayor con dosis de 15 mg L⁻¹ de Fe (**Figura 2.37B**). A los 30 ddt en plantas de col, se registró una mayor acumulación de aminoácidos por efecto de la aplicación de Fe en cualquiera de las dosis probadas pero significativamente mayor a 10 mg L⁻¹ de Fe. El contenido de aminoácidos tuvo también un incremento en sus valores a dosis de 5 y 15 mg L⁻¹ de Fe a los 60 ddt en plantas de col (**Figura 2.37C**). En plantas de tomate (*Solanum lycopersicum*), [Cerdán et al. \(2009\)](#) encontraron un efecto positivo de la adición de Fe sobre la concentración de aminoácidos.

El Fe favorece el contenido de aminoácidos al promover la actividad de nicotianamina, un aminoácido proteogénico que quelata Fe²⁺ y Fe³⁺ además de otros metales divalentes ([Cerdán et al., 2009](#)). Además de se han observado efectos sobre el

aminoácido histidina y metionina involucrados en el transporte y solubilidad del Fe (Schuler y Bauer, 2012).

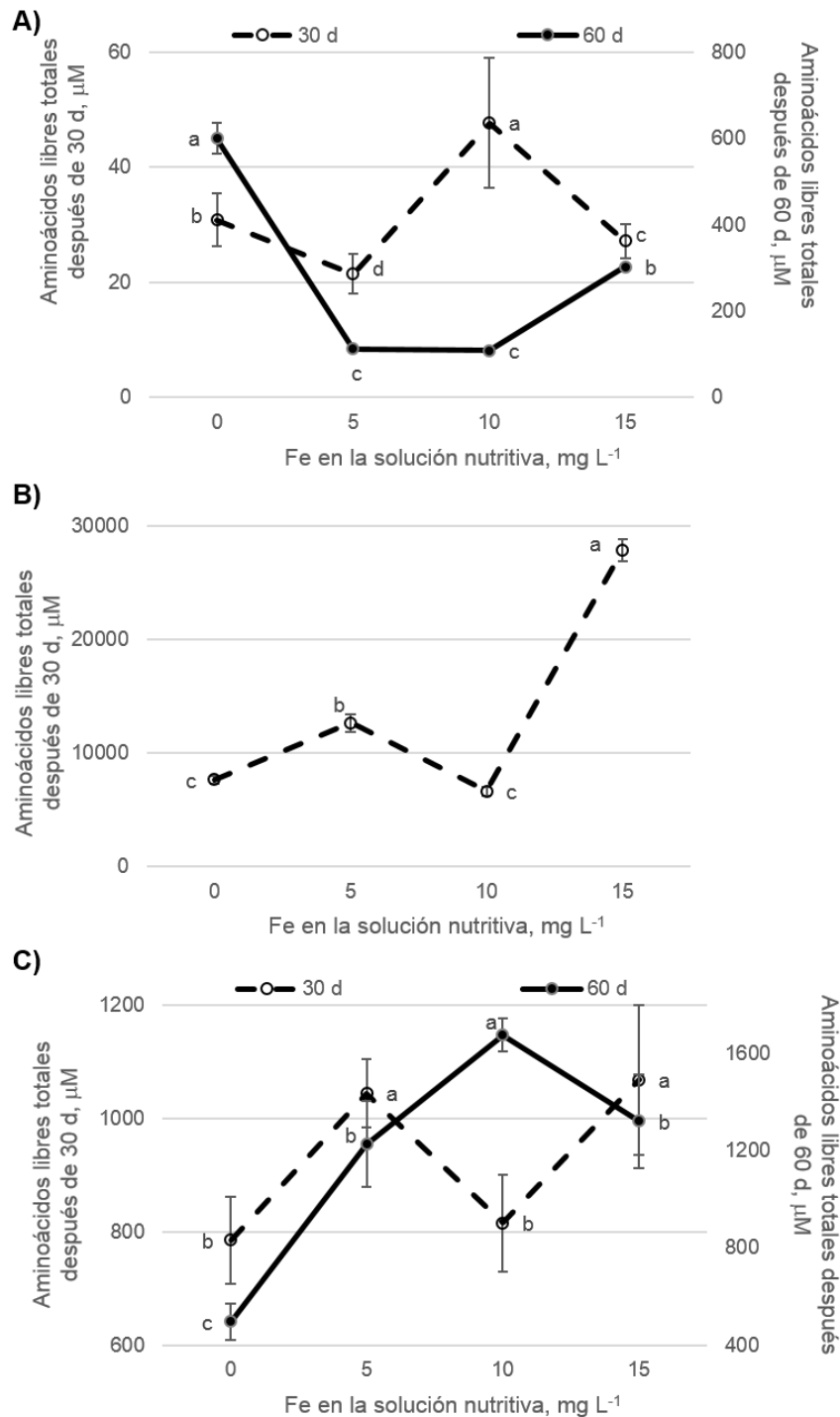


Figura 2.37 Efecto principal del Fe en el contenido de aminoácidos libres en vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de 30 y 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura y para cada variable indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

Efecto principal del Se en el contenido de aminoácidos en vástago. A los 30 ddt en acelga se obtuvo una disminución en el contenido de aminoácidos por efecto de la adición de Se en cualquiera de las dosis de Se aplicadas. Por otro lado, hubo un aumento significativo en el contenido de aminoácidos por efecto del factor Se cuando éste fue aplicado a niveles de 0.3978 y 1.1844 mg L⁻¹ a los 60 ddt (**Figura 2.38A**).

En espinaca, cualquiera de las dosis de Se aumentó la cantidad de aminoácidos a los 30 ddt y fue mayor con aplicaciones de 0.7896 y 1.1844 mg L⁻¹ (**Figura 2.38B**).

Contrario a lo anterior, en el cultivo de col a los 30 ddt se obtuvo un aumento en el contenido de aminoácidos por la aplicación de Se a dosis de 0.7896 y 1.1844 mg L⁻¹; sin embargo, a los 60 ddt hubo menor acumulación de aminoácidos por la adición de Se y fue estadísticamente menor con la adición de 0.7896 mg L⁻¹ de Se (**Figura 2.38C**).

Durante la fijación de Se, la reducción de selenito resulta en la producción de selenoaminoácidos, tal como selenocisteína y selenometionina. Sin embargo, la incorporación de selenoaminoácidos en proteínas puede contribuir a la toxicidad de Se en las plantas ([Ellis y Salt, 2003](#)).

Utilizando suelos contaminados con Se, donde se cultivaron pastos de especies de leguminosas (*Melilotus indica* L.), se obtuvo que la acumulación de grupos específicos de aminoácidos estuvieron directamente relacionados con la tolerancia a Se de estas especies vegetales. Cinco selenoaminoácidos incluyendo selenocisteína, selenometionina, selenocistina y c-glutamil-Se-metilselenocisteína fueron identificados en estas plantas ([Xun y Lin, 1997](#)).

La asimilación del Se en plantas está dado por la formación de aminoácidos como selenometionina y seleniocisteína ([Seppänen et al., 2010](#); [Ellis y Salt, 2003](#)). En semillas de *Brassica napus* y *Brassica rapa*, más de un 85% del total de Se asimilado fue encontrado como selenometionina.

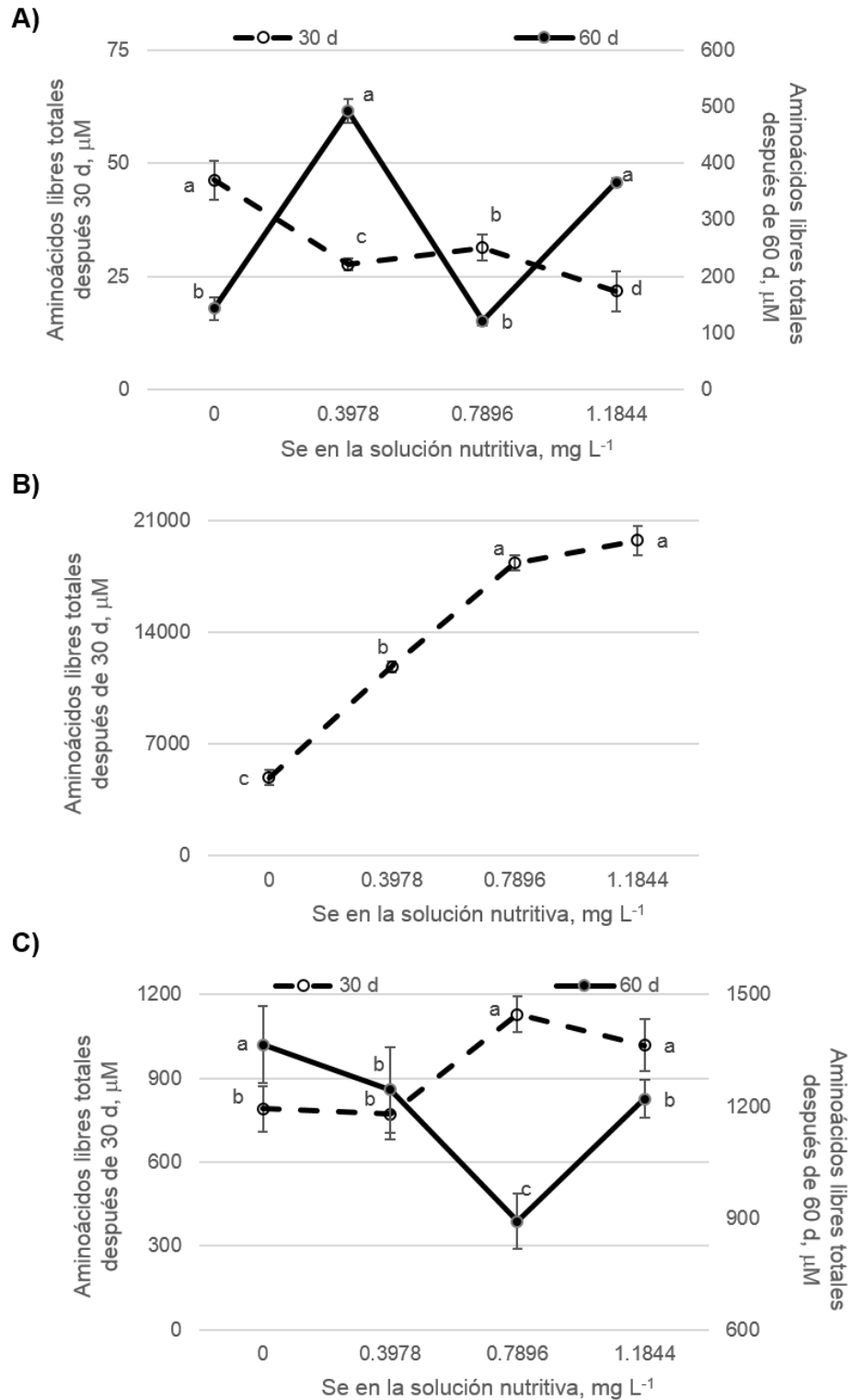


Figura 2.38 Efecto principal del Se en el contenido de aminoácidos libres en vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de 30 y 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura y para cada variable indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

Efecto de la interacción Fe x Se en el contenido de aminoácidos en vástago. En acelga por efecto de la interacción Fe x Se, se observó a los 30 ddt el mayor contenido de aminoácidos con dosis de 10 mg L⁻¹ de Fe y hubo una disminución de éstos por la adición de Se en cada nivel de Fe, además de un aumento en esta variable por la adición de 0.7896 mg L⁻¹ de Se con 15 mg L⁻¹ de Fe (**Figura 2.39A**). Sin embargo, a los 60 ddt se registró solo un incremento significativo en el contenido de aminoácidos a dosis de 0.3978 mg L⁻¹ de Se sin aplicaciones de Fe y un aumento por la adición de 1.1844 mg L⁻¹ de Se con 5 y 15 mg L⁻¹ de Fe (**Figura 2.40A**).

El contenido de aminoácidos en espinaca fue significativamente mayor con la adición de 15 mg L⁻¹ de Fe e incrementó significativamente por la adición de Se en cada nivel de Fe, aunque se observó que con aplicaciones de Se a dosis de 0.7896 mg L⁻¹ se obtuvo un mayor contenido de aminoácidos combinado con dosis de Fe de 0, 5 y 10 mg L⁻¹; asimismo, se obtuvo el mayor contenido de aminoácidos con aplicaciones de 15 mg L⁻¹ de Fe cuando fueron combinadas con la adición de Se a dosis de 0.3978 y 1.1844 mg L⁻¹, siendo estadísticamente mayor con esta última (**Figura 2.39B**).

Para el caso de col, a los 30 ddt hubo un mayor contenido de aminoácidos a dosis de 5 mg L⁻¹ de Fe con 0.3978 y 1.1844 mg L⁻¹ de Se. Además, se obtuvo una mayor acumulación de aminoácidos con aplicaciones de 10 mg L⁻¹ de Fe con 0.7896 mg L⁻¹ de Se y a niveles de 15 mg L⁻¹ con 0.7896 y 1.1844 mg L⁻¹ de Se (**Figura 2.39C**). En la segunda medición realizada a los 60 ddt se observó que hubo un aumento en el contenido de aminoácidos sin la adición de Fe con dosis de 0.7896 y 1.1844 mg L⁻¹ de Se, hubo una disminución en los valores de esta variable a 5 mg L⁻¹ de Fe con 0.7896 mg L⁻¹ de Se, una disminución en aminoácidos a 10 mg L⁻¹ de Fe con cualquiera de las dosis de Se aplicadas y un incremento en el contenido de aminoácidos a dosis de 15 mg L⁻¹ de Fe con cualquiera de las dosis de Se aplicadas aunque mayor con 0.3978 mg L⁻¹ de Se (**Figura 2.40B**).

El Se aumenta la concentración de aminoácidos. Si las plantas absorben selenio como selenato, estas lo reducen a selenito, pero si el selenio es absorbido como selenito no se da este proceso de reducción. Subsecuentemente se forma seleniuro vía un paso no enzimático en presencia de glutatión. El seleniuro es asimilado en selenocisteína y mayormente en selenometionina. Esos selenoaminoácidos pueden ser incorporados en

proteínas aunque no específicamente ([Broadley et al., 2006](#)). Los selenoaminoácidos pueden también ser metilados, y ser convertidos a metil selenol y finalmente a dimetilselenuro y volatilizado. En acumuladores de Se predominantemente ocurren como formas de aminoácido no proteicos, Se-methylSec, y en una forma conjugada como g-glutamilmetilSec, sino también como selenocistationina, selenohomocisteína, g-glutamil-selenocystathiona, selenol metilo y selenato ([Broadley et al., 2006](#)).

Según [Droux \(2004\)](#), el Se puede inducir también síntesis y acumulación de cisteína que es utilizada para la formación de compuestos organosulfurados no proteicos, entre los que se encuentran vitaminas, cofactores y biomoléculas antioxidantes importantes como el glutatión.

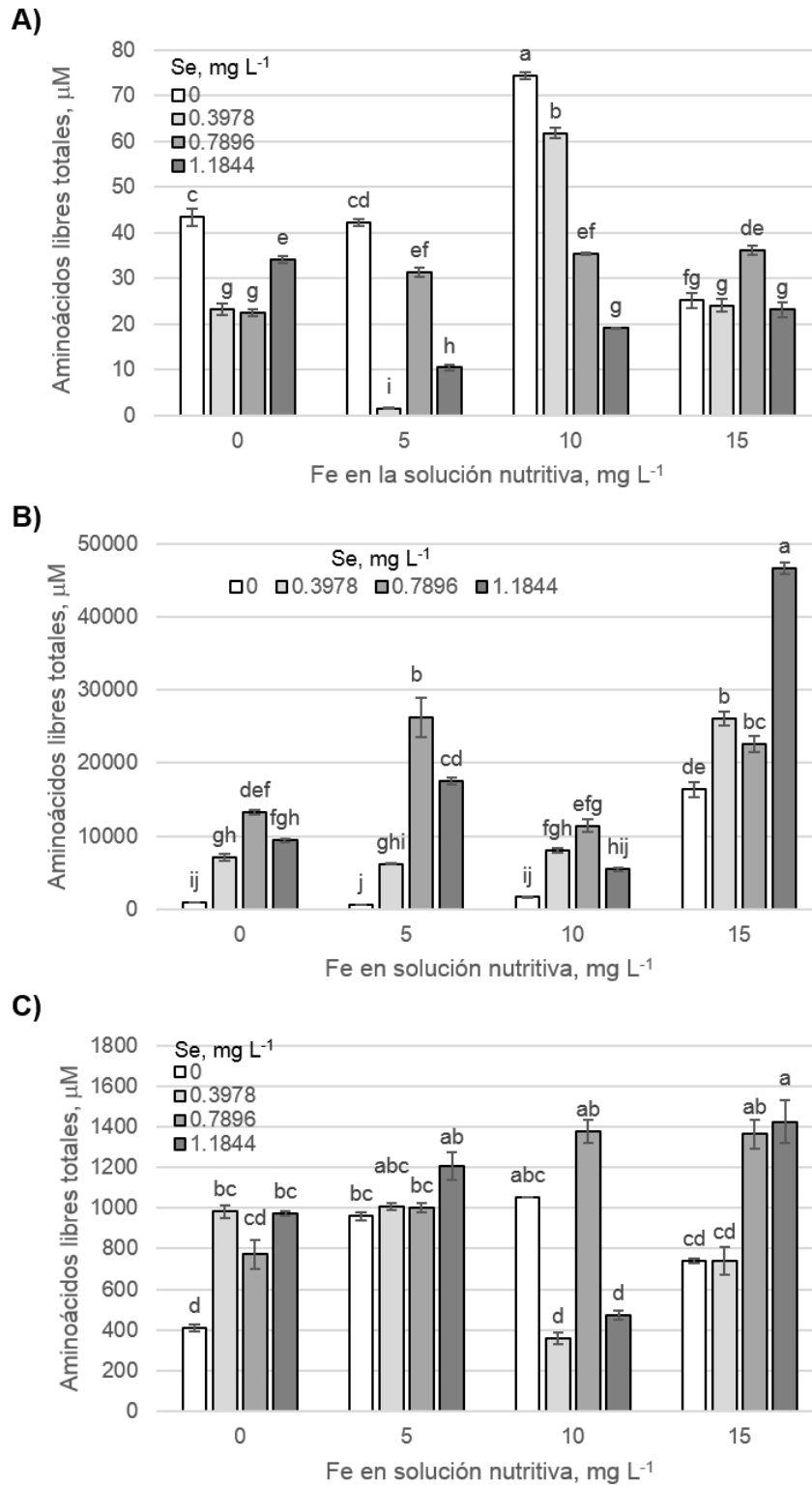


Figura 2.39 Efecto de la interacción de Fe y Se en el contenido de aminoácidos libres totales en vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de 30 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

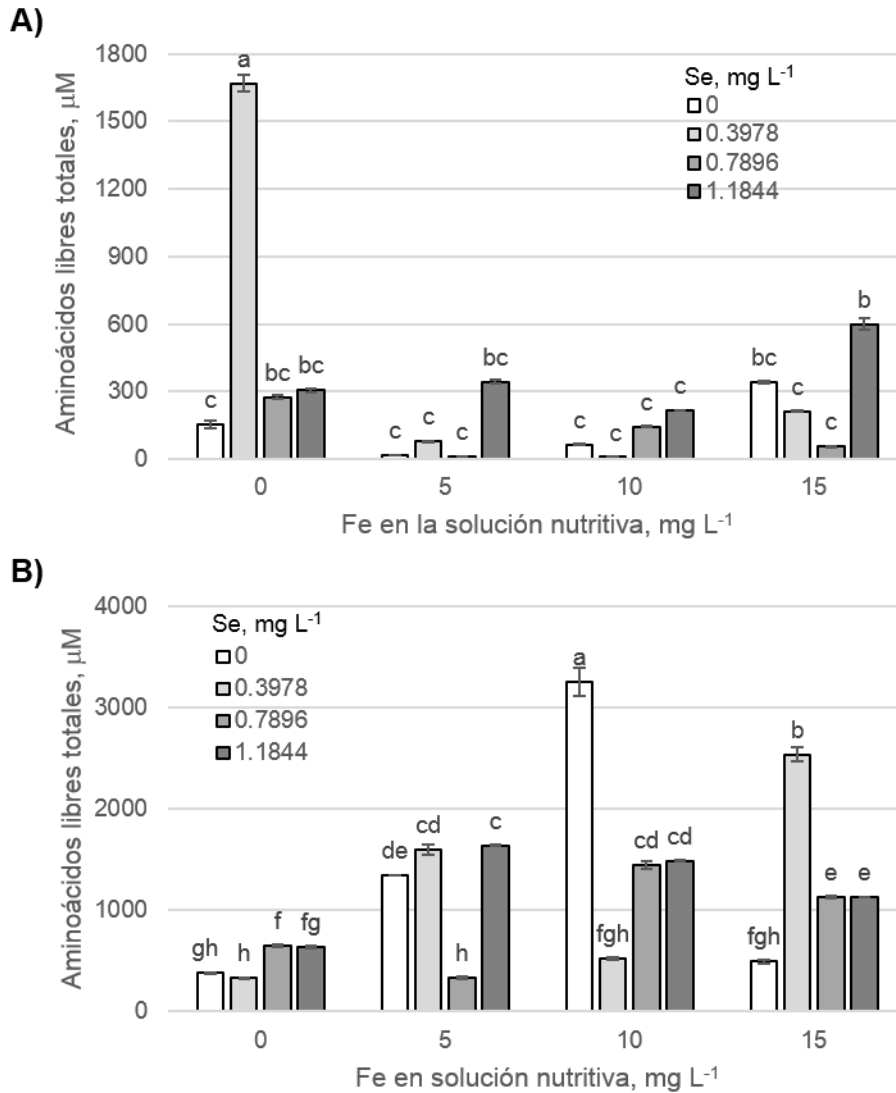


Figura 2.40 Efecto de la interacción de Fe y Se en el contenido de aminoácidos libres totales en vástagos de acelga (A) y col (B) después de 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

2.3.11. Contenido de proteínas solubles totales en vástago

El análisis estadístico reveló diferencias estadísticas significativas por efecto de los factores en estudio (Fe, Se y la interacción Fe x Se) en el contenido de proteínas en los cultivos de acelga, espinaca y col evaluados a los 30 y 60 ddt según correspondió (**Cuadro 2.16**).

Cuadro 2.16 Significancia estadística de factores de estudio y su interacción en la variable contenido de proteínas solubles totales en vástagos de acelga, espinaca y col, después de 30 y 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva.

Fuente de Variación	Acelga		Espinaca		Col	
	Días de tratamiento					
	30	60	30	30	60	
Fe	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *
Se	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *
Fe x Se	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *
CV	11.53	11.28	12.83	10.80	22.50	

* Significativo (Tukey, $P \leq 0.05$).

Efecto principal del Fe en el contenido de proteína en vástago. En acelga se obtuvo a los 30 ddt un mayor contenido de proteínas de manera creciente con aplicaciones de 5 y 10 mg L⁻¹ de Fe, sin embargo hubo una marcada disminución por efecto de la adición de 15 mg L⁻¹ de Fe, pero a los 60 ddt, se observó un incremento significativo por efecto de la aplicación de Fe en el contenido de proteínas a los 10 y 15 mg L⁻¹, siendo estadísticamente superior en la última de estas dosis (**Figura 2.41A**).

En espinaca, a los 30 ddt fue registrado un incremento significativo en el contenido de proteínas a medida que aumentó la dosis de Fe aplicada (**Figura 2.41B**). El contenido de proteínas a los 30 ddt aumentó de forma significativa a medida que incrementó la dosis de Fe aplicada en plantas de col. En este mismo cultivo, a los 60 ddt se obtuvo una mayor acumulación de proteínas por efecto de la aplicación de Fe a dosis de 5, 10 y 15 mg L⁻¹ sin ser estadísticamente diferente entre estas (**Figura 2.41C**). Los resultados anteriores se explican debido a que en prácticamente todos los organismos vivos, el hierro es un cofactor de muchas proteínas que participan en rutas metabólicas cruciales (Curie y Jean, 2003). Tales procesos requieren una compleja maquinaria proteínica localizada en mitocondria y cloroplasto (Jean et al., 2007).

Las proteínas formadas por enlaces Fe-S pueden dividirse en ferredoxinas y rubredoxinas, las cuales contienen exclusivamente centros Fe-S (Jean et al., 2007). Existen otro tipo de proteínas promovidas por la presencia de Fe como las ferritinas que son generalmente consideradas como un tipo de proteínas almacenadoras de este elemento (Jiang, 2010). La ferritina es la principal proteína de almacenamiento de hierro en todos los organismos aeróbicos, los cuales pueden almacenar arriba de 4500 átomos de Fe(III) en forma soluble y biodisponible (Wirth et al., 2009) .

El mantenimiento de la homeostasis de hierro en plantas es determinante en la construcción de grupos prostéticos tal como heme, enlaces Fe-Se y en el ensamble de apoproteínas, las cuales son el principal componente del metabolismo vegetal (Jean *et al.*, 2007). Sin embargo, de acuerdo con Laulhere *et al.* (1995) niveles altos de aplicación de Fe^{2+} pueden ser responsables de la aparición de radicales libres que perjudican la presencia de diversos tipos de biomoléculas como las proteínas.

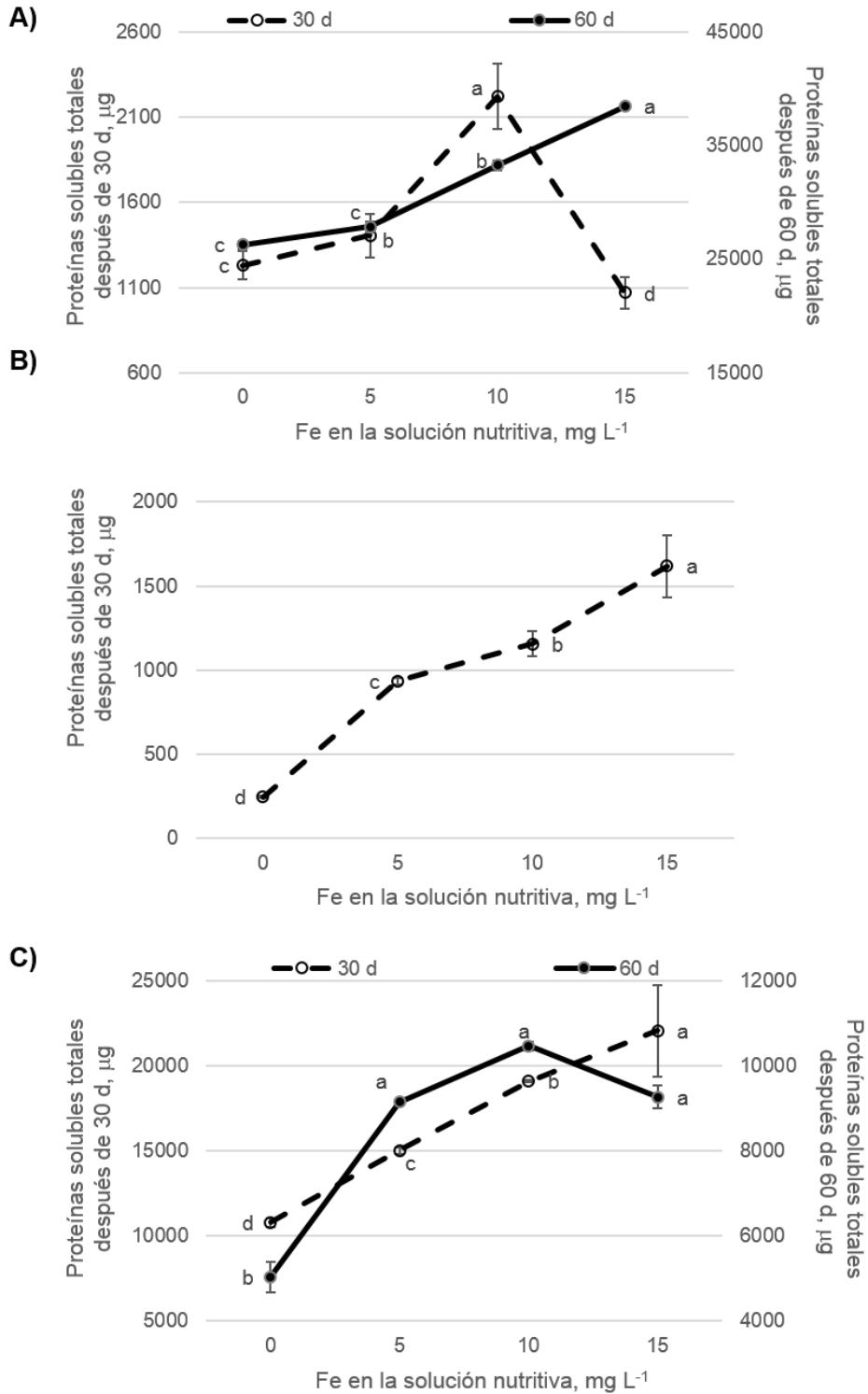


Figura 2.41 Efecto principal del Fe en el contenido de proteínas solubles totales en vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de 30 y 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura y para cada variable indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

Efecto del Se en el contenido de proteínas en vástago. Por efecto de la adición de Se vía radical a los 30 ddt en el cultivo de acelga se registró una disminución en el contenido de proteínas solubles totales con todas las dosis de Se estudiadas en esta investigación. Esta misma tendencia fue observada a los 60 ddt donde se obtuvo un menor contenido de proteínas en cualquiera de las dosis de Se aplicadas y significativamente menor a dosis de 0.3978 mg L⁻¹ (**Figura 2.42A**).

Para el cultivo de espinaca se observó un marcado aumento en el contenido de proteínas con aplicaciones de 1.1844 mg L⁻¹ de Se además de una marcada disminución en proteínas por la adición de 0.7896 mg L⁻¹ de Se a los 30 ddt (**Figura 2.42B**). En col a los 30 ddt hubo un incremento en el contenido de proteínas a dosis de 0.3978 y 0.7896 mg L⁻¹ de Se pero estadísticamente mayor en esta última, sin embargo, a dosis de 1.1844 mg L⁻¹ de Se el contenido de proteínas disminuyó significativamente aún por debajo del testigo. No obstante en col, a los 60 ddt, se registró un aumento en el contenido de proteínas solo con aplicaciones de 1.1844 mg L⁻¹ de Se (**Figura 2.42C**).

El Se es constituyente de enzimas como glutatión peroxidasa (GSH-Px), tioredoxina reductasa (TR), proteínas implicadas en transporte de selenio (selenoproteína) y proteínas con funciones desconocidas que están involucradas en el mantenimiento del potencial redox de la célula (Noctor *et al.*, 2002).

Sepänen *et al.* (2010) concluyeron que la biofortificación agronómica de especies de *Brassica* puede promover una calidad nutritiva rica en la fracción proteica que contiene una significativa cantidad de selenometionina.

Por su parte, Hartikainen y Xue (1999), encontraron que la aplicación de Se a dosis de 0, 0.1 y 1 mg L⁻¹ de Se, no provocó efecto alguno en la concentración de ácidos nucleicos y proteínas solubles sobre plantas de pasto (*Lolium perenne* L.) y lechuga (*Lactuca sativa* L.). Por otra parte, diversos autores coinciden con la presencia del Se en la fracción proteica de tubérculos de papa (*Solanum tuberosum* L.) provocado por la aplicación de Se (Munshi *et al.*, 1990; Turakainen *et al.*, 2006; Cuderman *et al.*, 2008).

Hajiboland y Keivanfar (2012) estudiaron el efecto de la suplementación de 0, 10 y 20 µg de Se planta⁻¹ bajo condiciones de invernadero en plantas de canola (*Brassica napus* L.)

y observaron que en estado vegetativo las plantas tratadas tuvieron un mayor contenido de proteínas en las hojas comparado con el tratamiento control.

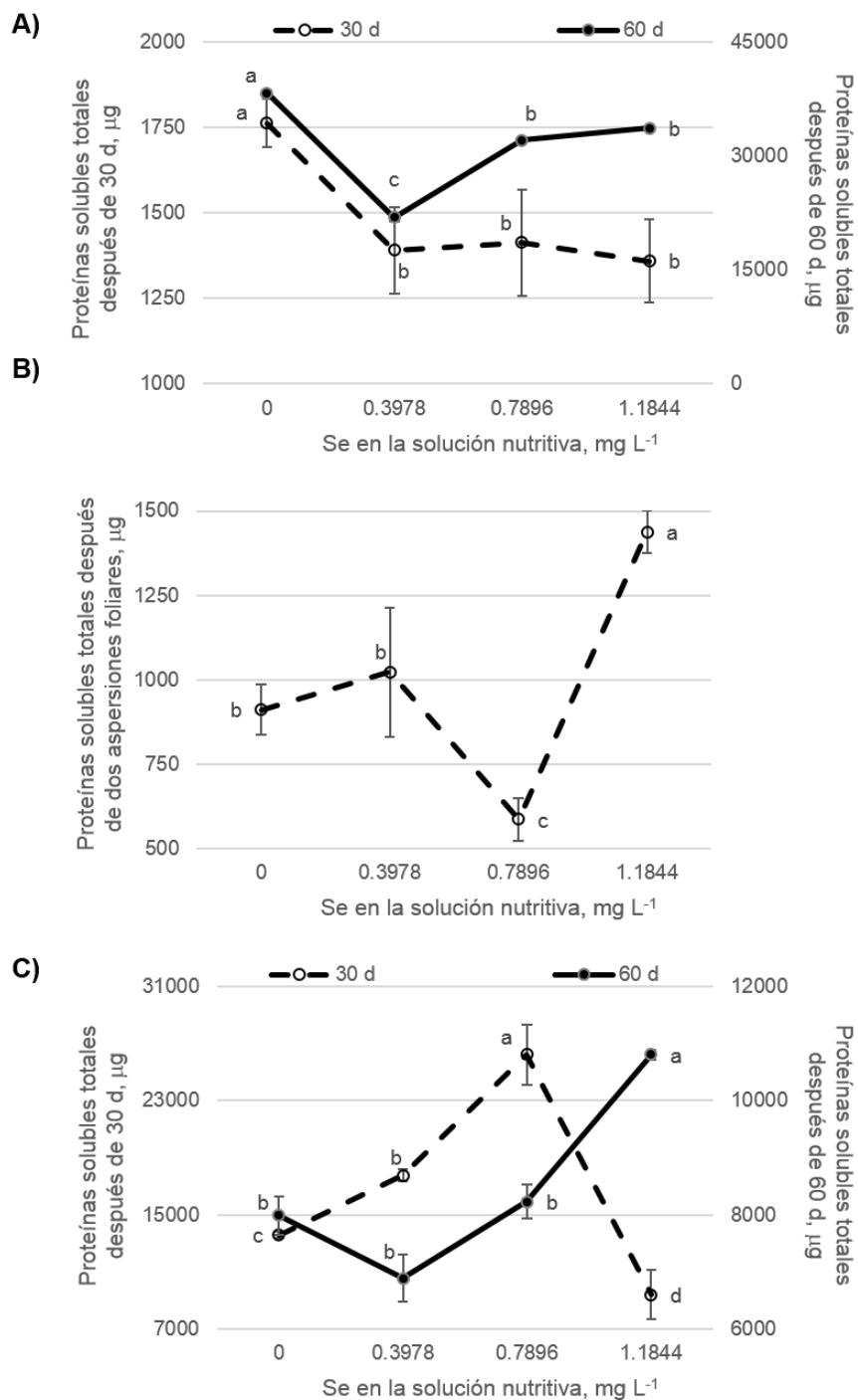


Figura 2.42 Efecto principal del Se en el contenido de proteínas solubles totales en vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de 30 y 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura y para cada variable indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

Efecto de la interacción Fe x Se en el contenido de proteínas en vástago. Un incremento en el contenido de proteínas en plantas de acelga fue obtenido por efecto de la adición de 0.3978 mg L⁻¹ de Se con 10 mg L⁻¹ de Fe y a dosis de 0.7896 y 1.1844 mg L⁻¹ de Se con 15 mg L⁻¹ de Fe a los 30 ddt (**Figura 2.43A**). En esta misma medición sin embargo, un disminución en el contenido de proteínas se obtuvo por efecto de la adición de Se a dosis de 0 y 5 mg L⁻¹ de Fe (**Figura 2.43A**), lo cual difiere de lo obtenido a los 60 ddt donde se obtuvo un aumento en el contenido de proteínas con aplicaciones de 0.7896 y 1.1844 mg L⁻¹ de Se con dosis de 0 y 5 mg L⁻¹ de Fe. Por otra parte, también se registró un incremento en el contenido de proteínas a medida que aumentó la dosis de Fe, sin embargo, hubo una disminución en el contenido de proteínas con aplicaciones de 0.39778 mg L⁻¹ de Se y con cualquiera de las dosis de Se aplicadas a los 10 y 15 mg L⁻¹ de Fe respectivamente (**Figura 2.44A**).

Conforme mayor fue la dosis de Fe y Se que se aplicó mayor fue el contenido de proteínas a los 30 ddt en espinaca, observándose además un aumento en el contenido de proteínas a dosis de 0.3978 mg L⁻¹ de Se con 10 mg L⁻¹ de Fe y a dosis de 0.3978 y 1.1844 mg L⁻¹ de Se con 15 mg L⁻¹ de Fe (**Figura 2.43B**).

La aplicación de Se en cada nivel de Fe aumentó el contenido de proteínas en plantas de col a los 30 ddt obteniéndose un incremento con cualquiera de las dosis de Se con 0 mg L⁻¹ de Fe, a 0.7896 mg L⁻¹ de Se con 10 mg L⁻¹ de Fe, a 0.7896 mg L⁻¹ de Se con 15 mg L⁻¹ de Fe y no hubo un aumento en cualquiera de las dosis de Se a los 5 mg L⁻¹ de Fe (**Figura 2.43C**). Un aumento en el contenido de proteínas a los 60 ddt fue observado con aplicaciones de 0.7896 y 1.1844 mg L⁻¹ de Se a dosis de 0 y 10 mg L⁻¹ de Fe, con aplicaciones de 0.3978 mg L⁻¹ de Se con 5 mg L⁻¹ de Fe y se obtuvo una disminución en el contenido de proteínas a dosis de 0.3978 y 0.7896 mg L⁻¹ de Se cuándo fue aplicado junto con 15 mg L⁻¹ de Fe (**Figura 2.44B**).

El aumento en el contenido de proteínas observado por la aplicación de Fe puede deberse a que existen varias proteínas involucradas en el mecanismo de absorción de Fe que están localizadas en la membrana interna de ambos compartimentos (Vigani *et al.*, 2013) y son promovidas por este elemento.

El hierro es utilizado entonces en diferentes partes de la célula para desarrollar diversas funciones. El aparato fotosintético contiene 21-22 átomos por cadena transportadora de

electrones en varias proteínas heme y Fe-S que contienen Fe (Jean *et al.*, 2007; Jeoung y Lou, 2009). Además, el hierro cumple una importante función en cloroplastos debido a su asociación con metaloproteínas de la cadena transportadora de electrones de tilacoides, a través de dos grupos prostéticos: heme y Fe-S (Jean *et al.*, 2007).

Se ha demostrado que el Se suministrado como selenato es transformado *in planta* en Se orgánico, al ser incorporado en biomoléculas, en cloroplastos, siguiendo la ruta metabólica del azufre (S), donde la cisteína es el producto final en la asimilación del S para la posterior formación de metionina e incorporación a proteínas u otros compuestos organosulfurados (White *et al.*, 2004).

Se ha observado que la aplicación de selenito y selenato producen un aumento importante de las concentraciones, aminoácidos como cisteína y proteínas. La mayor concentración de Se-cisteína en las plantas tratadas con selenio supondría su mayor incorporación a proteínas; sin embargo en forma de selenato, también puede inducir la utilización de Se-cisteína para la formación de compuestos organosulfurados no proteicos como vitaminas, cofactores y biomoléculas antioxidantes como el glutatión (Droux, 2004; Saito, 2004).

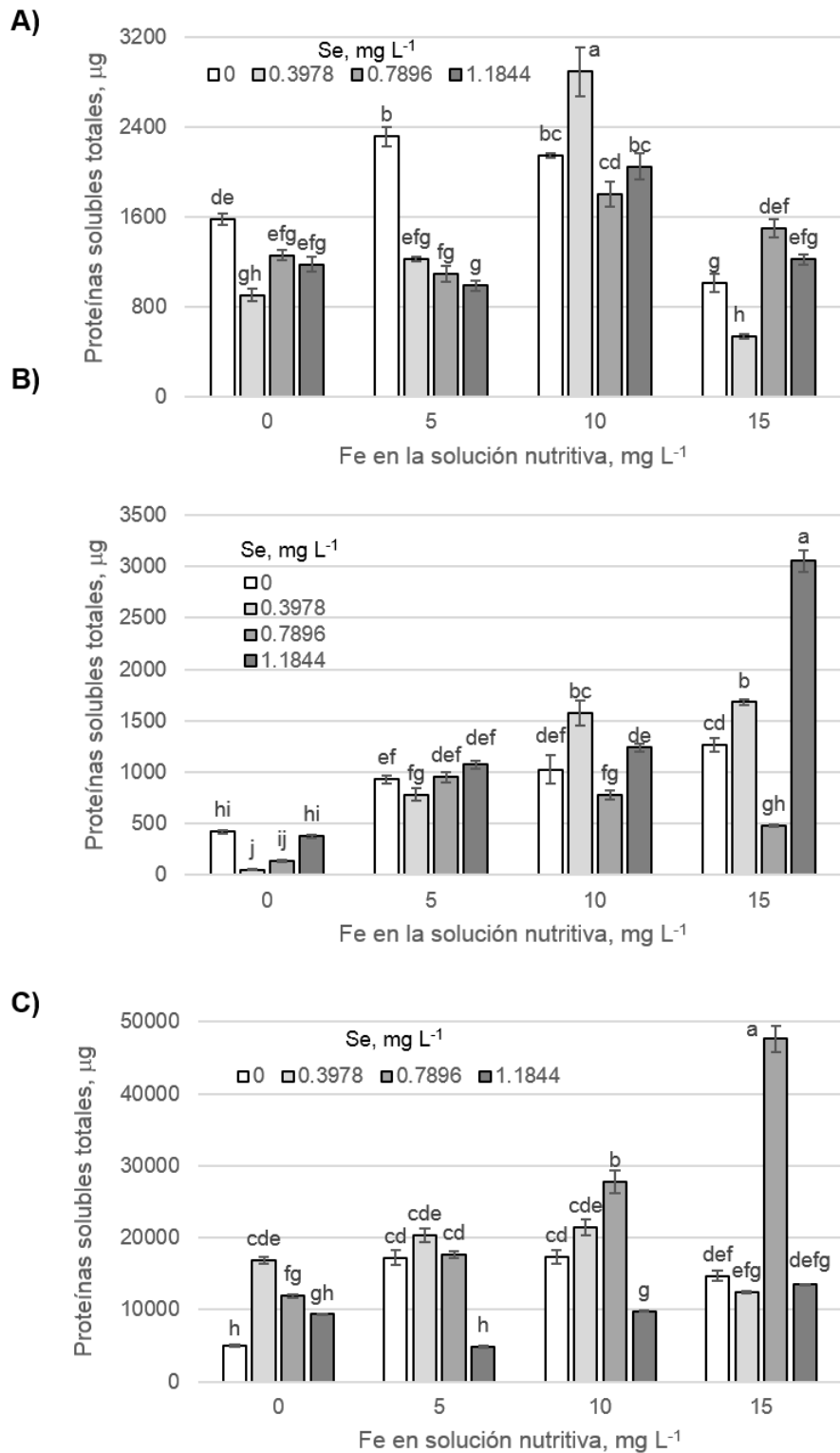


Figura 2.43 Efecto de la interacción de Fe y Se en el contenido de proteínas solubles totales en vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de 30 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

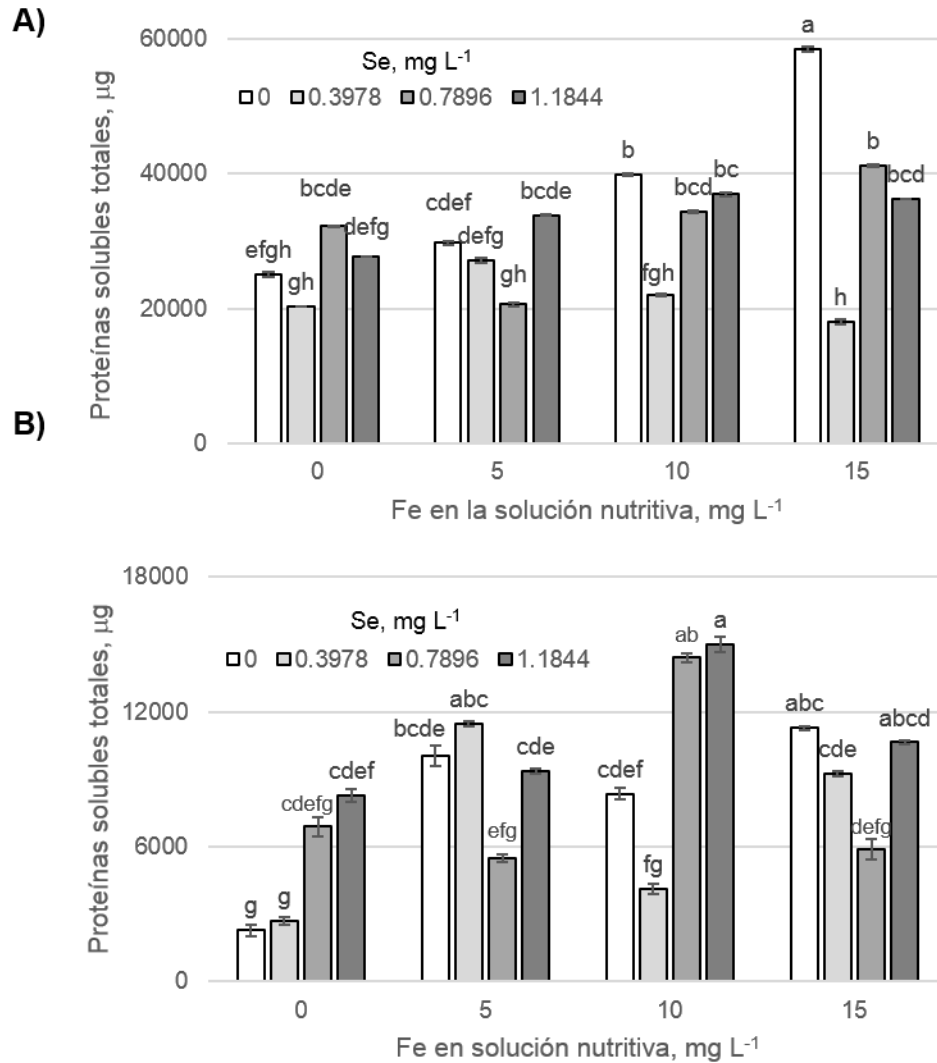


Figura 2.44 Efecto de la interacción de Fe y Se en el contenido de proteínas solubles totales en vástagos de acelga (A) y col (B) después de 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

2.3.12 Contenido de azúcares totales en vástago

Los resultados muestran (**Cuadro 2.17**) efectos significativos en el contenido de azúcares totales por efecto de los factores Fe, Se y la interacción Fe x Se a los 30 ddt en acelga, espinaca y col, y a los 60 ddt en acelga y col.

Cuadro 2.17 Significancia estadística de factores de estudio y su interacción en la variable contenido de azúcares totales en vástagos de acelga, espinaca y col, después de 30 y 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva.

Fuente de Variación	Acelga		Espinaca		Col	
	Días de tratamiento					
	30	60	30	30	60	
Fe	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	0.0003 *	
Se	<.0001 *	<0.001*	<.0001 *	<.0001 *	0.0003 *	
Fe x Se	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	<.0001 *	0.0125 *	
CV	2.88	3.63	2.31	5.89	7.46	

* Significativo (Tukey, $P \leq 0.05$)

Efecto principal del Fe en el contenido de azúcares en vástago. Una disminución en la acumulación de azúcares totales fue observada en plantas de acelga por efecto de la adición de Fe a los 30 ddt, la cual fue menor con la adición de 10 y 15 mg L⁻¹, aunque a los 60 ddt se obtuvo un incremento en la acumulación de azúcares totales con aplicaciones de 5 y 10 mg L⁻¹ de Fe y significativamente mayor a 5 mg L⁻¹ de Fe (**Figura 2.45A**).

Con la adición de 5 y 15 mg L⁻¹ de Fe, se obtuvo un incremento en el contenido de azúcares totales en el tejido foliar de plantas de espinaca y una disminución significativa en el contenido de esta variable por la adición de 10 mg L⁻¹ de Fe (**Figura 2.45B**). Para col, a los 30 ddt se observó un aumento en la acumulación de azúcares con aplicaciones de 5 y 10 mg L⁻¹ de Fe pero estadísticamente mayor con la primera y una disminución en el contenido de azúcares con la adición de 15 mg L⁻¹. A los 60 ddt en este cultivo, los azúcares totales solo se incrementaron con la aplicación de 5 mg L⁻¹ de Fe (**Figura 2.45C**).

Se sabe que el hierro juega un papel muy importante en la fotosíntesis, ya que participa en varios procesos de la ruta biosintética de la clorofila, y regula la actividad del sistema enzimático para la formación de protoclorofila y de otros pigmentos fotosintéticos (Jeong *et al.*, 2009). Las plantas obtienen carbohidratos a través del proceso de fotosíntesis donde diferentes estructuras y procesos son dependientes de Fe (Jean *et al.*, 2007). Aunque por otro lado, una absorción excesiva de Fe en las plantas, puede conducir a un estrés oxidativo y permanente daño de células y tejidos (Jiang *et al.*, 2000).

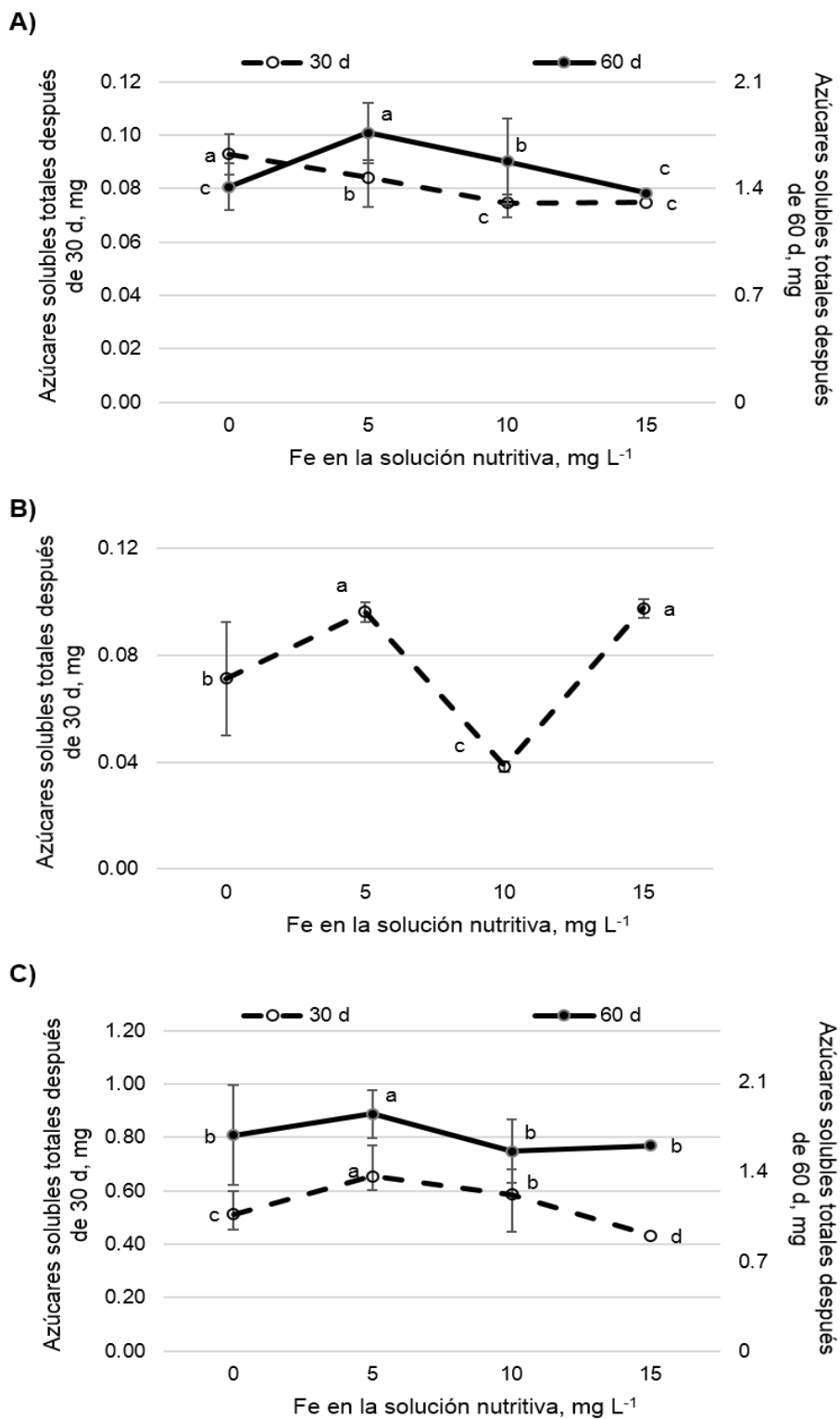


Figura 2.45 Efecto principal del Fe en el contenido de azúcares solubles totales en vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de 30 y 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

Efecto principal del Se en la acumulación de azúcares en vástago. Por efecto de la adición de Se en acelga, a los 30 ddt se observó un aumento en el contenido de azúcares a niveles de 0.3978 y 0.7896 mg L⁻¹ y una disminución para esta variable con aplicaciones de 1.1844 mg L⁻¹. Una menor acumulación de azúcares se registró con la adición de 0.3978 mg L⁻¹ de Se, la cual aumentó con el resto de las dosis aplicadas y fue significativamente más alta con la adición de 1.1844 mg L⁻¹ de Se (**Figura 2.46A**).

En espinaca a los 30 ddt por efecto del factor Se aumentó la acumulación de azúcares en el tejido foliar de esta especie en cualquiera de las dosis probadas siendo mayor con la aplicación de 0.7896 mg L⁻¹ de Se (**Figura 2.46B**). También se encontró un incremento en la acumulación de azúcares en plantas de col evaluadas a los 30 ddt por efecto de la adición de Se pero con un incremento mayor con aplicaciones de 0.3978 mg L⁻¹. Para la segunda medición, el contenido de azúcares aumentó nuevamente en cualquiera de las dosis de Se aplicadas pero estadísticamente mayor con aplicaciones de 0.7896 mg L⁻¹ de Se (**Figura 2.46C**).

En plantas de papa (*Solanum tuberosum*) cultivadas con 0.3 mg de Se kg⁻¹ de suelo [Turakainen et al. \(2004\)](#) concluyeron que la adición de Se aumentó la concentración de azúcares solubles y almidón, por lo que el Se tienen un efecto positivo en la acumulación de carbohidratos y posiblemente sobre la formación del rendimiento.

[Ferri et al. \(2007\)](#) mencionan que en plantas de papa tratadas con Se, se registró un aumento del 2.7% de azúcares en forma de almidón. En plantas de canola (*Brassica napus*) la suplementación de Se a dosis de 10 y 20 µg Se planta⁻¹ promovió una tasa más alta de fotosíntesis y carbohidratos en hojas comparada con el testigo ([Hajiboland y Keivanfar, 2012](#)). Con aplicaciones de 0, 0.2052, 0.3079 y 0.4105 mg L⁻¹ de Se como selenato de sodio en plantas de espinaca (*Spinacia oleracea* L.), [Ferrarese et al. \(2012\)](#) encontraron que los azúcares reductores expresados como equivalentes de glucosa no sufrieron cambios de concentración entre tratamientos. Además, según estos mismos autores el contenido de sacarosa tampoco fue estadísticamente diferente entre tratamientos.

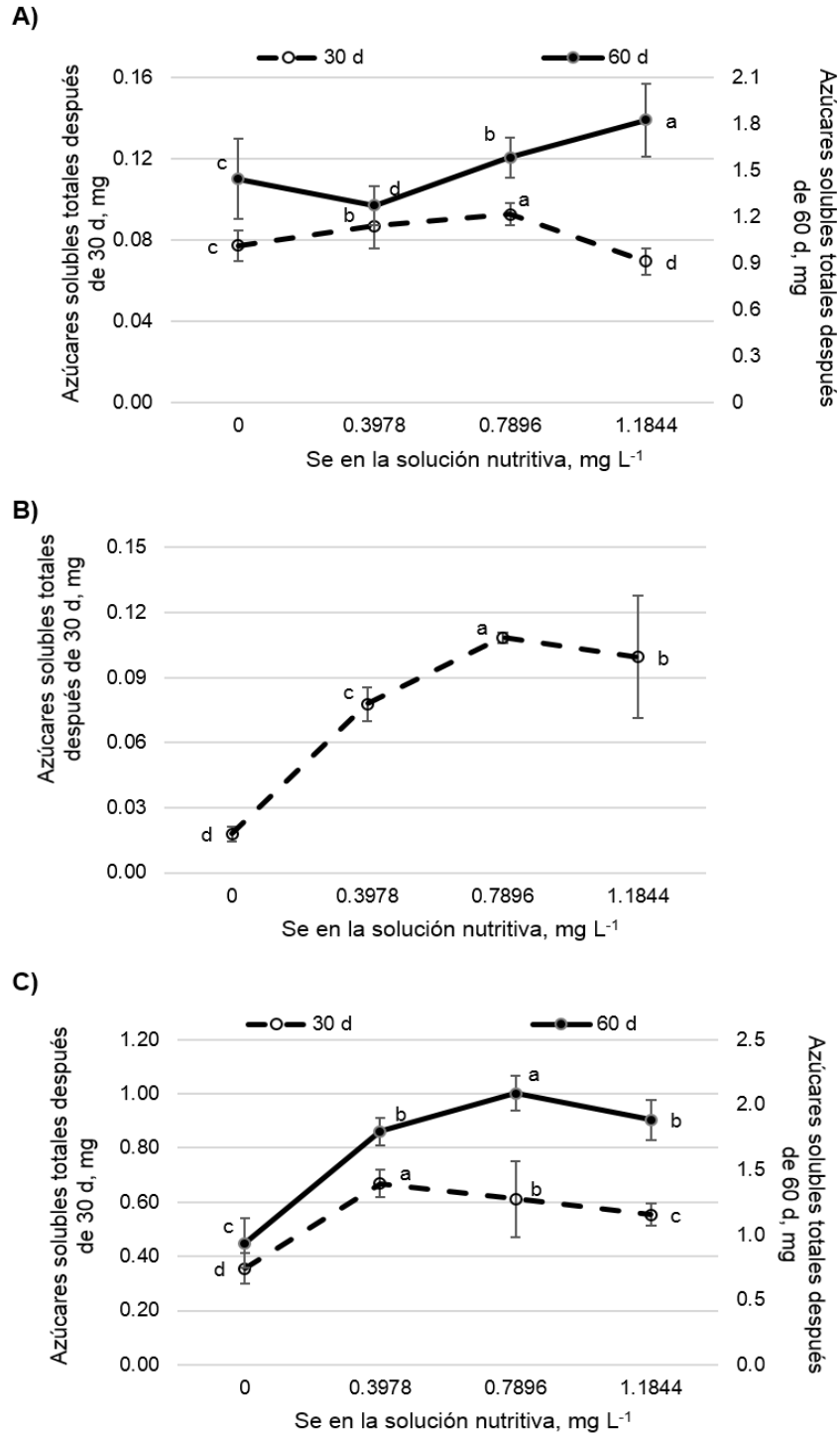


Figura 2.46 Efecto principal del Se en el contenido de azúcares solubles totales en vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de 30 y 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

Efecto de la interacción Fe x Se en la acumulación de azúcares en vástago. Con aplicaciones de 0.3978 y 0.7896 mg L⁻¹ de Se sin la adición de Fe, a dosis de 0.7896 y 1.1844 mg L⁻¹ de Se con 10 mg L⁻¹ de Fe, y a dosis de 0.7896 mg L⁻¹ de Se combinado con 15 mg L⁻¹ de Fe, se obtuvo un aumento significativo en la acumulación de azúcares, sin embargo, con aplicaciones de 5 mg L⁻¹ de Fe se registró una disminución en el contenido de azúcares por la adición de 0.3978 y 1.1844 mg L⁻¹ de Se (**Figura 2.47A**). Por otra parte, a los 60 ddt también se obtuvo un incremento en el contenido de azúcares con aplicaciones de 0.7896, de 1.1844 y de 0.7896 y 1.1844 mg L⁻¹ de Se con 0, 10 y 15 mg L⁻¹ de Fe respectivamente, y una disminución en esta variable con dosis de 0.3978 y 0.7896 mg L⁻¹ de Se a dosis de 5 mg L⁻¹ de Fe (**Figura 2.48A**).

En cada nivel de Fe, la aplicación de Se incrementó la acumulación de azúcares en vástagos de espinaca a los 30 ddt, pero fue estadísticamente mayor a 0.7896, 0.7896 y 1.1844, a 0.3978, y a 1.1844 mg L⁻¹ de Se combinado con 0, 5, 10 y 15 mg L⁻¹ de Fe respectivamente (**Figura 2.47B**).

Los resultados obtenidos en el cultivo de col a los 30 ddt muestran una mayor acumulación de azúcares por efecto de la aplicación de Se a diferentes dosis, obteniéndose una mayor acumulación con aplicaciones de 0.3978 y 1.1844 mg L⁻¹ de Se sin adición de Fe, a 0.7896 mg L⁻¹ de Se con 5 mg L⁻¹ de Fe, con 0.3978 mg L⁻¹ de Se con 10 mg L⁻¹ de Fe y, a 0.3978 y 1.1844 mg L⁻¹ de Se con 15 mg L⁻¹ de Fe (**Figura 2.47C**). El efecto anterior, fue marcadamente mayor a los 60 ddt, donde por efecto de la aplicación de Se en cualquiera de las dosis probadas se obtuvo un incremento en el contenido de azúcares pero mayor a 0 mg L⁻¹ de Fe con 0.7896 mg L⁻¹ de Se, a 5 mg L⁻¹ de Fe con 0.7896 y 1.1844 mg L⁻¹ de Se, a 10 mg L⁻¹ de Fe con 0.7896 y 1.1844 mg L⁻¹ de Se y a 15 mg L⁻¹ de Fe con 0.3978 y 0.7896 mg L⁻¹ de Se (**Figura 2.48B**).

Los carbohidratos sirven como almacén o transferencia de energía, son combustibles e intermediarios metabólicos considerados sustancias de reserva y estructurales. Aunque el Se no ha sido clasificado como un elemento esencial para las plantas, sus efectos benéficos sobre el metabolismo de los azúcares, ha sido mostrado recientemente por diversos autores (Arvy, 1989; Xue *et al.*, 2001; Hartikainen y Xue, 1999). Sin embargo, también ha sido establecido que sus efectos son dependientes de la concentración, y en general, las plantas tienen una baja tolerancia al Se (Turakainen *et al.*, 2004).

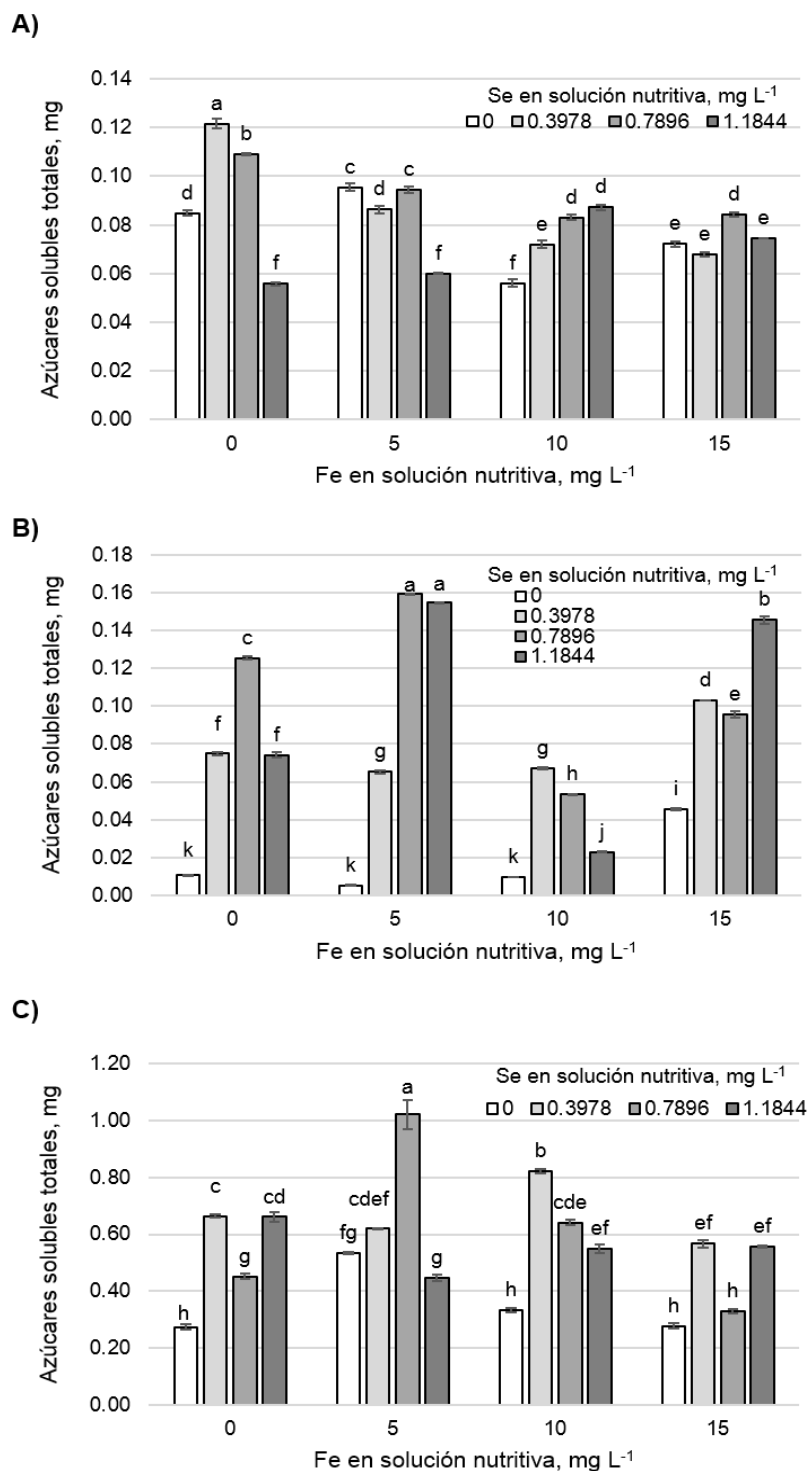


Figura 2.47 Efecto de la interacción de Fe y Se en el contenido de azúcares solubles totales en vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de 30 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

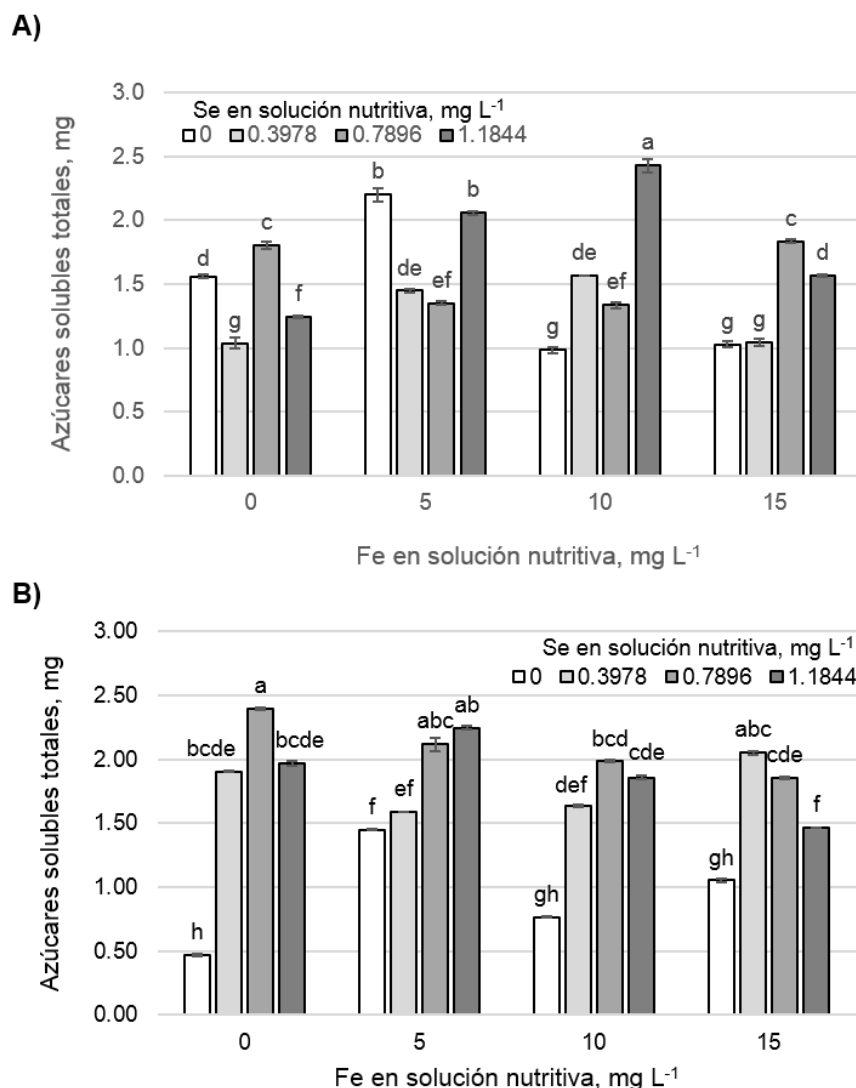


Figura 2.48 Efecto de la interacción de Fe y Se en el contenido de azúcares solubles totales en vástagos de acelga (A) y col (B) después de 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

2.3.13 Actividad antioxidante

El análisis estadístico mostró un efecto estadístico significativo por efecto del factor Fe, Se y la interacción Fe x Se en plantas de acelga a los 30 y 60 ddt sobre la actividad antioxidante medida a los 15 y 60 min, sin embargo, en la determinación realizada a los 30 min no se obtuvo un efecto significativo para esta variable por efecto del factor Fe. En espinaca, para estos mismos factores a los 30 ddt no se obtuvieron diferencias significativas en ninguna de las mediciones realizadas (15, 30 y 60 min). Se registró por otro lado un efecto significativo en actividad antioxidante solo por efecto del factor Se a

los 30 ddt y por efecto de los factores Fe, Se y la interacción Fe x Se a los 60 ddt (Cuadros 2.18, 2.19 y 2.20).

Cuadro 2.18 Significancia estadística de factores de estudio y su interacción en la variable actividad antioxidante a los 15 min en vástagos de acelga, espinaca y col, después de 30 y 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva.

Fuente de Variación	Acelga		Espinaca		Col
	Días de tratamiento				
	30	60	30	30	60
Fe	0.0008 *	<.0001 *	0.2111 ns	0.2961 ns	0.0270 *
Se	0.0078 *	<.0001 *	0.0756 ns	<.0001 *	<.0001 *
Fe x Se	<.0001 *	<.0001 *	0.9674 ns	0.3353 ns	0.0043 *
CV	20.10	4.55	37.63	22.97	23.83

* Significativo (Tukey, $P \leq 0.05$); ns no significativo

Cuadro 2.19 Significancia estadística de factores de estudio y su interacción en la variable actividad antioxidante a los 30 min en vástagos de acelga, espinaca y col, después de 30 y 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva.

Fuente de Variación	Acelga		Espinaca		Col
	Días de tratamiento				
	30	60	30	30	60
Fe	0.0921 ns	0.0070 ns	0.0983 ns	0.3506 ns	0.0345 *
Se	0.0141 *	<.0001 *	0.0642 ns	<.0001 *	<.0001 *
Fe x Se	0.0034 *	<.0001 *	0.9663 ns	0.2761 ns	0.0086 *
CV	13.88	3.88	42.55	23.50	25.86

* Significativo (Tukey, $P \leq 0.05$); ns no significativo

Cuadro 2.20 Significancia estadística de factores de estudio y su interacción en la variable actividad antioxidante a los 60 min en vástagos de acelga, espinaca y col, después de 30 y 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva.

Fuente de Variación	Acelga		Espinaca		Col
	Días de tratamiento				
	30	60	30	30	60
Fe	0.0447 *	0.0178 *	0.0759 ns	0.3934 ns	0.0366 *
Se	0.0109 *	<.0001 *	0.0594 ns	<.0001 *	<.0001 *
Fe x Se	0.0562 *	<.0001 *	0.9869 ns	0.2279 ns	0.0137 *
CV	19.96	4.80	48.39	24.26	28.74

* Significativo (Tukey, $P \leq 0.05$); ns no significativo

Efecto principal del Fe en la actividad antioxidante. La actividad antioxidante en acelga después de 15 min, por efecto del factor Fe determinada a los 30 ddt fue mayor con la adición de 10 mg L^{-1} de Fe, pero disminuyó con la aplicación de 15 mg L^{-1} . Para las demás determinaciones (a los 30 y 60 min) con cualquiera de las dosis de Fe aplicadas no se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas (**Figura 2.49A**).

Para la segunda determinación a los 60 ddt en acelga, la actividad antioxidante evaluada a los 15 min incrementó solo con dosis de 5 mg L⁻¹ de Fe y se vio disminuida a los 30 y 60 min por la adición de Fe a niveles de 10 y 15 mg L⁻¹ (**Figura 2.50A**).

A los 30 ddt se observó que en los cultivos de espinaca y col en cualquiera de las determinaciones realizadas (15,30 y 60 min), no hubo un efecto significativo por efecto de la aplicación radical de Fe sobre la actividad antioxidante de estas especies (**Figuras 2.49B y 2.49C**); no obstante, en col a los 60 ddt con aplicaciones de 15 mg L⁻¹ de Fe los valores de actividad antioxidante en cualquiera de los tiempos de evaluación fueron significativamente menores (**Figura 2.50B**).

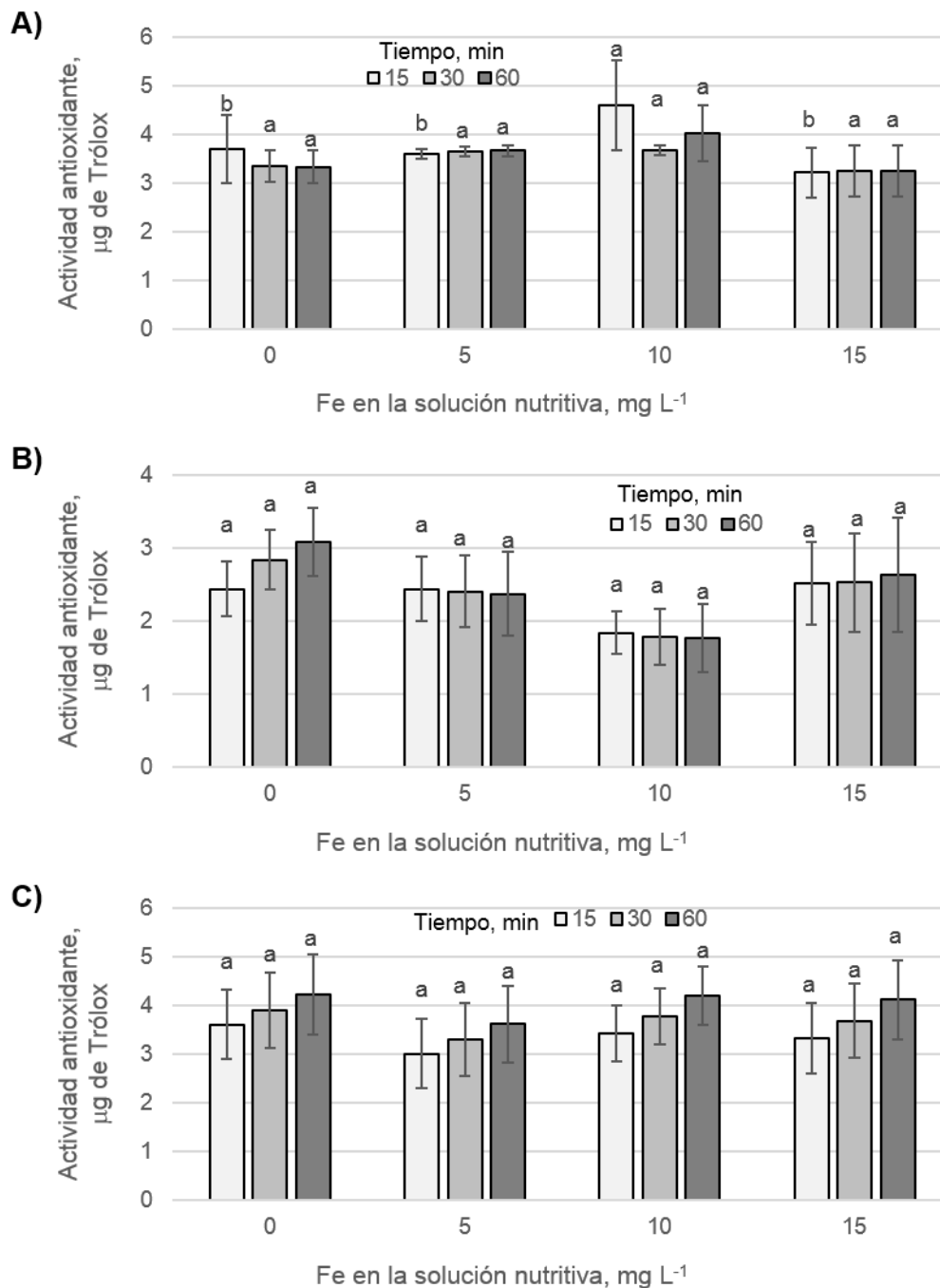


Figura 2.49 Efecto principal del Fe en la actividad antioxidante totales en vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de 30 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura y para cada variable indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

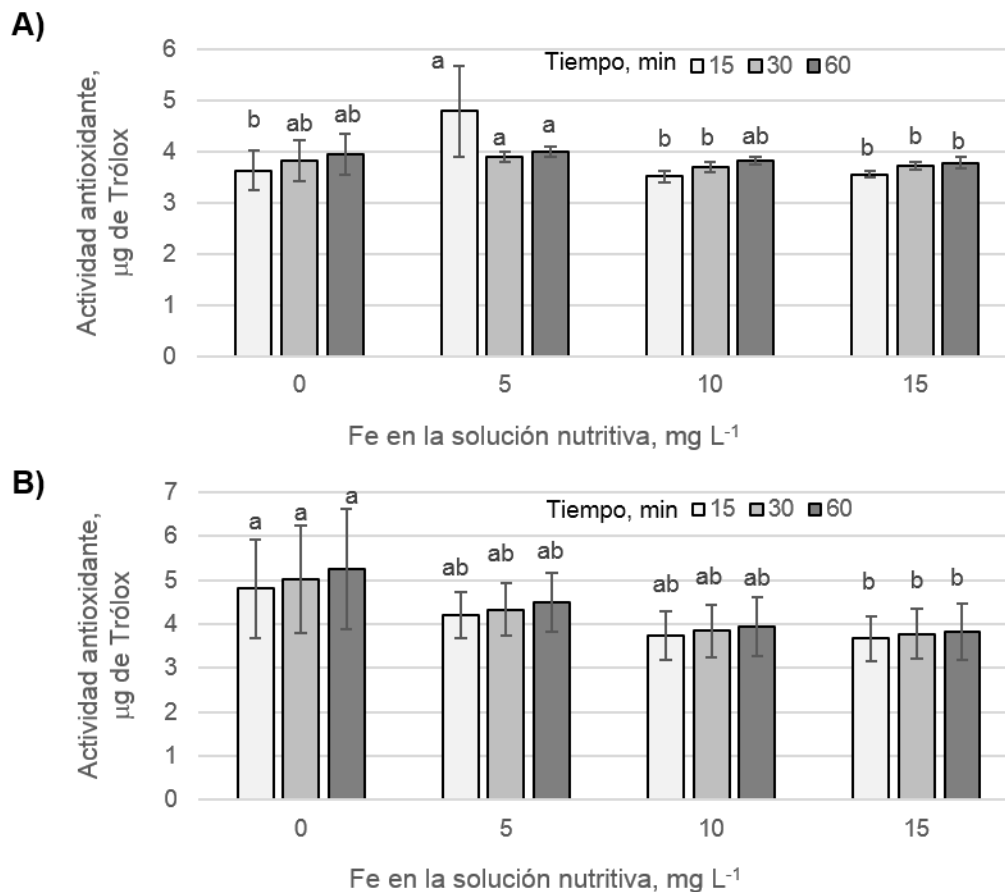


Figura 2.50 Efecto principal del Fe en la actividad antioxidante totales en vástagos de acelga (A) y col (B) después de 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura y para cada variable indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

Efecto principal del Se en la actividad antioxidante. Un aumento en la actividad antioxidante en plantas de acelga fue obtenido a los 30 ddt por la aplicación de Se a dosis de 0.3978 y 0.7896 mg L⁻¹ para la determinación realizada a los 60 min, pero para todas las demás determinaciones se obtuvo una menor actividad antioxidante solo con aplicaciones de 1.1844 mg L⁻¹ de Se (**Figura 2.51A**). A los 60 ddt, para este cultivo, un incremento de la actividad antioxidante fue observado con aplicaciones de 0.3978 en las mediciones a los 30 y 60 min y a dosis de 0.7896 mg L⁻¹ de Se en las determinaciones realizadas a los 15 min, posteriormente, los valores de la actividad antioxidante disminuyeron con aplicaciones de 1.1844 mg L⁻¹ de Se solo en la determinación realizada a los 15 min (**Figura 2.52A**).

Por la adición de Se a dosis de 0.7896 mg L^{-1} , se registró una disminución de la actividad antioxidante a los 30 ddt en plantas de espinaca en la medición realizada a los 30 y 60 min (**Figura 2.51B**). Por otra parte, a los 30 ddt en plantas de col, hubo un incremento en la actividad antioxidante por efecto de la adición de Se a dosis de 0.3978 , 0.7896 y 1.1844 mg L^{-1} , siendo estadísticamente mayor con 0.3978 mg L^{-1} (**Figura 2.51C**). El incremento por efecto de la aplicación de Se en plantas de col se mantuvo a los 60 ddt pero fue significativamente más alto con dosis de 0.7896 y 1.1844 mg L^{-1} (**Figura 2.52B**).

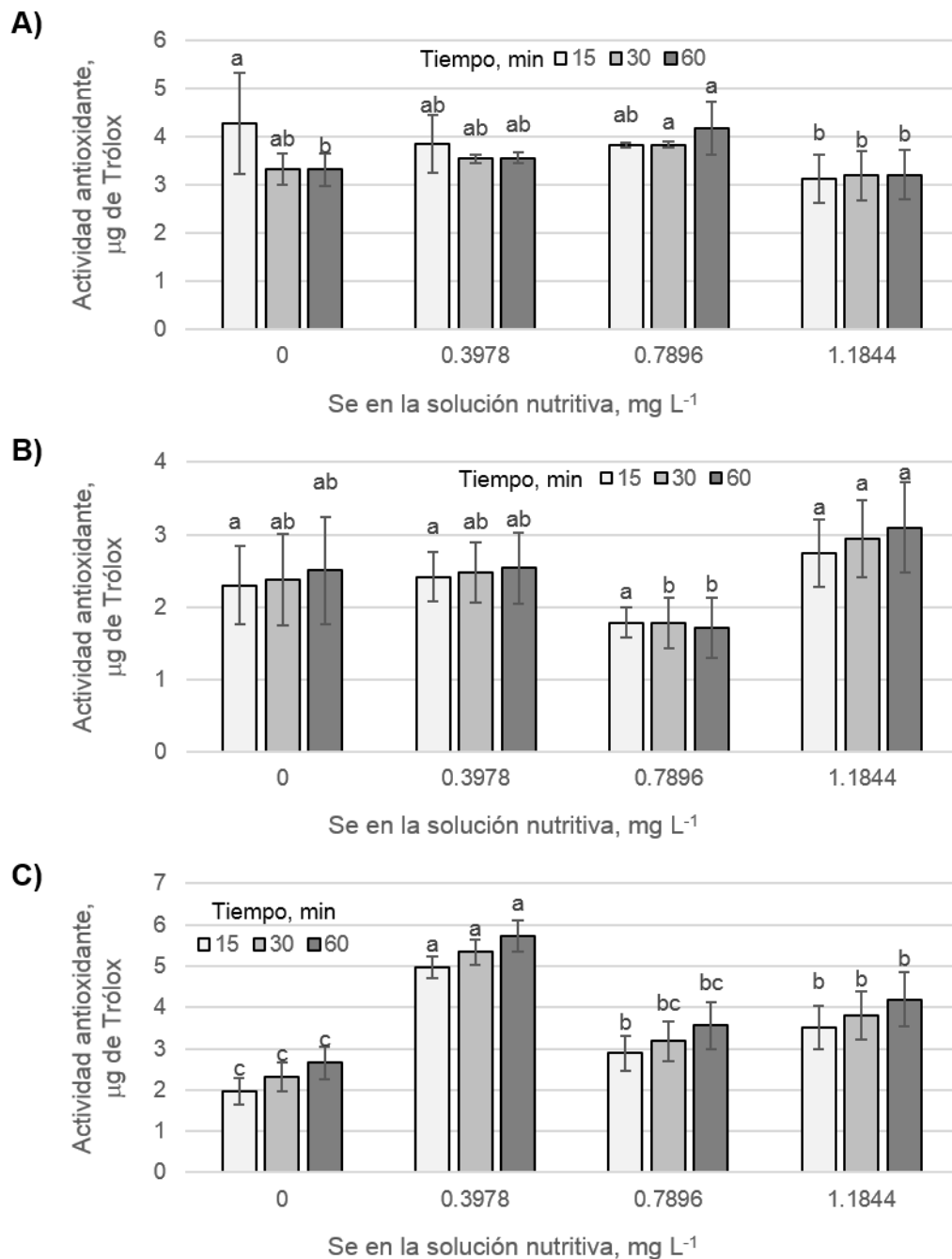


Figura 2.51 Efecto principal del Se en la actividad antioxidante totales en vástagos de acelga (A), espinaca (B) y col (C) después de 30 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura y para cada variable indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

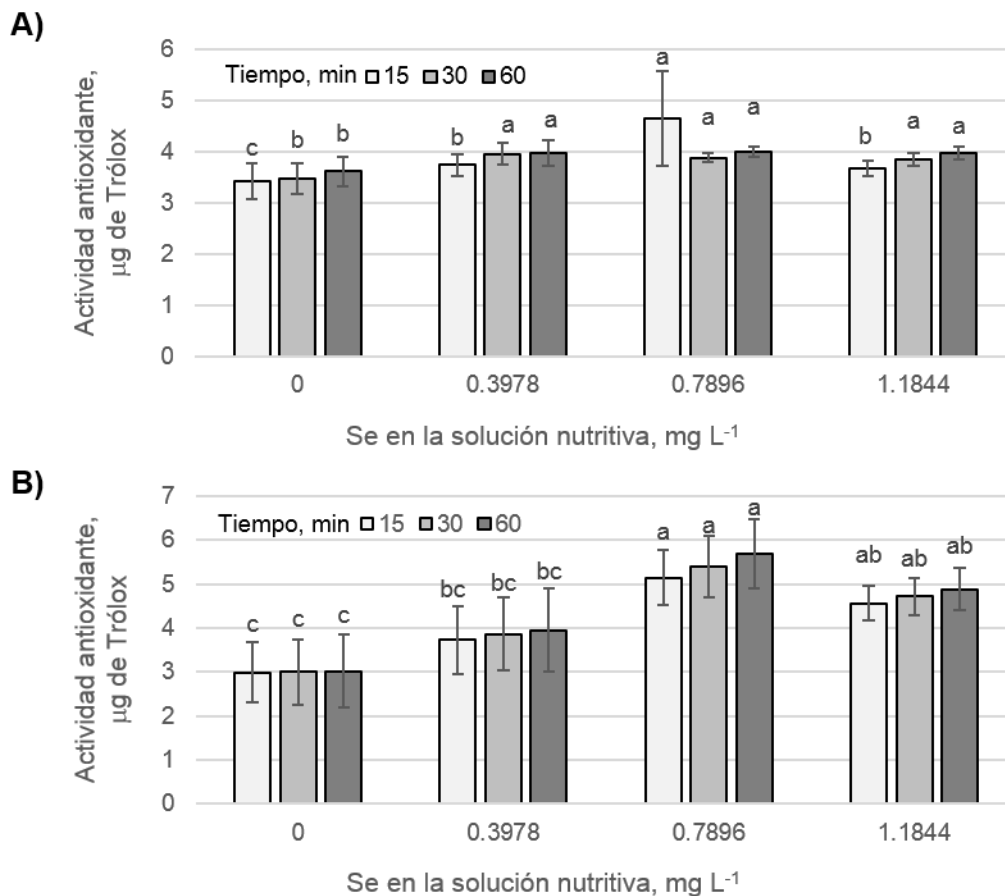


Figura 2.52 Efecto principal del Se en la actividad antioxidante totales en vástagos de acelga (A) y col (B) después de 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura y para cada variable indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

Efecto de la interacción Fe x Se en la actividad antioxidante. Debido al efecto de la interacción Fe x Se, a los 30 ddt en plantas de acelga se obtuvo que en la medición realizada a 15 y 30 min, sin la adición de Fe hubo un aumento en los valores de actividad antioxidante por la adición de Se, con la aplicación de 5 y 15 mg L⁻¹ de Fe no hubo efecto significativo con la aplicación de Se y con 10 mg L⁻¹ de Fe se obtuvo una disminución en los valores de actividad antioxidante por la adición de Se vía solución nutritiva a los 15 min y no fueron estadísticamente diferentes en la determinación realizada a los 30 min. En esta misma medición pero a los 60 min, se obtuvo un incremento en actividad antioxidante en plantas de acelga a 10 mg L⁻¹ de Fe con 0.7896 mg L⁻¹ de Se, el resto de los resultados en esta determinación no fueron estadísticamente diferentes entre ellos. A los 60 ddt en acelga, la actividad antioxidante

determinada a los 15 min, registró un aumento debido a la aplicación de Se sin la adición de Fe, a 5 mg L⁻¹ de Fe con 0.7896 mg L⁻¹ de Se, no obstante, a dosis de 10 y 15 mg L⁻¹ de Fe no hubo un efecto significativo debido a la adición radical de Se. La actividad antioxidante determinada a los 30 min en acelga, incrementó por la adición de Se sin la aplicación de Fe y fue mayor a dosis de 0.3978 mg L⁻¹ de Se. Por otra parte, con 5, 10 y 15 mg L⁻¹ de Fe no se obtuvo un efecto significativo por efecto de la aplicación de Se; y la actividad antioxidante determinada a los 60 min en acelga no mostró efectos diferenciales por la adición de Se en cada nivel de Fe a excepción de un incremento observado sin la adición de Fe con dosis de 0.3978 mg L⁻¹ de Se (**Cuadros 2.21, 2.22 y 2.23**).

A los 30 ddt en plantas de espinaca, la actividad antioxidante no tuvo efecto significativo debido a la interacción Fe x Se en cualquiera de las determinaciones realizadas (15, 30 y 60 min) (**Cuadros 2.21, 2.22 y 2.23**).

Un aumento en la actividad antioxidante de plantas de col a los 30 ddt por efecto de la interacción Fe x Se medida a los 15 min fue obtenido sin la adición de Fe combinado con 0.3978 y 1.1844 mg L⁻¹ de Se, a dosis de 0.3978 mg L⁻¹ de Se con 5 y 15 mg L⁻¹ de Fe y con 10 mg L⁻¹ de Fe combinados con cualquiera de las dosis de Se aplicadas. En esta misma determinación (15 min) pero a los 60 ddt, sin la adición de Fe y con cualquiera de las dosis de Se los valores de esta variable aumentaron y se observó que solo con aplicaciones de 5, 10 y 15 mg L⁻¹ de Fe con 0.3978 mg L⁻¹ de Se hubo una disminución significativa en la actividad antioxidante. También, en col, a los 30 ddt, la actividad antioxidante determinada a los 30 min aumentó sin la aplicación de Fe con dosis de 0.3978 mg L⁻¹ de Se, con 5 y 15 mg L⁻¹ de Fe aumentó con la dosis de 0.3978 mg L⁻¹ de Se y con aplicaciones de 10 mg L⁻¹ de Fe la adición de Se en cualquiera de sus niveles provocó también un incremento para esta variable. A los 60 ddt en esta determinación (30 min), con aplicaciones de 0 y 5 mg L⁻¹ de Fe con cualquiera de los niveles de Se probados se obtuvieron valores más altos de esta variable y solo con aplicaciones de 0.8996 y 1.1844 mg L⁻¹ de Se con aplicaciones de 10 y 15 mg L⁻¹ de Fe siguieron siendo significativamente mayores. Resultados similares fueron obtenidos en la actividad antioxidante para este cultivo a los 30 ddt pero cuando fue determinada a los 60 min, se obtuvieron valores más altos con dosis de 0.3978 y 1.1844 mg L⁻¹ de Se a 0 y

15 mg L⁻¹ de Fe; con dosis de 0.3978 mg L⁻¹ de Se combinado con 5 mg L⁻¹ de Fe, y con cualquiera de las dosis de Se cuando se aplicaron 10 mg L⁻¹ de Fe. Por otra parte, además, a los 60 ddt la actividad antioxidante determinada a los 60 min fue estadísticamente mayor con cualquiera de las dosis de Se aplicadas sin la adición de Fe; con dosis de 0.7896 y 1.1844 mg L⁻¹ de Se junto con 10 mg L⁻¹ de Fe y solo presentó un disminución a dosis de 0.3978 mg L⁻¹ de Se con aplicaciones de 5 y 15 mg L⁻¹ de Fe (**Cuadros 2.21, 2.22 y 2.23**).

A pesar de que se piensa que las plantas superiores no requieren Se y que tienen una baja tolerancia a éste, hay indicaciones crecientes de que él Se actúa como antioxidante a través de la actividad de la glutatión peroxidasa (Noctor *et al.*, 2002; Valkama *et al.*, 2003; Malik *et al.*, 2012). Además, se ha reportado que dosis crecientes de Se mejoran su incorporación relativa hacia proteínas en plantas (Cartes, 2005). El glutatión tiene una función importante en la defensa y protección de la célula y protege a las proteínas frente a la desnaturalización causada durante el estrés (Noctor *et al.*, 2002).

En plantas, bajas concentraciones de Se protegen contra daño oxidativo causado por factores de estrés abiótico tales como radiación UV (Valkama *et al.*, 2003), altas temperaturas (Djanaguiraman *et al.*, 2010) y toxicidades por algunos metales (Malik *et al.*, 2012).

También se ha observado cierta protección por la aplicación de selenio al ataque de ciertos patógenos. En algunos trabajos con Se, se ha observado un incremento en el contenido de clorofila, lo cual podría ser atribuido al eficiente control de ROS por SOD y GSH-Px (Djanaguiraman *et al.*, 2010). Sin embargo, altas concentraciones de Se pueden ser tóxicas y conducir a un aumento potencialmente dañino de las especies reactivas de oxígeno en las células (Foyer y Noctor, 2005), el cual resulta en una drástica reducción del rendimiento vegetal o eventualmente la muerte de la planta (Cartes, 2005).

Cuadro 2.21 Efectos principales de Fe y Se y de su interacción en la actividad antioxidante (μg trólox 100 mg de peso fresco) a los 15 min en vástagos de acelga, espinaca y col, después de 30 y 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva.

Fe, mg L ⁻¹	Se, mg L ⁻¹	Acelga		Espinaca	Col		
		Días de tratamiento en la solución nutritiva					
		30	60	30	30	60	
0	0	2.32±0.12 c	2.42±0.09 f	1.95±0.20 a	2.57±0.40 cd	1.57±0.23 d	
	0.3978	4.89±1.19 b	4.37±0.05 b	2.76±0.32 a	4.61±0.31 abc	5.95±0.50 ab	
	0.7896	3.86±0.01 bc	3.74±0.12cde	1.98±0.18 a	2.80±0.74bcd	6.54±1.00 a	
	1.1844	3.69±0.09 bc	3.97±0.09bcd	3.08±0.48 a	4.43±0.84 abc	5.19±0.25 abc	
5	0	3.44±0.03 bc	4.22±0.17 bc	2.43±0.27 a	1.51±0.09 d	3.63±0.74abcd	
	0.3978	3.64±0.02 bc	3.49±0.14 de	2.75±0.44 a	5.03±0.13 ab	3.32±0.31 bcd	
	0.7896	3.82±0.07 bc	7.68±0.03 a	1.76±0.28 a	2.60±0.35cd	5.06±0.25 abc	
	1.1844	3.45±0.13 bc	3.77±0.03cde	2.81±0.66 a	2.86±0.47bcd	4.79±0.11 abc	
10	0	7.64±0.03 a	3.61±0.05 de	2.05±0.41 a	1.97±0.24 d	3.18±0.74 bcd	
	0.3978	3.56± .03 bc	3.46±0.15 de	1.75±0.32 a	4.71±0.25abc	2.87±0.44 cd	
	0.7896	3.86± 0.10bc	3.69±0.02cde	1.51±0.12 a	3.41±0.26abcd	4.71±0.04abc	
	1.1844	3.29± 0.07bc	3.29±0.09 e	2.04±0.32 a	3.62±0.23abcd	4.19±0.25abcd	
15	0	3.68±0.03 bc	3.47±0.05 de	2.76±1.09 a	1.82±0.05 d	3.56±0.65ab	
	0.3978	3.32±0.07 bc	3.62±0.03 de	2.41±0.05 a	5.53±0.15a	2.76±0.37 cd	
	0.7896	3.76±0.03 bc	3.46±0.05 de	1.88±0.25 a	2.75±0.28bcd	4.29±0.05abcd	
	1.1844	2.07±0.90 c	3.66±.04 de	3.03±0.45 a	3.19±0.11bcd	4.07±0.61abcd	

Medias \pm DE con letras distintas en cada columna y factor de estudio, son estadísticamente diferentes (Tukey, $P \leq 0.05$).

Cuadro 2.22 Efectos principales de Fe y Se y de su interacción en la actividad antioxidante (μg trólox por 100 mg de peso fresco) a los 30 min en vástagos de acelga, espinaca y col, después de 30 y 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva.

Fe, mg L ⁻¹	Se, mg L ⁻¹	Acelga		Espinaca	Col	
		Días de tratamiento en la solución nutritiva				
		30	60	30	30	60
0	0	2.30±0.13 bc	2.55±0.12 e	2.30±0.23 a	2.97±0.42 bcd	1.52±0.27 d
	0.3978	3.55±0.04abc	4.59±0.02 a	2.98±0.39 a	4.89±0.36 abc	6.24±0.62 ab
	0.7896	3.85±0.03 a	4.02±0.10 bc	2.48±0.47 a	2.94±0.83 bcd	6.93±1.10 a
	1.1844	3.68±0.09 ab	4.14±0.09 b	3.60±0.32 a	4.79±0.95 abc	5.38±0.26 abc
5	0	3.49±0.03abc	4.02±0.04 bc	2.26±0.28 a	1.77±0.09 d	3.67±0.83abcd
	0.3978	3.71±0.03 ab	3.65±0.22 cd	2.83±0.51 a	5.41±0.15 ab	3.37±0.38 bcd
	0.7896	3.84±0.07 a	3.99±0.05 bc	1.69±0.31 a	2.86±0.41 bcd	5.29±0.28 abc
	1.1844	3.52±0.14abc	3.94±0.04bcd	2.83±0.74 a	3.11±0.53 bcd	4.98±0.14 abc
10	0	3.71±0.05 ab	3.73±0.05bcd	2.09±0.67 a	2.32±0.44 cd	3.19±0.82 bcd
	0.3978	3.63±0.02 ab	3.68±0.13 cd	1.65±0.36 a	5.03±0.26 ab	2.97±0.43 bcd
	0.7896	3.88±0.09 a	3.85±0.02bcd	1.27±0.17 a	3.84±0.27abcd	4.90±0.06 abc
	1.1844	3.42±0.05abc	3.53±0.16 d	2.13±0.42 a	3.92±0.26abcd	4.33±0.28abcd
15	0	3.77±0.04 a	3.59±0.06 cd	2.84±1.29 a	2.16±0.07 d	3.60±0.72 bcd
	0.3978	3.28±0.08abc	3.88±0.03bcd	2.43±0.08 a	6.01±0.16 a	2.87±0.43 bcd
	0.7896	3.77±0.03 a	3.65±0.03cd	1.65±0.14 a	3.10±0.35bcd	4.48±0.07abcd
	1.1844	2.13±0.92 c	3.79±0.06bcd	3.19±0.55 a	3.42±0.13abcd	4.18±0.68abcd

Medias \pm DE con letras distintas en cada columna y factor de estudio, son estadísticamente diferentes (Tukey, $P \leq 0.05$).

Cuadro 2.23 Efectos principales de Fe y Se y de su interacción en la actividad antioxidante (μg trólox por 100 mg de peso fresco) a los 60 min en vástagos de acelga, espinaca y col, después de 30 y 60 días de tratamiento con Fe y Se en la solución nutritiva.

Fe, mg L ⁻¹	Se, mg L ⁻¹	Acelga		Espinaca		Col	
		Días de tratamiento en la solución nutritiva					
		30	60	30	30	60	
0	0	2.25±0.15 b	2.70±0.14 v	2.66±0.25 a	3.37±0.46 bdc	1.43±0.33 c	
	0.3978	3.54±0.03 ab	4.70±0.04 a	3.19±0.48 a	5.14±0.41 abc	6.62±0.74 ab	
	0.7896	3.84±0.04 ab	4.16±0.10 ab	2.56±0.59 a	3.12±0.94 bcd	7.38±1.25a	
	1.1844	3.66±0.09 ab	4.23±0.08 ab	3.89±0.37 a	5.24±1.06 abc	5.62±0.30 ab	
5	0	3.50±0.04 ab	4.14±0.05 ab	2.29±0.34 a	2.02±0.11 d	3.78±0.94 abc	
	0.3978	3.76±0.04 ab	3.71±0.10 b	2.90±0.62 a	5.80±0.18 ab	3.38±0.44 bc	
	0.7896	3.87±0.08 ab	4.11±0.07 b	1.49±0.37 a	3.18±0.50 bcd	5.61±0.33 ab	
	1.1844	3.54±0.16 ab	4.05±0.02 b	2.82±0.85 a	3.44±0.61 bcd	5.20±0.18 abc	
10	0	3.70±0.07 ab	3.87±0.05 b	2.09±0.67 a	2.68±0.49 cd	3.24±0.95 bc	
	0.3978	3.70±0.03 ab	3.77±0.13 b	1.56±0.39 a	5.37±0.31 abc	2.95±0.51 bc	
	0.7896	5.20±1.04 a	3.95±0.02 b	1.16±0.19 a	4.37±0.34abcd	5.13±0.10 abc	
	1.1844	3.49±0.04 ab	3.69±0.08 b	2.26±0.50 a	4.34±0.28abcd	4.47±0.33 abc	
15	0	3.85±0.05 ab	3.73±0.05 b	2.98±1.48 a	2.55±0.09 cd	3.63±0.83 abc	
	0.3978	3.24±0.08 ab	3.74±0.02 b	2.50±0.12 a	6.60±0.16 a	2.84±0.51 bc	
	0.7896	3.77±0.04 ab	3.74±0.08 b	1.63±0.17 a	3.57±0.24 bcd	4.63±0.09 abc	
	1.1844	2.12±0.92 b	3.90±0.08 b	3.42±0.65 a	3.75±0.15abcd	4.25±0.75 abc	

Medias \pm DE con letras distintas en cada columna y factor de estudio, son estadísticamente diferentes (Tukey, $P \leq 0.05$).

2.4. CONCLUSIONES

En los cultivos de acelga, espinaca y col es posible incrementar en el contenido de Fe y Se en el tejido foliar, cuando las plantas son tratadas con estos elementos vía radical. Los efectos obtenidos en cada una de las variables determinadas por la aplicación de Fe y Se vía solución nutritiva, fueron dependientes de la dosis evaluada.

La adición a la solución nutritiva del Fe y Se, de manera general promovió un aumento en la acumulación de biomasa fresca, biomasa seca y contenido de azúcares.

Para acelga y espinaca se obtuvieron mayores valores SPAD por efecto de la aplicación Fe y Se, pero en col, por efecto del factor Fe no se obtuvieron diferencias significativas entre tratamientos.

Un incremento en la acumulación de nitrógeno se obtuvo debido a la aplicación radical de Fe, además de un aumento en la acumulación de nitrato sobre todo a los 60 ddt en los cultivos de acelga y col. Por otro lado, la adición de Se promovió inicialmente la acumulación de nitrógeno y posteriormente una disminución del mismo en acelga y col.

La aplicación de Se generó una disminución en el contenido de nitrato foliar en acelga y col, sin embargo, en espinaca un incremento tanto para nitrógeno como nitrato fue observado.

El contenido de clorofila *a*, *b* y total fue favorecido por la aplicación de Fe vía radical en los tres cultivos analizados y la adición de Se promovió un aumento en la acumulación de clorofilas en acelga y espinaca, la cual no fue significativo entre tratamientos para el caso de col.

En las tres especies analizadas, la aplicación de Fe y Se provocaron un incremento en el contenido de aminoácidos, a excepción del efecto del Se en col a los 60 ddt donde se obtuvo una disminución en el contenido de aminoácidos en cualquiera de las dosis aplicadas de este elemento.

La adición de Fe vía solución nutritiva ocasionó un mayor contenido de proteínas en los tres cultivos analizados, pero la aplicación de Se, disminuyó la acumulación de proteínas en los cultivos de acelga y espinaca. En col, el contenido de proteínas aumentó con dosis bajas de Se a los 30 ddt y a los 60 ddt con estas mismas dosis no se obtuvo efecto significativo.

En general la actividad antioxidante disminuyó en acelga por efecto del factor Fe, pero no tuvo efecto significativo en espinaca. Para col, dosis altas de Fe provocaron una disminución en los valores de esta variable y por efecto del factor Se, se obtuvo una disminución en la actividad antioxidante de plantas de espinaca, y un incremento de ésta en los cultivos de acelga y col.

2.5. LITERATURA CITADA

- Abu ZI, Abou AM, El Shakh AE. 2011. Impact of soil lead pollution and iron foliar application on *Spinacea oleracea* (L.). *Advances in Agriculture and Botany-International Journal of the Bioflux Society* 3(2): 116-126.
- Alcántar GG, Sandoval VM. 1999. Manual de análisis químico de tejido vegetal. Guía de muestreo, preparación, análisis e interpretación. Publicación Especial No. 10 de la Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo A. C., Chapingo, México.
- Alcantar GG, y Trejo TLI. 2010. Nutrición de Cultivos. Editorial Mundi-Prensa México. México D.F, 451 p.
- Arscott S, Goldman I. 2012. Biomass effects and selenium accumulation in Sprouts of three vegetables species grown in selenium-enriched conditions. *HortScience* 47(4): 497-502.
- Arvy MP, Thiersault M, Doireau P. 2008. Relationships between selenium, micronutrients, carbohydrates, and alkaloid accumulation in *Catharanthus roseus* cells. *Journal of Plant Nutrition* 18(8): 1535-1546.
- Aslam M, Harbit KB, Huffaker RC. 1990. Comparative effects of selenite and selenate on nitrate assimilation in barley seedlings. *Plant, Cell and Environment* 13: 773-782.
- Bahar AS, Yazici A, Ozturk L, Cakmak I. 2011. Biofortification of wheat with iron through soil and foliar application of nitrogen and iron fertilizers. *Plant and Soil* 349(1-2): 215-225.
- Borowski E, Michalek S. 2011. The effect of foliar fertilization of French bean with iron salts and urea on some physiological processes in plants relative to iron uptake and translocation in leaves. *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus* 10(2): 183-193.
- Bremner JM. 1965. Total nitrogen. *Agronomy* 9: 1149-1178.
- Briat JF, Lobréaux S. 1997. Iron transport and storage in plants. *Trends in Plant Science* 2(5): 187-193.
- Broadley RM., White PJ, Bryson RJ, Meacham MC, Bowen HC, Johnson SE, Hawkesford MJ, McGrath SP, Zhao FJ, Breward N, Harriman M, Tucker M. 2006. Biofortification of UK food crops with selenium. *Proceedings of the Nutrition Society* 65(2): 169-181.
- Cakmak I. 2010. Biofortification of cereals with zinc and iron through fertilization strategy. 19 World Congress of soil science, Soil solutions for a changing world. 1-6 August, Brisbane, Australia 6 p.
- Cartes, I, P, A, 2005, Dinámica del selenio en el sistema suelo-planta: Evaluación de un sistema pratense modelo, Tesis doctoral. Universidad de la Frontera, Temuco Chile, 123 p.
- Castignetti D, Smarrelli JJ. 1986. Siderophores, the iron nutrition of plants, and nitrate reductase. *Review-Hypothesis* 209(2): 147-151.
- Cataldo DA, Mcfadden KM, Garland TR, Wildung RE. 1988. Organic constituents and complexation of nickel (II), iron (III), cadmium (II), and plutonium (IV) in soybean xylem exudates. *Plant Physiology* 86: 734-739.
- Cerdán M, Sánchez SA, Oliver M, Juárez M, Sánchez AJJ. 2009. Effects of foliar and root applications of amino acids on iron uptake by tomato plants. IV Balkan Symposium on Vegetable and Potatoes. Universidad de Alicante Spain. Departamento de Agroquímica y Bioquímica. pp. 481-488.
- Chatterjee C, Gopal R, Dube BK. 2006. Impact of iron stress on biomass, yield metabolism and quality of potato (*Solanum tuberosum* L.). *Scientia Horticulturae* 108(1): 1-6.
- Cuderman P, Kreft I, Germ M, Kovačević M, Stibilj V. 2008. Selenium species in selenium-enriched potatoes and drought-exposed potatoes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56: 9114-9120.
- Curie C, Jean FB. 2003. Iron transport and signaling in plants. *Annu. Rev. Plant Biol.* 54: 183-206.
- DellaPenna D. 2007. Biofortification of plant-based food: Enhancing folate levels by metabolic engineering, Department of Biochemistry and Molecular Biology. *PNAS* 104: 3675-3676.
- Djanaguiraman M, Durga DD, Shanker AK, Sheeba JA, Bangarusamy U. 2004. Selenium –an antioxidative protectant in soybean during senescence. *Plant and Soil* 272: 77-86.
- Dos Santos LS, De Oliveira AC. 2007. Rice iron metabolism: from source to solution. *Journal of crop science and biotechnology*. Vol. 10(2): 64 -72.

- Droux M. 2004. Sulfur assimilation and the role of sulfur in plant metabolism: A survey. *Photosynthesis Research* 79: 331-348.
- Ellis DR, Salt DE. 2003. Plants, selenium and human health. *Current Opinion in Plant Biology* 6: 273-279.
- Elwan MWN, El-Hamed KEA. 2011. Influence of nitrogen form, growing season and sulfur fertilization on yield and the content of nitrate and vitamin C of broccoli. *Scientia Horticulturae* 127: 181-187.
- Fang Y, Wang L, Xin Z, Zhao L, An X, Hu Q. 2008. Effect of Foliar Application of Zinc, Selenium, and Iron Fertilizers on Nutrients Concentration and Yield of Rice Grain in China. *Journal Agricultural and Food Chemistry* 56(6): 2079-2084.
- FAO. 2011. Combating micronutrient deficiencies. Food-based approaches. Organization of the United Nations for Food and Agriculture. Rome, Italy, 397 p. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/013/am027e/am027e.pdf>
- Ferrarese M, Majmoodi SM, Quattrini E, Schiavi M, Ferrante A. 2012. Biofortification of spinach plants applying selenium in the nutrient solution of floating system. *Vegetable Crops Research Bulletin* 76: 127-136.
- Ferri T, Favero G, Frasconi M. 2007. Selenium speciation in foods: Preliminary results on potatoes. *Microchemical Journal* 85: 222-227.
- Foyer C, H, Noctor, G, 2005, Redox homeostasis antioxidant signaling: A metabolic interface between stress perception and physiological responses, *Plant Cell* 17: 1866-1875.
- Francois BJ, Curie C, Gaymard F. 2007. Iron utilization and metabolism in plants. *Current Opinion in Plant Biology* 10: 276-282.
- Geiger M, Walch-Liu P, Engels C, Harnecker J, Schulze ED, Ludewig F, Sonnewald U, Scheible WR, Stitt M. 1998. Enhanced carbon dioxide leads to a modified diurnal rhythm of nitrate reductase activity and higher levels of amino acids in young tobacco plants. *Plant Cell Environ.* 21: 253-268.
- Giletto CM, Díaz C, Rattín JE, Echeverría HE, Caldiz DO. 2010. Green Index to estimate crop nitrogen status in potato processing varieties. *Chilean Journal of Agricultural Research* 70(1): 142-149.
- Goto F, Yoshihara T, Saiki H. 2000. Iron accumulation and enhanced growth in transgenic lettuce plants expressing the iron-binding protein ferritin. *Theoretical and Applied Genetics* 100(5): 658-664.
- Hajiboland R, Keivanfar N. 2012. Selenium supplementation stimulates vegetative and reproductive growth in canola (*Brassica napus* L.) plants. *Acta Agriculturae Slovenica* 99(1): 13-19.
- Harborne JB. 1973. Chlorophyll extraction. *In: Phytochemical Methods. Recommended technique.* Harbone, J. B. (ed.). Chapman and Hall, London. pp. 205- 207.
- Hartikainen H, Xue T, Piironen V. 2000. Selenium as an antioxidant and pro-oxidant in ryegrass. *Plant and Soil* 225: 193-200.
- Hartikainen H, Xue T. 1999. The promotive effect of selenium on plant growth as triggered by ultraviolet irradiation. *J. Environ. Qual.* 28: 1372-1375.
- Hawkins, T. S., S. Gardiner, and G. S. Comer. 2009. Modeling the relationship between extractable chlorophyll and SPAD-502 readings for endangered plant species research. *Journal for Nature Conservation* 17: 125-129.
- Hawrylak B, Mtraszek R, Szymanska M. 2010. Selenium modifies the effect of short-term chilling stress on cucumber plants. *Biol Trace Elem Res.* 138: 307-315.
- Hirschi KD. 2009. Nutrient biofortification of food crops. *Annual Review of Nutrition* 29: 401-421.
- Höfner R, Vásquez-Moreno L, Abou-Mandour AA, Bohnert HJ, Schmitt JM. 1989. Two isoforms of phosphoenolpyruvate carboxylase in the facultative CAM plant *Mesembryanthemum crystallinum*. *Plant Physiol. Biochem.* 27: 803-810.
- Hotz C, Brown K. 2004. Assessment of the risk of zinc deficiency in populations and options for its control: International Zinc Nutrition Consultative Group Technical. Document 1.
- Inostroza BC, Reyes DM, Alberdi M, Godoy K, Rojas LY, Cartes P, De la Luz MM. 2013. Influence of selenite on selenium uptake, differential antioxidant performance and gene expression of sulfate transporters. *Plant and Soil* 36: 47-59.

- Jean FB, Curie C, Gaymard F. 2007. Iron utilization and metabolism in plants. *Current Opinion in Plant Biology* 10: 276-282.
- Jeong, J, y Lou-Guerint, M, 2009, Homing in on iron homeostasis in plants, *Trends in Plant Science* 14(5): 280-285.
- Ježek P, Škarpa P, Lošák T, Hlušek J, Jůzl M, Elzner P. 2012. Selenium – An Important Antioxidant in Crops Biofortification, *Antioxidant Enzyme*, Prof. Mohammed Amr El-Missiry (Ed.), ISBN: 978-953-51-0789-7, InTech, DOI: 10.5772/50356. Disponible en: <http://www.intechopen.com/books/antioxidant-enzyme/selenium-an-important-antioxidant-in-crops-biofortification>.
- Jiang ZS. 2010. Iron homeostasis and iron acquisition in plants: maintenance, functions and consequences. *Annals of Botany* 105: 799-800.
- Kopsell DA, Randle WM, Mills HA. 2000. Nutrient accumulation in leaf tissue of rapid-cycling *Brassica oleracea* responds to increasing sodium selenate concentrations. *Journal of Plant Nutrition* 23: 927-935.
- Laulhere JP, Barcelo F, Fontecave M. 1995. Dynamic equilibria in iron uptake and release by ferritin. *BioMetals* 9: 303-309.
- Lefsrud MG, Kopsell DA, Kopsell DE, Randle WM. 2006. Kale carotenoids are unaffected by, whereas Biomass production, Elemental concentrations, and selenium accumulation to, changes in selenium fertility. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54: 1764-1771.
- Malik, J, A, Goel, S, Kaur, N, Sharma, S, Singh, I, Nayya,r H, 2012, Selenium antagonises the toxic effects of arsenic on mungbean (*Phaseolus aureus* Roxb.) plants by restricting its uptake and enhancing the antioxidative and detoxification mechanisms, *Envirom. Exp. Bot.* 77:242-248
- Manion LK, Kopsell DE, Kopsell DA, Sams CE, Rhykerd RL. 2014. Selenium Fertilization Influences Biomass, Elemental Accumulations, and Phytochemical Concentrations in Watercress. *Journal of Plant Nutrition* 37(2): 327-342.
- Meenakshi JV, Johnson NL, Manyong VM, Degroote H, Javelosa J, Yanggen DR, Naher F, James-Garcia CGY, Meng E. 2010. How cost-effective is biofortification in combating micronutrient malnutrition? An ex ante assessment. *World Development* 38(1): 64-75.
- Miller GW, Pushnik JC, Welkie GW. 2008. Iron stress diminishes photochemical capacity by reducing the number of photosynthetic units. *Plant Physiology* 65(1):121-125.
- Mohamadipoor R, Sedaghathoor S, Khomami AM. 2013. Effect of application of iron fertilizers in two methods 'foliar and soil application' on growth characteristics of *Spathyphyllu illusion*. *European Journal of Experimental Biology* 3(1): 232-240.
- Morales F, Belkhodja R, Abadía A, Abadía J. 2000. Photosystem II efficiency and mechanisms of energy dissipation in iron-deficient, field-grown pear trees (*Pyrus communis* L.). *Photosynth. Res.* 63: 9-21.
- Munshi CB, Gerald F, Combs J, Mondy NI. 1990. Effect of selenium on the nitrogenous constituents of the potato. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 38: 2000-2002.
- Nenova V. 2006. Effect of iron supply on growth and photosystem II efficiency of pea plants. *Gen. Appl. Plant Physiology, Special Issue* 81-90.
- Nestel P, Bouis HE, Meenakshi JV, Pfeiffer W. 2006. Biofortification of Staple Food Crops. *The Journal of Nutrition* 136: 1064-1067.
- Nishio JN, Abadía J, Terry N. 1985. Chlorophyll-Proteins and electron transport during iron nutrition-mediated chloroplast development. *Plant Physiology* 78: 296-299.
- Noctor G, Gómez L, Vanacker H, Foyer C H. 2002. Interactions between biosynthesis, compartmentation and transport in the control of glutathione homeostasis and signalling. *Journal of Experimental Botany* 53: 1283-1304.
- NOM-051-SCFI/SSA1-2010. Especificaciones generales de etiquetado para alimentos y bebidas no alcohólicas preenvasados- Información comercial y sanitaria. Norma Oficial Mexicana, Diario Oficial de la Federación. Disponible en: http://dof.gob.mx/nota_detalle_popup.php?codigo=5137518

- Nowak J, Kakiewski K, Ligocki M. 2004. Influence of selenium on oxidoreductive enzymes activity in soil and in plants. *Soil Biology and Biochemistry* 36(10): 1553-1558
- Nowak J, Kaklewski K, Klódka D. 2002. Influence of various concentrations of selenic acid (IV) on the activity of soil enzymes. *The Science of the Total Environment* 291: 105-110.
- Padmaja K, Prasad DDK, Prasad ARK. 1989. Effect of selenium on chlorophyll biosynthesis in mung bean seedlings. *Phytochemistry* 28(12): 3321-3324.
- Peryea FJ, Kammereck R. 1997. Use of minolta SPAD-502 chlorophyll meter to quantify the effectiveness of mid-summer trunk injection of iron on chlorotic pear trees. *Journal of Plant Nutrition* 20(11): 1457-1463.
- Pestana M, Correia PJ, De Varennes A, Abadía J, Faria AF. 2004. Differential tolerance to iron deficiency of citrus rootstocks grown in nutrient solution. *Scientia Horticulturae* 104: 25-36.
- Pestana M, Correia PJ, De Varennes A, Abadía J, Faria AF. 2006. Effectiveness of different foliar iron applications to control iron chlorosis in orange trees grown on a calcareous soil. *Journal of Plant Nutrition* 24: 613-622.
- Pestana M, Varennes A, Abadía J, Araújo FE. 2005. Differential tolerance to iron deficiency of citrus rootstocks grown in nutrient solution. *Scientia Horticulturae* 104:2 5-36.
- Pirdadeh H, Hamidian K, Tahamasebi J, Rafee M. 2013. Effect of Fe on yield and others cultural traits of chickpea. *Asian J. Exp. Biol. Sci.* 4(2): 256-259.
- Raigón MD, García MMD, Guerrero C, Esteve P. 2006. Actividad de la Nitrato Reductasa y su relación con los factores productivos en lechuga. VII Congreso SEAE Zaragoza. No 157.
- Rayman MP. 2008. Food-Chain selenium and human health: emphasis on intake. *British Journal of Nutrition* 100: 254-268.
- Ríos RJJ. 2008. Biofortificación con Se en plantas de lechuga: Estudio de la producción, calidad y estado nutricional. Tesis Doctoral. Universidad de Granada. Facultad de Ciencias. Granada España. 164 p.
- Saffaryazdi A, Lahouti M, Ganjeali A, Bayat H. 2012. Impact of selenium supplementation on growth and selenium accumulation on spinach (*Spinacia oleracea* L.) plants. *Notulae Scientia Biologicae* 4(4): 95-100.
- Sainz-Rozas H, Echeverría HE 1998. Relación entre las lecturas del medidor de clorofila (Minolta SPAD 502) en distintos estadios del ciclo del cultivo de maíz y el rendimiento en grano. *Revista de la Facultad de Agronomía, La Plata* 103: 37-44.
- SAS. 2011. SAS Institute Inc., SAS/STAT Users Guide, Version 9.3. SAS Institute Inc. Cary, N. C., USA.
- Schuler M, Bauer P. 2012. Strategies for Iron biofortification on crop plants. *In: Food Quality (2012)*. INTECH. Disponible en: <http://www.intechopen.com/books/food-quality/strategies-for-iron-biofortification-of-crop-plants>
- Seppänen MM, Kontturi J, Lopez HI, Madrid Y, Cámara C, Hartikainen, H. 2010. Agronomic biofortification of *Brassica* with selenium: enrichment of SeMet and its identification in *Brassica* seeds and meal. *Plant and Soil* 337: 273-283.
- Sperotto RA, Ricachenevsky FK, De Abreu WV, Palma FJ. 2012. Iron biofortification in rice: It's a long way to the top. *Plant Science* 190: 24-39.
- Srikanth LRV, De Schepper V, Steppe K, Majati PN, Tack F, Du LG. 2013. Use of selenium fertilizers for production of Se-enriched Kenaf (*Hibiscus cannabinus*): Effect on Se concentration and plant productivity. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*. 176: 634-639.
- Steiner A. 1984. The universal nutrient solution. *In: I. S. O. S. C. Proceedings 6th International Congress on Soilless Culture, The Netherlands*. pp. 633-649.
- Terry N., 1980. Limiting factors in photosynthesis. I. Use of iron stress to control photochemical capacity in vivo. *Plant Physiol.* 65: 114-120.
- Turakainen M, Hartikainen H, Seppänen M. 2004. Effect of selenium treatments on potato (*Solanum tuberosum* L.) growth and concentration of soluble sugars and starch. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52: 5378-5382.

- Valkama E, Kivimäenpää M, Hartikainen H, Wulff A. 2003. The combined effects of enhanced UV-B radiation and selenium on growth, chlorophyll fluorescence and ultrastructure in strawberry (*Fragaria x ananassa*) and barley (*Hordeum vulgare*) treated in the field. *Agricultural and Forest Meteorology* 120: 267-278.
- Walker EL, Connolly EL. 2008. Time to pump iron: iron-deficiency-signaling mechanisms of higher plants. *Current Opinion in Plant Biology* 11: 530-535.
- Wei Y, Shohag MJ, Yang X, Yibin Z. 2012. Effects of foliar iron application on iron concentration in Polished rice grain and its bioavailability. *Journal Agricultural and Food Chemistry* 60(45): 11433-11439.
- Welch RM. 2005. Biotechnology, biofortification, and global health, *Food and Nutrition Bulletin, The United Nations University* 26(4): 306-306.
- Whitman FH, Blaydes DF, Devlin RM. 1971. *Experiments in Plant Physiology*. Van Nostrand Reinhold C. New York, USA. 245 p.
- White PJ, Bowen HC, Parmaguru P, Fritz M, Spracklen WP, Spiby RE, Meacham MC, Mead A, Harriman M, Trueman LJ, Smith BM, Thomas B, Broadley MR. 2004. Interactions between selenium and sulfur nutrition in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Experimental Botany* 55: 1927-1937.
- Wirth J, Poletti S, Aeschlimann B, Yakandawala N, Drosse B, Osorio S, Tohge T, Fernie AR, Günther D, Gruissem W, Sautter C. 2009. Rice endosperm iron biofortification by targeted and synergistic action of nicotianamine synthase and ferritin. *Plant Biotechnology Journal* 7: 631-644.
- Xue T, Hartikainen H, Piironen V. 2001. Antioxidative and growth promoting effect of selenium on senescing lettuce. *Plant and Soil* 237: 55-61.
- Xun G, Lin W. 1997. Distribution of free seleno-amino acids in plant tissue of *Melilotus indica* L. Grown in selenium-laden soils. *Ecotoxicology and environmental safety*. 39: 207-214.
- Yadava VL. 1986. A rapid and non-destructive method to determine chlorophyll in intact leaves. *HortScience* 2: 1449-1495.
- Yao X, Chu J, Wang G. 2009. Effects of selenium on wheat seedlings under drought stress. *Biol. Trace Elem. Res.* 130: 283-290.
- Zahedi H, Noormohammadi G, Shiranirad AH, Habibi D, Akbarboojar MM. 2009. Effect of zeolite and foliar application of selenium on growth, yield and yield component of three canola cultivars under conditions of late season drought stress. *Notulae Scientia Biologicae* 1(1): 73-80.
- Zebarth BJ, Younie M, Paul JW, Bittman S. 2002. Evaluation of leaf chlorophyll index for making fertilizer nitrogen recommendations for silage corn in a high fertility environment. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 33: 665-684.
- Zocchi G, De Nisi P, Dell'Orto M, Espen L, Marino P. 2007. Iron deficiency differently affects metabolic responses in soybean roots. *Journal of Experimental Botany* 58(5): 993-1000.

CAPÍTULO III. RUTAS DE PENETRACIÓN FOLIAR EN ACELGA, ESPINACA Y COL

RESUMEN

La fertilización foliar es una de las prácticas más efectivas y seguras para enriquecer la concentración de micronutrientes en diversos cultivos. El objetivo de la presente investigación fue determinar las rutas y tiempos de penetración foliar de Fe y Se en los cultivos de acelga, espinaca y col. Para ello se desarrollaron dos experimentos en paralelo. El primero consistió en la aspersión foliar de 0, 0.25 y 0.5% de Fe en acelga, espinaca y col a partir de Fe-EDTA, mientras que el segundo consistió en la aplicación de 0, 0.001 y 0.002% de Se como NaSeO₄ en los mismos cultivos antes mencionados. En ambos experimentos las soluciones foliares estuvieron acompañadas del colorante Fluorescent Brightener 28, cuyo ingrediente activo es el calcoflúor M2R a dosis de 0.1% además de un adherente comercial Tween 20 a dosis de 0.1%. Después de la aspersión foliar, se cosecharon las hojas de cada especie a intervalos 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 12 y 24 h. Las muestras obtenidas, fueron procesadas realizando cortes con un microtomo de congelación a 50 μm de grosor de la parte central de las hojas, los cuales fueron montados en portaobjetos y observados con un microscopio de fluorescencia. Los resultados obtenidos, indican que el comportamiento en la absorción foliar de Fe es distinto cuando se incrementa la concentración de este elemento en la solución foliar; además de un efecto diferencial en la velocidad de absorción foliar por efecto de la aplicación de Se en acelga con respecto a espinaca y col a dosis de 0.001% de Se y en la absorción de Se en acelga y espinaca con respecto a col a dosis de 0.002% de Se. Por otra parte, se concluye que en todas las especies evaluadas en el presente trabajo, tanto para Fe como Se y en cualquiera de las dosis asperjadas, la principal ruta de penetración foliar fue a través de la cutícula y la epidermis foliar.

3.1 INTRODUCCIÓN

La importancia de la fertilización foliar radica en que con ella puede mejorarse la calidad e incrementarse el rendimiento de los cultivos y en que algunos problemas de la fertilización al suelo tales como la inmovilización de algunos elementos que se da bajo

ciertas condiciones, pueden ser resueltos mediante este tipo de fertilización ([Trejo-Téllez et al., 2003](#)).

Las sustancias aplicadas a las hojas pueden entrar por la cutícula o por los estomas ([Fang et al., 2008](#)). La absorción foliar se lleva a cabo en varias etapas; en la primera de ellas, la sustancia que se aplica en la superficie de las hojas penetra a la cutícula y a la pared por difusión libre; posteriormente, la sustancia se introduce vía apoplasto y es absorbida en la membrana plasmática; finalmente las sustancias llegan al citoplasma ([Rodríguez-Mendoza et al., 2007](#); [Fang et al., 2008](#)). La absorción de nutrimentos vía foliar ocurre como resultado de un gradiente que se establece entre la concentración de la disolución aplicada sobre la superficie de la hoja y la correspondiente en el interior de las células de la epidermis. Cuando la cutícula seca se humedece, las moléculas de agua interactúan, mediante puentes de hidrógeno, con los grupos ionizables de las cadenas carbonadas, lo cual provoca que estas últimas se separen formando canales, poros y cavidades que permiten el transporte de nutrimentos, desde la superficie de la hoja hacia las células epidermales ([Murillo et al., 2013](#)).

En el paso de las sustancias al interior de la hoja, la cutícula es la que opone más resistencia, y forma una barrera de 0.5 a 15 μm de grosor, compuesta de pectina, cutina, ceras y celulosa. Conforme avanza la diferenciación de las estructuras vegetales la cutícula se engrosa ([Fernández et al., 2006](#)).

En la absorción mineral a través de las hojas no es única la participación de la cutícula. La planta cuenta con otras estructuras como los estomas, alrededor de los cuales hay espacios intercelulares por los que en forma natural y mediante agentes humectantes, es posible el paso de nutrimentos. En la penetración vía estomas participa la tensión superficial, la humectabilidad, la morfología del poro y la pared celular ([Fernández et al., 2006](#)).

La absorción de micronutrimentos y su transporte a las partes comestibles de las plantas pueden incrementarse por la aplicación foliar de fertilizantes ([Fang et al., 2008](#)). Numerosos estudios han demostrado la factibilidad de incrementar la concentración de micronutrimentos en diversos cultivos aplicando pequeñas cantidades de fertilizantes que contienen el elemento deseado directamente al suelo o vía foliar ([Broadley et al., 2006](#); [Hirschi, 2009](#); [Voogt et al., 2010](#)).

Muchos de los factores involucrados en los procesos de absorción de Fe por las hojas tales como el transporte y distribución dentro de la planta, permanecen inciertos (Fernández *et al.*, 2008).

La respuesta a las aplicaciones foliares de Fe ha sido variable y es diferente del tipo de especie tratada, ambiente y diversos factores físico-químicos, además de existir problemas de reproducibilidad e interpretación de resultados en los estudios de aplicación foliar. Por otra parte, existe poco entendimiento de los factores involucrados en la penetración, translocación y biodisponibilidad de fertilizantes que contienen Fe aplicados a las hojas, lo que hace difícil desarrollar formulaciones foliares efectivas con propósitos agrícolas. En general, la penetración de soluciones de Fe vía foliar es afectada por factores propios de la planta, condiciones ambientales, naturaleza de la solución foliar y método de aplicación. De manera similar, el papel de procesos activos y pasivos involucrados en la penetración y subsecuentes efectos fisiológicos de soluciones de nutrimentos aplicados vía foliar son controversiales (Fernández *et al.*, 2008).

Si bien existe información referente al incremento de la concentración de Fe y Se en diversas especies por efecto de la aplicación foliar de estos elementos, las vías para la absorción de Fe en las hojas son poco conocidas (Fernández y Ebert 2005) y no existe información acerca del mecanismo de absorción foliar específico para selenio.

La determinación de las rutas de penetración foliar con Fe y Se favorece el desarrollo de conocimiento acerca del comportamiento de ambos elementos en la hoja que permita el desarrollo de estrategias de fertilización foliar con el fin de corregir sus deficiencias nutrimentales o promover un incremento de estos elementos en el tejido vegetal con fines de biofortificación.

Por lo anterior, el objetivo de la presente investigación fue determinar rutas y tiempos de penetración de Fe y Se a nivel foliar en los cultivos de acelga, espinaca y col por medio de la tinción con calcoflúor en la solución fertilizante.

3.2 MATERIALES Y MÉTODOS

El material vegetal consistió de plántulas de acelga (*Beta vulgaris* L.) cv. Food Hook Giant, espinaca (*Spinacia oleracea* L.) var. Imperial y col (*Brassica oleracea*) var. Blue vantage, las cuales fueron sembradas en charolas de unisel y trasplantadas después de

un mes en vasos de este mismo material (**Figura 3.1**). En ambos recipientes se utilizó como sustrato una mezcla de 75% turba y 25% perlita.



Figura 3.1 Plantas de acelga, espinaca y col establecidas en charolas de unicel (a la izquierda) y plántulas de acelga y col creciendo en vasos de unicel (a la derecha).

A partir de los 15 días después de la siembra las plantas fueron suministradas con solución nutritiva Steiner al 50% ([Steiner, 1984](#)), con pH entre 5.5 y 5.8. La adición de micronutrientes en la solución nutritiva se realizó a partir del producto comercial TRADECORP AZ.

Se desarrollaron dos experimentos en paralelo. El primero de ellos, consistió en la aspersión foliar de 0, 0.25 y 0.5% de Fe en acelga, espinaca y col a partir de Fe-EDTA y el segundo experimento consistió en la aplicación de 0, 0.001 y 0.002% de Se como NaSeO_4 en los mismos cultivos antes mencionados. La aplicación de Se fue realizada utilizando el reactivo selenato de sodio (Sigma-Aldrich) y la adición de Fe a través de Fe-EDTA. En ambos experimentos las soluciones foliares estuvieron acompañadas del colorante Fluorescent Brightener 28 cuyo ingrediente activo es el calcoflúor M2R a dosis de 0.1% además de estar acompañadas por un adherente comercial Tween 20 a dosis de 0.1%. Se utilizaron plantas de las especies ya mencionadas asperjadas solo con agua destilada con el adherente como tratamiento testigo.

La aplicación de las soluciones foliares descritas se realizó a las 6:30 h en plántulas de acelga, espinaca y col (**Figura 3.2**). Posterior a la aplicación foliar, se cosecharon un promedio de 3 hojas de cada especie a diferentes tiempos (0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 12 y 24

h) y se guardaron dentro de una bolsa de polietileno color negro en un refrigerador a 2 °C para su posterior procesamiento.



Figura 3.2 Aplicación de la solución foliar a una plántula de espinaca, usando un aspersor de 500 mL de capacidad.

Las muestras obtenidas fueron procesadas utilizando un micrótopo de congelación (marca American Optical, modelo 880) y se realizaron cortes a 50 μm de grosor en la parte central de las hojas, los cuales fueron montados en portaobjetos y observados con un microscopio de fluorescencia (marca Carl Zeiss modelo Axio Scope) (**Figura 3.3**).

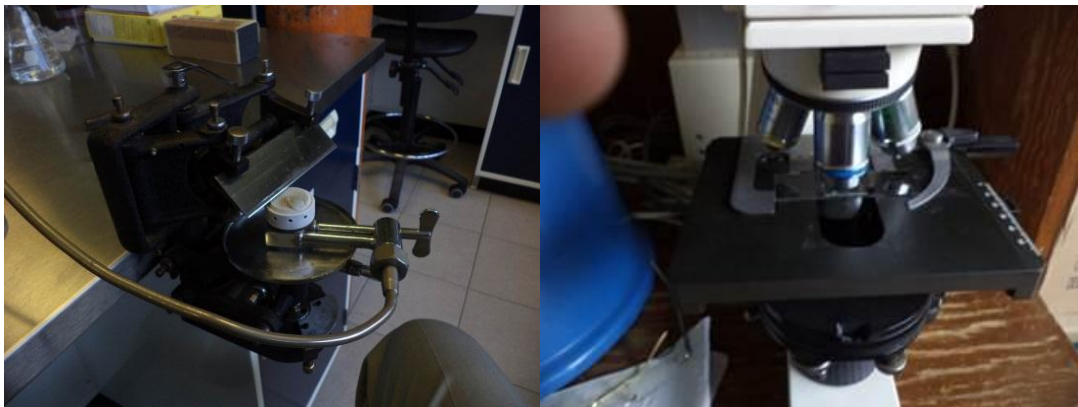


Figura 3.3 Equipo de laboratorio utilizado en la visualización de rutas de penetración. Microtopo de congelación a la izquierda y microscopio de fluorescencia a la derecha.

3.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.3.1 Aspersión foliar a 0.25% de Fe

Los cortes de las hojas asperjadas solamente con la formulación foliar no presentaron fluorescencia, excepto algunos puntos muy tenues propios de la los tejidos de la planta (**Figuras A de 3.5 a 3.15**).

Se observó que a dosis de 0.25% de Fe, en espinaca, acelga y col, la mayor parte de la solución foliar se encontraba entre la cutícula y la epidermis de la hoja a los 15 min después de la aplicación (**Figuras 3.4B, 3.5B y 3.6B**, respectivamente). Posteriormente, en este mismo tratamiento (0.25% de Fe), se obtuvo una mayor distribución de la solución foliar dentro del parénquima de la hoja a los 30 y 60 min después de la aspersión (**Figuras 3.4C y 3.4D, 3.5C y 3.5D, 3.6C y 3.6D**, respectivamente).

Después de 2 h de la aplicación se observó que el fertilizante fue absorbido y solo había una menor fluorescencia en la epidermis de la hoja, la cual desapareció completamente a las 4 h después de la aplicación.

Los resultados obtenidos muestran que en las especies estudiadas las principales rutas de penetración foliar son la cutícula y la epidermis foliar (**Figuras 3.4, 3.5 y 3.6**).

Las células de la epidermis son el tejido protector que cubre la superficie de la planta, protegiéndola de pérdidas excesivas de agua por transpiración, así como de la pérdida excesiva de solutos (Wójcik, 2004). Estas células de la epidermis secretan la sustancia denominada cutina, un polímero compuesto por ácidos grasos que dan origen a una capa lipofílica llamada cutícula, la cual juega un papel central en las relaciones hídricas de la planta y la interacción de la hoja con elementos externos (Murillo *et al.*, 2013).

Existen dos posibles canales de penetración foliar, uno es a través de la cutícula que es mayormente aceptado como la principal ruta de penetración foliar y a través de los estomas, donde los solutos pueden ser absorbidos directamente por las hojas (Oosterhuis, 2009).

Algunos autores mencionan que los iones también pueden ser absorbidos a través de los estomas, ruta que se facilita cuando los estomas se encuentran abiertos (Fageria *et al.*, 2009).

La importancia de los estomas con respecto a la penetración de productos químicos aplicados a las hojas sigue siendo poco clara, aunque hay evidencia de que puede

constituir una ruta alternativa para la captación de aplicaciones foliares ([Fernández et al., 2006](#)). Sin embargo, en la presente investigación los estomas no mostraron ser una ruta de penetración foliar de Fe y Se en los cultivos de acelga, espina y col.

Según [Oosterhuis \(2009\)](#) es importante considerar que existen diferencias en los patrones de absorción foliar que dependen de la etapa de crecimiento vegetal y de la demanda nutrimental de cada especie. De la misma manera, [Fageria et al. \(2009\)](#) mencionan que existe una respuesta diferencial en la fertilización foliar dependiendo del cultivo y nutrimento aplicado.

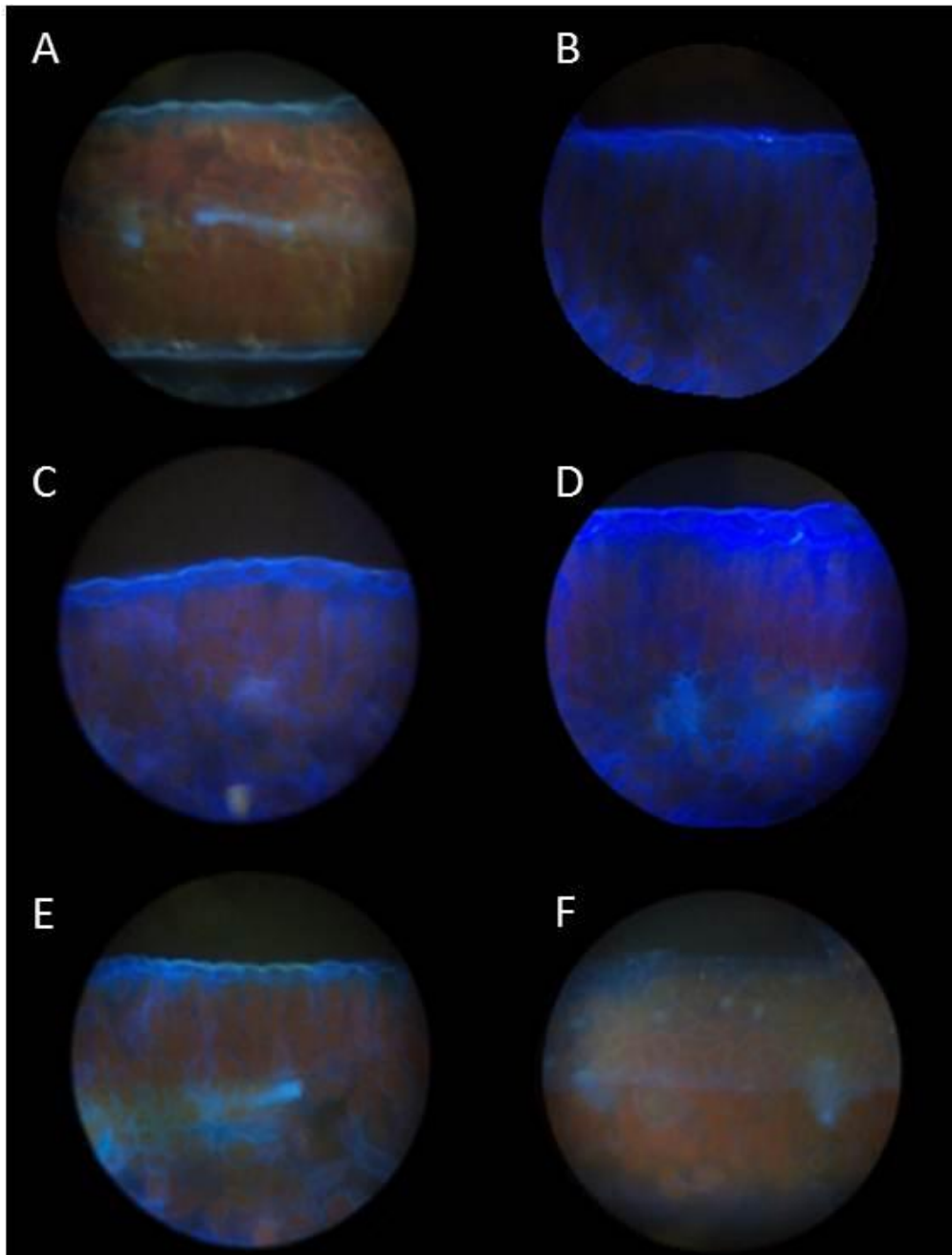


Figura 3.4 Cortes transversales de hojas de espinaca asperjadas con una solución foliar con Fe al 0.25% y calcoflúor al 0.1%. Testigo (A), 15 min (B), 30 min (C), 1 h (D), 2 h (E) y 4 h (F) después de la aspersión.

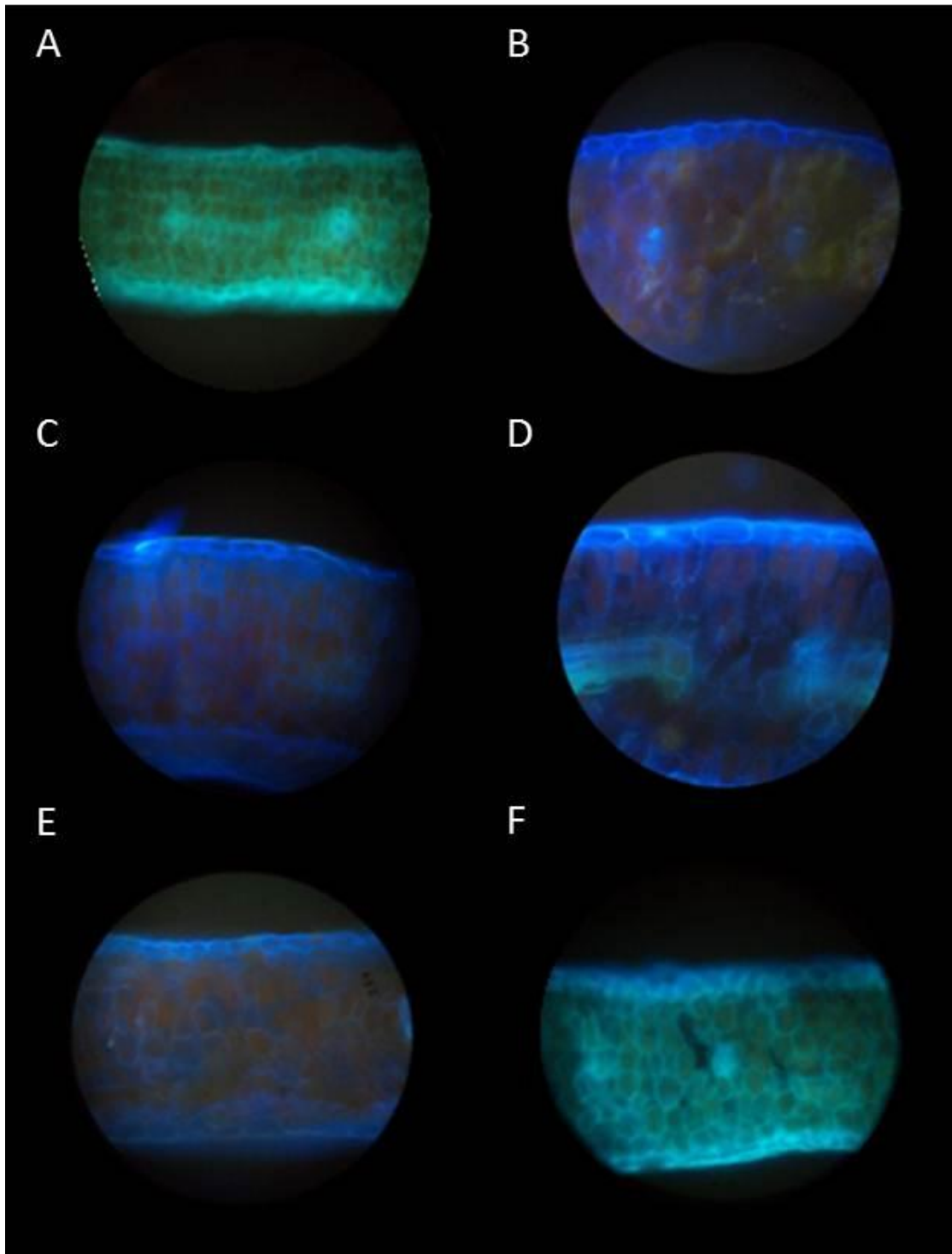


Figura 3.5 Cortes transversales de hojas de acelga asperjadas con una solución foliar al 0.25% de Fe y calcoflúor al 0.1%. Testigo (A), 15 min (B), 30 min (C), 1 h (D), 2 h (E) y 4 h (F) después de la aspersión.

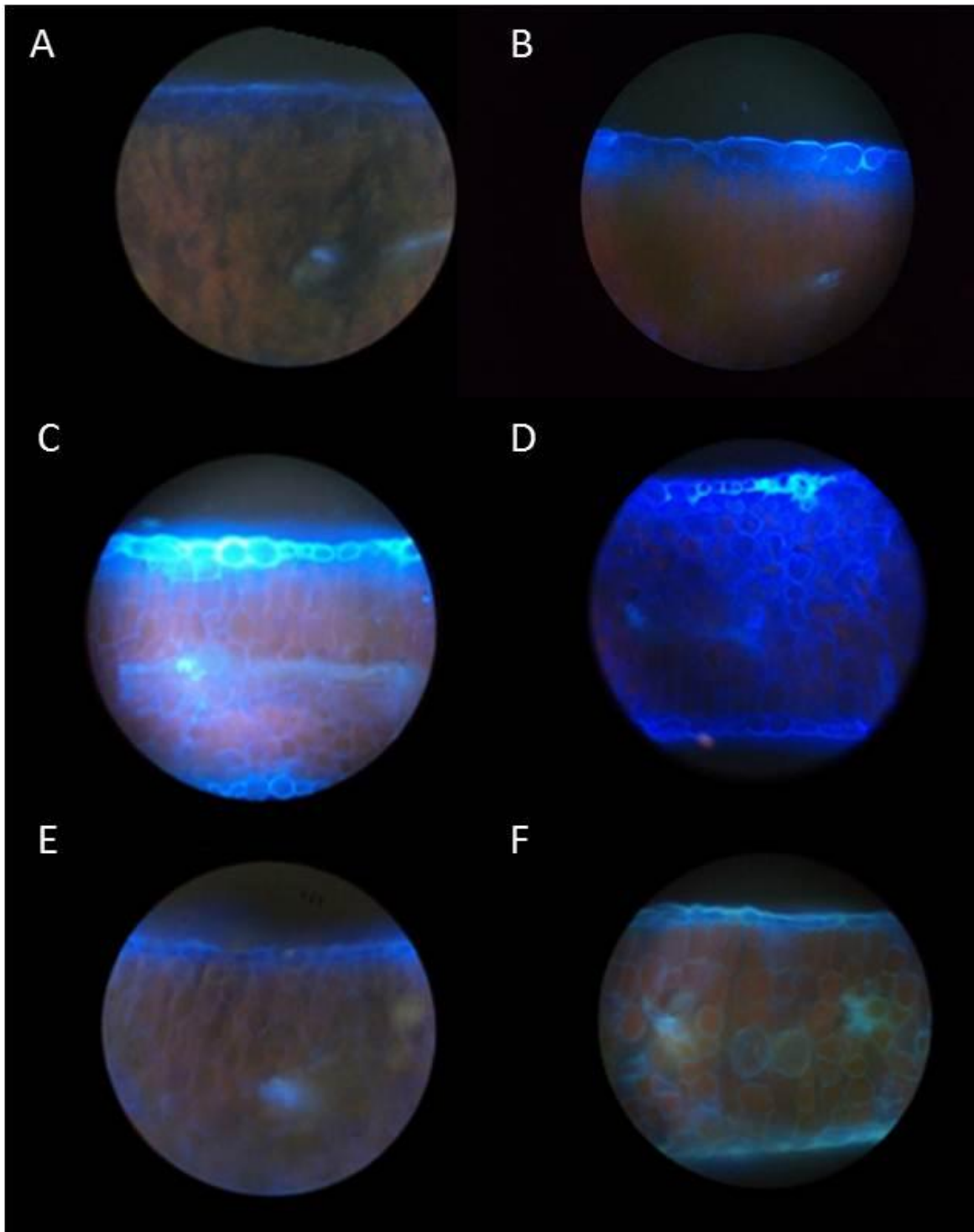


Figura 3.6 Cortes transversales de hojas de col asperjadas con una solución foliar al 0.25% de Fe y calcoflúor al 0.1%. Testigo (A), 15 min (B), 30 min (C), 1 h (D), 2 h (E) y 4 h (F) después de la aspersión.

3.3.2 Aspersión foliar a 0.5% de Fe

En las plántulas de acelga, espinaca, y col después 15 min de la aspersión foliar, al igual que con la concentración de 0.25% de Fe, la mayor parte de la solución se concentró entre la cutícula y la epidermis de estas especies (**Figuras 3.7B, 3.8B y 3.9B, respectivamente**). Además, se observó que la mayor distribución de la solución foliar dentro de las estructuras de la hoja, se obtuvo entre los 30 min y 2 h después de la aplicación.

La absorción de Fe mostró diferencias de acuerdo a su concentración en la solución foliar y entre especies. En espinaca, por efecto de la aplicación de Fe a concentraciones de 0.5% vía foliar, se observó que todavía a las 8 h después de la aplicación existía fluorescencia en el tejido foliar (**Figura 3.7G**), la cual desapareció a las 12 h (**Figura 3.7H**). En el caso de acelga, la fluorescencia en el tejido foliar se observó solo hasta 2 h después de la aplicación foliar (**Figura 3.8E**). Sin embargo, para col, ésta permaneció visible hasta 4 h después de haberse aplicado (**Figura 3.9F**).

[Schonherr et al. \(2005\)](#) encontraron que la permeabilidad de las membranas cuticulares de *Populus x canescens* disminuyó con el aumento de las concentraciones de quelatos de Fe, sugiriendo que el Fe quelatado podría en sí mismo reducir el tamaño de poros acuosos.

Las ceras cuticulares son un componente externo e hidrofóbico y su estructura limita la penetración de agua y de iones a través de la membrana ([Wójcik, 2004](#)), lo que puede afectar de manera significativa la permeabilidad cuticular. Es considerado que muchos factores tales como la especie, el clima, el tipo de ión aplicado, carga iónica, radio iónico, método de aplicación etc. pueden afectar la respuesta a la fertilización foliar de los cultivos ([Fragaria et al., 2009](#)).

A pesar de la evidente importancia de la fertilización foliar en el crecimiento de la planta y la producción ([Bratasevec et al., 2013](#)), el conocimiento acerca de las rutas de absorción de Fe en las hojas, hasta el momento se encuentra pobremente desarrollado ([Fernández y Ebert, 2005](#)). Además, no existen muchos datos disponibles en la literatura referente a los efectos provocados por los elementos aplicados foliarmente ([Bratasevec et al., 2013](#)).

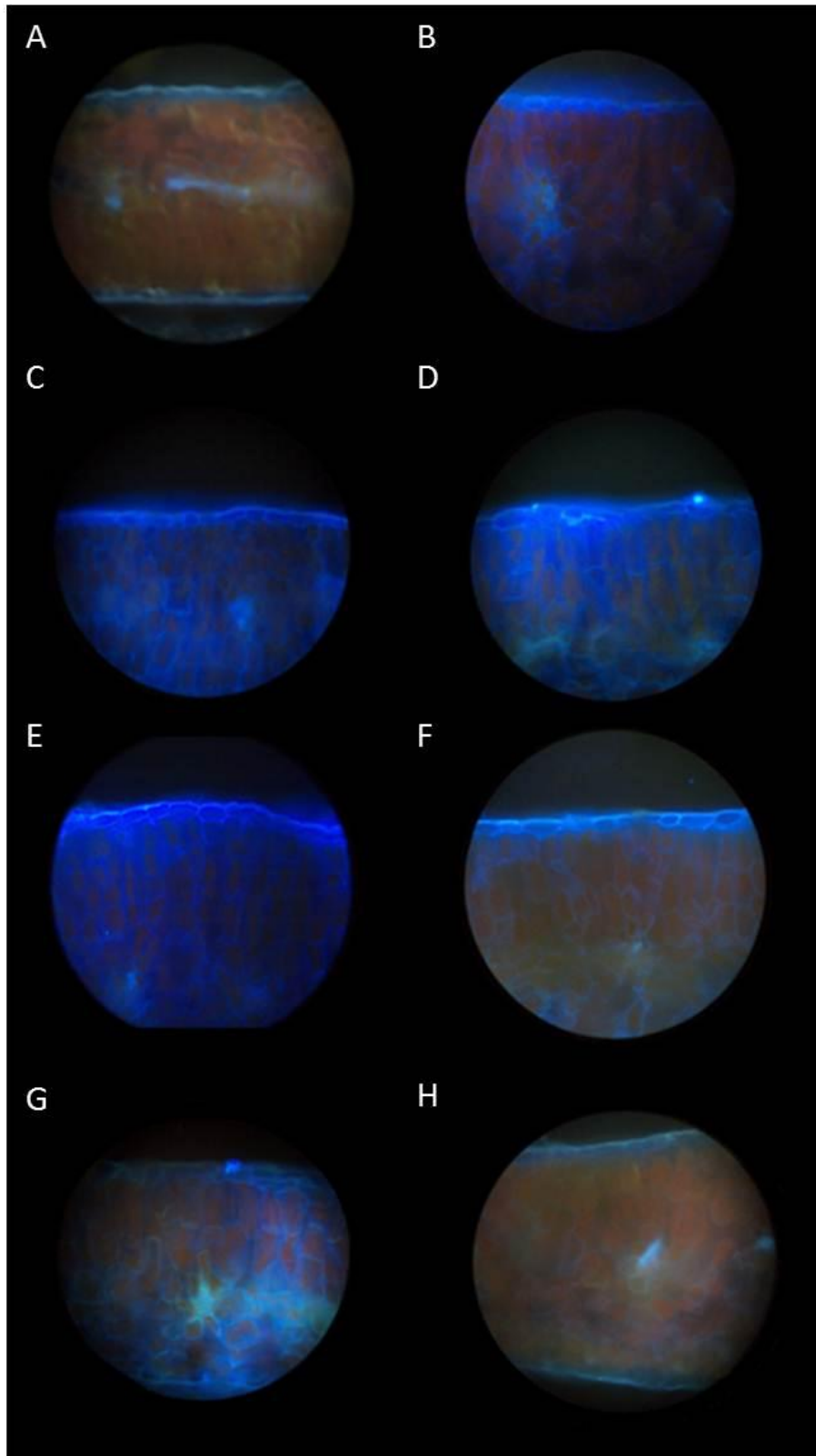


Figura 3.7 Cortes transversales de hojas de espinaca asperjadas con una solución foliar al 0.5% de Fe y calcoflúor al 0.1%. Testigo (A), 15 min (B), 30 min (C), 1 h (D), 2 h (E) 4 h (F), 8 h (G), 12 h (H) después de la aspersión.

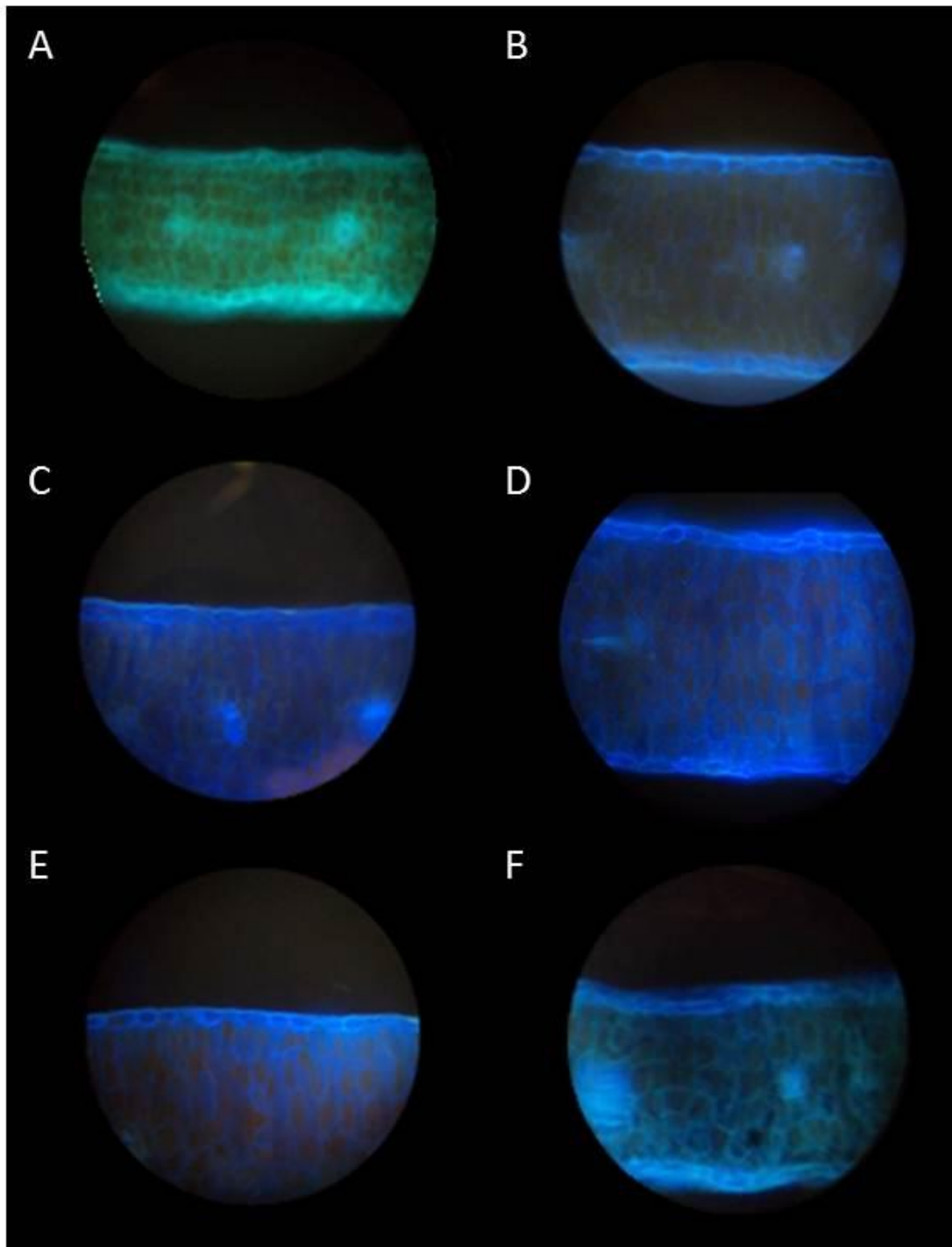


Figura 3.8 Cortes transversales de hojas de acelga asperjadas con una solución foliar al 0.5% de Fe y calcoflúor al 0.1%. Testigo (A), 15 min (B), 30 min (C), 1 h (D), 2 h (E) 4 h (F) después de la aspersión.

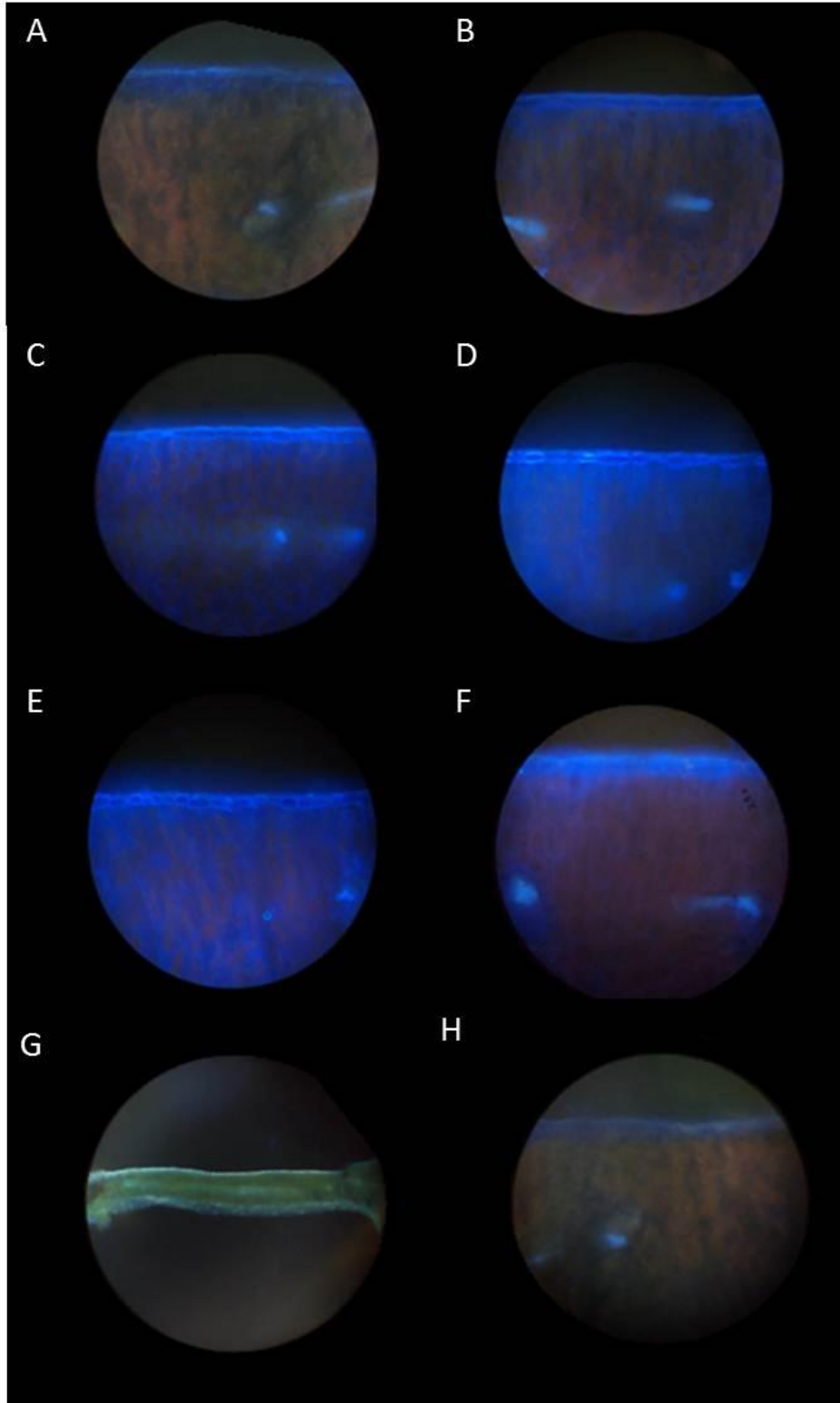


Figura 3.9 Cortes transversales de hojas de col asperjadas con una solución foliar al 0.5% de Fe y calcoflúor al 0.1%. Testigo (A), 15 min (B), 30 min (C), 1 h (D), 2 h (E) 4 h (F), 8 h (G y H) después de la aspersión.

3.3.3. Aspersión foliar a 0.001% de Se

Por efecto de la aspersión foliar de Se en hojas de espinaca (**Figura 3.10**), se observó que la absorción foliar fue relativamente rápida y fue en promedio a las 2 h después de la aspersión, momento en el cual el fertilizante se había absorbido completamente (**Figuras 3.10E y 3.10F**).

En acelga la solución foliar permaneció por más tiempo en las hojas (**Figura 3.11**), y se observó una absorción completa alrededor de las 4 h después de la aspersión (**Figura 3.11F**).

En col, la absorción de Se fue más rápida, observándose incluso 1 h después de la aplicación. A los 15 min después de la aplicación, la solución fertilizante se encontraba a nivel de la epidermis (**Figura 3.12B**), y posteriormente se distribuyó en todo el mesófilo a los 30 y 60 min (**Figuras 3.12C y 3.12D**) y, finalmente fue absorbido por completo a las 2 h (**Figuras 3.12E y 3.12F**).

Es importante considerar que la morfología de la estructura de la hojas de acelga, espinaca y col es distinta, lo cual parece ser la razón principal por la que la absorción y movilidad a nivel foliar es diferente entre especies ([González, 2011](#)).

De acuerdo con [González et al. \(1999\)](#), la adherencia y penetración son procesos afectados por dos grupos de factores: el primero, se refiere a las condiciones ambientales y de la planta durante el crecimiento; y el segundo grupo a aquellos que intervienen durante y después la aplicación y que están ligados a las condiciones meteorológicas durante la aplicación, las características del tratamiento y la formulación. Las características físico-químicas del nutrimento aplicado tales como el tamaño y su polaridad controlan la tasa de absorción. La principal barrera que el nutrimento debe atravesar es la cutícula, la cual está compuesta de ceras ([Murillo et al., 2013](#)).

En los resultados observados en esta investigación se obtuvo que la absorción foliar de Se ocurrió a nivel de cutícula y a través de la epidermis.

[Murillo et al. \(2013\)](#) mencionan que la absorción de nutrimentos a través de los estomas es poco probable, y que la mayor absorción se da en la cutícula por su mayor capacidad de intercepción de las gotas, su elevada superficie de contacto y su composición química. La dificultad de la absorción por los estomas es debido a que el contacto gota-estoma es mínimo, ya que las gotas son más grandes que la apertura estomática, y el

agua tiene alta tensión superficial. Adicionalmente, la difusión del soluto tendría que ocurrir mayoritariamente de una fase líquida a una gaseosa, lo que se considera poco probable.

[Marschner \(1995\)](#) indica que se desconoce que exista penetración directa de los solutos existentes en la superficie de la hoja a través de la apertura estomatal, debido a que la capa cuticular recubre la superficie de las células guarda en las cavidades estomatales. Además, las tasas de absorción de iones son usualmente más altas en la noche cuando los estomas están cerrados.

Por su parte, para [Eichert y Goldbach \(2008\)](#) la presencia de estomas puede promover significativamente la absorción de solutos, especialmente bajo condiciones que favorecen la apertura estomatal y se asume que las soluciones foliares aplicadas simplemente son infiltradas por dinámica de flujo de masas.

El nutrimento es transportado a través de las diferentes capas de la hoja, donde supera una serie de barreras naturales, hasta llegar a las células epidermales. Con el objetivo de maximizar la eficiencia del proceso de absorción de nutrimentos a nivel foliar, es necesario considerar tanto las características de la cutícula y epidermis de la planta, como las características fisico-químicas de los fertilizantes a utilizar, de tal forma que se favorezca la penetración de éstos a través de la epidermis ([Murillo *et al.*, 2013](#)).

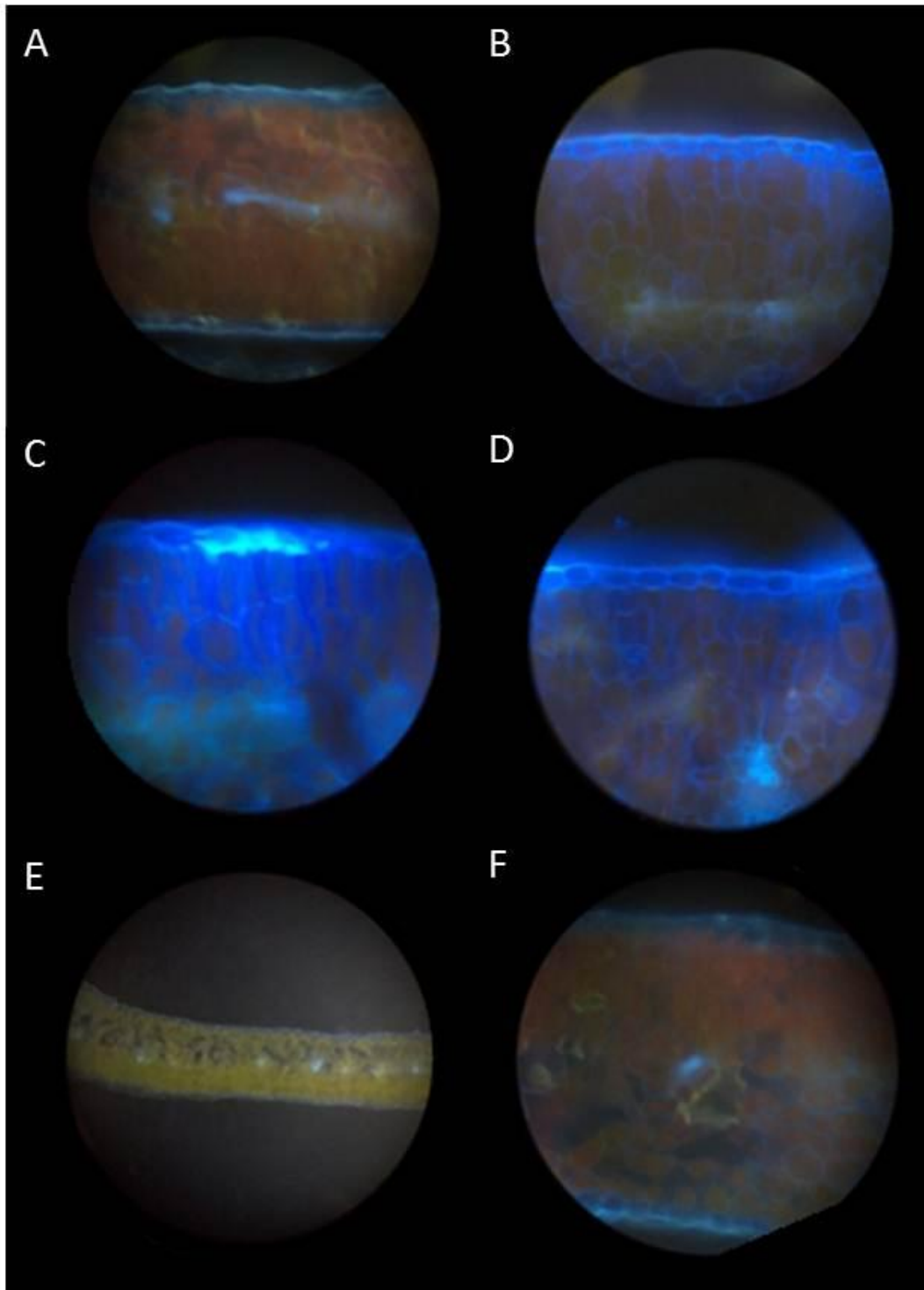


Figura 3.10 Cortes transversales de hojas de espinaca asperjadas con una solución foliar al 0.001% de Se y calcoflúor al 0.1%. Testigo (A), 15 min (B), 30 min (C), 1 h (D), 2 h (E y F) después de la aspersión.

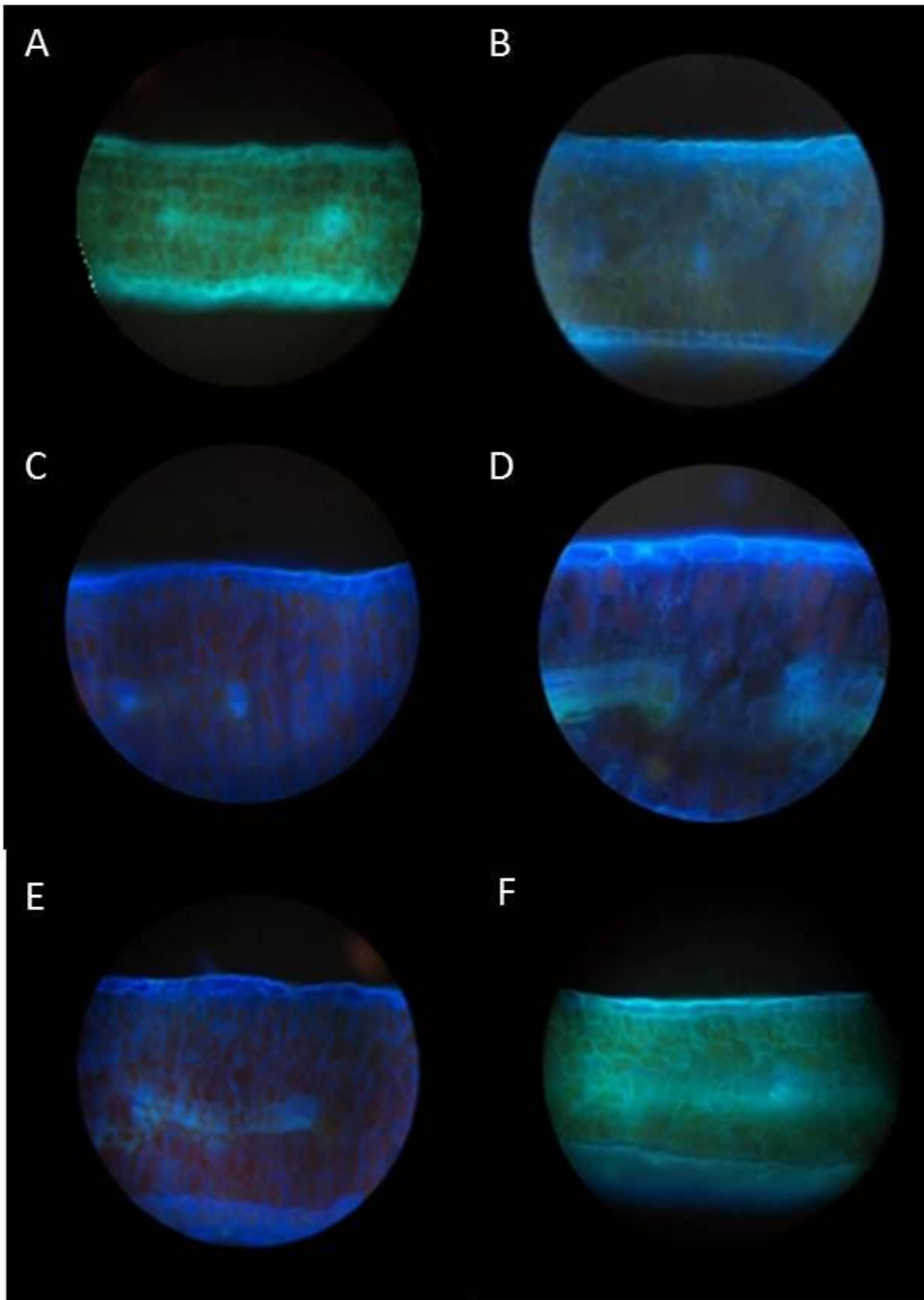


Figura 3.11 Cortes transversales de hojas de acelga asperjadas con una solución foliar al 0.001% de Se y calcoflúor al 0.1%. Testigo (A), 15 min (B), 30 min (C), 1 h (D), 2 h (E y F) después de la aspersión.

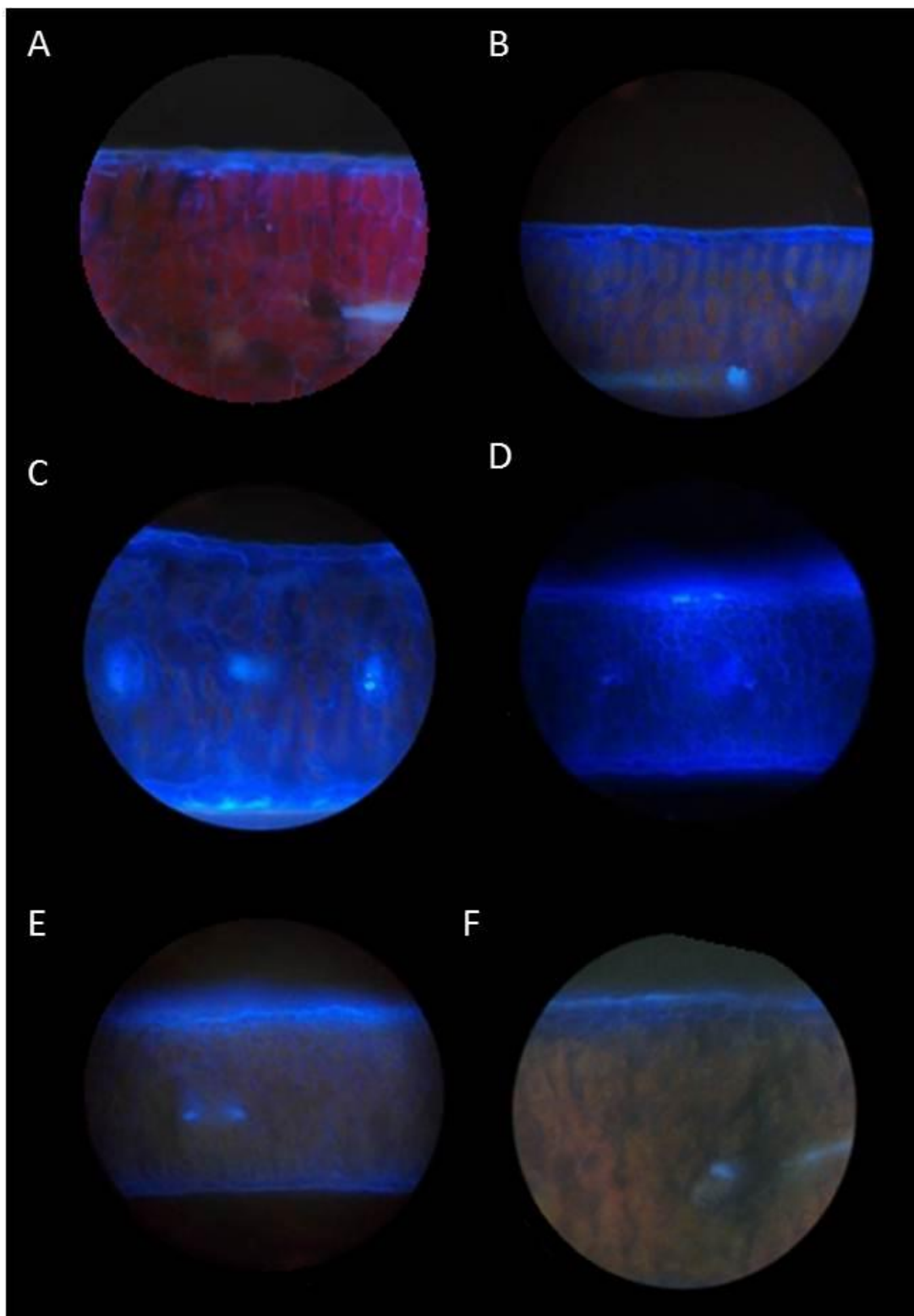


Figura 3.12 Cortes transversales de hojas de col asperjadas con una solución foliar al 0.001% de Se y calcoflúor al 0.1%. Testigo (A), 15 min (B), 30 min (C), 1 h (D), 2 h (E) y 4 h (F) después de la aspersión.

3.3.4 Aspersión foliar a 0.002% de Se

La penetración foliar se observó a los 30 min después de la aplicación en las plantas de acelga, espinaca y col tratadas con 0.002% de Se (**Figuras 3.13, 3.14 y 3.15**). A partir de ese momento, la fluorescencia en el tejido foliar de las tres especies analizadas disminuyó sobre todo en espinaca y acelga, pero en col, la fluorescencia disminuyó a partir de las 2 h de aspersión, lo cual se relaciona con el tiempo en el que el fertilizante es absorbido por las células del parénquima. También se encontró que el fertilizante fue absorbido por completo hasta después de las 4 h (**Figuras 3.13, 3.14 y 3.15**) de manera similar en las tres especies evaluadas.

Para determinar las rutas de penetración foliar en plantas de orquídea (*Cymbidium sp*), García *et al.* (2007) utilizando como fertilizante foliar NPK 10-10-10 más colorante calcoflúor, observaron que el fertilizante se acumuló en la cutícula a los 30 min después de haberse realizado la aplicación y encontraron que el fertilizante se distribuyó en todas las células del parénquima a los 90 y 120 min después de la aplicación.

Por su parte, Nava *et al.* (2004) en plantas de cebolla (*Allium cepa* L.) tratadas con urea foliar más calcofluor, obtuvieron una completa desaparición de la fluorescencia, relacionada con el tiempo en que se dio la absorción foliar, diez horas después de la aplicación.

De acuerdo con Nava *et al.* (2004), la penetración de los nutrimentos tiene tres posibles rutas. En la primera de ellas, los iones son traslocados a los espacios libres del tejido vascular para su almacenamiento en el floema o transporte a los sitios de demanda. La segunda, involucra el transporte activo a través del simplasto vía plasmodesmos. La tercera implica la posibilidad de quedar almacenado dentro de la célula para un uso posterior.

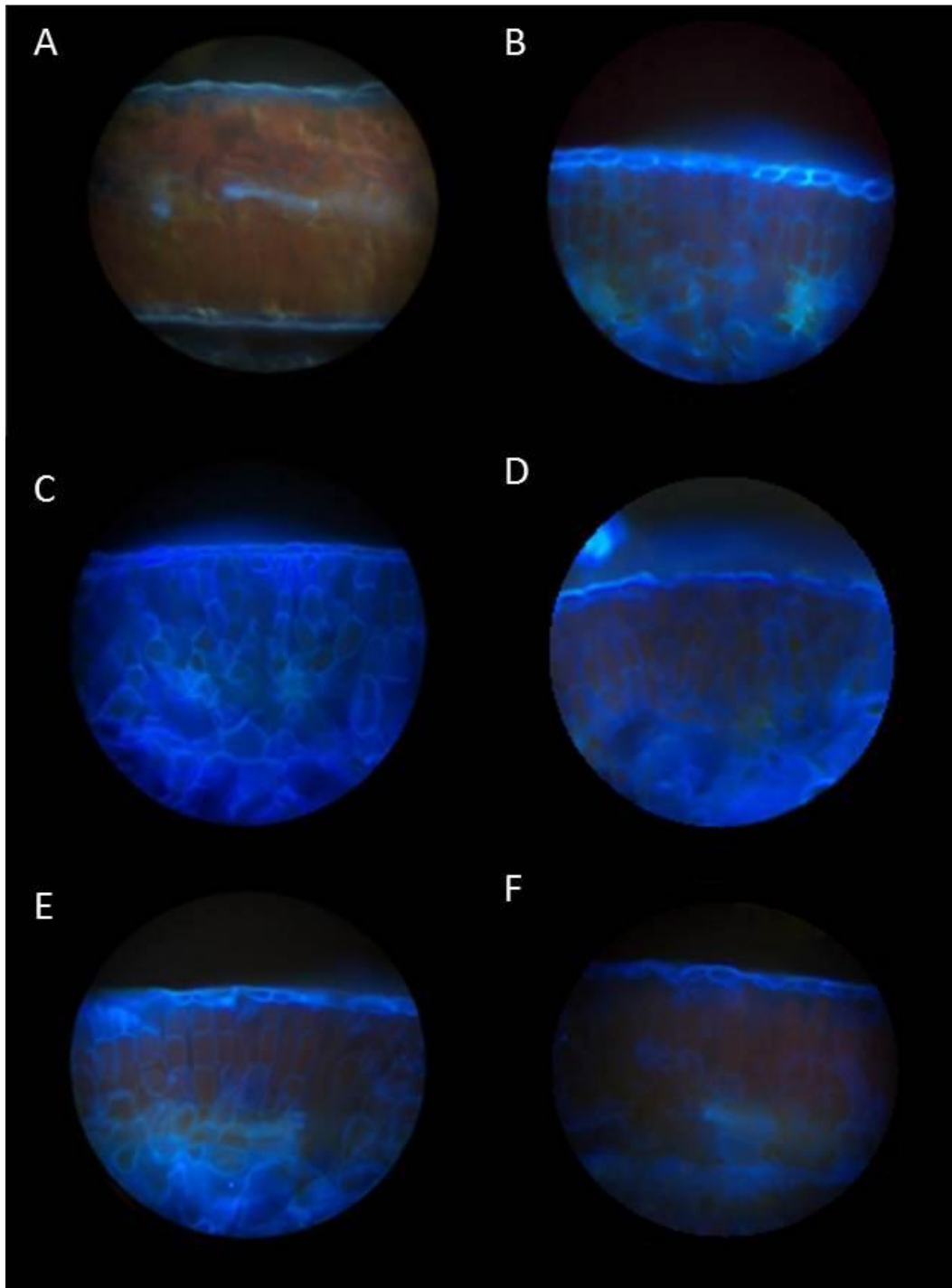


Figura 3.13 Cortes transversales de hojas de espinaca asperjadas con una solución foliar al 0.002% de Se y calcoflúor al 0.1%. Testigo (A), 15 min (B), 30 min (C), 1 h (D), 2 h (E) y 4 h (F) después de la aspersión.

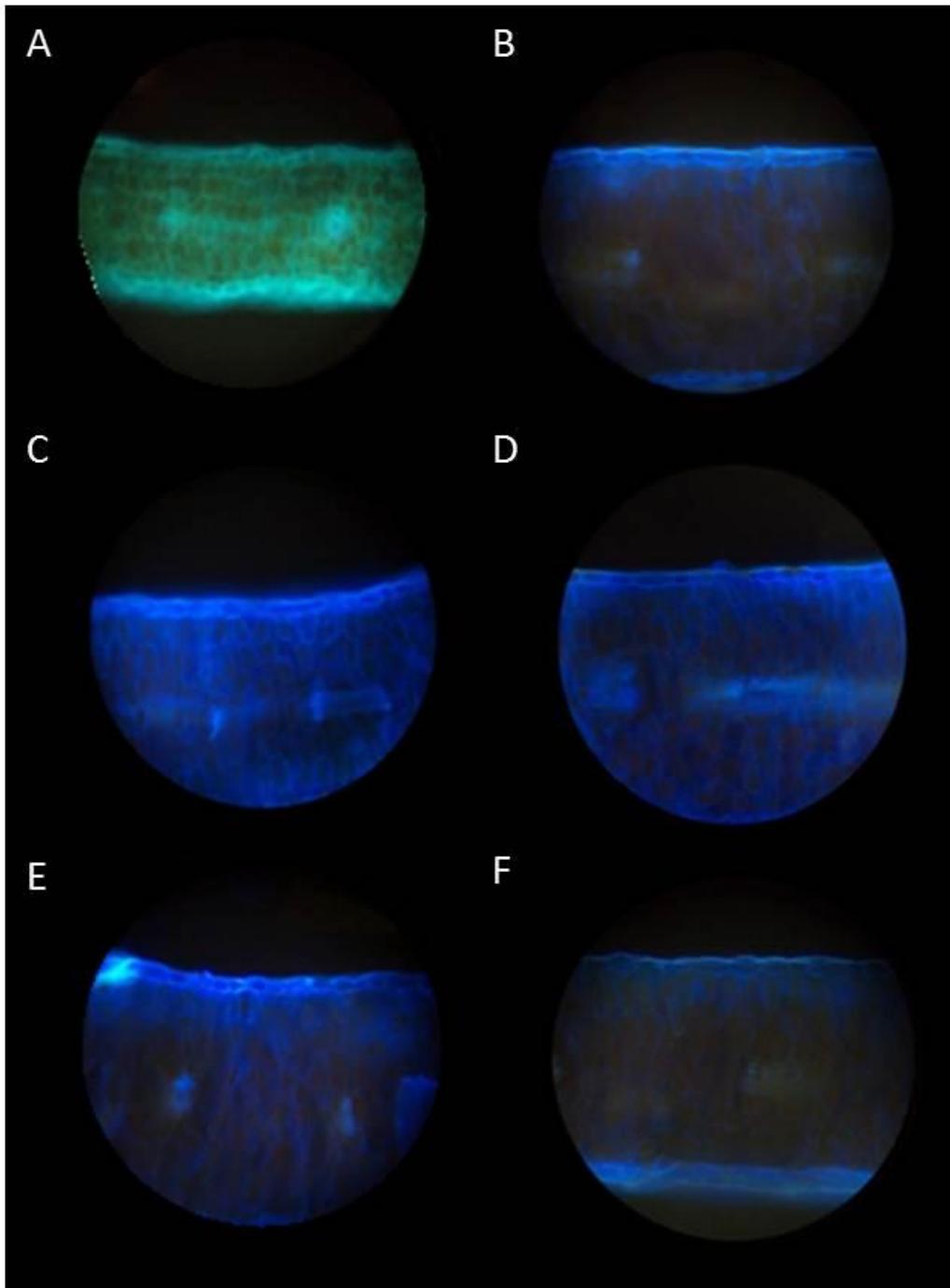


Figura 3.14 Cortes transversales de hojas de acelga asperjadas con una solución foliar al 0.002% de Se y calcoflúor al 0.1%. Testigo (A), 15 min (B), 30 min (C), 1 h (D), 2 h (E) y 4 h (F) después de la aspersión.

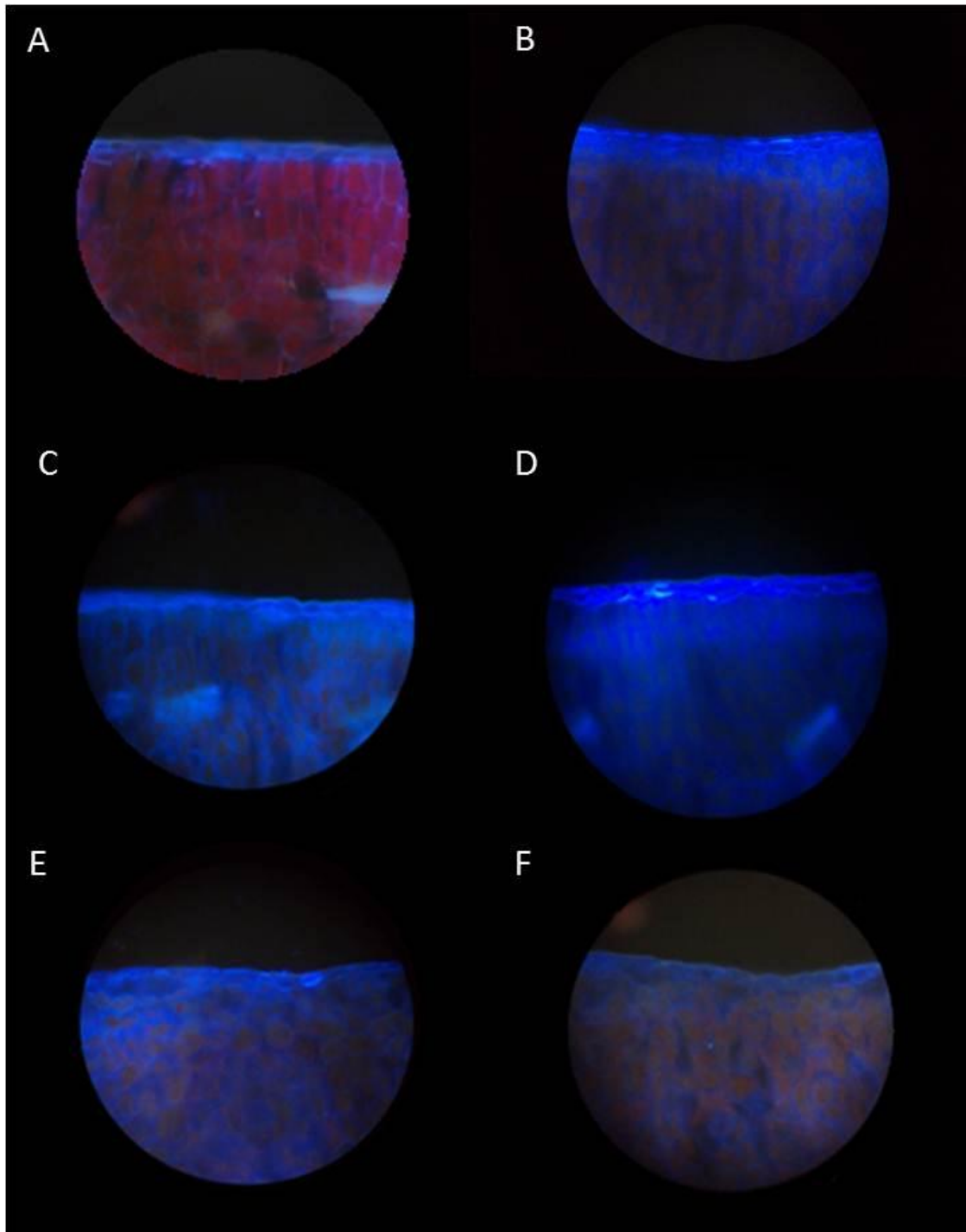


Figura 3.15 Cortes transversales de hojas de col asperjadas con una solución foliar al 0.002% de Se y calcoflúor al 0.1%. Testigo (A), 15 min (B), 30 min (C), 1 h (D), 2 h (E) y 4 h (F) después de la aspersión.

3.4 CONCLUSIONES

La absorción foliar de hierro, es diferencial entre los tres cultivos, sin embargo el mayor tiempo de absorción se presentó cuando se aplicó 0.5% de Fe.

Con la aplicación de selenio, se presentó diferente velocidad de absorción entre la espinaca, acelga y col en dosis de 0.001%.

En las tres especies evaluadas, tanto para Fe como Se, en cualquiera de las dosis aplicadas, la principal ruta de penetración foliar es a través de la cutícula y la epidermis foliar.

3.5. LITERATURA CITADA

- Bratasevec K, Sivilotti P, Vodopivec BM. 2013. Soil and foliar fertilization affects mineral contents in *Vitis vinifera* L. cv. 'rerula' leaves. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 13(3): 650-663.
- Broadley RM, White PJ, Bryson RJ, Meacham MC, Bowen HC, Johnson SE, Hawkesford MJ, McGrath SP, Zhao FJ, Breward N, Harriman M, Tucker M. 2006. Biofortification of UK food crops with selenium. *Proceedings of the Nutrition Society* 65: 169-181.
- Eichert T, Goldbach HE. 2008. Equivalent pore radii of hydrophilic foliar uptake routes in stomatous and astomatous leaf surfaces—Further evidence for a stomatal pathway. *Physiologia Plantarum* 132: 491-502.
- Fageria NK, Barbosa FM, Moreira A, Guimaraes CM. 2009. Foliar fertilization of crop plants. *Journal of Plant Nutrition* 6: 1044-1064.
- Fang Y, Wang L, Xin Z, Zhao L, An X, Hu Q. 2008. Effect of foliar application of zinc, selenium, and iron fertilizers on nutrients concentration and yield of rice grain in China. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56: 2079-2084.
- Fernández V, Del Río V, Abadía J, Abadía A. 2006. Foliar Iron fertilization of Peach (*Prunus persica* L.) Batsch: Effects of iron compounds, surfactants and other adjuvants. *Plant and Soil* 289: 239-252.
- Fernández V, Ebert G. 2005. Foliar iron fertilization: A critical review. *Journal of Plant Nutrition* 28: 2113-2124.
- Fernández V, Orera I, Abadía J, Abadía A. 2008. Foliar iron-fertilization of fruit trees: present knowledge and future perspectives-A review. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 84: 1-6.
- González GC. 2011. Fertilización foliar con boro en aguacatero (*Persea americana* Mill). Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México. 63 p.
- González GJ, Menéndez JC, De Prado A. 1999. Factores que afectan la eficiencia del glifosato. *Revista Agropecuaria* 86: 146-149.

- Hirschi KD. 2009. Nutrient biofortification of food crops. *Annual Review of Nutrition* 29: 401-421.
- Marschner H. 1995. Mineral nutrition of higher plants. 2th edition. Elsevier Academia Press. USA. 7-8 pp.
- Murillo-Castillo RG, Piedra-Marín G, León RG. 2013. Absorción de nutrientes a través de la hoja. *Uniciencia* 27: 232-244.
- Nava-Sánchez R, Almaguer-Vargas G, Pérez-Grajales M, Maldonado-Torres R, Cárdenas-Soriano E. 2004. Fertilización foliar en cebolla. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 10(2): 159-163.
- Oosterhuis D. 2009. Foliar fertilization: mechanisms and magnitude of nutrient uptake. In *Proc. Fluid fertilizer foundation meeting in Scottsdale, Arizona*. pp. 15-17.
- Rodríguez-Mendoza, MN, Trejo-Téllez LI, Alcántar-González GA. 2007. Fertilización foliar. *In: Alcántar GG, Trejo-Téllez LI. (eds.). Nutrición de cultivos Ed. Mundi Prensa, México*. pp. 160-199.
- Schonherr J, Fernández V, Schreiber L. 2005. Rates of cuticular penetration of chelated FeIII: Role of humidity, concentration, adjuvants, temperature and type of chelate. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 53: 4484-4492.
- Steiner A. 1984. The universal nutrient solution. *In: I.S.O.S.C. Proceedings 6th International Congress on Soilless Culture. The Netherlands*. 633-649 pp.
- Trejo-Téllez LI, Rodríguez-Mendoza MN, Alcántar-González G, Vázquez-Alarcón A. 2003. Fertilización foliar específica para corregir deficiencias nutrimentales en tres tipos de suelo. *Terra Latinoamericana* 21: 365-372.
- Voogt W, Holwerda HT, Khodabaks R. 2010. Biofortification of lettuce (*Lactuca sativa* L.) with iodine: The effect of iodine form and concentration in the nutrient solution on growth, development and iodine uptake of lettuce grown in water culture. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 90: 906-913.
- Wójcik P. 2004. Uptake of mineral nutrients from foliar fertilization. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research* 12: 202-218.