

## **Efecto comparativo del selenito y selenato en el crecimiento y contenido de pigmentos fotosintéticos en plantas de pimiento (*Capsicum annuum* L.)**

### **Comparative effect of selenite and selenate on the growth and content of photosynthetic pigments in pepper plants (*Capsicum annuum* L.)**

Marily Hernández-Hernández<sup>1</sup>, Janet León-Morales<sup>2</sup>, Yolanda López-Bibiano<sup>1</sup>, Wendy Daniela Saldaña-Sánchez<sup>1</sup> y Soledad García-Morales<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Universidad Autónoma Metropolitana- Unidad Xochimilco, Licenciatura en Agronomía. Calzada del Hueso 1100, Col. Villa Quietud, delegación Coyoacán. C.P. 04960, Ciudad de México, México. <sup>2</sup>CONACYT-Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, Biotecnología Vegetal. Camino Arenero, Núm. 1227, Col. El Bajío, C.P. 45019. Zapopan, Jalisco. México.

#### **Resumen**

El selenio (Se) es un metaloide esencial para humanos y animales; sin embargo en plantas es considerado un elemento benéfico, ya que en bajas concentraciones promueve el crecimiento y aumenta la calidad de los cultivos. Los efectos del Se están en función de su forma química, concentración, disponibilidad en el suelo y tipo de cultivo. Por lo que, el objetivo fue comparar el efecto del selenito y selenato de sodio ( $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  y  $\text{Na}_2\text{SeO}_4$ , respectivamente) en el crecimiento, contenido de clorofilas y carotenoides de plantas de pimiento. Se transfirieron plantas de 20 días de edad a hidroponía con solución nutritiva Hoagland y las concentraciones evaluadas fueron 0, 5, 10 y 20  $\mu\text{M}$  de  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  o  $\text{Na}_2\text{SeO}_4$ . Después de 24 días, las raíces de las plantas crecidas con selenito tuvieron mayor longitud, pero en las tratadas con selenato mostraron un incremento en volumen. El área foliar y el peso seco de raíz, tallo y hojas fueron superiores en las plantas tratadas con selenato, mientras que la concentración más alta de selenito afectó negativamente estas variables de crecimiento. Sin embargo, con la aplicación de selenito incrementó la concentración de clorofilas y carotenoides en hojas. En este estudio podemos concluir, que el selenato favorece el crecimiento y la acumulación de materia seca en las plantas de pimiento, y el selenito induce un aumento en el contenido de pigmentos fotosintéticos. Ambos efectos pueden ser aprovechados en el manejo agronómico de este cultivo para mejorar su producción.

#### **Abstract**

Selenium (Se) is an essential metalloid for humans and animals; however, in plants it is considered a beneficial element, because it promotes crop growth and increases crop quality at low concentrations. The effects of Se are based on its chemical form, concentration, availability in the soil and also crop type. Hence, the aim of this study was to compare the effect of sodium selenite and sodium selenate ( $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  y  $\text{Na}_2\text{SeO}_4$ , respectively) on the chlorophyll content, carotenoid content and growth of pepper plants. Twenty days old plants were transferred to hydroponics using Hoagland nutrient solution and the concentrations evaluated were 0, 5, 10 and 20  $\mu\text{M}$  of  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  or  $\text{Na}_2\text{SeO}_4$ . After 24 days, the roots of plants grown in selenite were longer, but in the plants treated with selenate shown an increase in volume. The foliar area and the dry weight of root, stem and leaves enhanced in plants treated with selenite, while the higher concentration of selenite negatively affected these growth variables. On the other hand, the concentration of chlorophylls and carotenoids in leaves increased with the application of selenite. In this study, we can conclude that selenate enhanced the growth and accumulation of dry matter in pepper plants, and selenite induced an increase in the content of photosynthetic pigments. Both effects can be used in the agronomic management of this crop to improve crop production.

**Key words:** beneficial element, selenium species, chlorophyll, carotenoid.

## Palabras clave

Elemento benéfico, selenio, clorofila, carotenoides

---

\*Autor para correspondencia: Soledad García Morales. [smorales@ciatej.mx](mailto:smorales@ciatej.mx)

---

## Introducción

El selenio (Se) es un micronutriente esencial para los mamíferos, ya que está involucrado en rutas metabólicas principales, como la producción de selenoproteínas (incluyendo los aminoácidos selenocisteína y selenometionina), el metabolismo de la hormona tiroidea, las funciones inmunológicas y en la defensa antioxidante (Malagoli *et al.*, 2015). Las deficiencias de Se están asociadas con varias enfermedades, entre ellas la enfermedad de Keshan, enfermedades del corazón, hipertiroidismo, reducción de la fertilidad, así como mayor susceptibilidad al cáncer (Brown y Arthur, 2001; Rayman, 2012). Gran parte del Se consumido por humanos y animales se obtiene directa o indirectamente de las plantas, por lo que una dieta rica en Se depende en gran medida de la producción de granos y vegetales en suelos con Se disponible (Li *et al.*, 2018).

El Se puede ser agregado como fertilizante químico o fertilizante verde a los cultivos, mediante una estrategia agronómica llamada biofortificación, (Bañuelos *et al.*, 2017) incrementando el contenido de Se en las plantas y produciendo alimentos enriquecidos con Se. Esta práctica agrícola se puede implementar durante las primeras etapas de crecimiento de las plantas y se ha aplicado para varios cultivos, incluyendo árboles y hortalizas (Businelli *et al.*, 2015; D'Amato *et al.*, 2018).

En el suelo, el Se puede ser encontrado como selenido ( $\text{Se}^{2-}$ ), selenio elemental ( $\text{Se}^0$ ), hiposelenito ( $\text{Se}_2\text{O}_3^{2-}$ ), selenito ( $\text{SeO}_3^{2-}$ ) o selenato ( $\text{SeO}_4^{2-}$ ). Entre las formas de origen natural del Se, el selenito y el selenato son solubles en agua pero tienen diferente comportamiento en el suelo: el selenato es móvil y es una fuente de Se que está fácilmente disponible para los cultivos, mientras que el selenito es retenido en el suelo disminuyendo su solubilidad y disponibilidad para las plantas (Keskinen *et al.*,

## Introduction

Selenium (Se) is an essential micronutrient for mammals because it is involved in major metabolic pathways, such as the production of selenoproteins (including the amino acids selenocysteine and selenomethionine), the metabolism of thyroid hormone, immune functions and defense antioxidant (Malagoli *et al.*, 2015). Se deficiencies are associated with several diseases, including Keshan disease, heart disease, hypothyroidism, reduced fertility, as well as increased susceptibility to cancer (Brown *et al.*, 2001; Rayman, 2012). Most of the Se consumed by humans and animals is obtained directly or indirectly from the plants, hence a Se-rich diet largely depends on the production of grains and vegetables in soils with available Se (Li *et al.*, 2018).

Selenium can be added as a chemical fertilizer or green fertilizer to crops, through an agronomic strategy called biofortification, increasing the Se content in the plants and producing foods fortified with Se (Bañuelos *et al.*, 2017). This agricultural practice can be implemented during the first stages of plant growth and has been applied to several crops, including trees and vegetables (Businelli *et al.*, 2015; D'Amato *et al.*, 2018).

In soil, Se can be found as selenide ( $\text{Se}^{2-}$ ), elemental selenium ( $\text{Se}^0$ ), diselenium trioxide ( $\text{Se}_2\text{O}_3^{2-}$ ), selenite ( $\text{SeO}_3^{2-}$ ) or selenate ( $\text{SeO}_4^{2-}$ ). Among the Se forms of natural origin, selenite and selenate are soluble in water, but they have different behaviors in the soil (Dungan and Frankenberger, 1999; González-Morales *et al.*, 2017). Selenate is a source of Se that is mobile and readily available for crops, while selenite is retained in the soil, resulting in Se form less soluble and less available for the plants (Keskinen *et al.*, 2013). Due to this latter behavior, the selenite would remain bioavailable in successive plantings (Ali *et al.*, 2017).

The absorption and accumulation of Se in plants depends on its chemical form and its concentration in the soil or culture medium. On the other hand, the distribution of Se in the different organs depends of the plant species, the development stage and the physiological conditions of the plant (Puccinelli *et al.*, 2017). Previously, it has been reported that plants have a preference for absorbing certain chemical forms of Se from the soil solution, mainly

2013). Debido a este comportamiento, el selenito permanecería biodisponible en siembras sucesivas (Ali *et al.*, 2017).

La absorción y acumulación de Se en las plantas depende de la forma química y de la concentración en el suelo o medio de cultivo. Por otra parte, su distribución en los diferentes órganos está en función de la especie vegetal, de la etapa de desarrollo y de las condiciones fisiológicas de la planta (Puccinelli *et al.*, 2017). Se ha reportado previamente que las plantas tienen preferencia para absorber ciertas formas químicas del Se de la solución del suelo, principalmente en forma de selenato y en menor cantidad como selenito o compuestos orgánicos (selenocisteína y selenometionina) (Terry *et al.*, 2000; González-Morales *et al.*, 2017). El selenato se transloca fácilmente de las raíces a los brotes, mientras que la mayor parte del selenito permanece en las raíces y es rápidamente convertido a formas orgánicas (Li *et al.*, 2008; Zhu *et al.*, 2009; Puccinelli *et al.*, 2017).

El Se es considerado un nutrimento benéfico para las plantas debido a que favorece el crecimiento, mejora la calidad de los cultivos, incrementa el rendimiento y aumenta la tolerancia a factores de estrés abiótico y biótico (Pilon-Smits *et al.*, 2009; Businelli *et al.*, 2015; Nawaz *et al.*, 2016).

El pimiento (*Capsicum annuum* L.) es un fruto de gran importancia en la dieta humana debido a su versatilidad para ser consumido ya sea como vegetal fresco en ensaladas, cocinado o deshidratado. Además, es conocido por su alto contenido de compuestos bioactivos y como una fuente importante de antioxidantes, siendo una de las hortalizas más populares a nivel mundial por la combinación de color, sabor y valor nutricional (Chávez-Mendoza *et al.*, 2015). Por lo que, este cultivo puede ser un fuerte candidato para programas de biofortificación con Se. Sin embargo, la investigación sobre el efecto del selenio o sus formas químicas en el cultivo del pimiento es limitada.

El objetivo de este trabajo fue comparar el efecto del selenito ( $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ ) y el selenato ( $\text{Na}_2\text{SeO}_4$ ) de sodio sobre el crecimiento y concentración de clorofilas y carotenoides en plantas de pimiento, utilizando un sistema hidropónico para tener la misma disponibilidad de las dos formas químicas evaluadas de Se.

in the form of selenate and in a lowest quantity as selenite or organic compounds (selenocysteine and selenomethionine) (Terry *et al.*, 2000; González-Morales *et al.*, 2017). The selenate is easily translocated from the roots to shoots, while most of the selenite remains in the roots where it is quickly converted to organic forms (Li *et al.*, 2008; Zhu *et al.*, 2009; Puccinelli *et al.*, 2017).

Selenium is considered as a beneficial nutrient for plants because it promotes or stimulates the growth, improves crop quality, increases yield and tolerance to abiotic and biotic stress factors (Pilon-Smits *et al.*, 2009; Businelli *et al.*, 2015; Nawaz *et al.*, 2016).

Pepper (*Capsicum annuum* L.) fruits are considered to be of great importance in the human diet due to their versatility to be consumed raw in salads, cooked or dehydrated forms. In addition, pepper is known for its high content of bioactive compounds and as an important source of antioxidants, being one of the most popular vegetables worldwide due to the combination of color, flavor and nutritional value (Chávez-Mendoza *et al.*, 2015). Therefore, the pepper crop can be a strong candidate to biofortification programs with Se. However, the research on the effect of selenium or its chemical forms in the pepper crop is limited.

The aim of the present study was to compare the effect of selenite ( $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ ) and selenate ( $\text{Na}_2\text{SeO}_4$ ) on the growth and concentration of chlorophylls and carotenoids in pepper plants, using a hydroponic system in order to have the same availability of the two chemical forms of evaluated Se.

## Materials and methods

Seeds of pepper (*Capsicum annuum*) cv. LeMans were germinated in polyethylene transplanting trays with 98 cells. Peat moss was used as the growing substrate, with the following characteristics: NPK fertilizer (20-10-18, 1 kg per 1000 L of substrate), wetting agent and dolomite. The trays with the seeds were kept in darkness in a greenhouse. After 10 days, trays were watered every three days using tap water.

After the seedlings emergence, trays were watered three times a week with 25% Hoagland nutrient solution, which contained: 2.5 mM  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , 0.5 mM  $(\text{NH}_4)\text{H}_2\text{PO}_4$ , 1 mM

## Materiales y metodos

Semillas de pimiento (*Capsicum annuum*) cultivar LeMans fueron germinadas en charolas de polietileno flexible de 98 cavidades con sustrato comercial para germinación constituido por peat moss, agente humectante, dolomita y fertilizante NPK (20-10-18, 1 kg por cada 1000 L de sustrato). Las charolas con las semillas se mantuvieron en oscuridad por 10 días, en invernadero. Posteriormente fueron regadas con agua corriente cada tercer día.

Después de la emergencia de las semillas se realizaron riegos tres veces a la semana, con la solución nutritiva de Hoagland al 25%, la cual contiene: 2.5 mM  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , 0.5 mM  $(\text{NH}_4)_2\text{PO}_4$ , 1 mM  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 3 mM  $\text{KNO}_3$ , 10  $\mu\text{M}$  Fe-EDTA, y microelementos (0.1  $\mu\text{M}$   $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 0.3  $\mu\text{M}$   $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , 0.77  $\mu\text{M}$   $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 9.1  $\mu\text{M}$   $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  y 46  $\mu\text{M}$   $\text{H}_3\text{BO}_3$ ).

El experimento se realizó en un invernadero con luz natural, con un fotoperiodo de 12 h día y noche, una temperatura de 31 °C durante el día y 16 °C por la noche, y una humedad relativa de 42-69 %.

Se evaluaron tres concentraciones (5, 10 y 20  $\mu\text{M}$ ) de dos fuentes químicas de selenio ( $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  y  $\text{Na}_2\text{SeO}_4$ ), así como el testigo (0  $\mu\text{M}$ ) con un total de siete tratamientos. Se utilizaron plantas de pimiento de 20 días de edad, germinadas como se describió previamente. Se seleccionaron plantas de crecimiento uniforme y se lavaron las raíces antes de colocarse en recipientes de plástico con 4.5 L de solución nutritiva Hoagland al 50% más cada uno de los tratamientos. Se colocaron 18 plantas en cada recipiente y se empleó un recipiente por tratamiento.

La solución nutritiva fue aireada cada tres horas durante 10 min, se rellenó cada tercer día y renovó semanalmente. Se utilizó agua destilada para la preparación de la solución nutritiva y se ajustó el pH a 5.5 con NaOH (1M) o HCl.

Después de 24 días de la aplicación de los tratamientos, se determinó la altura de planta y longitud de raíz. El volumen de raíz se obtuvo mediante el método de desplazamiento de volumen usando una probeta de vidrio de 50 mL. El diámetro del tallo se midió con un vernier digital (Surtek, Urrea), y también se cuantificó el número de hojas y de brotes. Para la determinación del área foliar, primero se consiguió la imagen digital de las hojas en un escáner (MPC3055P Lanier, Ricoh, USA) y

$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 3 mM  $\text{KNO}_3$ , 10  $\mu\text{M}$  Fe-EDTA, and microelements (0.1  $\mu\text{M}$   $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 0.3  $\mu\text{M}$   $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , 0.77  $\mu\text{M}$   $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 9.1  $\mu\text{M}$   $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  and 46  $\mu\text{M}$   $\text{H}_3\text{BO}_3$ ).

The experiment was carried out in a greenhouse with natural light with a photoperiod of 12 h day/night, with a respective 31/16°C temperature periodicity and the relative humidity was between 42-69%.

Three different concentrations (5, 10 and 20  $\mu\text{M}$ ) of two species of selenium ( $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  and  $\text{Na}_2\text{SeO}_4$ ) were evaluated, as well as the control (0  $\mu\text{M}$ ) with a total of seven treatments. Twenty days old plants were transferred to 4.5 L trays containing Hoagland nutrient solution. Eighteen seedlings were transferred to each container and one container was used per treatment.

The nutrient solution was aerated daily every three hours for 10 min. The hydroponic solution was replaced every seven days and evaporated water was replenished every three days. Distilled water was used for the preparation of the nutrient solution and the pH was adjusted to 5.5 using NaOH (1 M) or HCl.

Twenty-four days after treatment applications, the plant height and root length were determined. Root volume was obtained by the volume displacement method using a 50 mL glass tube. The diameter of the stem was measured using a digital vernier (Surtek, Urrea). The number of leaves and buds was also quantified. For the determination of the leaf area, first the digital image of the leaves was obtained using a scanner (MPC 3055 P Lanier, Ricoh, USA) and then the image was analyzed using the image open source processing program ImageJ (Image Processing and Analysis in Java) in order to obtain the leaf area.

The plants were separated into leaves, stem and root to determine their fresh weight using an analytical balance. Dry weight was determined 72 h after drying the plant tissue at 72°C in an oven.

Fresh tissue of leaves (0.25 g) was used, which was cut into small segments and immediately placed in 10 mL of acetone (80%) that was pre-cooled and then left to macerate at 4 °C for 48 h. The absorbances at 645, 663 and 480 nm of the supernatants were measured using a spectrophotometer (GENESYS 10S UV-Vis, Thermo Scientific™, USA). The concentrations of chlorophyll a, chlorophyll b, and total carotenoids

luego se analizaron con el software de imágenes científicas ImageJ (Image Processing and Analysis in Java) para obtener el área. Las plantas se separaron en hojas, tallo y raíz para determinar su peso fresco empleando una balanza analítica. Posteriormente, el tejido vegetal fue colocado en una estufa a 70 °C durante 72 h y se obtuvo el peso seco; todas estas mediciones para cada tratamiento.

Se empleó 0.25 g de tejido foliar fresco, el cual fue cortado en pequeños segmentos e inmediatamente colocado en 10 mL de acetona (80%) pre-enfriada y se dejó macerando a 4 °C durante 48 h. Posteriormente se midieron las absorbancias a 645, 663 y 480 nm de los sobrenadantes en un espectrofotómetro (Thermo Scientific™, GENESYS 10uv, USA). La concentración de clorofilas *a*, *b*, total y carotenoides se determinó de acuerdo a los métodos descritos por Arnon (1949) y Davies (1976), usando las fórmulas reportadas por Nawaz et al. (2016).

Con los datos obtenidos se realizó un análisis de varianza, así como la comparación de medias usando la prueba de rango múltiple de Duncan, con un nivel de significancia del 95% ( $P \leq 0.05$ ). Se utilizaron los procedimientos del paquete estadístico SAS 9.1.

## Resultados y discusión

La altura de planta fue afectada negativamente con la concentración más alta de  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  (20  $\mu\text{M}$ ), mientras que con el resto de los tratamientos no se obtuvieron diferencias significativas con respecto al testigo. En las plantas tratadas con 5  $\mu\text{M}$   $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  se observó un ligero incremento en el diámetro del tallo y el área foliar, sin alcanzar diferencias estadísticas con el testigo; mientras que la aplicación de 20  $\mu\text{M}$   $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  redujo el diámetro del tallo, el número de hojas y el área foliar. En el caso del  $\text{Na}_2\text{SeO}_4$ , las tres concentraciones tuvieron efectos similares al testigo en la altura de planta, diámetro de tallo y número de hojas. El área foliar incrementó 25 y 21% con 5 y 10  $\mu\text{M}$   $\text{Na}_2\text{SeO}_4$ , respectivamente (Tabla 1).

Las tres concentraciones evaluadas de  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  incrementaron la longitud de raíz de las plantas de pimiento, mientras que con el  $\text{Na}_2\text{SeO}_4$  sólo se observó un efecto positivo sobre la longitud de las raíces a la concentración más alta (20  $\mu\text{M}$ ). El volumen de la raíz disminuyó al aumentar la concentración de  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ , observándose un

were determined according to the methods described by Arnon (1949) and Davies (1976), using the formulas reported by Nawaz *et al.* (2016).

All data were submitted to the analysis of variance (ANOVA). Means comparison was done using Duncan's Multiple Range Test with a significance value of 95% ( $P \leq 0.05$ ). The procedures of the statistical software SAS 9.1 were used.

## Results and discussion

Plant height was negatively affected by the highest concentration of  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  (20  $\mu\text{M}$ ), while all other treatments showed no statistically significant differences with respect to the control. In the plants treated with 5  $\mu\text{M}$   $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ , increase in the diameter of the stem and the leaf area were observed, without statistically differences with respect to the control; while the diameter of the stem, the number of leaves and leaf area were reduced with the application of 20  $\mu\text{M}$   $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ . In the case of  $\text{Na}_2\text{SeO}_4$ , the three concentrations had similar effects to the control in plant height, stem diameter and number of leaves. The leaf area increased 25 and 21% with 5 and 10  $\mu\text{M}$   $\text{Na}_2\text{SeO}_4$ , respectively (Table 1).

The three evaluated concentrations of  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  increased the root length of the pepper plants, whereas a positive effect of  $\text{Na}_2\text{SeO}_4$  was only observed on the length of the roots at the highest concentration (20  $\mu\text{M}$ ). The volume of the root decreased with increasing  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  concentration, showing an increase of 27% with 5  $\mu\text{M}$   $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ , a similar value to the control with 10  $\mu\text{M}$   $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  and a reduction of 48% with 20  $\mu\text{M}$   $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ . The treatment with 10  $\mu\text{M}$   $\text{Na}_2\text{SeO}_4$  also increased root volume by 30% (Figure 1).

The fresh weight of roots increased by 38% and 36% with 5  $\mu\text{M}$   $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  and 10  $\mu\text{M}$   $\text{Na}_2\text{SeO}_4$ , respectively, but decreased by 22% with 20  $\mu\text{M}$   $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ . Stem fresh weight was negatively affected by 20  $\mu\text{M}$   $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ , with no statistical differences between all other treatments. The doses of 5  $\mu\text{M}$   $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  and 10  $\mu\text{M}$   $\text{Na}_2\text{SeO}_4$  increased the fresh weight of leaves by 20% and 14%, respectively; while this variable was reduced by 42% in the treatment with 20  $\mu\text{M}$   $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ . The same tendency was observed in the dry weight of root and leaves, with increases in the treatment with 5  $\mu\text{M}$   $\text{Na}_2\text{SeO}_4$ , while the dry weight of root, stem and leaves of plants treated with 20  $\mu\text{M}$   $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  were 27%, 42%

aumento del 27% con 5  $\mu\text{M}$  de  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ , y 10  $\mu\text{M}$  de  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  mantuvo un valor similar al testigo, mientras que 20  $\mu\text{M}$  de  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  lo redujo 48%. El tratamiento con 10  $\mu\text{M}$   $\text{Na}_2\text{SeO}_4$  incrementó 30% el volumen de raíz (Figura 1).

and 41% lower than in the control, respectively (Table 2).

The treatment with 10  $\mu\text{M}$   $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  had a positive effect on the content of pigments in leaves, with an increase of 35% and 30% in the content of

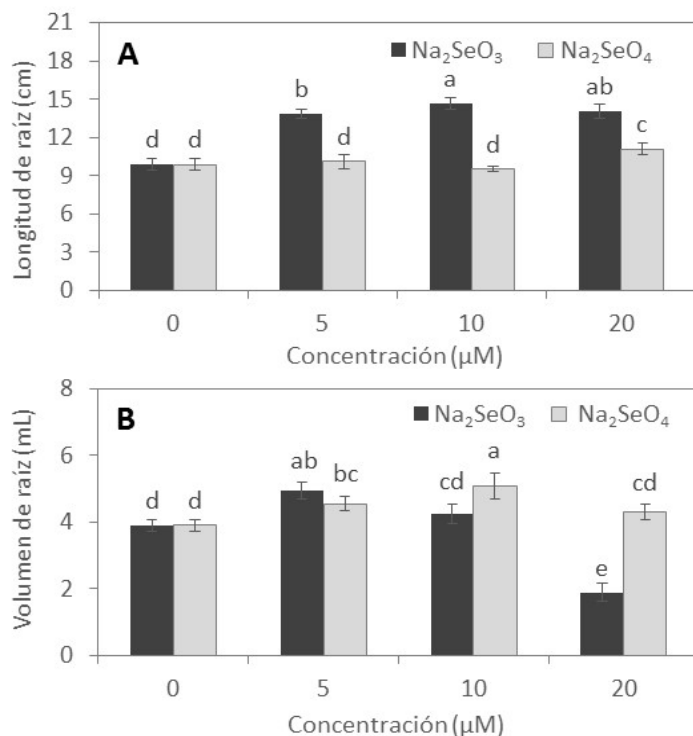
**Tabla 1.** Parámetros de crecimiento de la parte aérea de plantas de pimienta crecidas en solución hidropónica con diferentes concentraciones de  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  o  $\text{Na}_2\text{SeO}_4$ .

**Table 1.** Shoot growth parameters of pepper plants grown in hydroponic solution with different concentrations of  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  or  $\text{Na}_2\text{SeO}_4$ .

Forma química	[ $\mu\text{M}$ ]	Altura de planta (cm)	Diámetro de tallo (mm)	Número de hojas	Área foliar ( $\text{cm}^2$ )
Testigo	0	19.4 a	4.40 abc	11.7 a	186.7 c
	5	19.5 a	4.68 a	11.1 a	200.5 bc
$\text{Na}_2\text{SeO}_3$	10	18.8 ab	4.20 c	11.2 a	188.2 c
	20	17.5 b	3.45 d	9.6 b	111.8 d
	5	19.1 a	4.36 abc	11.7 a	234.4 a
$\text{Na}_2\text{SeO}_4$	10	19.8 a	4.33 bc	11.2 a	226.4 ab
	20	20.2 a	4.61 ab	11.4 a	205.0 abc

Medias con letras diferentes indican diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Duncan ( $p < 0.05$ ).

Means with different letters indicate significant differences according to Duncan's test ( $p < 0.05$ ).



**Figura 1.** Longitud (A) y volumen (B) de raíz de plantas de pimienta con diferentes concentraciones de  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  o  $\text{Na}_2\text{SeO}_4$ . Medias con letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Duncan ( $p < 0.05$ ).

**Figure 1.** Length (A) and volume (b) of root of pepper plants with different concentrations of  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  or  $\text{Na}_2\text{SeO}_4$ . Means with different letters in each column indicate significant differences according to Duncan's multiple range test ( $p < 0.05$ ).

El peso fresco de raíz incrementó 38% y 36% con 5  $\mu\text{M}$  de  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  y 10  $\mu\text{M}$  de  $\text{Na}_2\text{SeO}_4$ , respectivamente, pero disminuyó 22% con 20  $\mu\text{M}$   $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ . El peso fresco de tallo fue afectado negativamente con 20  $\mu\text{M}$   $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ , sin diferencias estadísticas entre el resto de los tratamientos. La dosis de 5  $\mu\text{M}$  de  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  y 10  $\mu\text{M}$  de  $\text{Na}_2\text{SeO}_4$  incrementaron 20% y 14% el peso fresco de hojas, respectivamente; mientras que en el tratamiento con 20  $\mu\text{M}$   $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  se observó una reducción del 42% en esta variable. En el peso seco de raíz y hojas se observa la misma tendencia, con incrementos en el tratamiento de 5  $\mu\text{M}$   $\text{Na}_2\text{SeO}_4$ , mientras que con 20  $\mu\text{M}$   $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  la acumulación de peso de seco de raíz, tallo y hojas es 27%, 42% y 41% menor que el testigo (Tabla 2).

total chlorophylls and carotenoids, respectively. In contrast, in plants treated with 10  $\mu\text{M}$   $\text{Na}_2\text{SeO}_4$  was observed a decreasing in the content of chlorophylls and carotenoids (22% and 20%, respectively).

The three concentrations evaluated of selenate did not promote the shoot growth of the pepper plants (plant height, stem diameter and number of leaves). However, a clear trend of reduction in stem diameter and leaf area was observed as the concentration of selenite increases in the nutrient solution (Table 1). Opposite results were observed in rice sprouts, where no differences were found in plant height with the application of different concentrations of selenite, but negative effects were observed with the highest doses of selenate (D'Amato *et al.*, 2018). The differences in the

**Tabla 2.** Peso fresco y seco de plantas de pimienta crecidas en solución hidropónica con diferentes concentraciones de  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  o  $\text{Na}_2\text{SeO}_4$ .

**Table 2.** Fresh and dry weight of pepper plants grown in hydroponic nutrient solution with different concentrations of  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  or  $\text{Na}_2\text{SeO}_4$ .

Forma química	[ $\mu\text{M}$ ]	Peso fresco (g)			Peso seco (g)		
		Raíz	Tallo	Hojas	Raíz	Tallo	Hojas
Testigo	0	2.91 b	4.31 ab	4.42 c	0.22 b	0.41 ab	0.51 b
	5	4.00 a	4.76 a	5.31 a	0.24 b	0.40 ab	0.57 ab
$\text{Na}_2\text{SeO}_3$	10	3.26 b	4.22 b	4.54 bc	0.23 b	0.37 b	0.51 b
	20	2.27 c	2.53 c	2.55 d	0.16 c	0.24 c	0.30 c
$\text{Na}_2\text{SeO}_4$	5	3.11 b	4.26 ab	4.46 c	0.27 a	0.43 a	0.61 a
	10	3.97 a	4.65 ab	5.05 ab	0.28 a	0.43 a	0.57 ab
	20	3.18 b	4.68 ab	4.80 abc	0.23 b	0.41 ab	0.54 b

Medias con letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Duncan ( $p < 0.05$ ).

Means with different letters in each column indicate significant differences according to Duncan's test ( $p < 0.05$ ).

El tratamiento con 10  $\mu\text{M}$   $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  tuvo un efecto positivo sobre el contenido de pigmentos en hojas, con un incremento del 35% en la concentración de clorofilas totales y un 30% en la concentración de carotenoides. En contraste, en las plantas tratadas con 10  $\mu\text{M}$   $\text{Na}_2\text{SeO}_4$  disminuyó 22% y 20% el contenido de clorofilas y carotenoides, respectivamente (Figura 2). Las tres concentraciones de selenato evaluadas no influyeron en el crecimiento de la parte aérea de las plantas de

response of these species to Se could be due to the fact that the pepper, used in the present study, is a dicotyledon plant and rice is a monocotyledon; suggesting that the establishment of Se concentrations to promote the plant growth will depend on the species, its tolerance to Se, the chemical form and the environmental conditions (Li *et al.*, 2018).

Regarding the growth variables of the shoot, the leaf area showed a positive response to the

pimiento (altura, diámetro de tallo y número de hojas). Mientras que con selenito se observa una tendencia clara de reducción en el diámetro de tallo y área foliar conforme incrementa la concentración de este radical en la solución nutritiva. (Tabla 1).

application of Se, in the selenate form.

This effect give an advantage to the plant, since a higher leaf area enhance the sunlight capture which is an essential parameter to improve the crop productivity (Weraduwege *et al.*, 2015).

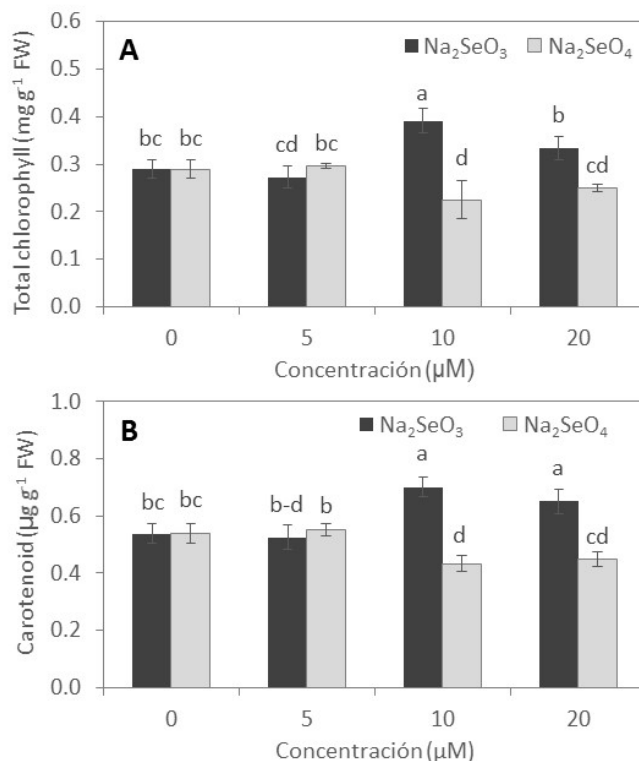


Figura 2. Concentración de clorofila total (A) y carotenoides (B) en hojas de plantas de pimiento crecidas en solución hidropónica con diferentes concentraciones de Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> o Na<sub>2</sub>SeO<sub>4</sub>. Medias con letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Duncan ( $p < 0.05$ ). PF: peso fresco.

Figure 2. Content of total chlorophylls (A) and carotenoids (B) in leaves of pepper plants grown in hydroponic solution with different concentrations of Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> or Na<sub>2</sub>SeO<sub>4</sub>. FW: Fresh weight. Means with different letters in each column indicate significant differences according to Duncan's multiple range test ( $p < 0.05$ ).

Resultados opuestos fueron obtenidos en brotes de arroz, donde no se encontraron diferencias en la altura de planta con la aplicación de diferentes concentraciones de selenito, pero si se reportó efectos negativos con las dosis más altas de selenato (D'Amato *et al.*, 2018). Esta respuesta diferencial podría deberse a que el pimiento es una dicotiledónea y el arroz es una monocotiledónea, sugiriendo que el rango de concentraciones del Se para promover o inhibir el crecimiento de las

The root length increased in all treatments using selenite, while regarding root volume a positive effect was observed only with the lowest concentration of selenite, but this effect was reverted as the selenite concentration increased in the nutritive solution. In the case of selenate, the highest dose increased root length and the intermediate dose (10 µM) of this chemical form stimulate an increase in volume (Figure 1). In rice, partially similar results were observed, since the



plantas dependerá de la especie, su tolerancia al Se, la forma química y las condiciones ambientales (Li *et al.*, 2018).

De las variables de crecimiento de la parte aérea que tuvieron una respuesta positiva a la aplicación del Se, en forma de selenato, fue el área foliar. Lo cual resulta interesante, ya que una mayor área foliar favorece la captación de la luz solar y es un parámetro importante que determina la productividad de las plantas (Weraduwege *et al.*, 2015).

La longitud de la raíz incrementó en todos los tratamientos con selenito, mientras que en el volumen de raíz se observó un efecto positivo sólo con la aplicación de 5  $\mu\text{M}$  y luego se redujo conforme incrementó la concentración de selenito. En el caso del selenato, la dosis más alta incrementó la longitud de la raíz y la dosis intermedia (10  $\mu\text{M}$ ) de esta forma química favoreció el volumen (Figura 1). En arroz, se encontraron resultados parcialmente similares, ya que la dosis más baja de selenito y selenato incrementó significativamente la longitud de raíz, para luego inhibir su crecimiento al aumentar la dosis de ambas formas químicas (D'Amato *et al.*, 2018).

El peso fresco de raíz y tallo incrementó con la dosis más baja de selenito y fue disminuyendo al incrementar el nivel de selenito en la solución nutritiva; con selenato sólo se observó un incremento en el peso fresco de raíz y tallo con la concentración intermedia (Cuadro 2). En maíz, el selenito redujo drásticamente el peso fresco de la parte aérea mientras que el selenato no tuvo efectos significativos (Garousi *et al.*, 2015). Resultados semejantes fueron reportados en un programa de biofortificación con Se en lechuga, donde no se encontraron diferencias significativas en el peso fresco de planta con dosis de 0, 10, 25 y 40  $\mu\text{M}$  de selenito y selenato (da Silva *et al.*, 2018). Estos resultados sugieren que la lechuga es más tolerante al Se que el pimiento. En otro trabajo de biofortificación con Se en brotes de arroz, la dosis más baja (118 mM) de selenito y (104.9 mM) de selenato incrementó el peso fresco, y con dosis más altas disminuyó significativamente (D'Amato *et al.*, 2018). Similar a lo reportado en este trabajo con pimiento, en *Brassica juncea* se reportó una reducción significativa en el peso fresco de raíz y parte aérea al incrementar la concentración de selenito (20, 40 y 100  $\mu\text{M}$ ) (Molnár *et al.*, 2018).

lowest doses of selenite and selenate significantly increased root length, and the increases in the doses of both chemical forms inhibited root growth (D'Amato *et al.*, 2018).

The root and stem fresh weight were increased with the lowest dose of selenite and increasing the level of selenite in the nutrient solution reduced them. Plants treated with selenate, only showed an increase in root and stem fresh weight with the intermediate concentration (Table 2). In contrast, selenite drastically reduced the fresh weight of maize shoot, while the selenate had no significant effects (Garousi *et al.*, 2015). Previous study of biofortification with Se in lettuce showed no significant differences in fresh plant weight at 0, 10, 25 and 40  $\mu\text{M}$  of selenite and selenate (da Silva *et al.*, 2018), suggesting that lettuce is more tolerant to Se than pepper. In another study of biofortification with Se in rice sprouts, the lowest dose (118 mM) of selenite and 104.9 mM of selenate increased the fresh weight of the plants, but with higher doses the fresh weight of the plants decreased significantly (D'Amato *et al.*, 2018). Molnár *et al.* (2018) reported a significant reduction in the fresh weight of root and shoot of *Brassica juncea* plants via increasing concentrations of selenite (20, 40 and 100  $\mu\text{M}$ ), showing a similar effect to the reported in the present study with peppers plants.

The results of dry weight also were drastically reduced with the highest concentration of selenite and improved by the lowest concentration of selenate (Table 2). There is a difference between the results observed in the present study and the previously reported in maize plants, where all selenite concentrations evaluated decreased the shoot dry weight, while the selenate showed no significant effects (Garousi *et al.*, 2015). On the other hand, Li *et al.* (2018) reported that 0.5 mg Se  $\text{kg}^{-1}$  of dry soil applied as selenite and selenate increased the dry weight of turnip plants (*Brassica rapa* var. *Rapa*), but higher concentrations cause a decrease in the plant growth. While, in *B. juncea*, selenite significantly reduced root and shoot dry weight, while 20  $\mu\text{M}$  selenate increased the plant dry weight (Molnár *et al.*, 2018). The positive effect of selenium on plant growth is attributed to its antioxidant effect, while the growth inhibition is considered a toxic effect, although no symptoms of chlorosis or necrosis have been observed (Molnár *et al.*, 2018). In the present study, pepper was found to

El resultado en el peso seco fue similar, drásticamente reducido con la mayor concentración de selenito y favorecido con la menor concentración de selenato (Cuadro 2). Lo que difiere con lo reportado en plantas de maíz, ya que todas las concentraciones evaluadas del selenito disminuyeron el peso seco de la parte aérea y el selenato no mostró efectos significativos (Garousi *et al.*, 2015). Por su parte, Li *et al.* (2018) encontraron que 0.5 mg Se kg<sup>-1</sup> de suelo seco tanto de selenito como de selenato aumentaron el peso seco de plantas de nabo (*Brassica rapa* var. *rapa*) y luego disminuyó el crecimiento a medida que aumentó la concentración de selenito o selenato. Mientras que, en *B. juncea*, el selenito redujo significativamente el peso seco de raíz y parte aérea; pero 20 µM de selenato incrementó el peso seco de la planta (Molnár *et al.*, 2018). El aumento en el crecimiento de las plantas y un mayor peso seco por efecto del selenio se atribuye a su efecto antioxidante y la inhibición del crecimiento se considera como un efecto tóxico, aunque no se observaron síntomas de clorosis o necrosis (Molnár *et al.*, 2018). En este trabajo, se encontró que el pimiento es más tolerante al selenato que al selenito, lo que podría explicarse por el hecho de que el selenito se incorpora más rápidamente a los selenoaminoácidos (Lyons *et al.*, 2005).

A diferencia de lo encontrado en el crecimiento, la concentración de clorofilas totales y carotenoides incrementó con 10 µM selenito y se redujo con la misma dosis de selenato. Lo que difiere de lo reportado por Garousi *et al.* (2015), quienes no encontraron diferencias significativas en la concentración de clorofila a y b en hojas de maíz con la aplicación de diferentes concentraciones de selenito o selenato. Otros resultados reportados en brotes de arroz indican que dosis bajas de selenito (118 µM y 354 µM) incrementaron la concentración de clorofila total y dosis iguales o superiores a 45 mg L<sup>-1</sup> de selenito o selenato redujeron la concentración de clorofilas totales y carotenoides (D'Amato *et al.*, 2018). En otras especies se ha relacionado el incremento de carotenoides como un mecanismo de resistencia a la toxicidad por selenato, por su efecto protector en la integridad de la membrana celular (D'Amato *et al.*, 2018), aunque en este trabajo no se observaron efectos tóxicos del selenato en las plantas de pimiento.

be more tolerant to selenate than to selenite, which could be explained by the fact that selenite is more easily incorporated into seleno-amino acids (Lyons *et al.*, 2005).

Unlike the results that were observed regarding growth, the contents of total chlorophylls and carotenoids increased with 10 µM selenite and were reduced with the same dose (10 µM) of selenate. These results differ from those reported by Garousi *et al.* (2015), showing no significant differences in the contents of chlorophyll a and b in corn leaves with the application of different concentrations of selenite or selenate. The exposition of rice sprouts at low doses of selenite (15 and 45 mg L<sup>-1</sup>) increased the total chlorophylls content, but doses higher than 45 mg L<sup>-1</sup> of selenite or selenate caused a reduction in the pigments content (D'Amato *et al.*, 2018). Although no toxic effects of selenate were observed in pepper plants in the present study, in others species have been related to the increase of carotenoids as a mechanism of resistance to selenate toxicity, due to its protective effect on the integrity of the plasma membrane (D'Amato *et al.*, 2018).

## Conclusions

Selenate at low concentrations (5 and 10 µM) stimulate the growth and accumulation of dry matter in pepper plants. In the case of selenite, the hormetic doses were established due to an increase in growth with 5 µM and growth inhibition with 20 µM (toxicity). The intermediate concentration of selenite (10 µM) also increased the content of photosynthetic pigments such as chlorophylls and carotenoids.

Both effects can be used in the agronomic management of pepper to improve crop production. Further, more studies are required to evaluate the role of selenite and selenate in the biofortification of pepper fruits, as well as to determine the uptake, mobility from the root to the fruits and metabolism of these two chemical forms of Se.

## Acknowledgments:

The authors wish thank the student Evelyn Carolina Langarica-Velázquez from Biotechnology Sinaloa for their support during the experimental phase. We also thank the National Laboratory PlanTECC for granting access to their facilities (Project number 293362).

## Conclusiones

El selenato a bajas concentraciones (5 y 10  $\mu\text{M}$ ) favorece el crecimiento y la acumulación de materia seca de plantas de pimiento. En el caso del selenito se establecieron las dosis horméticas, debido a que se pudo observar un incremento en el crecimiento con 5  $\mu\text{M}$  y la inhibición con 20  $\mu\text{M}$  (toxicidad). La concentración intermedia de selenito (10  $\mu\text{M}$ ) también aumentó el contenido de pigmentos fotosintéticos como clorofilas y carotenoides.

Ambos efectos pueden ser aprovechados en el manejo agronómico de este cultivo para mejorar su producción. También, se requieren más estudios para evaluar el papel del selenito y el selenato en la biofortificación de frutos de pimiento, así como determinar la absorción, movilidad y metabolismo de estas dos formas químicas del Se desde la raíz hasta los frutos.

## Agradecimientos:

Los autores agradecemos a la estudiante Evelyn Carolina Langarica-Velázquez de Ingeniería en Biotecnología de la Universidad Politécnica de Sinaloa por su apoyo durante la fase experimental. También agradecemos al Laboratorio Nacional PlanTECC por las facilidades otorgadas (Número de proyecto 293362).

## Referencias

Ali, F., Peng, Q., Wang, D., Cui, Z., Huang, J., Fu, D., Liang, D. (2017). Effects of selenite and selenate application on distribution and transformation of selenium fractions in soil and its bioavailability for wheat (*Triticum aestivum* L.). *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 24, 8315-8325. doi: 10.1007/s11356-017-8512-9

Arnon, D.I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant physiol.* 24, 1-15.

Bañuelos, G. S., Lin, Z. Q., Broadley, M. (2017). Selenium Biofortification, in E.A.H. Pilon-Smits *et al.* (eds.), *Selenium in plants*, Plant Ecophysiology. Springer International Publishing AG, pp: 231-255. doi: 10.1007/978-3-319-56249-0\_14

Brown, K. M., Arthur, J. R. (2001). Selenium, selenoproteins and human health: a review.

*Public Health Nutr.* 4, 593-599. doi: 10.1079/PHN2001143

Businelli, D., D'Amato, R., Onofri, A., Tedeschini, E., Tei, F. (2015). Seenrichment of cucumber (*Cucumis sativus* L.), lettuce (*Lactuca sativa* L.) and tomato (*Solanum lycopersicum* L. Karst) through fortification in pre-transplanting. *Sci. Hortic.* 197, 697-704. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2015.10.039>

Chávez-Mendoza, C., Sanchez, E., Muñoz-Marquez, E., Sida-Arreola, J.P., Flores-Cordova M.A. (2015). Bioactive Compounds and Antioxidant Activity in Different Grafted Varieties of Bell Pepper. *Antioxidants* 4, 427-46. doi: 10.3390/antiox4020427.

da Silva, E. do N., Cidade, M., Heerdt, G., Ribessi, R. L., Morgon, N. H., Cadore, S. (2018). Effect of selenite and selenate application on mineral composition of lettuce plants cultivated under hydroponic conditions: nutritional balance overview using a multifaceted study. *J. Braz. Chem. Soc.* 29, 371-379. <http://dx.doi.org/10.21577/0103-5053.20170150>

Davies, B. (1976). Carotenoids, in TW Goodwin (ed.), *Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments*, London: Academic Press. pp: 38-165.

D'Amato, R., Fontanella, M. C., Falcinelli, B., Beone, G. M., Bravi, E., Marconi, O., Benincasa, P., Businelli, D. (2018). Selenium biofortification in rice (*Oryza sativa* L.) sprouting: effects on Se yield and nutritional traits with focus on phenolic acid profile. *J. Agric. Food Chem.* 66, 4082-4090. doi: 10.1021/acs.jafc.8b00127

Dungan, R. S., Frankenberger, J. W. T. (1999). Microbial transformations of selenium and the bioremediation of seleniferous environments. *Bioremediat J.* 3, 171-188. <http://dx.doi.org/10.1080/10889869991219299>

Garousi, F., Veres, S., Bódis, É., Várallyay, S., Kovács, B. (2015). Role of selenite and selenate uptake by maize plants in chlorophyll a and b content. *Int. Scholarl Sci. Res. Innov.* 9, 625-628. doi: scholar.waset.org/1307-6892/10001571

González-Morales, S., Pérez-Labrada, F. García-Enciso, E. L., Leija-Martínez P., Medrano-Macías, J., Dávila-Rangel, I. E., Juárez-

- Maldonado, A., Rivas-Martínez, E. N., Benavides-Mendoza. (2017). Selenium and Sulfur to Produce *Allium* Functional Crops. *Molecules* 22, 558. doi: 10.3390/molecules22040558
- Keskinen, R., Yli-Halla, M., Hartikainen, H. (2013). Retention and uptake by plants of added selenium in peat soils. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 44:3465-3482. doi:10.1080/00103624.2013.847955
- Li, H. F., McGrath, S. P., Zhao, F. J. (2008). Selenium uptake, translocation and speciation in wheat supplied with selenate or selenite. *New Phytol.* 178, 92-102. doi: 10.1111/j.1469-8137.2007.02343.x
- Li, X., Wu, Y., Li, B., Yang, Y., Yang, Y. (2018). Selenium accumulation characteristics and biofortification potentiality in turnip (*Brassica rapa* var. *rapa*) supplied with selenite or selenate. *Front. Plant Sci.* 8, 2207. doi: 10.3389/fpls.2017.02207
- Lyons, G. H., Stangoulis, J. C. R., Graham, R. D. (2005). Tolerance of wheat (*Triticum aestivum* L.) to high soil and solution selenium levels. *Plant Soil* 270, 179-188. <http://dx.doi.org/10.1007/s11104-004-1390-1>.
- Malagoli, M., Schiavon, M., Dall'Acqua, S., Pilon-Smits, E. H. (2015). Effects of selenium biofortification on crop nutritional quality. *Front. Plant Sci.* 6, 280. doi: 10.3389/fpls.2015.00280.
- Molnár, Á., Feigl, G., Trifán, V., Ördög, A., Szöllösi, R., Erdei, L., Kolbert, Z. (2018). The intensity of tyrosine nitration is associated with selenite and selenate toxicity in *Brassica juncea* L. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 147, 93-101. doi: 10.1016/j.ecoenv.2017.08.038
- Nawaz, F., Naeem, M., Ashraf, M. Y., Tahir, M. N., Zulfiqar, B., Salahuddin, M., Shabbir, R. N., Aslam, M. (2016). Selenium supplementation affects physiological and biochemical processes to improve fodder yield and quality of maize (*Zea mays* L.) under water deficit conditions. *Front. Plant Sci.* 7, 1438. doi: 10.3389/fpls.2016.01438
- Pilon-Smits, E. A. H., Quinn, C. F., Tapken, W., Malagoli, M., Schiavon, M. (2009). Physiological functions of beneficial elements. *Curr. Opin. Plant Biol.* 12, 267-274. doi: 10.1016/j.pbi.2009.04.009
- Puccenelli, M., Malorgio, F., Rosellini, I., Pezzarossa, B. (2017). Uptake and partitioning of selenium in basil (*Ocimum basilicum* L.) plants grown in hydroponics. *Sci. Hort.* 225, 271-276. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2017.07.014>
- Rayman, M.P. (2012). Selenium and human health. *Lancet* 379, 1256-1268. doi: 10.1016/S0140-6736(11)61452-9
- Terry, N., Zayed, A. M., de Souza, M. P., Tarun, A. (2000). Selenium in higher plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 51, 401-432. doi: 10.1146/annurev.arplant.51.1.401
- Weraduwege, S. M., Chen, J., Anozie, F. C., Morales, A., Weise, S. E., Sharkey, T. D. (2015). The relationship between leaf area growth and biomass accumulation in *Arabidopsis thaliana*. *Front. PlantSci.* 6, 167. doi: 10.3389/fpls.2015.00167
- Zhu, Y. G., Pilon-Smits, E. A. H., Zhao, F. J., Williams, P. N., Meharg, A. A. (2009). Selenium in higher plants: understanding mechanisms for biofortification and phytoremediation. *Trend Plant Sci.* 14, 436-442. doi: 10.1016/j.tplants.2009.06.006