

Selenium and vanadium on seed germination and seedling growth in pepper (*Capsicum annuum* L.) and radish (*Raphanus sativus* L.)

Selenio y vanadio en la germinación y el crecimiento de plántulas de chile (*Capsicum annuum* L.) y rábano (*Raphanus sativus* L.)

León-Morales, J. M.¹, Panamá-Raymundo, W.², Langarica-Velázquez, E. C.³, García-Morales, S.^{1*}

¹CONACYT-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.

²Universidad del Papaloapan, Instituto de Biotecnología. Circuito Central, Núm. 200, Col. Parque Industrial, C.P. 68301. Tuxtepec, Oaxaca. México.

³Universidad Politécnica de Sinaloa, Ingeniería en Biotecnología. Carretera Municipal Libre Mazatlán Higuera km 3, Col. Genaro Estrada C.P. 82199. Mazatlán, Sinaloa. México.

Cite this paper/Como citar este artículo: León-Morales, J. M., Panamá-Raymundo, W., Langarica-Velázquez, E. C., García-Morales, S. (2019). Selenium and vanadium on seed germination and seedling growth in pepper (*Capsicum annuum* L.) and radish (*Raphanus sativus* L.). *Revista Bio Ciencias* 6, e425. doi: <https://doi.org/10.15741/revbio.06.e425>



ABSTRACT

The aim of this work was to evaluate the effects of vanadium (V) and selenium (Se), as selenite (Na_2SeO_3) and selenate (Na_2SeO_4), on the germination and initial growth of pepper and radish. The seeds and seedlings were incubated under controlled conditions of light and temperature, and the concentrations evaluated were 2.5, 5 and 10 μM V, 1.25, 2.5 and 5 μM Na_2SeO_3 and Na_2SeO_4 , and distilled water in the control. In general, Se increased the germination percentage of pepper, but it had no effect on radish germination. Similarly, V had no effect on germination in either of the two species at the concentrations evaluated in this work. The selenite addition enhanced the seedling height, doubled the length and number of roots, and increased the dry weight of the pepper seedlings. In radish, selenite enhanced the seedling height, and the highest dose (5 μM) stimulated root growth. Selenate only improved the length and number of roots and the dry weight of the pepper seedlings, whereas in radish it enhanced seedling height, and the lowest dose (1.25 μM) increased the dry weight. V had a similar effect to that of selenate, improving the growth

Article Info/Información del artículo

Received/Recibido: December 20th 2017

Accepted/Aceptado: April 18th 2018

Available on line/Publicado: March 22nd 2019

*Corresponding Author:

Soledad García-Morales: CONACYT-Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, Biotecnología Vegetal. Camino Arenero, Núm. 1227, Col. El Bajío, Zapopan, Jalisco. C.P. 45019. Phone: +52(33) 3345 5200, ext. 2033. E-mail: smorales@ciatej.mx ORCID: 0000-0002-2551-2518

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del vanadio (V) y el selenio (Se), como selenito (Na_2SeO_3) y selenato (Na_2SeO_4), en la germinación y crecimiento inicial de chile serrano y rábano. Las semillas y las plántulas se incubaron bajo condiciones controladas de luz y temperatura. Las concentraciones evaluadas fueron 2.5, 5 y 10 μM de V; 1.25, 2.5 y 5 μM de Na_2SeO_3 y Na_2SeO_4 ; y agua destilada como control. En general, el Se incrementó el porcentaje de germinación de chile serrano, pero no tuvo efecto en rábano. De manera similar, el V no tuvo efecto en la germinación de ninguna de las dos especies. La adición de selenito incrementó la altura de las plántulas, duplicó la longitud y número de raíces, así como favoreció el peso seco de las plántulas de chile serrano. En rábano, el tratamiento con selenito aumentó la altura de las plántulas y la dosis más alta (5 μM) estimuló el crecimiento de las raíces. El selenato mejoró la longitud y número de raíces, y el peso seco de las plántulas de chile serrano; mientras que en rábano incrementó la altura de la plántula y en la dosis más baja (1.25 μM) aumentó el peso seco. El V tuvo un efecto similar al selenato, mejorando el crecimiento de la raíz de chile serrano y la parte aérea en rábano, obteniendo los mejores resultados en la altura y el peso seco de las plántulas con la dosis más baja evaluada (2.5 μM).

of the pepper root and the aerial part of radish. The best results for seedling height and dry weight were obtained at the lowest dose evaluated (2.5 μ M).

KEY WORDS

selenite, selenate, ammonium vanadate, beneficial elements

Introduction

Selenium (Se) is an essential element for animals and humans. Se organic compounds increase antioxidant defense, reducing susceptibility to diseases such as cancer and other disorders related to oxidative stress (Yasin *et al.*, 2015; Schiavon *et al.*, 2016; Mimmo *et al.*, 2017). Furthermore, Se acts as a co-factor of enzymes involved in several biochemical pathways of plants and animals (Ahmad *et al.*, 2016); thus, plant-based food is an important source of Se for humans. On the other hand, Se is not considered an essential element for plants, but it is a beneficial element, inducing tolerance at low doses to different environmental factors that generate oxidative stress, including tolerance to arsenic in rice (Singh *et al.*, 2018; Chauhan *et al.*, 2017), to cadmium and lead in canola (Wu *et al.*, 2016), to saline stress in tomato (Mozafariyan *et al.*, 2016) and to water deficit in corn (Nawaz *et al.*, 2016). Selenium decreases the adverse effects of oxidative stress, inducing different components of the enzymatic and non-enzymatic antioxidant systems of plants, as well as the activity of GSH-peroxidases, increasing the ascorbic acid, glutathione, non-protein thiol and phenolic compound levels (Singh *et al.*, 2018; Chauhan *et al.*, 2017; Srivastava *et al.*, 2009). In addition, Se is used as fertilizer to increase its content in the edible part of crops, such as carrots, lettuce (Smolen *et al.*, 2016), corn (Nawaz *et al.*, 2016) and radish (Schiavon *et al.*, 2016). Thus, the application of this agronomic strategy, known as biofortification, contributes to crop production and to greater health benefits. Additionally, an increase in corn yield and grain quality (Nawaz *et al.*, 2016) and a higher content of nutraceutical compounds (glucoraphanin) in radish roots (Schiavon *et al.*, 2016) and polyphenolic compounds in strawberries (Mimmo *et al.*, 2017) with Se supplementation have been reported.

In the soil, Se exists in four oxidation states: selenite (SeO_3^{2-} , Se^{4+}), selenate (SeO_4^{2-} , Se^{6+}), elemental Se (Se^0) and selenide (Se^{2-}) (Krystyna, 2002). Plants can

PALABRAS CLAVE

selenito, selenato, vanadato de amonio, elementos benéficos

Introducción

El selenio (Se) es un elemento esencial para los animales y humanos, debido a que una dieta suplementada con Se, particularmente compuestos orgánicos de Se, aumenta la defensa antioxidante, lo que puede reducir la susceptibilidad a enfermedades como el cáncer y otros trastornos relacionados con el estrés oxidativo (Yasin *et al.*, 2015; Schiavon *et al.*, 2016; Mimmo *et al.*, 2017). Además, el Se actúa como cofactor de enzimas involucradas en muchas rutas bioquímicas en plantas y animales (Ahmad *et al.*, 2016); siendo los alimentos a base de plantas una fuente importante de Se para los humanos. Por otro lado, el Se no es considerado un elemento esencial para las plantas, pero si un elemento benéfico, especialmente por inducir en dosis bajas tolerancia a diferentes factores ambientales que generan estrés oxidativo, entre los que destacan: tolerancia al arsénico en arroz (Chauhan *et al.*, 2017; Singh *et al.*, 2018), a cadmio y plomo en canola (Wu *et al.*, 2016), a estrés salino en tomate (Mozafariyan *et al.*, 2016) y déficit hídrico en maíz (Nawaz *et al.*, 2016). El Se disminuye los efectos adversos del estrés oxidativo induciendo diferentes componentes del sistema antioxidante enzimático y no enzimático de las plantas, así como la actividad de GSH-peroxidasas, incrementos en los niveles de ácido ascórbico, glutatión, tioles no proteicos y compuestos fenólicos (Srivastava *et al.*, 2009; Chauhan *et al.*, 2017; Singh *et al.*, 2018). Recientemente, el Se es utilizado como fertilizante para aumentar su contenido en la parte comestible de las plantas, lo que también es conocido como biofortificación, en cultivos como zanahoria y lechuga (Smolen *et al.*, 2016) maíz (Nawaz *et al.*, 2016) y rábano (Schiavon *et al.*, 2016), lo que implica la producción de cultivos con mayores beneficios para la salud. También se ha reportado que la aplicación de Se incrementa el rendimiento y calidad del grano de maíz (Nawaz *et al.*, 2016), mejora los niveles de compuestos nutraceuticos (glucorafanina) en raíces de rábano (Schiavon *et al.*, 2016) y en fresa incrementa el contenido de flavonoides y compuestos polifenólicos (Mimmo *et al.*, 2017).

En el suelo, el Se existe en cuatro estados de oxidación: selenito (SeO_3^{2-} , Se^{4+}), selenato (SeO_4^{2-} , Se^{6+}), Se elemental (Se^0) y seleniuro (Se^{2-}) (Krystyna, 2002). Las plantas pueden

absorb Se in the form of SeO_3^{2-} or SeO_4^{2-} ; they are the most common inorganic compounds present in the soil solution, water and most foods (do Nascimento da Silva et al., 2017).

Unlike Se, vanadium (V) has been less studied in plants, although it is also considered a beneficial element (Trejo-Téllez et al., 2016). However, V has been identified as a micronutrient for other living organisms (Nalewajko et al., 1995). This element is part of several metalloenzymes, such as nitrogenases (in *Azotobacter chroococcum*) and haloperoxidases. In humans, V complexes perform a wide variety of biological activities, such as insulinomimetics and antitumor activities, and act as enzyme inhibitors (Habala et al., 2015).

V is generally not very mobile in the soil, and it has several cationic states, including V^{2+} , V^{3+} , V^{4+} , and V^{5+} ; the latter form is characterized by being a strong oxidant (Matsugo et al., 2015). V^{4+} is the predominant form in the soil, which is less mobile and toxic than the pentavalent (V^{5+}) form (Tian et al., 2015). Small amounts of V stimulate plant biomass production, whereas root and leaf growth inhibition and morphological changes have been reported with high levels of this element in *Ipomoea aquatica* (Chen et al., 2016). Conversely, the dry weight of basil (*Ocimum basilicum*) roots increased as the V dose increased (Akoumianaki-Ioannidou et al., 2016). In cucumber, the V could have an antagonistic effect on the uptake of toxic heavy metals, such as lead and cadmium, as well as a synergistic effect on the uptake of essential nutrients to plants (Charles & Onyema, 2016).

Green peppers, which include jalapeño, bell pepper, poblano, serrano, and chilaca, represent one of the vegetables with the highest economic value in Mexico (SIAP, 2017). In addition to its commercial value as a fruit, pepper is important for its content of bioactive molecules such as capsaicinoids, provitamin A, vitamin C and folate, which have a positive influence on human health (Guzmán & Bosland, 2017). In other crops, such as radish (*Raphanus sativus* L.), the roots are the main organ that is consumed, although leaves, seeds, and flowers can also be consumed; this species is rich in potassium, zinc, glucosinolates, and antioxidant compounds such as flavonoids, anthocyanins, and vitamins C and B (Schiavon et al., 2016).

absorber el Se en forma de SeO_3^{2-} o SeO_4^{2-} ; estos son los compuestos inorgánicos más comunes presentes en la solución del suelo, el agua y en la mayoría de los alimentos (do Nascimento da Silva et al., 2017).

A diferencia del Se, el vanadio (V) ha sido menos estudiado en plantas, aunque también es considerado un elemento benéfico (Trejo-Téllez et al., 2016). Sin embargo, para otros organismos vivos como las algas verdes, se ha identificado al V como un micronutriente (Nalewajko et al., 1995). Este elemento forma parte de varias metalloenzimas como nitrogenasas (en *Azotobacter chroococcum*) y haloperoxidasas. En humanos, los complejos de V ejercen una gran variedad de actividades biológicas como insulinomiméticas, antitumorales y también actúan como inhibidores de enzimas (Habala et al., 2015).

El V en el suelo es generalmente poco móvil y tiene varios estados catiónicos, incluyendo V^{2+} , V^{3+} , V^{4+} y V^{5+} , esta última forma se caracteriza por ser un oxidante fuerte (Matsugo et al., 2015). La forma predominante en el suelo es V^{4+} , la cual es menos móvil y tóxica que la forma pentavalente (V^{5+}) (Tian et al., 2015). En plantas se ha reportado que pequeñas cantidades de V estimulan la producción de biomasa, mientras que niveles altos de este elemento inhiben el crecimiento y causan cambios morfológicos en hojas y raíz de *Ipomoea aquatica* (Chen et al., 2016). De forma contraria, en albahaca (*Ocimum basilicum*) se encontró que el peso seco de la raíz incrementó al aumentar la dosis de V (Akoumianaki-Ioannidou et al., 2016). En pepino se ha observado que el V puede tener un efecto antagónico en la absorción de metales pesados tóxicos como plomo y cadmio, y un efecto sinérgico en la absorción de nutrientes esenciales para las plantas (Charles & Onyema, 2016).

Por otro lado, cultivos como el chile verde, que incluye jalapeño, pimienta morrón, poblano, serrano, chilaca entre otros, representan una de las hortalizas con mayor valor económico en México (SIAP, 2017). Además de su valor comercial como fruto, el chile es importante por su contenido de moléculas bioactivas como capsaicinoides, provitamina A, vitamina C y folato, las cuales tienen una influencia positiva en la salud humana (Guzmán & Bosland, 2017). En otros cultivos como el rábano (*Raphanus sativus* L.), la raíz es el principal órgano de consumo, aunque las hojas, semillas y flores también pueden ser consumidas; esta especie es rica en potasio, zinc, glucosinolatos, antioxidantes como vitaminas C y B, flavonoides y antocianinas (Schiavon et al., 2016).

Based on the potential uses of the beneficial elements in agricultural production, the aim of this work was to evaluate the effect of V and the two oxidation states of Se (Na_2SeO_3 and Na_2SeO_4) more commonly taken up by plants on the germination and the initial growth of serrano pepper and radish seedlings.

Material and methods

Homogenous commercial seeds of serrano pepper (*Capsicum annuum* L. cv. Chiltepec) and radish (*Raphanus sativus* L. cv. Champion) without apparent damage were selected.

Establishment of the experiment

Transparent polypropylene containers with lids (500 mL) were used, and a layer of filter paper moistened with 8 mL of each treatment was placed at the bottom of the container. Subsequently, twenty seeds of pepper or radish were placed in each container. The treatments consisted of 1.25, 2.5 and 5 μM Se as Na_2SeO_3 or Na_2SeO_4 , 2.5, 5 and 10 μM V (NH_4VO_3), and distilled water (0 μM) as a control. The Se and V sources used in the experiments were analytical grade (Sigma-Aldrich; Saint Louis, MO, USA).

The containers with the seeds were placed in a growth chamber at $25 \pm 2^\circ\text{C}$ with a 16 h light/8 h dark photoperiod under fluorescent white light ($32 \mu\text{mol s}^{-1} \text{m}^{-2}$). Two independent experiments were established with three replicates for each treatment ($n=6$), and each replicate consisted of a container with 20 seeds. Experimental units were arranged in a completely randomized design with 10 treatments.

Evaluated parameters

Germination

In the case of serrano pepper, germination was monitored every three days for up to 17 days after the establishment of the experiment, whereas the number of germinated seeds in radish was recorded daily until six days after the application of treatments. In both cases, a seed was considered germinated when the radicle reached 2 mm in length. This parameter was expressed as a percentage.

Considerando los usos potenciales de los elementos benéficos en la producción agrícola, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del V y los dos estados de oxidación del Se (Na_2SeO_3 y Na_2SeO_4) más comúnmente absorbidos por las plantas, en la germinación y el crecimiento inicial de plántulas de chile serrano y rábano.

Material y métodos

Se usaron semillas comerciales de chile serrano (*Capsicum annuum* L. cv. Chiltepec) y rábano (*Raphanus sativus* L. cv. Champion), seleccionando las semillas homogéneas sin daños aparentes.

Establecimiento del experimento

Se utilizaron recipientes transparentes de polipropileno con tapa (500 mL), en la base del recipiente se colocó una capa de papel filtro, posteriormente se agregó 8 mL de cada tratamiento y se colocaron 20 semillas de chile serrano o rábano. Los tratamientos consistieron en 1.25, 2.5 y 5 μM de Se en forma de Na_2SeO_3 y Na_2SeO_4 ; 2.5, 5 y 10 μM V (NH_4VO_3) y el testigo fue agua destilada (0 μM). Las fuentes de Se y V fueron grado reactivo (Sigma-Aldrich; Saint Louis, MO, USA).

Los recipientes con las semillas se colocaron en un cuarto de cultivo a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, con un fotoperiodo de 16 h luz, 8 h oscuridad. La luz fue suministrada con lámparas fluorescentes de luz blanca ($32 \mu\text{mol s}^{-1} \text{m}^{-2}$). Se establecieron dos experimentos independientes con tres repeticiones cada uno ($n=6$), cada repetición consistió de un recipiente con 20 semillas. Se empleó un diseño experimental completamente al azar con 10 tratamientos.

Variables evaluadas

Germinación

Para el caso del chile serrano, se monitoreó cada tercer día durante 17 días después del establecimiento del experimento; mientras que, para el rábano, se realizó un registro diario de la germinación, hasta seis días después de la aplicación de los tratamientos. En ambos casos, se consideró una semilla germinada cuando la radícula alcanzó 2 mm de longitud. Esta variable se expresó en porcentaje.

Seedling growth

The seedling height and root length were determined with a graduated ruler. The number of roots was recorded when differences between treatments were observed. The dry weight of the seedlings was obtained after drying the plant tissue at 72 °C for 48 h (four grouped seedlings were considered as one replicate per treatment). This parameter was determined 15 and 24 days after the application of treatments in radish and serrano pepper seedlings, respectively.

Statistical analysis

The data obtained were subjected to an analysis of variance, and the means were separated by Duncan's test ($p \leq 0.05$) using SAS® V.9.4 software (SAS Institute; Cary, NC, USA).

Results and discussion

Germination

Selenium, in the form of selenite (Na_2SeO_3) or selenate (Na_2SeO_4), increased the germination percentage of serrano pepper (Figure 1). The maximum germination percentage was obtained in the treatment with 2.5 μM of selenite or selenate (Figure 1D). These results differ from those reported by Frias *et al.* (2009), in which selenite decreased the germination rate of *Lupinus angustifolius*, but results from the same doses (2, 4, 6 and 8 mg L^{-1}) of selenate were statistically similar to that in the control (0 mg L^{-1}). In contrast, no differences were found between the Se ionic forms evaluated in this study at a low dose (less than 1 mg L^{-1}). Germination rates at 2.5 μM ($\approx 0.4 \text{ mg L}^{-1}$) of selenite or selenate were higher than those observed in the control. On the other hand, the germination rates in the different treatments with V were similar to those in the control (Figures 1C and 1D).

The radish seeds showed fast germination, within 24 h of experiment establishment, without differences among all treatments evaluated with Se or V (Figure 2). Müller & Engelbrecht (2017) also found no significant effects on the germination of *Medicago polymorpha* and *Trifolium subterraneum* seeds with the application of several selenate concentrations (from 0.25 to 4.0 mg L^{-1} , \approx from

Crecimiento

Se determinó la altura de las plántulas y la longitud de la raíz con una regla graduada. El número de raíces se registró cuando se observaron diferencias entre tratamientos. El peso seco de las plántulas (en grupos de 4 plántulas/tratamiento) se obtuvo después del secado del tejido a 72 °C durante 48 h. Estas variables se determinaron 15 y 24 días después del inicio de los tratamientos en plántulas de rábano y chile serrano, respectivamente.

Análisis de datos

Los datos obtenidos fueron sometidos a un análisis de varianza y separación de medias con la prueba de Duncan ($p \leq 0.05$), usando el software SAS® V.9.4 (SAS Institute; Cary, NC, USA).

Resultados y discusión

Germinación

El Se, en forma de selenito (Na_2SeO_3) o de selenato (Na_2SeO_4), incrementó el porcentaje de germinación de chile serrano (Figura 1). El máximo porcentaje de germinación se encontró en el tratamiento con 2.5 μM de selenito o selenato (Figura 1D). Estos resultados difieren de los reportados por Frias *et al.* (2009) quienes encontraron que el selenito disminuye la tasa de germinación de *Lupinus angustifolius*, pero los mismos tratamientos (2, 4, 6 y 8 mg L^{-1}) con selenato fueron estadísticamente igual al testigo (0 mg L^{-1}). En contraste, en el presente estudio con la aplicación de dosis bajas de Se (menores a 1 mg L^{-1}), no se obtuvieron diferencias entre las formas iónicas evaluadas; al contrario, se encontraron tasas de germinación superiores al testigo con 2.5 μM ($\approx 0.4 \text{ mg L}^{-1}$) de selenito o selenato. Por otro lado, la germinación fue similar entre el testigo y las diferentes concentraciones de V (Figuras 1C y 1D).

Las semillas de rábano fueron de rápida germinación, 24 h después del establecimiento del experimento, sin observarse diferencias entre los diferentes tratamientos evaluados con Se o V (Figura 2). Müller & Engelbrecht (2017) tampoco encontraron efectos significativos en la germinación de semillas de *Medicago polymorpha* y *Trifolium subterranean* con la aplicación de diferentes concentraciones de selenato (0.25 a 4.0 $\text{mg L}^{-1} \approx 1.3$

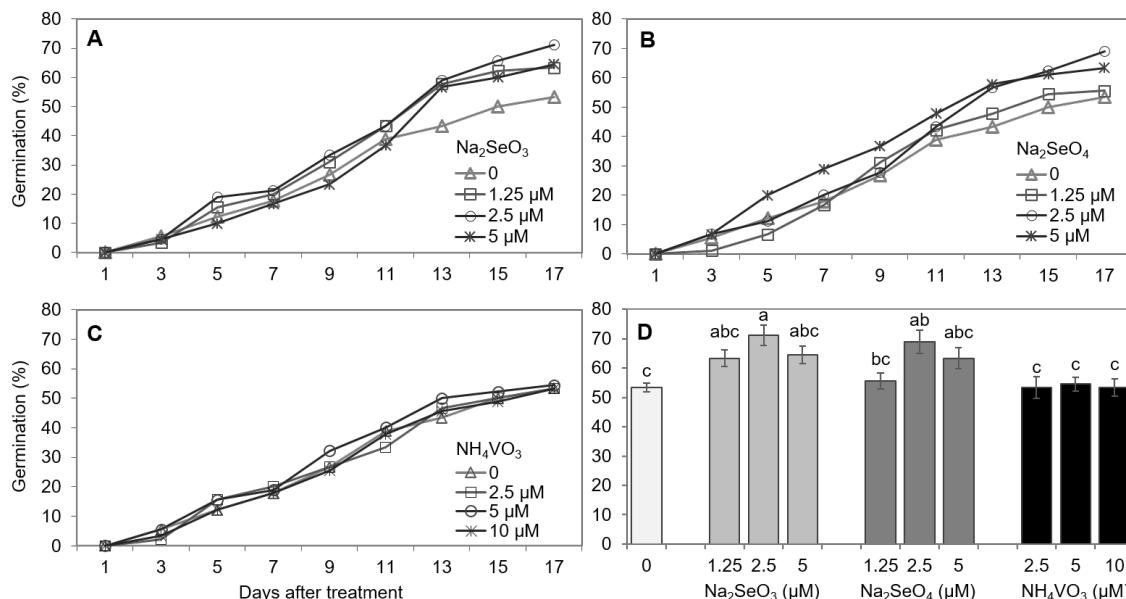


Figure 1. Germination percentage of serrano pepper seeds under different concentrations of Na₂SeO₃ (A, D), Na₂SeO₄ (B, D) and NH₄VO₃ (C, D). The data shown in subfigure D represent the comparison between treatments on the last data recording day (day 17). Means with different letters indicate statistically significant differences according to Duncan's test ($p < 0.05$), \pm standard deviation.

Figura 1. Porcentaje de germinación de semillas de chile serrano expuestas a diferentes concentraciones de Na₂SeO₃ (A, D), Na₂SeO₄ (B, D) y NH₄VO₃ (C, D). Los datos presentados en la subfigura D representan la comparación entre tratamientos del último día de registro de datos (día 17). Medias con letras diferentes indican diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Duncan ($p < 0.05$), \pm desviación estándar.

1.3 to 21 μM). Similarly, vanadate application (0.1 μM) had no influence on germination, growth, or metabolism (carbohydrates, proteins, photosynthetic pigments, photosynthesis, and respiration) in rye and wheat (Kasai *et al.*, 1999). It is noteworthy to highlight that the dose used in the latter study was low compared with the concentrations used in this work (1.25, 2.5 and 5.0 μM).

Conversely, Ahmed (2010) reported a decrease in the germination of lettuce, tomato and radish seeds as the Se concentration increased from 10 to 200 mg L^{-1} Na₂SeO₄. These results indicate that several aspects must be considered when using beneficial elements such as Se and V in agriculture. For example, high concentrations could inhibit germination and growth because these elements are not essential for plants, but low doses, such as those used in this study, can increase the percentage of germinated seeds, as in serrano pepper (Figures 1A, 1B, 1C and 1D), or have no effect on germination, as in radish (Figures 1C and 2).

a 21 μM). De forma similar, la aplicación de vanadato (0.1 μM) no tuvo influencia en la germinación, crecimiento y metabolismo (azúcares, proteínas, pigmentos fotosintéticos, fotosíntesis y respiración) en centeno y trigo (Kasai *et al.*, 1999). Cabe mencionar que la dosis empleada por estos investigadores es baja, comparada con las concentraciones empleadas en el presente trabajo (1.25, 2.5 y 5.0 μM).

Por el contrario, Ahmed (2010) encontró que la germinación de semillas de lechuga, tomate y rábano disminuye conforme incrementa la concentración de Se (10 a 200 mg L^{-1} Na₂SeO₄). Lo que indica que hay varios aspectos que deben ser considerados al momento de usar elementos benéficos como el Se y V en la agricultura. Entre ellos que, al no ser esenciales para las plantas, altas concentraciones pueden inhibir la germinación y el crecimiento; pero dosis bajas, como las usadas en este trabajo, pueden incrementar el porcentaje de semillas germinadas como en el chile serrano (Figuras 1A, 1B, 1C y 1D) o no tener ningún efecto en la germinación, como en el caso del rábano (Figuras 1C y 2).

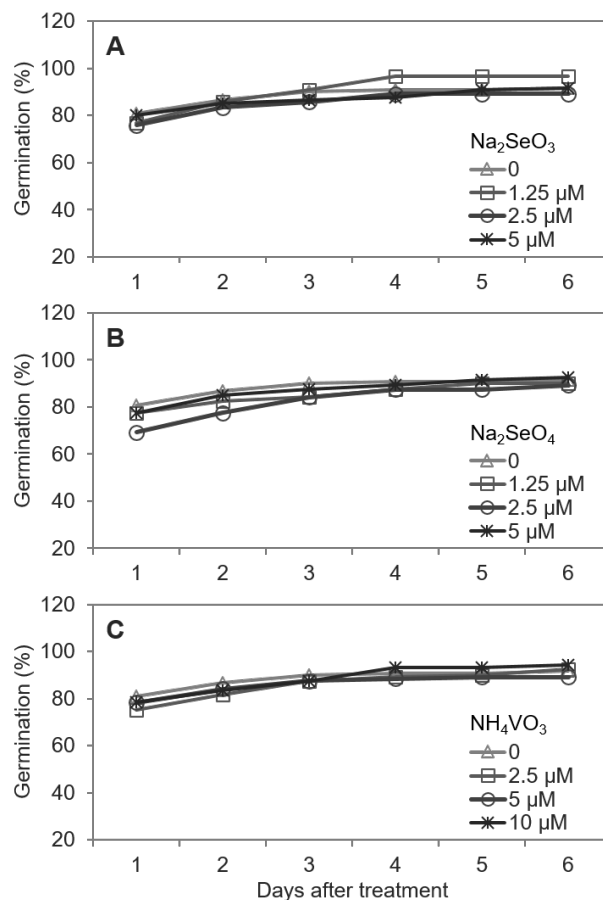


Figure 2. Germination percentage of radish seeds under different concentrations of Na₂SeO₃ (A), Na₂SeO₄ (B) and NH₄VO₃ (C). Statistical differences between treatments are not significant ($p > 0.05$).

Figura 2. Porcentaje de germinación de semillas de rábano expuestas a diferentes concentraciones de Na₂SeO₃ (A), Na₂SeO₄ (B) y NH₄VO₃ (C). Las diferencias estadísticas entre tratamientos no son significativas ($p > 0.05$).

Another important aspect to highlights from the results found in this study was the species-dependent effect of beneficial elements. Thus, determining the correct ionic form and the suitable concentration range of the beneficial elements for each species is necessary to enhance the desired characteristics in the crop.

Seedling growth

The shoot growth of serrano pepper seedlings was differentially stimulated depending on the Se ionic form, obtaining the highest seedling height in the selenite treatment, with similar results at the three doses evaluated in this study. The seedlings grown with

Estos resultados resaltan otro aspecto importante, que el efecto de los elementos benéficos es dependiente de la especie. Por lo que es necesario determinar para cada especie la forma iónica del elemento benéfico y el intervalo de concentraciones adecuadas para potenciar las características deseadas en el cultivo.

Crecimiento de plántulas

El crecimiento de la parte aérea de las plantas de chile serrano fue estimulado diferencialmente dependiendo de la forma iónica del Se, siendo mayor cuando se aplicó en forma de selenito, con resultados similares en las tres dosis evaluadas. Mientras que las plántulas crecidas con selenato o vanadato

selenate or vanadate showed a height similar to the control (Figure 3A). All Se and V doses increased the root length to almost double the growth observed in the control plants (Figure 3B). This effect on root growth has also been reported in *Brassica oleracea*, since low concentrations of V (1 mg L^{-1} as VOSO_4) favored radicle elongation, whereas concentrations higher than 3 mg L^{-1} caused severe symptoms of toxicity and root growth inhibition (Kaplan *et al.*, 1990). Additionally, Se or V application induced root formation, obtaining higher root number compared with those in the control, although no differences were observed among the treatments with V and the two sources of Se (Figure 3C). Consistent with these results, Vachirapatama *et al.* (2011) observed lateral root emergence in *B. campestris* ssp. *chinensis* (Chinese green mustard) plants grown at 20 and 40 mg L^{-1} V. This root growth stimulation in serrano pepper seedlings would be advantageous for their establishment in the field.

The pepper seedlings treated with $1.25 \mu\text{M}$ selenite showed a 47 % increase in dry biomass, but this increase percentage decreased as the dose increased to $5 \mu\text{M}$, which resulted in dry weight values similar to those in the control and the $5 \mu\text{M}$ selenate treatment (Figure 3D). Similarly, low Se dose (2 and 6 mg L^{-1}) in Na_2SeO_3 promoted growth and increased the photosynthetic pigment content in *Oryza sativa* L. ssp. *japonica*, as well as the expression of proteins related to primary metabolism and photosynthesis, indicating that the beneficial effect of Se on growth could be attributed to the positive regulation of carbohydrate and protein metabolism in the root and the increase in photosynthetic efficiency in the aboveground parts (Wang *et al.*, 2012). The dry weight values of seedlings treated with V were statistically similar to those in the selenate treatments and the two lowest concentrations of selenite, but higher than those in the control, mainly due to roots development. Our results contrast with those reported for *B. campestris* ssp. *chinensis*, where growth changes were not observed in plants exposed to low V doses (1 and 10 mg L^{-1}), whereas doses higher than 20 mg L^{-1} ($\approx 170 \mu\text{M}$) drastically decreased the leaf, stem, and root dry weight (Vachirapatama *et al.* 2011). In this study, an increase of 38% in the dry weight of pepper seedlings was found at similar V concentrations ($10 \mu\text{M} \approx 1.2 \text{ mg L}^{-1}$). Akoumianaki-ioannidou *et al.* (2015) reported that V improved the uptake of some essential elements such as Fe that are involved in

tuvieron una altura similar al testigo (Figura 3A). La longitud de la raíz fue mayor en todos los tratamientos evaluados de Se y V, observándose casi el doble del crecimiento comparado con las plantas testigo (Figura 3B). Esta estimulación en el crecimiento de la raíz también ha sido reportada en *Brassica oleracea*, ya que bajas concentraciones de V (1 mg L^{-1} como VOSO_4) favorecieron la elongación de la radícula, mientras que concentraciones superiores a 3 mg L^{-1} causaron síntomas severos de toxicidad e inhibición del crecimiento de la raíz (Kaplan *et al.*, 1990). Adicionalmente, la aplicación de Se o V favoreció la formación de raíces, obteniéndose mayor número de raíces comparado con el testigo; aunque no se observaron diferencias entre las dos fuentes de Se y el V (Figura 3C). Estos resultados concuerdan con lo reportado por Vachirapatama *et al.* (2011), donde se observó mayor número de raíces laterales en plantas de *B. campestris* ssp. *chinensis* (mostaza verde china) crecidas con 20 y 40 mg L^{-1} de V. Este crecimiento de las raíces en las plántulas de chile serrano favorecerá su establecimiento en campo.

La biomasa seca en las plántulas de chile tratadas con $1.25 \mu\text{M}$ de selenito incrementó 47 % y fue disminuyendo conforme aumentó la concentración hasta $5 \mu\text{M}$, el cual es estadísticamente similar al testigo y al tratamiento con la misma concentración en forma de selenato (Figura 3D). De manera similar, en *Oryza sativa* L. ssp. *japonica*, la adición de dosis bajas de Se (2 y 6 mg L^{-1}) en Na_2SeO_3 promueve el crecimiento e incrementa el contenido de pigmentos fotosintéticos, así como la expresión de proteínas relacionadas con el metabolismo primario y la fotosíntesis; indicando que el efecto benéfico del Se en el crecimiento puede ser atribuido a la regulación positiva en el metabolismo de carbohidratos y proteínas en la raíz y al incremento de la eficiencia fotosintética en la parte aérea (Wang *et al.*, 2012). Los valores de peso seco de las plántulas tratadas con V fueron estadísticamente similares a los registrados en los tratamientos con selenato y a las dos concentraciones más bajas de selenito, pero superior al testigo, y se debe principalmente al desarrollo de las raíces. Nuestros resultados contrastan con lo reportado en *B. campestris* ssp. *chinensis*, debido a que no observaron cambios en el crecimiento de plantas expuestas a dosis bajas de V (1 y 10 mg L^{-1}), mientras que dosis superiores a 20 mg L^{-1} ($\approx 170 \mu\text{M}$) disminuyen drásticamente el peso seco de hojas, tallo y raíz (Vachirapatama *et al.*, 2011). En este estudio se encontró que concentraciones similares de V ($10 \mu\text{M} \approx 1.2 \text{ mg L}^{-1}$) incrementaron 38 % el peso seco de las plántulas de chile serrano. Akoumianaki-ioannidou *et al.* (2015) reportaron que el V favorece la absorción de algunos elementos esenciales como el Fe, el cual está involucrado en la biosíntesis de

chlorophyll biosynthesis and as a co-factor of enzymes that participate in the photosynthetic electron transport chain and contribute to growth stimulation.

clorofila y es constituyente de enzimas que participan en la cadena de transporte de electrones fotosintético, mejorando el crecimiento.

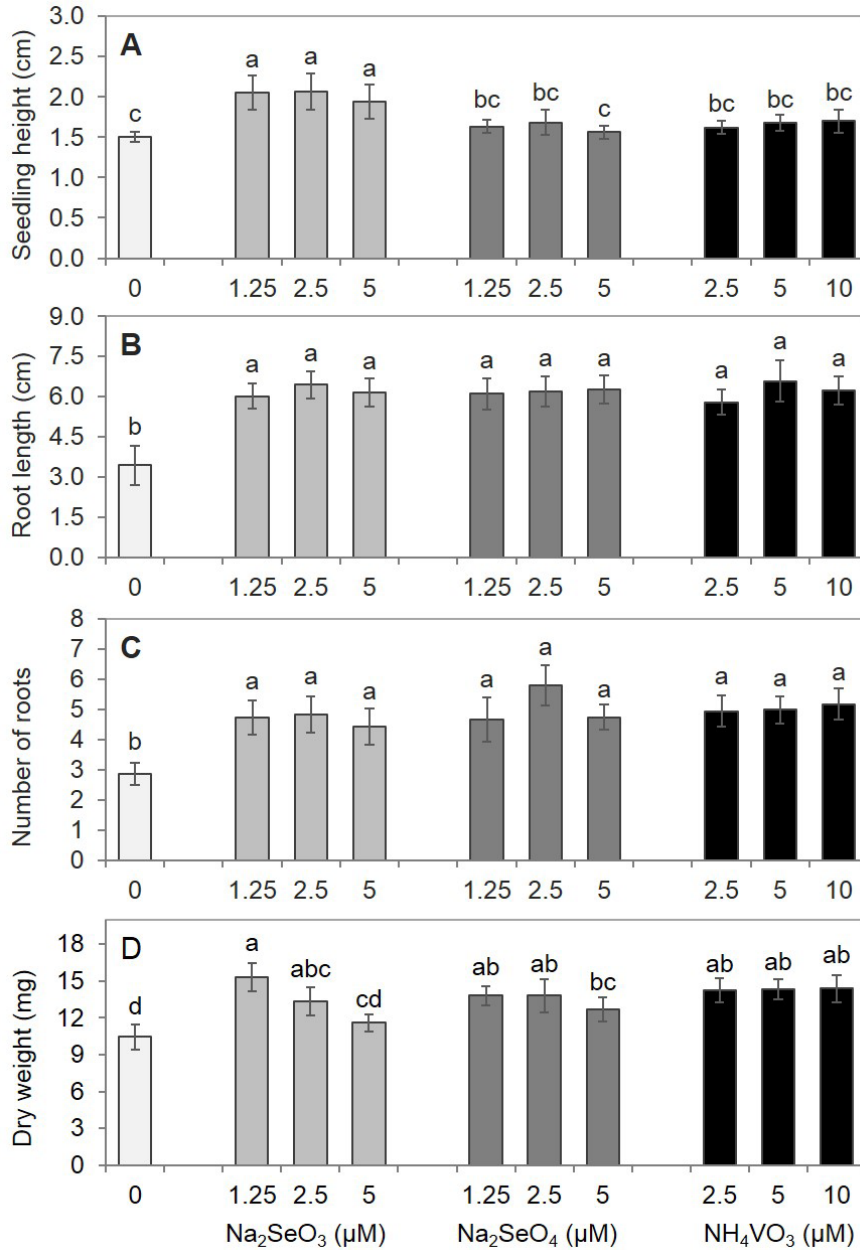


Figure 3. Seedling height (A), root length (B), number of roots (C) and dry weight (D) of serrano pepper seedlings after 24 days of experiment establishment. Means with different letters indicate statistically significant differences according to Duncan's test ($p < 0.05$), \pm standard deviation.

Figura 3. Altura de plántula (A), longitud de raíz (B), número de raíces (C) y peso seco (D) de plántulas de Chile serrano después de 24 días del establecimiento del experimento. Medias con letras diferentes indican diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Duncan ($p < 0.05$), \pm desviación estándar.

Although the germination percentage of radish seeds was not modified by any treatment (Figure 2), the application of beneficial elements had positive effects on seedling growth. The seedling height values were similar in the treatments with selenite, selenate and vanadate, and in all cases were higher than those of the control (Figure 4A). The tallest seedlings were those treated with 2.5 μM V, although the seedling height values were statistically similar to those from the other treatments with V, selenate, and the highest selenite concentrations. The growth of the primary root was only stimulated by the addition of 5 μM of selenite in comparison to root growth in the control (Figure 4B). No differences were observed in the root number among treatments (data not shown). For seedling dry weight, only the lowest concentrations of selenate and V favored its accumulation, without any difference in seedling dry weight among the other treatments and the control (Figure 4C). The same trend was observed with Se and V in other species; both elements reduced the dry weight as their concentration increased in the nutritive solution. Vachirapatama *et al.* (2011) reported a negative effect on dry biomass accumulation in *B. campestris ssp. chinensis* with high V concentrations (40 and 80 mg L^{-1}), where dry biomass was lower than that observed in the control. The results of this study showed that concentrations lower than 1 mg L^{-1} (1.25 $\mu\text{M} \approx 0.30 \text{ mg L}^{-1}$) stimulated seedling growth (dry weight) in radish, with a decrease in the dry weight as the V concentration increased until the values were statistically similar to those in the control (Figure 4).

In this study, differential effects of Se and V were observed on germination and the seedling growth of serrano pepper and radish. Se application improved the germination rate of serrano pepper seeds, but it had no effect on radish germination. In contrast, seed germination was not influenced by V in either species (Figures 1 and 2). Se and V also had a greater effect on serrano pepper growth, which indicates that the beneficial effect of these elements is a function of the species. Consistent with this finding, Arscott & Goldman (2012) reported a differential effect of Se on growth in broccoli, mung beans and onion sprouts with different harvest dates (harvest 1: day 3 for broccoli and mung beans, day 5 for onion; and harvest 2: days 5 and 7, respectively). The seeds were treated with several selenate doses (0, 127, 635, 1270 and 12700 μM), and significant differences were not found among the three species evaluated on the first harvest date. In the second harvest, the biomass production in broccoli was reduced

Aunque no se detectaron diferencias significativas en el porcentaje de germinación de semillas en rábano (Figura 2); si se encontraron efectos positivos en el crecimiento de las plántulas con la aplicación de elementos benéficos. La altura de las plántulas fue similar en los tratamientos con selenito, selenato o vanadato, pero en todos los casos fue superior al testigo (Figura 4A). Las plántulas más altas fueron las tratadas con 2.5 μM V, aunque los valores fueron estadísticamente similares al resto de los tratamientos con V, selenato y las concentraciones más altas de selenito. El crecimiento de la raíz principal sólo fue estimulado con la adición de 5 μM de selenito, comparado con el testigo (Figura 4B). No se observaron diferencias en el número de raíces entre tratamientos (datos no mostrados). Sólo las concentraciones más bajas evaluadas del Se en forma de selenato y el V favorecieron la acumulación de biomasa seca de plántulas, el resto de los tratamientos fueron similares al testigo (Figura 4C). Tanto el Se como el V mostraron la tendencia de reducir el peso seco conforme incrementa su concentración en la solución nutritiva. Resultados semejantes fueron reportados en *B. campestris ssp. chinensis*, donde altas concentraciones de V (1, 10, 20, 40 y 80 mg L^{-1}) tuvieron un efecto negativo en la acumulación de biomasa seca, siendo menor que en el testigo (Vachirapatama *et al.*, 2011). En este trabajo encontramos que concentraciones menores a 1 mg L^{-1} (1.25 $\mu\text{M} \approx 0.30 \text{ mg L}^{-1}$) estimularon el crecimiento (en peso seco) de las plántulas de rábano, observándose una disminución en el peso seco con el incremento en la concentración de V hasta ser estadísticamente igual al testigo (Figura 4).

En este trabajo se observaron efectos contrastantes del Se y V en la germinación y el crecimiento de las plantas de chile serrano y rábano. El Se incrementó la tasa de germinación en chile serrano, pero no tuvo efecto en rábano. En cambio, el V no tuvo influencia en la germinación de ninguna de las dos especies (Figuras 1 y 2). Un efecto similar se observó en las variables de crecimiento, donde el Se y V tuvieron mayor efecto en chile serrano, favoreciendo su crecimiento. Lo que indica que el efecto benéfico de estos elementos también está en función de la especie. Este efecto dependiente de la especie también ha sido reportado por Arscott & Goldman (2012) en brotes de brócoli, frijol mungo y cebolla con diferentes fechas de cosecha (cosecha 1: 3 d para brócoli y frijol mungo, 5 d para cebolla; y en la cosecha 2: 5 y 7 d, respectivamente) donde las semillas fueron tratadas con diferentes dosis de selenato (0, 127, 635, 1270 y 12700 μM), sin observar diferencias estadísticas en la primera fecha de cosecha, en las tres especies evaluadas. Mientras que, en la segunda fecha de cosecha, en el brócoli se observó

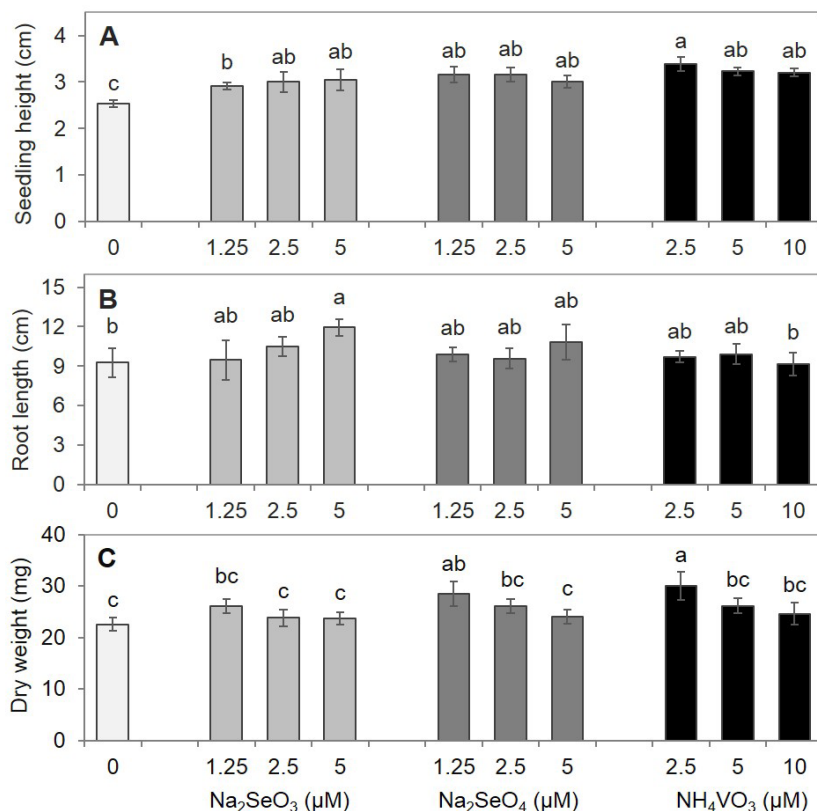


Figure 4. Seedling height (A), root length (B) and dry weight (C) of radish seedlings after 15 days of experiment establishment. Means with different letters indicate statistically significant differences according to Duncan's test ($p < 0.05$), \pm standard deviation.

Figura 4. Altura de plántula (A), longitud de raíz (B) y peso seco (C) de plántulas de rábano después de 15 días del establecimiento del experimento. Medias con letras diferentes indican diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Duncan ($p < 0.05$), \pm desviación estándar.

by 45 % at doses from 635 to 12700 μM . In mung beans, there were no statistically significant differences among treatments, and a negative effect was found on onion at the highest selenate concentration. Therefore, the anatomical differences between dicotyledons (broccoli and mung beans) and monocotyledons (onion) could influence the Se uptake capacity and metabolism. Similarly, the addition of Se (such as Na_2SeO_4) increased the seedling height and dry biomass accumulation of *M. polymorpha*, whereas the opposite effect was observed in *T. subterranean* seedlings at the same Se concentrations (Müller & Engelbrecht, 2017). This response to Se and V in a species-dependent manner could be due to the different abilities of species to take up and accumulate these chemical elements in their tissues, resulting in changes in plant growth and development.

una reducción del 45 % en su producción de biomasa con dosis de 635 a 12700 μM . En el frijol mungo no hubo diferencias estadísticas entre tratamientos y en cebolla sólo se encontró un efecto negativo con la concentración más alta (Arscott & Goldman, 2012). Por lo que, las diferencias anatómicas entre dicotiledóneas (brócoli y frijol mungo) y monocotiledóneas (cebolla) podrían influir en la capacidad de absorción y metabolismo del Se. De forma similar, el Se (como Na_2SeO_4) incrementó la altura de plántula y la acumulación de biomasa seca de *M. polymorpha*; mientras que las mismas concentraciones redujeron la altura y el peso seco de plántulas de *T. subterranean* (Müller & Engelbrecht, 2017). Esta respuesta diferencial a la aplicación de Se y V entre especies indica que tienen diferentes habilidades para absorber y acumular estos elementos en sus tejidos, modificando su crecimiento y desarrollo.

Conclusion

Se and V differentially affected the germination process and the growth of serrano pepper and radish seedlings. Se increased the germination percentage of serrano pepper seeds, whereas V had no effect on the germination of either species. Although both elements promoted the seedling growth of species evaluated in this study, it is confirmed that low doses of Se and V have positive effects on germination, growth or both processes of the plant life cycle. However, in the case of Se, no differences were found between the application of selenite (Na_2SeO_3) or selenate (Na_2SeO_4) for germination, but there were different effects on the initial growth of serrano pepper and radish seedlings. Therefore, the beneficial effects of these chemical elements can be applied in agriculture but require taking into account that their use depends on the concentration, source, crop type, application method, exposure time, and growth stage.

Further studies are needed to generate knowledge about the effect of these chemical elements at other growth stages and on fruit quality, as well as their role in counteracting plant stress and their effects on human health as a result of crop biofortification.

Conclusión

El Se y V afectaron diferencialmente el proceso de germinación y crecimiento de plántulas de chile serrano y rábano. Mientras que el Se incrementó el porcentaje de germinación de chile serrano, el V no tuvo efecto en la germinación de ninguna de las dos especies. Aunque ambos elementos favorecieron el crecimiento de las plántulas de las dos especies evaluadas, se confirma que dosis bajas de Se o V tienen efectos positivos ya sea en germinación, crecimiento o en ambos procesos del ciclo de vida de las plantas. Sin embargo, en el caso del Se no se encontraron diferencias entre la aplicación de selenito (Na_2SeO_3) o selenato (Na_2SeO_4) en la germinación, pero sí en el crecimiento inicial de plántulas de chile serrano y rábano. Por lo que, los efectos benéficos de estos elementos químicos pueden ser aprovechados en la agricultura, teniendo en cuenta que su uso está en función de la concentración, la fuente, el tipo de cultivo, la forma de aplicación, la duración y la etapa de crecimiento.

También es importante considerar que se requiere generar conocimiento sobre el efecto de estos elementos en otras etapas del cultivo, en la calidad de los frutos, así como su papel para contrarrestar el estrés en plantas y su efecto en la salud humana, como resultado de la biofortificación de cultivos.

References

- Ahmed, H. Kh. (2010). Differences between some plants in selenium accumulation from supplementation soils with selenium. *Agriculture and Biology Journal of North America*, 1: 1050-1056. <https://doi.org/10.5251/abjna.2010.1.5.1050.1056>
- Ahmad, P., Allah, E. A., Hashem, A., Sarwat, M. and Guzel, S. (2016). Exogenous application of selenium mitigates cadmium toxicity in *Brassica juncea* L. (Czern & Cross) by up-regulating antioxidative system and secondary metabolites. *Journal of Plant Growth Regulation*, 35(4): 936-950. <https://doi.org/10.1007/s00344-016-9592-3>
- Akoumianaki-Ioannidou, A., Barouchas, P. E., Kiramariou, A., Ilia, E. and Moustakas, N. K. (2015). Effect of vanadium on dry matter and nutrient concentration in pennyroyal (*Mentha pulegium* L.). *Bulletin UASVM Horticulture*, 72(2): 295-298. <https://doi.org/10.15835/buasvmcn-hort:11348>
- Akoumianaki-Ioannidou, A., Barouchas, P. E., Ilia, E., Kyramariou, A. and Moustakas, N. K. (2016). Effect of vanadium on dry matter and nutrient concentration in sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). *Australian Journal of Crop Science*, 10: 199-206. https://www.researchgate.net/publication/301204639_Effect_of_vanadium_on_dry_matter_and_nutrient_concentration_in_sweet_basil_Ocimum_basilicum_L
- Arcott, S. and Goldman, I. (2012). Biomass effects and selenium accumulation in sprouts of three vegetable species grown in selenium-enriched conditions. *HortScience*, 47(4): 497-502. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.47.4.497>
- Charles, I. O. and Onyema, M. O. (2016). Vanadium inhibition capacity on nutrients and heavy metal uptake by *Cucumis sativus*. *Journal of American Science*, 12(10): 63-66. <https://doi.org/10.7537/marsjas121016.09>

- Chauhan, R., Awasthi, S., Tripathi, P., Mishra, S., Dwivedi, S., Niranjana, A., Mallick, S., Tripathi, P., Pande, V. and Tripathi, R.D. (2017). Selenite modulates the level of phenolics and nutrient element to alleviate the toxicity of arsenite in rice (*Oryza sativa* L.). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 138: 47-55. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.11.015>
- Chen, T., Li, T. Q. and Yang, J. Y. (2016). Damage suffered by swamp morning glory (*Ipomoea aquatica* Forsk) exposed to vanadium (V). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 35: 695-701. <https://doi.org/10.1002/etc.3226>
- do Nascimento da Silva, E., Aureli, F., D'Amato, M., Raggi, A., Cadore, S., and Cubadda, F. (2017). Selenium bioaccessibility and speciation in selenium-enriched lettuce: investigation of the selenocompounds liberated after *in vitro* simulated human digestion using two-dimensional HPLC-ICP-MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65: 3031-3038. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b01188>
- Frias, J., Piotr, G., Cristina, M. V., Radoslaw, P., Enrique, B., Begon, J., Krzysztof, G. and Concepcion, V. V. (2009). Influence of germination with different selenium solutions on nutritional value and cytotoxicity of lupin seeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57: 1319-1325. <https://doi.org/10.1021/jf8028368>
- Guzmán, I. and Bosland, P. W. (2017). Sensory properties of chile pepper heat and its importance to food quality and cultural preference. *Appetite*, 117: 186-190. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2017.06.026>
- Habala, L., Bartel, C., Giester, G., Jakupec, M. A., Keppler, B. K., and Rompel, A. (2015). Complexes of N-hydroxyethyl-N-benzimidazolylmethylethylenediaminediacetic acid with group 12 metals and vanadium-synthesis, structure and bioactivity of the vanadium complex. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 147: 147-152. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2015.04.004>
- Kaplan, D. I., Sajwan, K. S., Adriano, D. C. and Gettier, S. (1990). Phytoavailability and toxicity of beryllium and vanadium. *Water, Air, and Soil Pollution*, 53: 203-212. <https://doi.org/10.1007/BF00170737>
- Kasai, M., Yamazaki, J., Kikuchi, M., Iwaya, M. and Sawada, S. (1999). Concentration of vanadium in soil water and its effect on growth and metabolism of rye and wheat plants. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 30: 971-982, <https://doi.org/10.1080/00103629909370261>
- Krystyna, P. (2002). Determination of selenium species in environmental samples. *Microchimica Acta*, 140: 55-62. <https://doi.org/10.1007/s00604-001-0899-8>
- Matsugo, S., Kanamori, K., Sugiyama, H., Misu, H. and Takamura, T. (2015). Physiological roles of peroxido-vanadium complexes: Leitmotif as their signal transduction pathway. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 147: 93-98. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2015.02.008>
- Mimmo, T., Tiziani, R., Valentinuzzi, F., Lucini, L., Nicoletto, C., Sambo, P., Scampicchio, M., Pii, Y. and Cesco, S. (2017). Selenium biofortification in *Fragaria* × *ananassa*: implications on strawberry fruits quality, content of bioactive health beneficial compounds and metabolomic profile. *Frontiers in Plant Science*, 8: 1887. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01887>
- Mozafariyan, M., Kamelmanesh, M. M. and Hawrylak-Nowak, B. (2016). Ameliorative effect of selenium on tomato plants grown under salinity stress, *Archives of Agronomy and Soil Science*, 62: 1368-1380. <https://doi.org/10.1080/03650340.2016.1149816>
- Müller, F. L. and Engelbrecht, W. L. (2017). Selenium addition affects early seedling growth of *Medicago polymorpha* and *Trifolium subterraneum*, but not seed germination: a preliminary study. *South African Journal of Plant and Soil*, 35: 1-3. <https://doi.org/10.1080/02571862.2017.1324048>
- Nalewajko, C., Lee, K. and Jack, T.R. (1995). Effects of vanadium on freshwater phytoplankton photosynthesis. *Water, Air, and Soil Pollution*, 81: 93-105. <https://doi.org/10.1007/BF00477258>
- Nawaz, F., Naeem, M., Ashraf, M. Y., Tahir, M. N., Zulfqar, B., Salahuddin, M., Shabbir, R. N. and 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. *Frontiers in Plant Science*, 7: 1438. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01438>
- Schiavon, M., Berto, C., Malagoli, M., Trentin, A., Sambo, P., Dall'Acqua, S. and Pilon-Smits, E. A. H. (2016). Selenium biofortification in radish enhances nutritional quality via accumulation of methyl-selenocysteine and promotion of transcripts and metabolites related to glucosinolates, phenolics, and amino acids. *Frontiers in Plant Science*, 7: 1371. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01371>

- SIAP. (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera). (2017). Atlas Agroalimentario 2017. Primera Edición 2017. <https://www.gob.mx/siap/prensa/atlas-agroalimentario-2017>. [Last Checked December 01st 2017].
- Singh, R., Upadhyay, A. K. and Singh, D. P. (2018). Regulation of oxidative stress and mineral nutrient status by selenium in arsenic treated crop plant *Oryza sativa*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 148: 105-113. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.10.008>
- Smolen, S., Skoczylas, L., Ledwozyw-Smolen, I., Rakoczy, R., Kopec, A., Piatkowska, E., Biezanowska-Kopec, R., Koronowicz, A. and Kapusta-Duch, J. (2016). Biofortification of carrot (*Daucus carota* L.) with iodine and selenium in a field experiment. *Frontiers in Plant Science*, 7: 730. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00730>
- Srivastava, M., Ma, L. Q., Rathinasabapathi, B. and Srivastava, P. (2009). Effects of selenium on arsenic uptake in arsenic hyperaccumulator *Pteris vittata* L. *Bioresource Technology*, 100: 1115-1121. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.08.026>
- Tian, L. Y., Yang, J. Y. and Huang, J. H. (2015). Uptake and speciation of vanadium in the rhizosphere soils of rape (*Brassica juncea* L.). *Environmental Science and Pollution Research*, 22: 9215-23. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-4031-0>
- Trejo-Téllez, L. I., Gómez-Merino, F.C. and Álcantar-González, E. (2016). Elementos benéficos: potencialidades y limitantes. In: Nutrición de Cultivos. Álcantar-González, E., Trejo-Téllez, L. I. and Gómez-Merino, F. C. ed. 59-101 pp. Texcoco, México. Colegio de Postgraduados.
- Vachirapatama, N., Jirakiattikul, Y., Dicoski, G., Townsend, A. T. and Haddad P. R. (2011). Effect of vanadium on plant growth and its accumulation in plant tissues. *Songklanakarín Journal of Science and Technology*, 33: 255-261. <http://rdo.psu.ac.th/sjstweb/journal/33-3/0125-3395-33-3-255-261.pdf>
- Wang, Y.D., Wang, X., Wong, Y.S. (2012). Proteomics analysis reveals multiple regulatory mechanisms in response to selenium in rice. *Journal of Proteomics*, 1849-1866. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2011.12.030>
- Wu, Z., Yin, X., Gary, B. S., Lin, Z., Liu, Y., Li, M. and Yuan, L. (2016). Indications of selenium protection against cadmium and lead toxicity in oilseed rape (*Brassica napus* L.). *Frontiers in Plant Science*, 7: 1875. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01875>
- Yasin, M., El-Mehdawi, A. F., Pilon-Smits, E. A. H. and Faisal, M. (2015). Selenium-fortified wheat: potential of microbes for biofortification of selenium and other essential nutrients. *International Journal of Phytoremediation*, 17: 777-786. <https://doi.org/10.1080/15226514.2014.987372>