

Universidad Nacional del Litoral

Facultad de Ciencias Agrarias



Tesis para la obtención del Grado Académico
de Magister en Cultivos Intensivos

DESARROLLO DE PLANTINES DE LECHUGA RESISTENTES A ESTRÉS BIÓTICO POSTRASPLANTE MEDIANTE LA SUPLEMENTACIÓN CON SELENIO

Ing.Agr. Natalia Mariela Sendra

Director de Tesis: Dr. Fernando Muñoz (CONICET)

Co-Directora de Tesis: Dra. Florencia Urteaga Omar (FCA-UNER)

-2025-

INDICE

RESUMEN	4
ABSTRACT.....	5
1. INTRODUCCION.....	6
1.1 Contexto de la producción hortícola.....	6
1.3 Estrés Biótico en plantines.....	7
1.4 Rol del selenio en la defensa de las plantas.....	8
2. HIPOTESIS.....	11
3. OBJETIVOS	11
3.1 OBJETIVO GENERAL.....	11
3.2 OBJETIVOS PARTICULARES.....	11
4. MATERIALES Y METODOS	12
4.1. Obtención de plantines de lechuga de alta calidad mediante la adición de selenio.	12
4.1.2 Suplementación con selenio.	12
4.1.3 Evaluación de parámetros fisiológicos.....	12
4.1.3.1 Medición de la actividad radical mediante el método de tetrazolio (TTC).....	13
4.1.3.2 Determinación del contenido de clorofila.	14
4.1.3.3 Determinación de la actividad antioxidante de la enzima catalasa	14
4.1.3.4 Determinación del contenido de compuestos fenólicos	14
4.2 Evaluación del comportamiento de los plantines producidos con adición de selenio frente al estrés biótico postrasplante causado por cepas fúngicas fitopatógenas.....	15
4.2.1 Microorganismos.....	15
4.2.2 Evaluación de la respuesta <i>in vivo</i> de los plantines suplementados con selenio frente al estrés biótico durante el postrasplante.....	15
4.3 Impacto de la aplicación de selenio en plantines sobre parámetros productivos y nutricionales en lechugas trasplantadas.....	16
4.3.1 Determinación de selenio total y elementos minerales	17
4.3.2 Análisis de especiación de selenio mediante espectroscopía de absorción de rayos X (XAS)	17
4.4 Diseño Experimental y Análisis Estadístico.	18
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	19
5.1 Evaluación del crecimiento y la calidad de plantines de lechuga suplementados con selenio.....	19
5.1.1 Análisis fenotípico de plantines de lechuga.....	19
5.1.2 Efecto sobre la acumulación de biomasa fresca y seca en plantines de lechuga.....	20
5.1.3 Evaluación de parámetros morfo-fisiológicos en plantines de lechuga	22
5.1.4 Efecto del selenio sobre la actividad antioxidante en plantines de lechuga.....	25

5.2 Evaluación de la tolerancia de los plantines suplementados con selenio frente al estrés biótico postrasplante causado por cepas fúngicas fitopatógenas (<i>Rhizoctonia solani</i> y <i>Fusarium solani</i>).....	27
5.3 Efecto del selenio en lechugas de consumo: análisis comparativo de rendimiento, composición mineral y especies de selenio acumuladas.....	29
6. CONCLUSIONES	35
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	37

RESUMEN

El presente trabajo investiga el efecto de la suplementación con selenio en el desarrollo de plantines de lechuga (*Lactuca sativa* L. var. *cresta*) para mejorar su resistencia al estrés biótico postrasplante, específicamente contra patógenos como *Rhizoctonia solani* y *Fusarium solani*, que causan el fenómeno conocido como damping-off. La investigación se desarrolló en un contexto de creciente demanda de hortalizas frescas y de alta calidad, donde el trasplante se ha consolidado como una técnica clave en la producción hortícola. Se estableció una hipótesis que plantea que la adición de selenio incrementa la calidad de los plantines, minimizando el estrés postrasplante. Se realizaron ensayos para determinar la dosis óptima de selenio, evaluar su efecto sobre la capacidad antioxidante y analizar la resistencia de los plantines frente a los patógenos mencionados. Los resultados indican que la aplicación de 12 μ M de selenito mejora significativamente la calidad de los plantines, aumentando la actividad radical y la acumulación de compuestos antioxidantes, sin afectar negativamente el rendimiento. Además, se observó una reducción del 75% en la incidencia de enfermedades en los plantines tratados frente al grupo control. Estos hallazgos sugieren que la suplementación con selenio puede ser una estrategia efectiva para mejorar la producción de lechuga, contribuyendo a la sostenibilidad agrícola y la biofortificación de alimentos.

Palabras clave: Suplementación Selenio, Stress biótico, capacidad antioxidante, calidad de plantín.

ABSTRACT

This study investigates the effect of selenium supplementation on the development of lettuce seedlings (*Lactuca sativa* L. var. *crespa*) to enhance their resistance to post-transplant biotic stress, specifically against pathogens such as, *Rhizoctonia solani* and *Fusarium solani*., which cause damping-off. The research was conducted in the context of increasing demand for fresh, high-quality vegetables, where transplanting has become a key technique in horticultural production. A hypothesis was established proposing that selenium addition increases seedling quality, minimizing post-transplant stress. Trials were conducted to determine the optimal selenium dose, evaluate its effect on antioxidant capacity, and analyze seedling resistance to the mentioned pathogens. Results indicate that the application of 12 μ M selenite significantly improves seedling quality, enhancing radical activity and the accumulation of antioxidant compounds, without negatively affecting yield. Furthermore, a 75% reduction in disease incidence was observed in treated seedlings compared to the control group. These findings suggest that selenium supplementation can be an effective strategy to improve lettuce production, contributing to agricultural sustainability and food biofortification.

Keywords: Selenium supplementation; biotic stress; antioxidant capacity; seedling quality.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Contexto de la producción hortícola.

El aumento actual en la demanda de hortalizas en los mercados formales, especialmente en los supermercados, requiere una producción sostenida de productos frescos y de alta calidad de manera semanal. Para satisfacer esta creciente demanda, los productores hortícolas han orientado su producción hacia un enfoque escalonado. En este contexto, la tecnología del trasplante ha sido desarrollada y perfeccionada en Argentina durante los últimos 20 años, contribuyendo al fortalecimiento de esta modalidad de producción.

1.2 Importancia del trasplante en la producción hortícola.

El trasplante es una técnica ampliamente utilizada en la producción de especies hortícolas, particularmente aquellas cuyas semillas presentan un elevado valor económico y, a menudo, bajas tasas de germinación e implantación. Esta técnica no solo favorece un establecimiento adecuado del cultivo, incrementando la uniformidad en el tamaño y la distribución de las plantas, sino que también mejora la eficiencia en el uso de la superficie cultivada y permite obtener una producción temprana en momentos de mayor valor comercial del producto. La calidad de los plantines es determinante para un correcto establecimiento en campo, lo que condiciona posteriormente el tamaño de los frutos y el rendimiento (Weston y Blom-Zandstra, 1989; Leskovar *et al.*, 1991).

Cuando un plantín es transferido a su ubicación definitiva de producción, debe tolerar los daños mecánicos que pueden ocurrir durante las labores de trasplante y enfrentar niveles elevados de estrés (Guzman, 2002). El estrés es definido como cambios en las condiciones de crecimiento de la planta que tiene como resultado pérdida o alteraciones en la homeostasis metabólica. Las plantas son susceptibles a sufrir estrés por factores bióticos y abióticos (Shulaev *et al.*, 2008).

1.3 Estrés Biótico en plantines.

El cultivo de *Lactuca sativa* L., más conocida como lechuga, es una de las hortalizas más cultivadas y consumidas globalmente, destacándose por su ciclo de producción rápido y su alto consumo en fresco. No obstante, la productividad y la calidad del cultivo pueden verse gravemente afectadas por diversos factores de estrés biótico, que son aquellos originados por organismos vivos como hongos, bacterias, virus o nematodos. Estos factores afectan tanto la germinación como el establecimiento y crecimiento de los plantines, que son especialmente vulnerables a las infecciones durante las primeras fases de su desarrollo (Molina *et al.*, 2018). En el caso específico de la lechuga, los principales factores de estrés biótico son los hongos fitopatógenos del suelo que afectan las raíces y el cuello de las plantas jóvenes, generando pérdidas significativas durante la etapa de vivero y postrasplante (Araya *et al.*, 2022).

El estrés biótico en los plantines, en general, se presenta de manera diversa dependiendo del patógeno involucrado, así como de las condiciones ambientales. Los patógenos del suelo son particularmente dañinos debido a que afectan la capacidad de las plantas para absorber agua y nutrientes, factores esenciales para su crecimiento y desarrollo (Santos *et al.*, 2021). Además, los plantines jóvenes tienen sistemas inmunológicos menos desarrollados, lo que los hace más susceptibles a infecciones. Este estrés biológico puede provocar desde alteraciones fisiológicas y metabólicas hasta la muerte prematura de las plantas, con consecuencias directas en la producción y calidad del cultivo.

Entre los patógenos más relevantes que afectan a los plantines de lechuga se encuentran *Rhizoctonia solani* y *Fusarium spp.*, los cuales causan enfermedades como la pudrición del cuello y la marchitez vascular, respectivamente. *R. solani* es un hongo necrotrófico que infecta los tejidos basales de las plantas, provocando necrosis y el colapso del sistema radicular. En el caso de los plantines de lechuga, la infección por *R. solani* resulta en una alta mortalidad postrasplante y una reducción significativa del vigor vegetativo. Este patógeno, favorecido por suelos húmedos y temperaturas templadas, puede persistir en el suelo durante largos períodos en forma de esclerocios, lo que complica su control y aumenta el riesgo para las plantas jóvenes (Zheng *et al.*, 2024).

Además, *R. solani* afecta diversas especies de plantines de hortalizas, por lo que su control se convierte en un desafío común para productores de diferentes cultivos

(González *et al.*, 2019).

Por su parte, *Fusarium oxysporum f. sp. lactucae* es el agente causal de la marchitez vascular, una enfermedad devastadora que bloquea el flujo de agua y nutrientes a través del xilema, lo que lleva a la clorosis, decaimiento y muerte de la planta. La investigación más reciente sobre *Fusarium* ha revelado que este patógeno es uno de los más impactantes en términos de reducción de rendimiento, con efectos negativos que incluyen una disminución del peso fresco de las plantas hasta un 70% y alteraciones metabólicas relacionadas con la respuesta de defensa, como el incremento de fenoles y antocianinas (Bulgari *et al.*, 2025). Al igual que *R. solani*, *Fusarium spp.* afecta a una amplia gama de hortalizas y otros plantines, lo que resalta la importancia de su manejo efectivo durante las primeras fases del cultivo (Santos *et al.*, 2021).

El control de las enfermedades causadas por estos patógenos se ha basado históricamente en el uso de fungicidas sintéticos, que siguen siendo la herramienta principal para su control en la mayoría de los cultivos (Zhu *et al.*, 2010). Sin embargo, la creciente preocupación por los efectos negativos del uso excesivo de fungicidas, tales como la contaminación ambiental, la aparición de cepas fúngicas resistentes y los riesgos para la salud humana, ha impulsado la búsqueda de alternativas más sostenibles. En este sentido, el control biológico y el uso de productos naturales están ganando terreno como estrategias para mitigar los efectos de estas enfermedades fúngicas (Janisiewicz y Korsten, 2002).

1.4 Rol del selenio en la defensa de las plantas.

El selenio (Se) es un oligoelemento traza que, aunque no se considera esencial para la mayoría de las plantas, ha demostrado ejercer múltiples efectos beneficiosos sobre su fisiología, especialmente bajo condiciones de estrés abiótico y biótico (Hartikainen, 2005; Feng *et al.*, 2013). En concentraciones adecuadas, el Se actúa como un agente modulador del metabolismo vegetal, promoviendo el crecimiento, aumentando la tolerancia al estrés oxidativo y contribuyendo a la homeostasis redox celular (Garcia *et al.*, 2011; Józwiak y Politycka, 2019).

Diversos estudios han demostrado que ciertos elementos traza, como el silicio (Si) y el selenio (Se), fortalecen los sistemas de defensa antioxidante de las plantas frente a condiciones adversas, tales como sequía, salinidad, metales pesados o infecciones patógenas (Fauteux *et al.*, 2005; Rahman *et al.*, 2015). El Se, en particular, estimula el

potencial antioxidante al mejorar la actividad de enzimas clave como la superóxido dismutasa (SOD), la catalasa (CAT) y la glutatión peroxidasa (GSH-Px) (Mroczek *et al.*, 2017). Además, favorece la síntesis de compuestos antioxidantes no enzimáticos — como glutatión (GSH), fitoquelatinas, prolina, ascorbato, carotenoides, flavonoides y alcaloides—, los cuales actúan como eliminadores directos de radicales libres y estabilizadores de membranas (Józwiak y Politycka, 2019; Hasanuzzaman *et al.*, 2020).

Las plantas absorben el selenio del suelo principalmente en dos formas inorgánicas oxidadas: **selenato (Se VI)** y **selenito (Se IV)** (White *et al.*, 2009). El selenato se transporta activamente a través de transportadores de sulfato de alta afinidad, debido a su analogía química con el sulfato (SO_4^{2-}), mientras que el selenito es absorbido principalmente mediante transportadores de fosfato (White *et al.*, 2004). Ambos son metabolizados a través de las rutas bioquímicas del azufre, lo que puede resultar en la incorporación de Selenio en proteínas y otros metabolitos que normalmente contienen azufre (Terry *et al.*, 2000). Esta sustitución no específica es una de las causas principales de la **fitotoxicidad por selenio**, especialmente cuando se acumula en concentraciones elevadas.

El impacto del Selenio en la absorción y asimilación de azufre (S) ha sido ampliamente estudiado debido a la estrecha relación entre ambos elementos (White *et al.*, 2004). Sin embargo, en niveles moderados, el selenio puede regular la absorción y translocación de nutrientes esenciales, activar mecanismos antioxidantes y reducir la sobreproducción de especies reactivas de oxígeno (ROS), incrementando así la tolerancia de las plantas frente a condiciones de estrés ambiental (Feng *et al.*, 2013; Hasanuzzaman *et al.*, 2020).

Desde una perspectiva fisiológica, el Se presenta **tres niveles de actividad biológica**:

A **concentraciones traza**, es necesario para el crecimiento y desarrollo normales de las plantas;

A **concentraciones moderadas**, puede almacenarse y participar en funciones homeostáticas;

A **concentraciones elevadas**, resulta tóxico y puede interferir con procesos metabólicos esenciales (Hamilton, 2004).

El selenio se incorpora a la cadena alimentaria principalmente a través de las plantas,

lo que hace que su disponibilidad en los alimentos dependa directamente de su concentración en el suelo y de su capacidad de bioacumulación en los tejidos vegetales comestibles (Hartikainen, 2005). Por ello, el Se es objeto de gran interés en los programas de **biofortificación de cultivos**, ya que es un micronutriente esencial para los humanos y animales, reconocido por su papel en la defensa antioxidante, la regulación del sistema inmunitario y el metabolismo de las hormonas tiroideas (Bai *et al.*, 2024).

Existe evidencia creciente de que el Selenio, incluso a bajas concentraciones, actúa como **elemento beneficioso** al promover el crecimiento vegetal y la tolerancia a condiciones de estrés (Garcia *et al.*, 2011). Por esta razón, junto con otros elementos como el aluminio (Al), cobalto (Co), silicio (Si), sodio (Na) y vanadio (V), el selenio se incluye dentro del grupo de **elementos beneficiosos para las plantas** (Kopsell y Randle, 2007).

En plantas expuestas a diferentes tipos de estrés (oxidativo, salino o hídrico), el Se ayuda a mantener la integridad de las membranas celulares, regula el equilibrio iónico y mejora la eficiencia fotosintética al reducir el daño oxidativo inducido por ROS (Hasanuzzaman *et al.*, 2020; Tian *et al.*, 2022). Además, estudios recientes han señalado que la aplicación exógena de Se puede modular la expresión génica asociada a rutas de defensa antioxidante, contribuyendo a una mayor resistencia frente a estrés térmico y patógenos fúngicos (Zhang *et al.*, 2023; Bai *et al.*, 2024).

2. HIPOTESIS

La producción de plantines de lechuga suplementados con selenio incrementa la calidad de los mismos permitiendo minimizar el estrés postrasplante por damping-off.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

- Analizar el efecto de la suplementación con selenio, durante el desarrollo de plantines de lechuga, sobre la tolerancia a estrés postrasplante generado por damping-off.

3.2 OBJETIVOS PARTICULARES

- Determinar la dosis adecuada de selenio que será utilizada para la producción de plantines de lechuga de alta calidad.
- Evaluar el efecto de la suplementación con selenio sobre la capacidad antioxidante de los plantines.
- Analizar el grado de resistencia de los plantines producidos con adición de selenio frente al damping-off postrasplante causado por *Rhizoctonia solani* y *Fusarium solani*.

4. MATERIALES Y METODOS

4.1. Obtención de plantines de lechuga de alta calidad mediante la adición de selenio.

4.1.2 Suplementación con selenio.

Semillas de lechuga (*Lactuca sativa* L. var. *creSPA*) fueron germinadas en arena húmeda a 18 °C durante 5-7 días, posteriormente las plántulas mejor desarrolladas y con tamaño uniforme fueron transferidas a bandejas de plástico de 200 celdas (vol. aprox. 15 cm³) conteniendo arena estéril como sustrato y fueron regadas durante 21 días, con solución Hoagland modificada al 50 % mediante capilaridad. Hoagland y Arnon, 1950) La solución de riego fue discriminada según la forma de selenio a aplicar y su concentración selenito (Na₂SeO₃) o selenato (Na₂SeO₄); (3, 6, 12, 24 y 48 µM). Las diferentes concentraciones de selenio fueron seleccionadas sobre la base de reportes previos y los plantines control fueron crecidos sin la adición de selenio en la solución de riego (Baker, 2013; Kumar *et al.*, 2009)

Se utilizó un diseño en bloques completamente aleatorizados con cinco repeticiones, donde de cada uno de los plantines se le utilizó una hoja diferente para medir los diferentes parámetros fisiológicos. El crecimiento de los plantines se efectuó en cámara de crecimiento bajo condiciones ambientales controladas (fotoperíodo de 16 h de luz, temperatura 20 ± 2 °C y humedad relativa de 60 ± 15 %).

4.1.3 Evaluación de parámetros fisiológicos.

Al cabo de 21 días de tratamiento, se evaluó el efecto del selenio sobre el crecimiento de los plantines por medio de la determinación de los pesos frescos (PF) y secos (PS) de las raíces y de las partes aéreas, las cuales fueron secadas en estufa de aire forzado a 65 °C hasta peso constante y se utilizó una balanza electrónica de precisión como instrumento de medición; el número de hojas, el índice de verdor de hojas mediante la utilización de un medidor de clorofila SPAD-502 (Minolta); el área foliar de las segundas hojas verdaderas determinado a partir de imágenes con el software Image J (Gómez y Llamas, 2004) como así también la longitud radical que se determinó con el software WinRHIZO™ (WinRHIZO Pro 2013d, Regent Instruments, EE.UU.). Además, se colectaron las raíces y las hojas para la determinación de diferentes parámetros bioquímicos (actividad radical, contenido de clorofila, actividad de la enzima antioxidante catalasa y contenido de compuestos fenólicos); con el objetivo de evaluar la calidad de los plantines. Asimismo,

se tuvo en consideración el umbral de fitotoxicidad para los plantines de lechuga de cada forma química de selenio evaluada; sobre la base del peso fresco de los órganos, y se definió como la menor concentración de selenio que provocó una disminución significativa en el peso fresco de la parte aérea o de la raíz comparado con los plantines control. En la Figura 1, se detalla de manera resumida el diseño cronológico de actividades experimentales que se llevaron a cabo sobre el cultivo de lechuga.

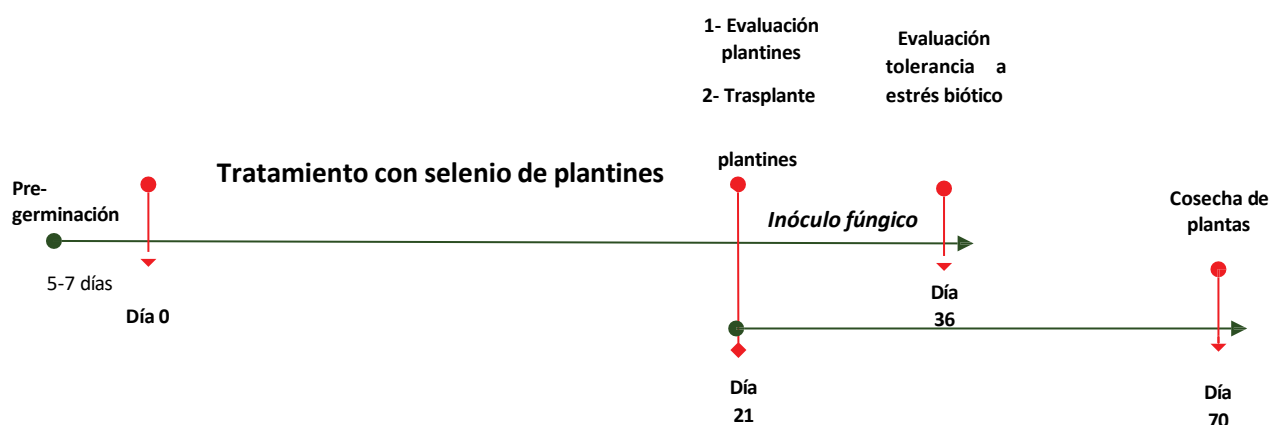


Figura 1. Diseño cronológico de actividades experimentales sobre el cultivo de lechuga.

4.1.3.1 Medición de la actividad radical mediante el método de tetrazolio (TTC)

Las raíces son cruciales para el correcto desarrollo de las plantas, por lo que la cuantificación de la viabilidad de las mismas es de suma importancia en estudios tendientes a analizar la dinámica de los nutrientes y el crecimiento vegetal. (Hernández y Alarcón, 2004.)

El TTC (*cloruro de 2,3,5- trifenil tetrazolio*) ha sido utilizado en varios trabajos para evaluar la viabilidad de diferentes tejidos vegetales; por lo tanto, en esta Tesis se lo utilizó para determinar la actividad radical según el método espectrofotométrico descrito por (Ruf y Brunner, 2003). Para las determinaciones de absorbancias se utilizó un espectrofotómetro UV-VIS (HITACHI U-2001) a una longitud de onda $\lambda = 490$ nm. Los resultados fueron expresados como $\text{Abs}_{490\text{nm}} \text{ g}^{-1} \text{ PS raíz}$ y las determinaciones se realizaron por quintuplicado.

4.1.3.2 Determinación del contenido de clorofila.

Además de la reducción en el crecimiento de la parte aérea o de la raíz, la reducción en el contenido de clorofila ha sido ampliamente reportada como una de las primeras respuestas fisiológicas asociadas a la toxicidad inducida por metales pesados y otros elementos traza, debido a su sensibilidad a alteraciones en el equilibrio redox y al daño oxidativo en los cloroplastos, (Lima y Santos, 2005). En este sentido, se determinó el contenido de clorofila en muestras de hojas de los plantines para determinar el grado de toxicidad por efecto de la aplicación de selenio, según la técnica descrita por (Baker y Van Etten, 1985). Luego de las extracciones realizadas con acetona al 80 %, se obtuvieron las absorbancias de los extractos mediante la utilización de un espectrofotómetro UV-VIS (HITACHI U-2001) a distintas longitudes de onda (750 nm, 470 nm, 646 nm y 663 nm). Los resultados fueron expresados como $\text{mg clorofila}_{\text{total}} \text{ Kg}^{-1} \text{ PF hoja}$ y las determinaciones se realizaron diez veces.

4.1.3.3 Determinación de la actividad antioxidante de la enzima catalasa

Se determinó la actividad de la enzima antioxidante catalasa según lo descrito por (González, 2022). Dicha actividad se evaluó mediante la descomposición de peróxido de hidrógeno, cuya disminución por efecto de las distintas muestras se determinó espectrofotométricamente a una longitud de onda de 240 nm por medio de un espectrofotómetro UV-VIS (HITACHI U-2001); para posteriormente realizar la cuantificación utilizando el coeficiente de extinción molar $0,036 \text{ mM cm}^{-1}$. Los resultados fueron expresados en Unidades de CAT g^{-1} proteína soluble y las determinaciones se realizaron por triplicado.

4.1.3.4 Determinación del contenido de compuestos fenólicos

El contenido de fenoles totales que contribuyen a la capacidad antioxidante total fue evaluado en las hojas de plantines utilizando el reactivo de Folin-Ciocalteu por espectrofotometría a una $\lambda = 760 \text{ nm}$ por medio de un espectrofotómetro UV-VIS (HITACHI U-2001), según lo descrito por (Baker, 2000.) Los resultados fueron expresados como mg equivalentes de ácido gálico g^{-1} PS hoja y las determinaciones se realizaron por triplicado.

4.2 Evaluación del comportamiento de los plantines producidos con adición de selenio frente al estrés biótico postrasplante causado por cepas fúngicas fitopatógenas

4.2.1 Microorganismos

Las distintas cepas fúngicas patógenas de cultivos hortícolas utilizadas para este estudio *Rhizoctonia solani* y *Fusarium solani* fueron provistas por el Centro de Referencia de Micología (CEREMIC) de la Universidad Nacional de Rosario; las cuales fueron mantenidas en tubos de Agar-Papa-Glucosa (APG) y repicadas cada 15 días, para poder mantener las cepas fúngicas, en el Laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Nacional de Entre Ríos (FCA-UNER).

4.2.2 Evaluación de la respuesta *in vivo* de los plantines suplementados con selenio frente al estrés biótico durante el postrasplante

Con el objetivo de evaluar la capacidad de respuesta frente a un estrés biótico postrasplante, se desarrollaron bioensayos utilizando las cepas fitopatógenas *R. solani* y *F. solani*. Ambas especies fueron cultivadas en placas de Petri con medio APG durante 7 días a 25 °C. Las suspensiones de conidios de *F. solani* se prepararon siguiendo las recomendaciones del *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI), a partir de cultivos líquidos en medio papa dextrosa caldo (PDB) incubados bajo agitación constante (120 rpm) durante 5 días. La suspensión fue filtrada a través de gasa estéril para eliminar fragmentos miceliales y la concentración de conidios se ajustó a 10^4 UFC mL⁻¹ mediante recuento en cámara de Neubauer. Por otro lado, dado que *R. solani* no produce estructuras conidiales, su inóculo se obtuvo a partir de discos de agar (6 mm de diámetro) colonizados por micelio activo. Estos fueron homogeneizados en solución acuosa estéril bajo condiciones asépticas, y la suspensión fue cuantificada de forma indirecta mediante equivalencia en número de discos por mL, ajustando su densidad para equipararla a la de

F. solani en términos de actividad biológica. Ambos inóculos se conservaron a 4 °C en viales estériles hasta su aplicación, que se realizó dentro de las 48 h posteriores a su preparación. Luego de 21 días de crecimiento, los plantines de lechuga suplementados con la dosis óptima de selenio y de mejor calidad (según lo establecido en el punto 4.1) fueron trasplantados junto con su cepellón a macetas plásticas de 0.25 L que contenían

sustrato inerte estéril. Previamente, el sustrato de cada maceta fue inoculado con 20 mL de la mezcla de inóculos (10 mL de cada hongo), ajustada a una concentración final de 10^4 UFC mL⁻¹. Todas las unidades experimentales fueron regadas con solución nutritiva de Hoagland al 50 % cada 48 h, y se empleó un diseño en bloques completamente aleatorizado con seis repeticiones por tratamiento.

Los ensayos se llevaron a cabo en invernadero bajo condiciones ambientales semi-controladas en la FCA-UNER. A los 15 días posteriores al trasplante, se realizó una evaluación macroscópica de la incidencia de la enfermedad, determinada como el porcentaje de plantas que presentaron síntomas visibles de infección (marchitez, necrosis o muerte), en relación al total de plantas. El porcentaje de incidencia se calculó mediante la fórmula:

$$incidencia (\%) = \left(\frac{\text{Número de plantas afectadas}}{\text{Número total de plantas}} \right) \times 100$$

4.3 Impacto de la aplicación de selenio en plantines sobre parámetros productivos y nutricionales en lechugas trasplantadas

Para evaluar el efecto del tratamiento con selenio durante la etapa de plantín sobre el desarrollo posterior de las plantas de lechuga, los plantines suplementados con la dosis óptima de selenio y de mejor calidad (según lo establecido en el punto 4.1) fueron trasplantados junto con su cepellón a macetas plásticas de 5 litros que contenían sustrato GROWMIX MULTIPRO (Terrafértil, Argentina). A partir del trasplante, las plantas continuaron su crecimiento durante 49 días adicionales, manteniéndose bajo condiciones ambientales semi-controladas de invernadero hasta alcanzar el estado de desarrollo comercial, correspondiente al tamaño óptimo para consumo humano y se empleó un diseño en bloques completamente aleatorizado con cinco repeticiones por tratamiento. Al finalizar el ciclo de cultivo (70 días en total), se evaluaron parámetros de rendimiento como el peso fresco y seco de las partes aéreas y de la raíz. Adicionalmente, se analizaron el contenido de nutrientes minerales y la especiación de selenio en la parte aérea, con el objetivo de determinar no solo la acumulación total de este elemento sino también las

formas químicas presentes, dado que estas influyen directamente en su biodisponibilidad y comportamiento metabólico en la nutrición humana. Mientras que el análisis cuantitativo permite evaluar la eficacia de la biofortificación en términos de contenido total, la determinación de especies de selenio es esencial para valorar su funcionalidad como alimento enriquecido.

4.3.1 Determinación de selenio total y elementos minerales

Las concentraciones totales de selenio (Se), potasio (K), fósforo (P), boro (B), zinc (Zn), cobre (Cu), níquel (Ni), magnesio (Mg), hierro (Fe), manganeso (Mn) y molibdeno (Mo) fueron determinadas mediante espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS). Para ello, se tomaron 300 mg de tejido foliar liofilizado, que fueron sometidos a digestión ácida con 10 mL de una mezcla de $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$ (7:3, v/v) en un sistema cerrado con vasos HP500 de PFA, a 180 °C y 1,9 atm durante 45 minutos, utilizando un sistema de digestión por microondas (Mars 5, CEM, Matthews, NC, EE.UU.). Las muestras digeridas fueron posteriormente filtradas mediante filtros de jeringa de 0,22 μm y diluidas hasta alcanzar una concentración final de 3 % de HNO_3 . Las muestras fueron analizadas en un sistema ICP-MS Agilent 7900 (Agilent Technologies, Inc., Lexington, MA, EE.UU.).

4.3.2 Análisis de especiación de selenio mediante espectroscopía de absorción de rayos X (XAS)

Los espectros de estructura fina de absorción de rayos X en la región cercana al borde de absorción (XANES) del selenio se obtuvieron en el borde K del selenio en la línea de luz CLAES del Sincrotrón ALBA (Cerdanyola del Vallès, España). La radiación sincrotrón, emitida por una fuente tipo *wiggler*, fue monocromatizada mediante un monocromador de doble cristal de Si (311). Para rechazar las armónicas superiores, se seleccionaron ángulos y recubrimientos adecuados en los espejos colimadores y de enfoque.

Se utilizaron aproximadamente 30 mg de tejido foliar liofilizado y molido de plantas cuyos plantines fueron tratados previamente con selenio. Las muestras fueron homogeneizadas y prensadas en forma de pellets de 5 mm de diámetro. Cada muestra se

preparó mezclando cinco repeticiones biológicas para representar adecuadamente la variabilidad entre plantas.

Dado el bajo contenido de selenio en las muestras vegetales, las mediciones se realizaron en modo de fluorescencia, utilizando un detector multielemental de deriva de silicio (*Si drift detector*) con electrónica XSpres3. Para evitar daños estructurales inducidos por la radiación, todas las mediciones se efectuaron a temperatura de nitrógeno líquido. En cada pellet se recolectaron espectros en tres puntos distintos, con el objetivo de detectar posibles heterogeneidades y reducir la exposición localizada a los rayos X. No se observaron daños por radiación ni diferencias entre puntos, por lo que los espectros obtenidos de cada pellet fueron combinados para mejorar la estadística.

Además, se midieron espectros de referencia correspondientes a selenato, selenito, seleno-L-cisteína, seleno-L-metionina, y seleno-(metil)selenocisteína clorhidrato. Estas referencias fueron preparadas como soluciones acuosas para permitir una comparación representativa con las muestras vegetales, considerando las posibles diferencias estructurales entre el estado sólido y el estado natural del selenio en los tejidos. Las soluciones se colocaron en una celda líquida especialmente diseñada, con una trayectoria de transmisión de 2 mm y ventanas de Kapton (Bai y Zhang, 2018). Las referencias se midieron en modo de transmisión. Para la calibración energética, se utilizó el espectro XANES del selenio elemental, fijando la energía del máximo de la primera derivada en 12658 eV. La normalización de los datos XANES se llevó a cabo mediante procedimientos estándar utilizando el programa ATHENA, incluido en el paquete de software DEMETER, versión 0.9.26 (Kabsch, 2005.)

4.4 Diseño Experimental y Análisis Estadístico.

Los datos experimentales fueron analizados estadísticamente con el software InfoStat versión 2017 (Di Renzo *et al.*, 2017). La significancia de las diferencias entre las medias fue determinada mediante análisis de varianza (ANOVA) y las medias se compararon por el test de la Diferencia Mínima Significativa (LSD) de Fisher con un nivel de significancia de $P < 0,05$. Los datos experimentales fueron expresados como la media \pm el error estándar.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Evaluación del crecimiento y la calidad de plantines de lechuga suplementados con selenio

5.1.1 Análisis fenotípico de plantines de lechuga

En la Figura 2 se muestra el efecto de la aplicación de distintas dosis (3, 6, 12, 24 y 48 μM) y especies químicas de selenio (selenato y selenito) sobre el desarrollo morfológico de plantines de lechuga, luego de 21 días de tratamiento continuo desde la emergencia. En comparación con el control sin suplementación, los tratamientos con bajas concentraciones de selenio (3–12 μM) no generaron alteraciones morfológicas adversas evidentes. Sin embargo, los plantines tratados con selenito en esas mismas dosis mostraron un mayor desarrollo vegetativo respecto al control, tanto en la parte aérea como en la arquitectura radical, lo que sugiere un posible efecto bioestimulante del selenito a bajas dosis. No obstante, a partir de 24 μM , se observan efectos fitotóxicos para ambas especies químicas, manifestados como una reducción del tamaño de los plantines, acortamiento del sistema radical y disminución del área foliar. Este comportamiento fue más severo en los tratamientos con selenato, en comparación con los de selenito.

Estos resultados reflejan un patrón dosis-dependiente característico del selenio en plantas, donde concentraciones bajas pueden estimular el crecimiento, mientras que concentraciones elevadas inducen toxicidad y estrés oxidativo, tal como ha sido ampliamente reportado previamente (Terry *et al.*, 2000; White *et al.*, 2007; Schiavon y Pilon-Smits, 2017). La diferencia en la respuesta entre especies químicas también coincide con estudios que indican que el selenato es generalmente más fitotóxico que el selenito, debido a su mayor movilidad y acumulación en tejidos aéreos (de Souza *et al.*, 1998).

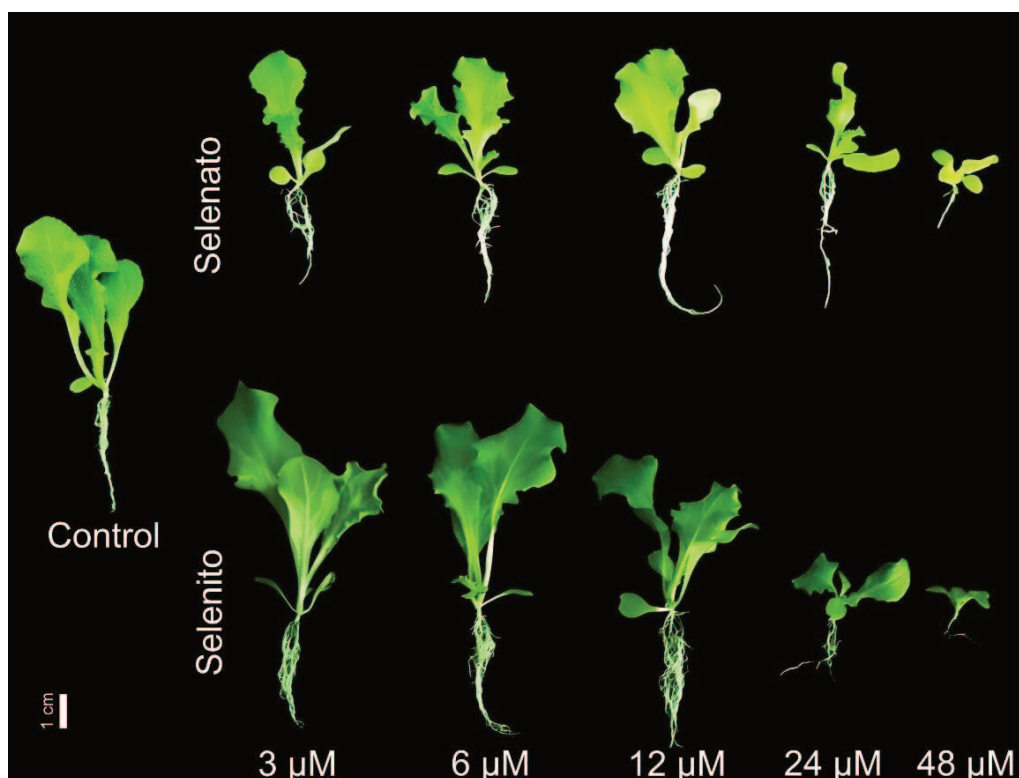


Figura 2. Comparación fenotípica de parte aérea y radical de plantines de lechuga crecidos con distintas especies y dosis de selenio durante 21 días.

5.1.2 Efecto sobre la acumulación de biomasa fresca y seca en plantines de lechuga

En la Figura 3A se muestra la acumulación de biomasa fresca (PF) de plantines de lechuga sometidos a los diferentes tratamientos con selenio. Los resultados indican que las dosis de 3 μM y 6 μM de selenito promovieron un incremento significativo en el PF total, con aumentos entre el 15 % y 30 % respecto al control, tanto en la parte aérea como en el sistema radical. Este efecto positivo sobre la biomasa es consistente con lo observado en la Figura 2, donde los plantines tratados con dosis bajas de selenito presentaron mayor desarrollo foliar y radical. Sin embargo, a partir de la dosis de 24 μM para ambas especies químicas de selenio se evidenció una reducción significativa en el PF de ambos órganos. Del mismo modo, la aplicación de 48 μM de selenato o selenito resultó en una disminución de la biomasa, con valores significativamente inferiores al control. Estos datos permiten establecer que, bajo las condiciones del presente estudio, el umbral de fitotoxicidad por selenio en plantines de lechuga es de 24 μM , definido como la dosis mínima que genera una reducción significativa del PF en la parte aérea y/o la

raíz. Estos resultados coinciden con los patrones fenotípicos observados en la Figura 2, donde a partir de 24 μM se observan signos evidentes de fitotoxicidad, como reducción del tamaño, menor densidad foliar y acortamiento de raíces. En trabajos similares, se ha determinado que el umbral de fitotoxicidad varía según la especie vegetal y la forma química de selenio aplicada. Por ejemplo, en pepino, Hawrylak-Nowak *et al.* (2015b) reportaron umbrales de 80 μM para selenato y 20 μM para selenito, lo que sugiere que la tolerancia al selenio está relacionada tanto por la especie vegetal como por la forma química del elemento.

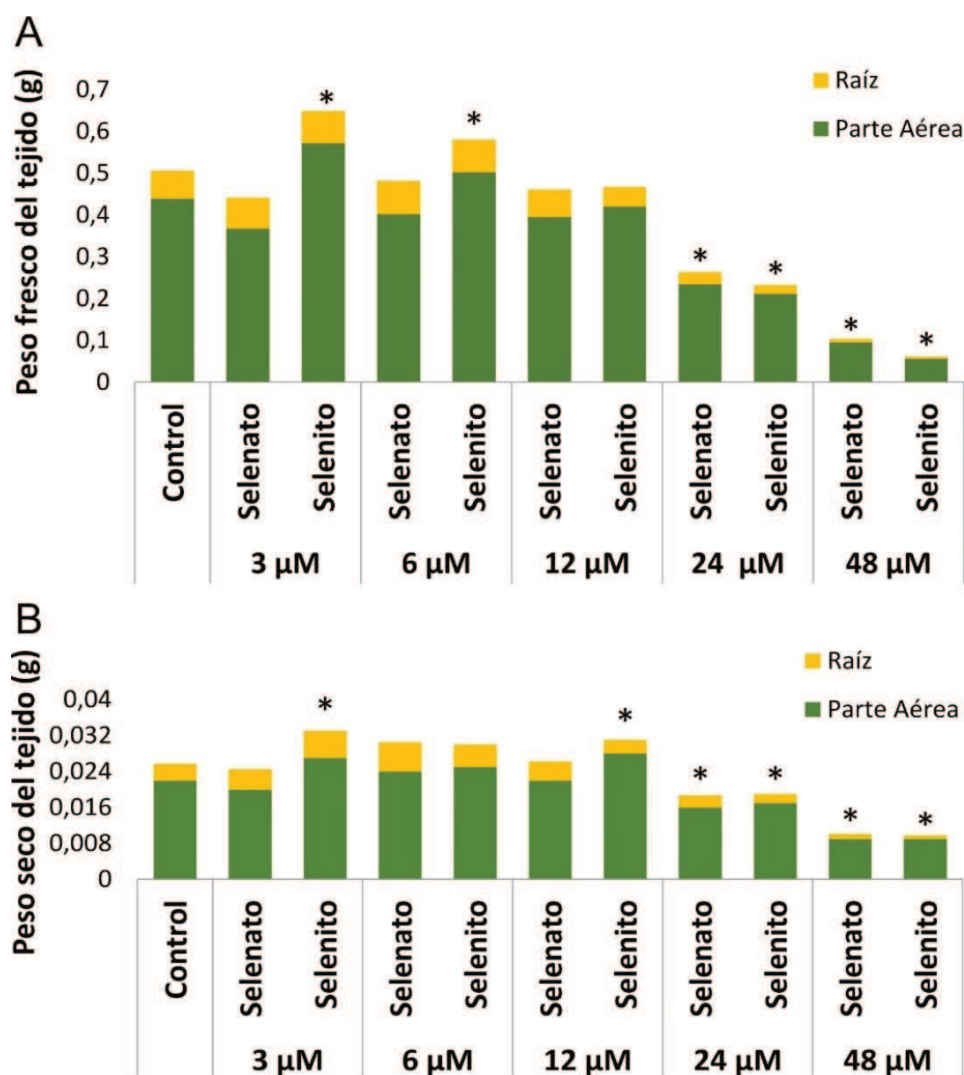


Figura 3. Comparación de pesos frescos (A) y secos (B) de partes aéreas y raíces de lechuga con 21 días de desarrollo tratados con distintas especies y dosis de selenio.

Barras con un asterisco difieren de manera estadísticamente significativa del tratamiento control (test LSD de Fisher, $p < 0,05$).

La Figura 3B muestra la acumulación de materia seca (PS) bajo los mismos tratamientos. Al igual que en el PF, se observan aumentos significativos del PS de la parte aérea en respuesta a 3 μM y 12 μM de selenito (+22 % y +27 %, respectivamente), en comparación con el control. A su vez, no se detectaron cambios significativos en el PS de las raíces para estas dosis. Por el contrario, a concentraciones de 24 μM y 48 μM , tanto de selenato como de selenito, se registró una reducción significativa en el contenido de materia seca en ambos órganos, la cual reflejó el patrón de reducción de biomasa fresca. En particular, la aplicación de 48 μM de selenito provocó una disminución del 60 % en el PS de la parte aérea y del 70 % en el de las raíces, lo que confirma el efecto fitotóxico de las dosis elevadas.

Estos resultados evidencian una respuesta dosis-dependiente típica del selenio en plantas, caracterizada por efectos bioestimulantes a bajas concentraciones y efectos tóxicos a concentraciones elevadas, en concordancia con lo descrito por Terry *et al.* (2000), White *et al.* (2007) y Schiavon y Pilon-Smits (2017).

5.1.3 Evaluación de parámetros morfo-fisiológicos en plantines de lechuga

En la Tabla 1 se presentan los efectos de las distintas dosis y especies químicas de selenio sobre parámetros morfológicos y fisiológicos de plantines de lechuga tras 21 días de tratamiento desde la emergencia. Respecto al número de hojas, no se observaron diferencias significativas con respecto al control en la mayoría de los tratamientos. No obstante, las dosis de 24 μM de selenito y 48 μM de ambas especies redujeron significativamente este parámetro, lo que sugiere una inhibición del desarrollo foliar a concentraciones elevadas de selenio. Estos resultados coinciden con lo reportado por Ramos *et al.* (2011), quienes observaron efectos similares en diferentes cultivares de lechuga expuestos a dosis altas de selenio. Del mismo modo, el área foliar de la segunda hoja tampoco presentó variaciones significativas en la mayoría de los tratamientos, excepto en los casos de 48 μM de selenato y selenito, donde se observó una disminución significativa del área, en línea con la menor biomasa reportada en esos tratamientos (Figura 3). Esta reducción puede asociarse tanto a una menor división celular como a un acortamiento en la elongación de tejidos, mecanismos comúnmente afectados por la toxicidad por selenio (Simojoki *et al.*, 2003).

En relación con el índice de verdor foliar (SPAD), se observó un comportamiento variable entre tratamientos. En general, las dosis intermedias de selenato (3, 6 y 12 μM) produjeron un incremento moderado respecto al control, aunque sin alcanzar niveles significativamente superiores. En contraste, el tratamiento con 24 μM de selenito mostró el valor más alto de SPAD (257,5), seguido por 48 μM de selenito (125,5), ambos significativamente superiores al control. Este marcado aumento sugiere una posible acumulación de pigmentos fotosintéticos.

Finalmente, en cuanto a la actividad radical, evaluada mediante la reducción de tetrazolio como indicador de viabilidad mitocondrial (Mingji *et al.*, 2009), se observaron aumentos significativos con el tratamiento con selenito, particularmente a dosis de 12, 24 y 48 μM . En comparación con el control, estos aumentos fueron del 175 %, 494 % y 190 %, respectivamente. A diferencia del selenito, el selenato no indujo aumentos consistentes en esta actividad. Estos resultados indican que el selenito promueve una mayor actividad respiratoria en raíces, posiblemente como respuesta adaptativa o como resultado de una alteración del metabolismo mitocondrial, tal como ha sido reportado en raíces de maíz y trigo por Girton (1979).

Tabla 1. Evaluación de parámetros morfo-fisiológicos en plantines de lechuga de 21 días de desarrollo tratados con distintas especies y dosis de selenio.

Tratamientos	Nº de hojas	Área foliar 2da hoja (cm^2)	Índice de verdor (SPAD)	Actividad radical (Abs490nm g^{-1} PS raíz)
Control	4,0 \pm 0,1 a	6,5 \pm 0,4 a	100,4 \pm 0,7 b	43,3 \pm 8,0 def
3 μM	3,8 \pm 0,1 a	6,9 \pm 0,4 a	93,2 \pm 12,7 bcd	85,0 \pm 5,4 d
6 μM	3,8 \pm 0,1 a	5,1 \pm 0,4 a	47,3 \pm 15,5 def	119,7 \pm 12,9 cd
Selenato 12 μM	3,9 \pm 0,1 a	4,5 \pm 0,4 a	76,1 \pm 42,1 bcde	188,2 \pm 28,8 cd
24 μM	3,7 \pm 0,1 a	6,0 \pm 0,4 a	37,7 \pm 9,5 ef	182,7 \pm 14,3 cd
48 μM	3,0 \pm 0,2 b	1,8 \pm 0,1 b	68,8 \pm 8,0 cde	209,3 \pm 45,1 c
3 μM	4,0 \pm 0,0 a	5,3 \pm 0,4 a	12,1 \pm 1,8 f	128,0 \pm 19,4 cd
6 μM	4,1 \pm 0,1 a	6,0 \pm 0,4 a	48,2 \pm 20,5 def	94,0 \pm 11,9 d
Selenito 12 μM	4,1 \pm 0,1 a	4,1 \pm 0,3 a	119,1 \pm 36,7 bc	144,5 \pm 15,0 cd
24 μM	3,1 \pm 0,1 b	6,1 \pm 0,8 a	257,5 \pm 17,5 a	355,1 \pm 90,5 b
48 μM	2,3 \pm 0,2 bc	1,0 \pm 0,1 b	125,5 \pm 11,6 b	722,0 \pm 71,1 a

Nota: Las medias que no comparten letras son significativamente diferente acorde al test de LSD ($P < 0,05$).

Nota: Las medias que no comparten letras son significativamente diferente acorde al test de LSD ($P < 0,05$).

Por otro lado, el análisis del contenido total de clorofila en las hojas de los plantines indica que, en ninguno de los tratamientos, ni con selenato ni con selenito, se produjo una reducción significativa del contenido de clorofila respecto al control (Figura 4). De hecho, el contenido se mantuvo constante en la mayoría de los tratamientos, y se incrementó significativamente en respuesta a las dosis de 24 y 48 μM de selenito, con valores que duplicaron al control.

Estos hallazgos son especialmente relevantes, ya que la disminución del contenido de clorofila se considera uno de los primeros indicadores fisiológicos de fitotoxicidad por elementos traza como el selenio (Hawrylak-Nowak, 2015). Sin embargo, en este estudio, incluso las dosis más altas de selenio no redujeron los niveles de clorofila en lechuga, lo que contrasta con lo reportado en otras especies más sensibles, como el pepino, donde dosis de selenito tan bajas como 10 μM generaron reducciones significativas en la concentración de pigmentos (Hawrylak-Nowak *et al.*, 2015). Por tanto, estos resultados refuerzan la idea de que la sensibilidad al selenio es específica de especie y que, en lechuga, la acumulación de clorofila podría estar modulada por mecanismos de tolerancia aún no completamente dilucidados.

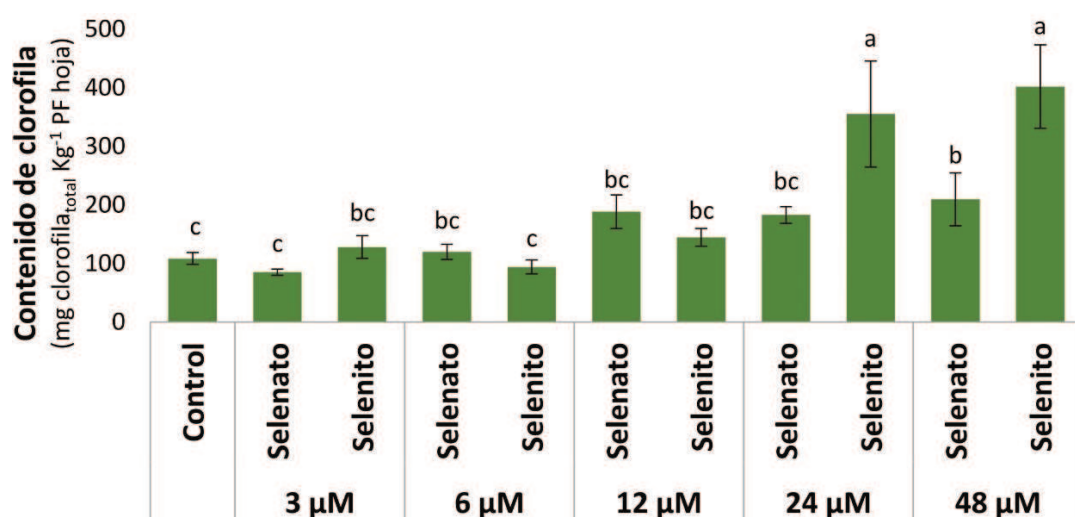


Figura 4. Contenido total de clorofila en hojas de plantines de lechuga tratados con diferentes dosis y especies químicas de selenio.

Los valores representan la media \pm error estándar ($n = 3$). Las medias que no comparten letras son significativamente diferentes acorde al test de LSD ($P < 0,05$).

5.1.4 Efecto del selenio sobre la actividad antioxidante en plantines de lechuga

Teniendo en cuenta el papel clave que desempeña el sistema antioxidante en la protección de las plantas frente a condiciones de estrés abiótico y biótico, se evaluaron los efectos del tratamiento con distintas especies químicas y concentraciones de selenio sobre dos indicadores de la capacidad antioxidante: la actividad de la enzima catalasa (CAT) y el contenido de compuestos fenólicos totales (Figura 5).

La actividad catalasa mostró una respuesta dosis-dependiente al tratamiento con selenio. En comparación con el control, se observaron aumentos significativos en las dosis de 24 y 48 μM de ambas especies químicas, con valores que duplicaron los niveles basales de la enzima. Además, el tratamiento con 12 μM de selenito también indujo un incremento significativo de aproximadamente un 75 % respecto al control. Estas respuestas están de acuerdo con trabajos previos en los que se reportó un aumento en la actividad catalasa como resultado de la aplicación de selenio en especies vegetales como lechuga, acedera, arroz y cebada (López- Gutiérrez *et al.*, 2015; Kong *et al.*, 2005; Reddy *et al.*, 2004; Hasanuzzaman *et al.*, 2014). Se ha propuesto que este efecto es consecuencia de la participación del selenio en la regulación del equilibrio redox celular, favoreciendo la detoxificación del peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y la protección de las membranas celulares frente al daño oxidativo.

Por otro lado, el contenido de compuestos fenólicos totales también se vio significativamente incrementado en varios tratamientos. En particular, los tratamientos con 48 μM de selenato y 12 y 24 μM de selenito produjeron aumentos del 154 %, 86 % y 140 %, respectivamente, en comparación con el tratamiento control. Estos compuestos, conocidos por su capacidad antioxidante y por su rol en la defensa vegetal, se acumulan frecuentemente en respuesta a estrés oxidativo. En este estudio, la mayor acumulación se produjo con selenito, lo que refuerza la evidencia de que esta especie química promueve una respuesta más activa del metabolismo secundario vegetal. No se determinaron los niveles de compuestos fenólicos para la dosis de 48 μM de selenito debido a la escasa biomasa disponible tras la cosecha.

Los resultados observados se relacionan con investigaciones previas que vinculan la aplicación de selenio con el incremento en la acumulación de metabolitos con función antioxidante, tales como tocoferoles y fenoles (Lee *et al.*, 2001; Hartikainen *et al.*, 2000;

Hsu *et al.*, 2003). demostraron que el selenio actúa como inductor del sistema antioxidante en plantas sometidas a diferentes tipos de estrés, mientras que Fauteux *et al.* (2005) sugirieron que podría funcionar también como señalizador de defensa, modulando respuestas similares a las inducidas por patógenos o daño oxidativo.

En conjunto, estos resultados indican que la aplicación de selenio en dosis moderadas promueve una activación del sistema antioxidante en lechuga, tanto a través de la actividad enzimática CAT como mediante la acumulación de compuestos fenólicos. Esta activación podría representar un mecanismo clave en la mejora de la tolerancia de los plantines a condiciones de estrés.

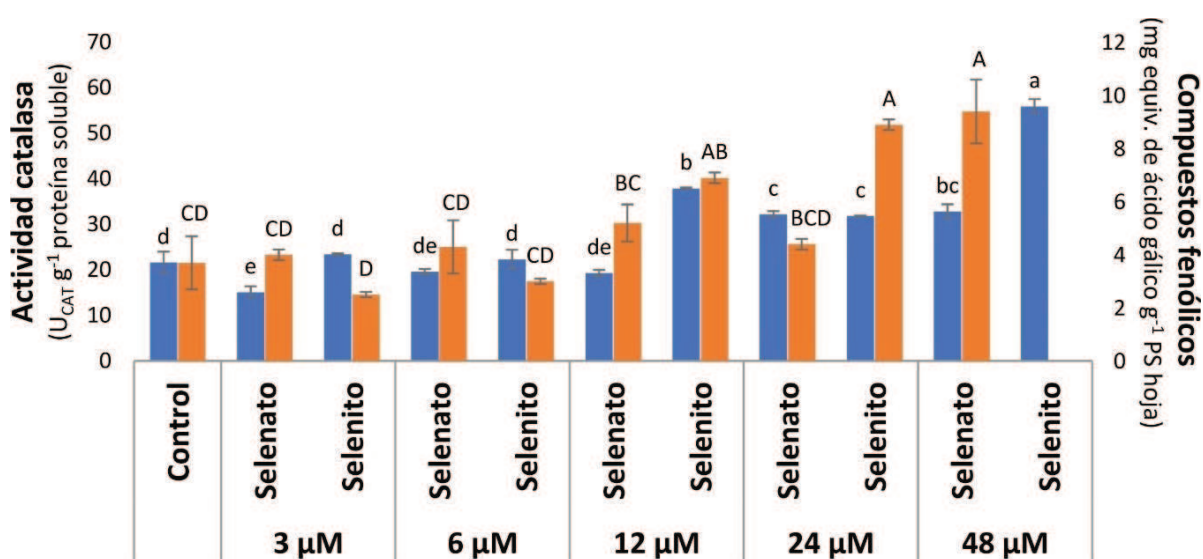


Figura 5. Evaluación de la actividad de la enzima catalasa y del contenido de fenoles totales en hojas de plantines de lechuga de 21 días de desarrollo tratados con distintas especies y dosis de selenio.

Los valores representan la media \pm error estándar ($n = 3$). Las medias que no comparten letras son significativamente diferentes acorde al test de LSD ($P < 0,05$).

A partir de la integración de los resultados obtenidos en el análisis de los distintos parámetros morfo-fisiológicos y bioquímicos evaluados en plantines de lechuga tratados con diferentes dosis y especies químicas de selenio, se pudo determinar que el tratamiento con 12 μ M de selenito representa la condición óptima para la producción de plantines de calidad superior bajo las condiciones experimentales ensayadas. Este tratamiento promovió un mejor desempeño fisiológico, evidenciado por un incremento significativo

en la actividad radical, un mayor contenido de materia seca en la parte aérea, y una activación del sistema antioxidante, expresada tanto por el aumento de la actividad de la enzima catalasa como por la acumulación de compuestos fenólicos en las hojas. Simultáneamente, esta dosis no produjo efectos negativos sobre variables clave del desarrollo morfológico, ya que no se observaron cambios significativos en el número de hojas, el área foliar, el contenido de clorofila total, el peso fresco de los tejidos ni en el contenido de materia seca de las raíces, en comparación con el tratamiento control. En conjunto, estos resultados indican que el tratamiento con 12 μ M de selenito no solo es seguro desde el punto de vista agronómico, sino que además confiere ventajas funcionales vinculadas al fortalecimiento del estado fisiológico y antioxidante del cultivo en etapa de vivero. Por este motivo, esta condición fue seleccionada para la producción de plantines utilizados en la segunda etapa del trabajo, en la cual se evaluó la capacidad de respuesta frente a un estrés biótico postrasplante inducido por la inoculación del sustrato con las cepas fitopatógenas *Rhizoctonia solani* y *Fusarium solani*.

5.2 Evaluación de la tolerancia de los plantines suplementados con selenio frente al estrés biótico postrasplante causado por cepas fúngicas fitopatógenas (*Rhizoctonia solani* y *Fusarium solani*)

Los resultados presentados en la Figura 6 evidencian que la suplementación con selenito durante la etapa de plantín no solo fue segura en términos de desarrollo, sino que también brindó protección eficaz frente al ataque de patógenos del suelo. En este ensayo, los plantines fueron trasplantados con su cepellón en macetas inoculadas con *Fusarium solani* y *Rhizoctonia solani*. A los 15 días, las plantas tratadas previamente con 12 μ M de selenito mostraron 0% de incidencia de infección, mientras que en el tratamiento control se observó un 75% de incidencia, junto con síntomas visibles de marchitamiento, clorosis y necrosis foliar.

Estos hallazgos indican que el selenito puede tener un efecto preventivo frente al estrés biótico en etapas críticas del establecimiento del cultivo. Este efecto está de acuerdo con lo reportado anteriormente por Buttarelli *et al.* (2025), quienes demostraron que extractos acuosos de hojas de brócoli tratadas foliarmente con 2 Mm de selenito inhibieron el crecimiento micelial de *F. solani* en un 67,5% respecto al control, mientras que los extractos de hojas no tratadas alcanzaron un 40% de inhibición. Por el contrario, el

tratamiento con selenito solo (sin extracto) no fue significativamente diferente del control, lo que sugiere que la actividad antifúngica se potencia cuando el selenio es incorporado al metabolismo vegetal, induciendo la síntesis de compuestos bioactivos de defensa.

Dicha acción antifúngica incrementada podría deberse a la acumulación de metabolitos secundarios como fenoles, glucosinolatos y proteínas solubles, así como a la modulación hormonal promovida por el selenito, que activa rutas relacionadas con ácido salicílico (SA) y metil jasmonato (MJA), tal como fue reportado por el mismo grupo de investigación (Buttarelli *et al.*, 2025). De hecho, la elevación significativa del contenido de SA en hojas tratadas con selenito indica la activación de mecanismos de resistencia sistémica adquirida, una vía clave en la defensa vegetal frente a patógenos necrotróficos como *Fusarium spp.* y *Rhizoctonia spp.*

Además, numerosos estudios han documentado el potencial del selenio como modulador de la respuesta a patógenos. Por ejemplo, Hanson *et al.* (2003) demostraron que plantines de *Brassica juncea* tratados con Se mostraron menor pérdida de biomasa tras infección por *Fusarium*, mientras que otros trabajos han reportado efectos antifúngicos del Se contra diversos patógenos, incluyendo *Sclerotinia sclerotiorum*, *Botrytis 33inérea*, *F. graminearum*, *Aspergillus flavus* y *Penicillium expansum*. Estos efectos han sido atribuidos tanto a la acción directa del Se sobre el desarrollo fúngico como a su rol como inductor de mecanismos de defensa en la planta huésped.

Por último, cabe destacar que el desarrollo de nuevas formulaciones basadas en selenio, como nanopartículas (Se-NPs), ha demostrado elevada actividad antimicrobiana (Nowruzi *et al.*, 2021), lo que abre posibilidades de optimización para aplicaciones futuras en el manejo sostenible de enfermedades.

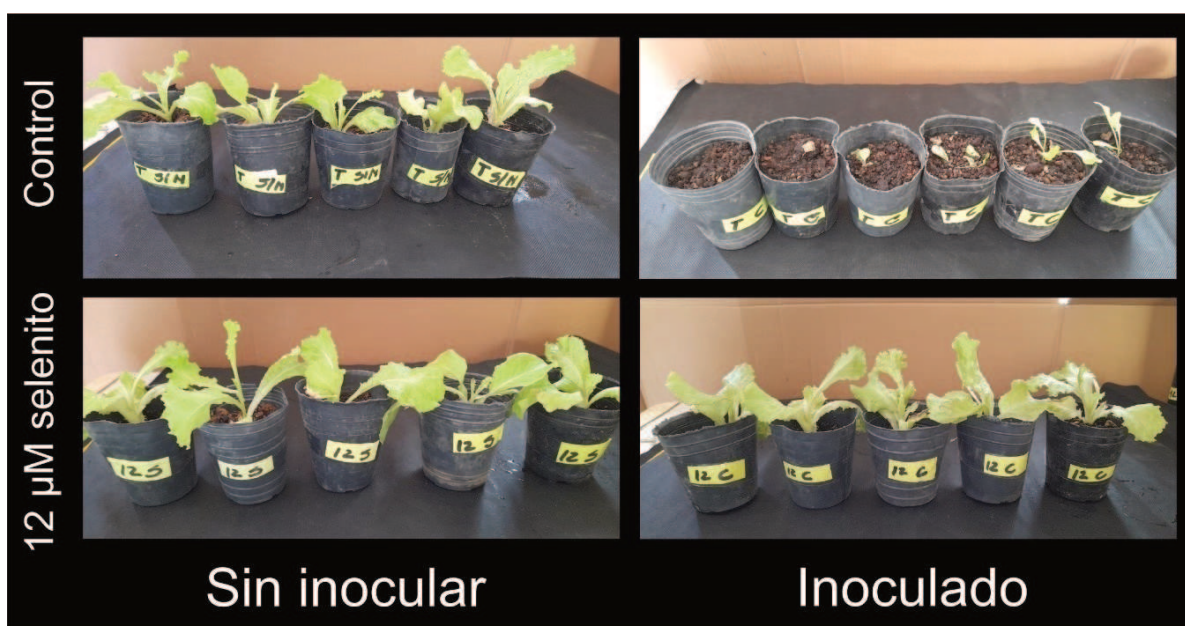


Figura 6. Efecto del transplante de plantines de lechuga producidos con adición de selenio sobre sustrato inoculado con *Rhizoctonia solani* y *Fusarium solani*.

5.3 Efecto del selenio en lechugas de consumo: análisis comparativo de rendimiento, composición mineral y especies de selenio acumuladas

En la Figura 7 se observa el efecto del tratamiento con selenito durante la etapa de plantín sobre el desarrollo posterior de las plantas de lechuga al momento de cosecha comercial. Los plantines fueron tratados durante 21 días con 12 μM de selenito y luego trasplantados a macetas de 5 litros, donde crecieron durante 49 días adicionales hasta alcanzar el tamaño óptimo para consumo humano. En la Figura 7^a se observan plantas representativas del control y de las tratadas con selenito que demuestran una morfología similar, sin diferencias evidentes en el tamaño de la parte aérea ni en la arquitectura foliar o radical. Esta observación sugiere que la aplicación de selenito en estadios tempranos del desarrollo no compromete el crecimiento vegetativo posterior, un aspecto relevante para la producción hortícola a escala comercial. Asimismo, tanto el peso fresco de la parte aérea como radical no presentaron diferencias significativas entre el tratamiento con selenito respecto al control, Figura 7B. Esto indica que la aplicación de selenito en la etapa de plantín no afectó negativamente el rendimiento en biomasa fresca al momento de la cosecha, lo que respalda la viabilidad de esta estrategia para mejorar la calidad de los plantines sin sacrificar productividad del cultivo.

Estudios previos en otras especies hortícolas han reportado resultados similares. Por ejemplo, Hu *et al.* (2023) demostraron que la aplicación foliar de selenito en tomate no

afectó el peso de frutos ni el contenido de materia seca, mientras que Cheng *et al.* (2024) observaron un mantenimiento del rendimiento en lechuga incluso con incrementos sustanciales en la acumulación de Se.

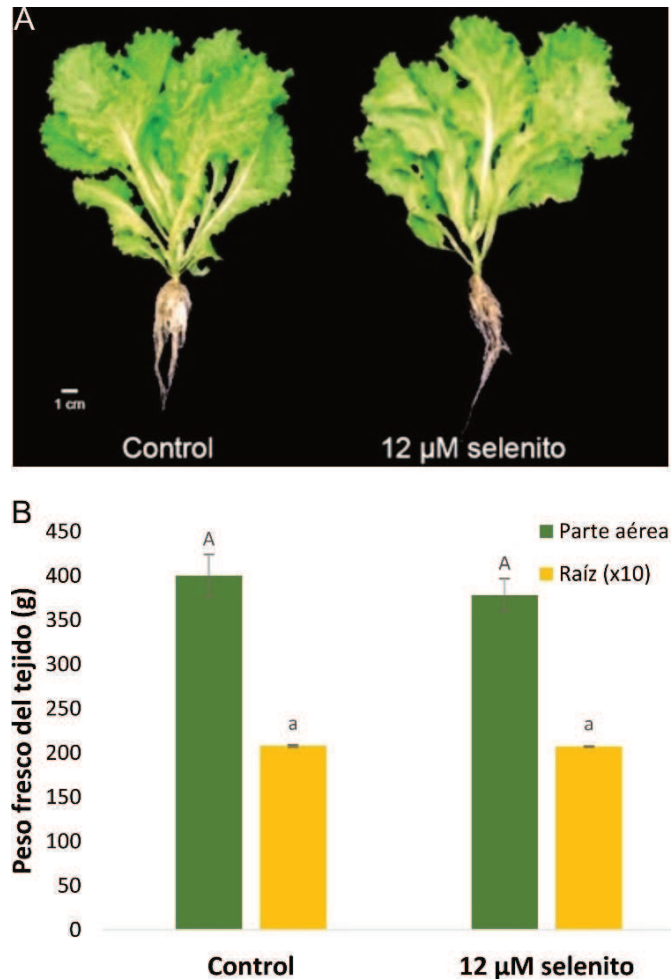


Figura 7. Comparación de plantas de lechuga suplementadas con selenio al momento de cosecha.

(A) Plantas de lechuga cosechadas tras 49 días postrasplante. (B) Peso fresco de la parte aérea y raíz. Los valores representan la media \pm error estándar ($n = 5$). Las medias que no comparten letras son significativamente diferentes acorde al test de LSD ($P < 0,05$).

A su vez, la Tabla 2 presenta la concentración de minerales determinada en la parte aérea de plantas de lechuga. La aplicación de selenito produjo un incremento significativo del 125% en la concentración de Se total en las plantas tratadas. Este resultado demuestra la eficiencia de la biofortificación con selenito y es coherente con lo reportado por Buttarelli *et al.* (2025), quienes observaron un aumento de hasta 150 veces en el contenido de Se en hojas de brócoli luego de la aplicación foliar de esta especie química.

En cuanto al resto de los elementos analizados, la mayoría no presentó diferencias significativas entre los tratamientos. Las concentraciones de B, Mn, Fe, Ni, Cu, Mo, Mg, P y K se mantuvieron estables, lo que indica que la aplicación de selenito no afectó negativamente la absorción ni el metabolismo de estos minerales. Este comportamiento ha sido reportado previamente en otras especies del género *Brassica*, como brócoli, col rizada y repollo, en las cuales la biofortificación con selenito o selenato no produjo alteraciones significativas en la acumulación de minerales esenciales como K, P, B, Cu o Ni, lo que sugiere que el tratamiento puede considerarse nutricionalmente seguro en términos de balance mineral (Buttarelli *et al.*, 2025; Golubkina *et al.*, 2023; Ghasemi *et al.*, 2016). Estudios similares realizados en otras especies comestibles, como espinaca, frutilla y tomate, también han reportado efectos mínimos o nulos en los perfiles minerales tras la aplicación de Se, reforzando la idea de que la biofortificación con Se puede implementarse sin comprometer el contenido de otros nutrientes esenciales (Cheng *et al.*, 2024; Hu *et al.*, 2023; Liu *et al.*, 2024).

Sin embargo, la concentración de Zn disminuyó significativamente en lechuga tras la aplicación de selenito (de $34,11 \pm 1,70$ a $23,61 \pm 1,53$ ppm) (Tabla 2). Este hallazgo es relevante desde el punto de vista nutricional, ya que el Zn es un micronutriente esencial en la dieta humana. Aunque estudios previos han reportado efectos variables sobre el Zn en respuesta a tratamientos con Se (dependiendo de la especie vegetal, la forma de Se aplicada y el modo de administración), una posible explicación para esta disminución podría estar vinculada a mecanismos de competencia iónica en el transporte a nivel de membranas radicales o a la alteración de rutas de almacenamiento intracelular (He *et al.*, 2021; Ríos *et al.*, 2023).

Tabla 2. Concentración de minerales en parte aérea de lechuga tratada con selenio.

Mineral	Control	12 μ M selenito
Se (ppm)	1,51 \pm 0,16 b	3,41 \pm 0,63 a
B (ppm)	72,54 \pm 7,72 a	68,23 \pm 5,06 a
Mn (ppm)	76,10 \pm 3,81 a	67,40 \pm 3,47 a
Fe (ppm)	301,17 \pm 7,87 a	269,09 \pm 84,95 a
Ni (ppm)	53,52 \pm 16,86 a	39,54 \pm 7,05 a
Zn (ppm)	34,11 \pm 1,70 a	23,61 \pm 1,53 b
Cu (ppm)	2,53 \pm 0,09 a	2,89 \pm 0,20 a
Mo (ppm)	8,41 \pm 0,74 a	9,75 \pm 1,25 a
Mg (%)	0,18 \pm 0,01 a	0,19 \pm 0,01 a
P (%)	0,55 \pm 0,04 a	0,53 \pm 0,03 a
K (%)	4,35 \pm 0,46 a	4,36 \pm 0,24 a

Nota: Los resultados están expresados como la media (n=3) \pm error estándar. Las medias que no comparten letras son significativamente diferente acorde al test de LSD (P < 0,05).

Si bien este análisis cuantitativo de minerales demuestra un aumento en el contenido total de selenio, no permite identificar directamente las formas químicas presentes en el tejido vegetal, las cuales determinan en gran medida la biodisponibilidad y el comportamiento metabólico del elemento en la nutrición humana. Por ello, a continuación, se presenta un análisis complementario mediante espectroscopía de absorción de rayos X (XANES), con el objetivo de caracterizar la especiación del Se acumulado en las hojas de lechuga tratadas con selenito.

La Figura 8 muestra los espectros XANES normalizados correspondientes al borde K del selenio obtenidos mediante luz de sincrotrón para compuestos de referencia inorgánicos (selenato y selenito) y orgánicos (selenocisteína, SeCyst; selenometionina, SeMet y metil-selenocisteína, SeMcCys), junto con el espectro registrado en hojas de lechuga cuyos plantines fueron tratados durante 21 días con 12 μ M de selenito (línea verde claro). Cabe aclarar que no se obtuvieron espectros correspondientes al tratamiento control sin selenio, dado que el contenido total de selenio en los tejidos no alcanzó el umbral mínimo necesario para una correcta detección por espectroscopía XANES. Esta técnica requiere, en general, una concentración de al menos \sim 2 ppm de Se total en el tejido vegetal para

obtener un espectro con relación señal/ruido adecuado (Pickering *et al.*,1995). Dicha concentración solo se logró en el tratamiento en los que los plantines fueron previamente suplementados con selenio Tabla 2.

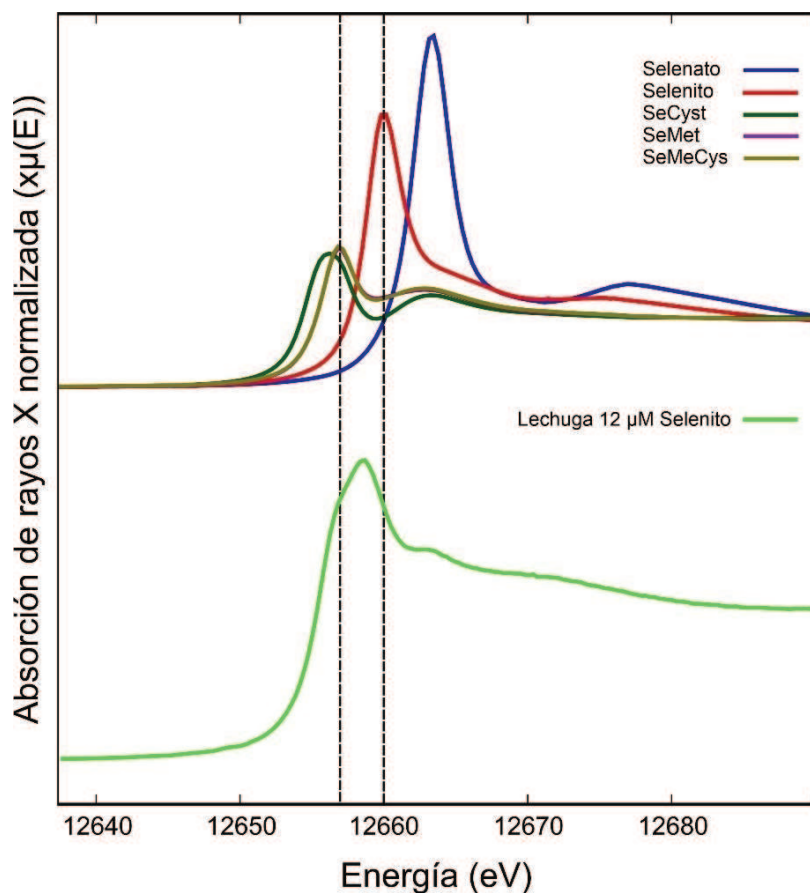


Figura 8. Evaluación de especiación de selenio mediante luz de sincrotrón.

Espectros normalizados XANES de borde-K de selenio en referencias (Selenato, Selenito, SeCyst, SeMet, SeMeCys) y en hojas de lechuga cuyos plantines fueron tratados con selenito (12 μ M) durante 21 días. Los espectros se han desplazado para poder establecer comparaciones.

El espectro correspondiente a la lechuga tratada con selenito presenta un patrón claramente distinto al del selenito inorgánico puro. En particular, la señal en la región de absorción principal (~ 12660 eV) es menos intensa y su forma global se asemeja más a la de compuestos orgánicos, especialmente SeMet y SeMeCys. Esto indica una biotransformación eficiente del selenito hacia especies orgánicas de selenio dentro del tejido vegetal. Este comportamiento es consistente con la ruta metabólica descrita para

plantas superiores, donde el selenito absorbido es rápidamente reducido a seleniuro (Se^{-2}) e incorporado a aminoácidos como selenocisteína o selenometionina (White *et al.*, 2007; Schiavon y Pilon-Smits., 2017). La mayor similitud espectral con referencias orgánicas respalda esta transformación, sugiriendo que el selenio se encuentra mayoritariamente en formas orgánicas en la parte aérea de la lechuga.

La conversión de selenio inorgánico en compuestos orgánicos dentro de las plantas no solo mejora su asimilación, sino que también aumenta su biodisponibilidad para la nutrición humana, dado que las especies orgánicas de selenio son absorbidas de manera más eficiente en el tracto digestivo y presentan una mayor retención en los tejidos corporales, lo que potencia sus efectos beneficiosos sobre la salud (Rayman, 2012). En este contexto, el enriquecimiento de cultivos con formas orgánicas de selenio se plantea como una estrategia clave dentro de los programas de biofortificación, orientados a mitigar deficiencias nutricionales en la población (Muñoz *et al.*, 2021; Trod *et al.*, 2023; Sanchez-Martin *et al.*, 2025).

6. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos a lo largo de este trabajo demuestran que la aplicación de selenito a una concentración de 12 μM durante la etapa de plantín representa una estrategia agronómica eficaz y segura para el cultivo de lechuga. Bajo esta condición, los plantines presentaron un desarrollo morfo-fisiológico adecuado, sin signos de fitotoxicidad y con mejoras significativas en indicadores clave de calidad, como la acumulación de materia seca en la parte aérea, la actividad radical mitocondrial y la activación del sistema antioxidante. En particular, se observaron incrementos en la actividad de la enzima catalasa y en el contenido de compuestos fenólicos, lo que sugiere una preparación metabólica del tejido vegetal frente a situaciones de estrés.

Estas características fueron decisivas para el *shock* del trasplante, donde se evidenció un efecto protector frente al estrés biótico inducido por los patógenos del suelo *Rhizoctonia solani* y *Fusarium solani*. Los plantines pretratados con selenito mostraron una incidencia nula de enfermedad frente al 75 % en el grupo control, lo que confirma la eficacia del tratamiento como estrategia preventiva en fases tempranas del ciclo de cultivo. Este efecto antifúngico se condice con estudios recientes que describen el rol del selenio en la inducción de metabolitos secundarios de defensa y en la modulación de señales hormonales vinculadas a mecanismos de resistencia sistémica adquirida, como el

ácido salicílico y el metil jasmonato.

Además del impacto sobre la tolerancia al estrés biótico, se comprobó que la aplicación de selenito en la etapa temprana del cultivo no afectó negativamente el rendimiento ni la composición mineral al momento de la cosecha. Las plantas biofortificadas con 12 μM de selenito presentaron un desarrollo comparable al de las plantas control en términos de biomasa fresca, arquitectura foliar y calidad visual, lo que valida la viabilidad productiva de esta estrategia en condiciones comerciales. Desde el punto de vista nutricional, se observó un incremento significativo en el contenido total de selenio (+125 %) en la parte aérea, sin alteraciones relevantes en los niveles de la mayoría de los minerales esenciales, con excepción del zinc, que mostró una reducción significativa. Este resultado, si bien debe considerarse en futuras aplicaciones, no invalida el potencial de la biofortificación, ya que puede ser abordado mediante ajustes en la fertilización complementaria o en la selección varietal.

Un aspecto destacado fue la especiación del selenio acumulado en hojas, determinada mediante espectroscopía de absorción de rayos X, que reveló la predominancia de formas orgánicas bioasimilables como selenometionina y metil-selenocisteína. Esta transformación metabólica es altamente deseable, ya que incrementa la biodisponibilidad del selenio en la dieta humana, favoreciendo su absorción y retención en tejidos, y reduciendo los riesgos de toxicidad asociados a las formas inorgánicas.

En conjunto, estos hallazgos consolidan el valor estratégico del selenito como insumo funcional en horticultura, con un doble beneficio agronómico y nutricional: por un lado, mejora la calidad de plantines y su resistencia a patógenos; y por otro, permite obtener un alimento biofortificado con Se de alta calidad, sin comprometer el rendimiento ni el equilibrio mineral. Esta doble funcionalidad convierte al selenio en una herramienta prometedora para sistemas agrícolas sostenibles, orientados tanto a la reducción del uso de agroquímicos como al enriquecimiento de la dieta humana con micronutrientes esenciales, en el marco de estrategias integradas de salud y seguridad alimentaria.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Antoshkina, M., Golubkina, N., Şekara, A., Tallarita, A., & Caruso, G. (2021). Effects of selenium application on biochemical characteristics and biofortification level of kohlrabi (*Brassica oleracea* L. var. *gongylodes*) produce. *Frontiers in Bioscience*, 26(9), 533-542
2. Ahmad, R., et al. (2016). Selenium (Se) improves drought tolerance in crop plants--a myth or fact? *J Sci Food Agric*, 96(2), 372–380.
3. Agrios, G. N. (2005). *Plant Pathology* (Quinta edición). El Sevier, Burlington, EUA, 4–8, 23–27, 54–60.
4. Araya, M., et al. (2022). Impact of soilborne pathogens on vegetable seedlings: A review. *Plant Pathology Journal*.
5. Bai, Y., & Zhang, J. (2018). Development of a novel detection method for environmental monitoring. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A*, 910, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.nima.2018.08.036>
6. Bai, Y., et al. (2024). Role of selenium in plant–microbe interactions and its potential for sustainable biofortification. *Frontiers in Plant Science*, 15, 134512. <https://doi.org/10.3389/fpls.2024.134512>
7. Baker, C. J. (2013). Environmental and experimental botany. *Environmental and Experimental Botany*, 84, 1–2. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2012.09.002>
8. Baker, J. T., & Van Etten, C. H. (1985). Effect of temperature on the growth and photosynthesis of soybean leaves. *Plant Physiology*, 77(2), 483–487. <https://doi.org/10.1104/pp.77.2.483>
9. Baker, J. E. (2000). Environmental and physiological factors affecting the growth of aquatic plants. *Advances in Botanical Research*, 30, 1–30. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)
10. Bulgari, R., et al. (2025). Impact of *Fusarium oxysporum* on *Lactuca sativa* growth and its metabolic responses. *Journal of Phytopathology*.
11. Buttarelli, M. S., Céccoli, G., Trod, B. S., Stoffel, M. M., Simonutti, M., Bouzo, C. A., Turowski, V. R., ... Muñoz, F. F. (2025). *Enhancing Nutritional and Functional Properties of Broccoli Leaves Through Selenium Biofortification: Potential for Sustainable Agriculture and Bioactive Compound Valorization. Agronomy*, 15(2), 389. <https://doi.org/10.3390/agronomy15020389>
12. Cheng, H., Shi, X., & Li, L. (2024). *The Effect of Exogenous Selenium Supplementation on the Nutritional Value and Shelf Life of Lettuce. Agronomy*, 14(7), 1380. <https://doi.org/10.3390/agronomy14071380>
13. Clemensson-Lindell, A. (1994). Triphenyltetrazolium chloride as an indicator of fine-root vitality and environmental stress in coniferous forest stands: applications and limitations. *Plant Soil*, 159, 297–300.
14. Dimitri, M. J. (1987). *Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería* (Tomo I, 1ra. Ed. 1ra. Reimpresión). ACME, Buenos Aires.
15. Fageria, N. K. (1992). *Maximizing Crop Yields*. Marcel Dekker, New York.
16. Fauteux, F., et al. (2005). Silicon and plant disease resistance against pathogenic fungi. *FEMS Microbiology Letters*, 249(1), 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.femsle.2005.06.010>
17. Feng, R., Wei, C., & Tu, S. (2013). The roles of selenium in protecting plants against abiotic stresses. *Environmental and Experimental Botany*, 87, 58–68.

18. García-Bañuelos, M. L., Hermosillo-Cereceres, M. A., & Sánchez, E. (2011). The importance of selenium biofortification in food crops. *Current Nutrition & Food Science*, 7, 181–190.
 19. Garcia, M., et al. (2011). Selenium as a beneficial element for plants: Growth and antioxidant defense responses. *Plant Physiology and Biochemistry*, 49, 141–150. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.11.010>
 20. Gómez, I., & Llamas, M. (2004). The role of soil moisture in the growth of plants: A review. *Plant and Soil*, 267(1), 43–50. <https://doi.org/10.1007/s11104-004-2027-0>
 21. González, A., & González, M. (2022). Effects of drought stress on the physiological and biochemical responses of plants: A review. *South African Journal of Botany*, 144, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2022.01.002>
 22. González, A., et al. (2019). Control of Rhizoctonia solani in vegetable crops: A review of management strategies. *Crop Protection*.
 23. Gonzalez, A., & Hargreaves, K. J. (2010). The role of vegetation in the hydrological cycle: A review. *International Journal of Environmental and Rural Development*, 1(1), 1–9. <https://doi.org/10.1080/17429145.2010.548553>
 24. Groover, A., Kapoor, A., Lakshimi, O., Agarwal, S., Sahi, C., Katiyar, S., & Dubey, H. (Year). Plant physiology. *Plant Molecular Biology*, 80, 206–216.
 25. Guzman, J. M. (2002). Acondicionamiento nutritivo en semilleros y respuestas postrasplante en hortalizas. Departamento de Producción Vegetal, Universidad de Almería: Almería, España, 17.
 26. Hamilton, S. J. (2004). Review of selenium toxicity in the aquatic food chain. *Science of the Total Environment*, 326(1–3), 1–31. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2003.11.038>
 27. Hanson, B., et al. (2003). Selenium accumulation protects Brassica juncea from invertebrate herbivory and fungal infection. *New Phytologist*, 159, 461–469.
 28. Hartikainen, H. (2005). Biogeochemistry of selenium and its impact on food chain quality and human health. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 18(4), 309–318. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2005.05.003>
 29. Hasanuzzaman, M., et al. (2010). Selenium in higher plants: Physiological role, antioxidant metabolism and abiotic stress tolerance. *J Plant Sci*, 5, 354–375.
 30. Hasanuzzaman, M., et al. (2011). Selenium-induced up-regulation of the antioxidant defense and methylglyoxal detoxification system reduces salinity-induced damage in rapeseed seedlings. *Biol Trace Elem Res*, 143(3), 1704–1721.
 31. Hasanuzzaman, M., et al. (2012). Exogenous selenium pretreatment protects rapeseed seedlings from cadmium-induced oxidative stress by upregulating antioxidant defense and methylglyoxal detoxification systems. *Biol Trace Elem Res*, 149(2), 248–261.
 32. Hasanuzzaman, M., et al. (2020). Selenium in plants: Biochemical functions and physiological roles in stress tolerance. *Plant Stress Physiology*, 12, 1–23. <https://doi.org/10.1016/j.jps.2020.01.003>
 33. Hawrylak-Nowak, B. (2009). Beneficial effects of exogenous selenium in cucumber seedlings subjected to salt stress. *Biol Trace Elem Res*, 132(1–3), 259–269.
 34. Hawrylak-Nowak, B. (2015). Selenite is more efficient than selenate in alleviation of salt stress in lettuce plants. *Acta Biol Cracoviensia*, 57(2), 49–54.
- Hawrylak-Nowak, B., Matraszek, R., & Pogorzelec, M. (2015). The dual effects of two inorganic selenium forms on the growth, selected physiological parameters and macronutrients accumulation in cucumber plants. *Acta Physiol*

- Plant*, 37(41), 1–13.
35. Girton, R. E. (1979). Effects of oxygen concentration on the respiration of excised root-tip segments of maize and rice, and of germinating grains of rice and buckwheat. *Physiologia Plantarum*, 46(1), 58–62. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1979.tb04595.x>
 36. Heath, R. L., & Packer, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Arch Biochem Biophys*, 125(1), 189–198.
 37. Hernández, J. A., & Alarcón, J. J. (2004). Soil moisture and salinity effects on the growth of olive tree seedlings. *Plant and Soil*, 267(1), 43–50. <https://doi.org/10.1007/s11104-004-2027-0>
 38. Hoagland, D. R., & Arnon, D. I. (1950). The water-culture method for growing plants without soil. Circular. California Agricultural Experiment Station, 347(2nd ed.), 32 pp.
 39. Hu, W., Su, Y., Yang, R., Xie, Z., & Gong, H. (2023). *Effect of foliar application of silicon and selenium on the growth, yield and fruit quality of tomato in the field*. *Horticulturae*, 9(10), 1126. <https://doi.org/10.3390/horticulturae9101126>
 40. Inskeep, W. P., & Bloom, P. R. (1985). Extinction coefficients of chlorophyll a and B in n,n-dimethylformamide and 80% acetone. *Plant Physiol*, 77(2), 483–485.
 41. Janisiewicz, W. J., & Korsten, L. (2002). Biological control of postharvest diseases of fruits. *Annu Rev Phytopathol*, 40, 411–441.
 42. Jóźwiak, W., & Politycka, B. (2019). *Effect of Selenium on Alleviating Oxidative Stress Caused by a Water Deficit in Cucumber Roots*. *Plants*, 8(7), 217. <https://doi.org/10.3390/plants8070217>
 43. Kabsch, W. (2005). Xds. *Acta Crystallographica Section D: Biological Crystallography*, 62(1), 100–107. <https://doi.org/10.1107/S0909049505012719>
 44. Kong, L., Wang, M., & Bi, D. (2005). Selenium modulates the activities of antioxidant enzymes, osmotic homeostasis and promotes the growth of sorrel seedlings under salt stress. *Plant Growth Regulation*, 45, 155–163.
 45. Kumar, A., et al. (2009). Efectos beneficiosos del selenio exógeno en plántulas de pepino sometidas a estrés salino.
 46. Kuszniereicz, B., et al. (2008). Partial characterization of white cabbages (*Brassica oleracea* var. *capitata* f. *alba*) from different regions by glucosinolates, bioactive compounds, total antioxidant activities and proteins. *LWT*, 1–9.
 47. Laemmle, F. (2001). Damping-off diseases. University of California: California, USA, 4.
 48. Leskovar, D. I., Cantliffe, D. J., & Stolfella, P. J. (1991). Growth and yield of tomato plants in response to age of transplants. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 116, 416–420.
 49. Leskovar, D. I. (2001). Producción y ecofisiología del trasplante hortícola. Texas University USA: Buenavista, Saltillo, Coahuila, 25.
 50. Liang, Y., et al. (2007). Mechanisms of silicon-mediated alleviation of abiotic stresses in higher plants: a review. *Environmental Pollution*, 147(2), 422–428.
 51. Lima, J. S., & Santos, J. C. (2005). Avaliação da resistência à compressão de madeiras de espécies nativas da Amazônia. *Revista Árvore*, 29(1), 1–9. <https://doi.org/10.1590/S1677-04202005000100004>

52. Lopez-Berenguer, C., García-Viguera, C., & Carvajal, M. (2006). Are root hydraulic conductivity responses to salinity controlled by aquaporins in broccoli plants? *Plant and Soil*, 279, 13–23.
53. López-Gutiérrez, M. de L., Benavides-Mendoza, A., Robledo Torres, V., Mendoza Villarreal, R., & Valdez Aguilar, L. A. (2015). Aplicación de selenio y su efecto en el estado antioxidante y la composición mineral de la lechuga (*Lactuca sativa* L.). *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 12, 2257–2262.
54. Ma, J. F., & Yamaji, N. (2006). Silicon uptake and accumulation in higher plants. *Trends in Plant Science*, 11(8), 392–397.
55. Malagoli, M., Schiavon, M., Dall'Acqua, S., & Pilon-Smits, E. A. H. (2015).
56. Mathew, M., & Narayana, B. (2006). An easy spectrophotometric determination of selenium using azure B as a chromogenic reagent. *Indian Journal of Chemical Technology*, 13, 455–458.
57. Matheron, M. (2008). Fusarium wilt of leafy greens: Managing a challenging disease. PDT. The University of Arizona, Yuma Agricultural Center, 2.
58. Mingji X, Chongling Y, Jing Y, Lily W (2009) Impacto del fenantreno en la secreción y acumulación de ácidos orgánicos por la raíz del raigrás perenne, *Lolium perenne* L. *Bull Environ Contam Toxicol* 83:75–80
59. Mroczek-Zdyrska, M., Strubińska, J., & Hanaka, A. (2017). Selenium improves physiological parameters and alleviates oxidative stress in shoots of lead-exposed *Vicia faba* L. minor plants grown under phosphorus-deficient conditions. *Journal of Plant Growth Regulation*, 36(1), 186–199. <https://doi.org/10.1007/s00344-016-9629-7>
60. Nowruzzi, B., Jalil, B. S., & Metcalf, J. S. (2023). Biosynthesis of SeNPs via cyanobacteria and their antifungal activity against plant-pathogenic fungi. *BMC Biotechnology*, 23(41). <https://doi.org/10.1186/s12896-023-00807-4>
61. Pickering, I. J., Prince, R. C., Salt, D. E., & George, G. N. (2000). Quantitative, chemically specific imaging of selenium transformation in plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(20), 10717–10722. <https://doi.org/10.1073/pnas.200244597>
62. Quinn, C. F., et al. (2010). Selenium hyperaccumulation offers protection from cell disruptor herbivores. *BMC Ecology*, 10, 19.
63. Rahman, A., Wallis, C. M., & Uddin, W. (2015). Silicon-induced systemic defense responses in perennial ryegrass against infection by *Magnaporthe oryzae*. *Phytopathology*, 105(6), 748–757.
64. Rayman, M. P. (2012). *Selenium and human health: A review of the evidence and mechanisms*. (Note: edición revisada de la obra de 2012).
65. Ruf, M., & Brunner, I. (2003). Vitality of tree fine roots: reevaluation of the tetrazolium. *The Physiology*, 23(4), 257–263.
66. Santos, C., Monte, J., Vilaça, N., Fonseca, J., Trindade, H., Cortez, I., & Goufo, P. (2021). Evaluation of the potential of agro-industrial waste-based composts to control *Botrytis* gray mold and soilborne fungal diseases in lettuce. *Processes*, 9(12), 2231. <https://doi.org/10.3390/pr9122231>
67. Scott, J. C., Gordon, T. R., Kirkpatrick, S. C., Koike, S. T., Matheron, M. E., Ochoa, O. E., Truco, M. J., & Micheltore, R. W. (2012). Crop rotation and genetic resistance reduce risk of damage from fusarium wilt in lettuce. *California Agriculture*, 66(1), 20–24.
68. Simojoki, A., Xue, T., Lukkari, K., Pennanen, A., & Hartikainen, H. (2003). Allocation of added selenium in lettuce and its impact on roots. *Agricultural and Food Science in Finland*, 12, 155–164.

69. Shulaev, V., Cortes, D., Miller, G., & Mittler, R. (2008). Metabolomics for plant stress response. *Physiologia Plantarum*, 132, 199–208.
70. Sturite, I., Henriksen, T. M., & Breland, T. A. (2005). Distinguishing between metabolically active and inactive roots by combined staining with 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride and image colour analysis. *Plant and Soil*, 271, 75–82.
71. Terry, N., et al. (2000). Selenium in higher plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 51, 403–404.
72. Vavrina, C. S. (2002). An introduction to the production of containerized vegetable transplants. University of Florida: USA, 12.
73. Weston, L. A., & Blom-Zandstra, M. (1989). Transplant age and N and P nutrition effects on growth and yield of tomatoes. *Horticultural Science*, 24, 88– 90.
74. White, P. J., & Broadley, M. R. (2009). *Biofortification of crops with seven mineral elements often lacking in human diets – iron, zinc, copper, calcium, magnesium, selenium and iodine*. *New Phytologist*, 182(1), 49-84. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2008.02738.x>
75. Wu, Z. L., et al. (2014). Inhibitory effect of selenium against *Penicillium expansum* and its possible mechanisms of action. *Current Microbiology*, 69(2), 192–201.
76. Xue, T., Hartikainen, H., & Piironen, V. (2001). Antioxidative and growth-promoting effect of selenium on senescing lettuce. *Plant and Soil*, 237, 55–61.
77. Zhang, Y., & Wang, L. (2016). The effects of climate change on crop yield in China: A review. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 6(4), 123–134. <https://doi.org/10.1080/23311940.2016.1231987>
78. Zhao, F. J., & McGrath, S. P. (2009). Biofortification and phytoremediation. *Current Opinion in Plant Biology*, 12(3), 373–380.
79. Zhu, Z., et al. (2010). Effects of brassinosteroids on postharvest disease and senescence of jujube fruit in storage. *Postharvest Biology and Technology*, 56, 50–55.
80. Zhu, Y. G., et al. (2009). Selenium in higher plants: understanding mechanisms for biofortification and phytoremediation. *Trends in Plant Science*, 14(8), 436–444.