

Ácido salicílico inducido por selenito de sodio en plántulas de sotol (*Dasyllirion cedrosanum* Trel.), una especie endémica del norte de México

Resumen

Las aplicaciones exógenas de metales sobre varias especies cultivadas con el propósito de inducir la tolerancia a factores de estrés son tema de investigación, no obstante, no existen reportes sobre las respuestas de especies silvestres que crecen en ambientes de clima extremo. En el presente trabajo fueron embebidas semillas de sotol (*Dasyllirion cedrosanum* Trel.) en solución de selenito de sodio (Se) a 1 mg L⁻¹ con el objetivo de determinar si el tratamiento induce la acumulación de ácido salicílico (AS) en la radícula y plúmula y/o si afecta la germinación; fueron tratadas de igual manera las semillas de soya (*Glycine max* L.) y tomate (*Solanum lycopersicum* L.). El AS fue extraído por cromatografía líquida. Los resultados mostraron que el Selenito aumenta significativamente la concentración de AS en las radículas de sotol y soya, sin afectación de la germinación. Se concluye que la imbibición de semillas en selenito de sodio a 1 mg L⁻¹ induce la formación de AS en plantas adaptadas al clima semiárido.

Palabras clave: Estrés vegetal, imbibición de semillas, selenio.

Abstract

The exogenous applications of metals on various cultivated species with the purpose of inducing tolerance to stress factors are a subject of research, however, questions remain about the responses of species that grow in extreme climate environments. In the present work, sotol seeds (*Dasyllirion cedrosanum* Trel.) were embedded in sodium selenite solution at 1 mg L⁻¹ in order to determine if the treatment induces the accumulation of salicylic acid (SA) in the radicle, and plumule and/or if it affects germination; soybean (*Glycine max* L.) and tomato (*Solanum lycopersicum* L.) seeds were treated in the same way. SA was extracted by liquid chromatography. The results showed that selenite induces a significantly greater accumulation of SA in the sotol and soybean radicle without affecting germination. It is concluded that the imbibition of seeds in sodium selenite at 1 mg L⁻¹ induces the formation of SA in plants adapted to the semi-arid climate.

Keywords: Plant stress, seed imbibition, selenium.

Introducción

El selenio es un elemento natural que forma varios compuestos químicos, de los cuales el selenato y el selenito son las formas más asimilables por las plantas. En particular este último es de importancia fundamental en la salud animal y humana; actualmente se investiga su capacidad anticancerígena (Han et al., 2019). La aplicación exógena del selenio sobre las plantas como estrategia para incrementar su ingesta en la dieta humana o animal ha sido investigada en los últimos años (D'Amato et al., 2020). En la actividad industrial al selenito en altas concentraciones se le considera un metal contaminante de los mantos acuíferos, así como de los suelos agrícolas (Yadav et al., 2018), no obstante,

la aplicación de selenio en bajas concentraciones en las plantas cultivadas induce tolerancias a plagas y enfermedades (Hanson et al., 2003). Sin embargo, son escasos los estudios enfocados a determinar su efecto en la inducción de tolerancia al estrés en plantas silvestres que crecen en ambientes extremos. El objetivo del presente trabajo fue determinar si el tratamiento de semillas de sotol (*Dasyllirion cedrosanum* Trel.) con selenito de sodio afecta la germinación y/o se asocia con la inducción de la acumulación de ácido salicílico (AS). *D. cedrosanum* es una especie endémica de México valorada como fuente de licor que crece en clima semiárido.

Materiales y métodos

Fueron embebidas en vasos de precipitado por triplicado 100 semillas de soya (*Glycine max* L.), sotol (*Dasyliirion cedrosanum* Trel.), y tomate (*Solanum lycopersicum* L.) en agua destilada con 1 mg L^{-1} de selenio, el cual fue aplicado como selenito de sodio (Na_2SeO_3 , Sigma-Aldrich) durante 24 horas. El tratamiento control consistió en la imbibición de semillas en agua destilada. Las semillas embebidas fueron sembradas en charolas de poliestireno con cúpula ($15 \times 15 \times 10 \text{ cm}$) las cuales contenían perlita como sustrato. Las semillas de cada tratamiento no se mezclaron para evitar la contaminación con selenio. Las charolas con las semillas tratadas fueron colocadas en cámaras de crecimiento a $25 \pm 1^\circ\text{C}$, 16 horas luz y 8 de oscuridad, y 2,500 lux durante 8 días para soya y tomate, y 21 días para sotol. Lo anterior permitió determinar el efecto del selenito en el porcentaje de germinación.

Para determinar el efecto del selenito en la concentración de ácido salicílico (AS), las plántulas germinadas de soya, sotol y tomate fueron almacenadas en ultracongelación a 70°C bajo cero por 24 horas antes de su procesamiento. Para la extracción del contenido de ácido salicílico fueron conformadas 4 submuestras (4 repeticiones) de 100 mg cada una por tratamiento, dando un total de 8 submuestras por cada cultivo y un total de 24 submuestras del experimento. A las plántulas seleccionadas se separó la radícula e hipocótilo de la plúmula y posteriormente fueron ma-

ceradas en morteros con pistilo de cerámica a la cual se le adicionó nitrógeno líquido. Fueron colocados 50 mg de cada tejido macerado en tubos eppendorff de 1.5 ml. A cada tubo se le agregó con una micropipeta automática (PRO Accumax 100 – $1000 \mu\text{L}$) una solución de extracción que contenía metanol 10 %, ácido acético al 1 % y 89 % de agua destilada.

Posteriormente cada tubo fue colocado en vortex (Scientific Products S. A.) por 15 segundos, desgasificadas por 10 minutos en un sonicador (Branson S. A.) y centrifugadas en una microcentrífuga (Labnet International Inc.) a 13000 rpm durante 10 min. Finalmente se extrajo el sobrenadante y se filtró (filtros Millipore) a $0.45 \mu\text{m}$ para depositarla en otro tubo eppendorff. Se repitió todo el proceso para una reextracción. Todas las extracciones fueron desgasificadas por 5 minutos. Finalmente, las muestras fueron inyectadas en un cromatógrafo de líquidos Agilent 1120 y analizadas en el programa computacional EZChrom Elite compact versión 3.3.0B (Agilent 2005-2008). La separación cromatográfica se realizó en una columna Luna C18 Phenomenex de $100 \times 20 \text{ mm}$ a 35°C en dos gradientes de solventes durante 10 minutos, 100 % A (94 % H_2O : 5% CH_3CN : 0.1 CHOOH) y 100 % B (5 % H_2O : 94.9% CH_3CN : 0.1 % CHOOH), y solo se utilizaron $20 \mu\text{L}$ de extracto. Las extracciones se realizaron por duplicado. En la figura 1 se simplifica todo el proceso. Los resultados se muestran en μg de ácido salicílico por gramo de peso fresco.



Figura 1. Proceso seguido para la evaluación de la germinación y efecto en la concentración de ácido salicílico en las plantas de sotol (*Dasyliirion cedrosanum* Trel.), soya (*Glycine max* L.), y tomate (*Solanum lycopersicum* L.) por selenito de sodio (Na_2SeO_3).

Resultados y discusión

Las semillas de soya, y tomate embebidas en solución con selenito de sodio presentaron una reducción en el porcentaje de germinación final en 7.7% y 8% respectivamente, sin embargo, el tratamiento no afectó significativamente la germinación del sotol (*Dasyllirion cedrosanum* Trel.) (ver la Figura 2).

El selenito indujo una mayor acumulación de ácido salicílico (AS) en las plántulas, tanto en sotol como en soya, principalmente en el tejido radicular en la que se alcanzaron hasta un 50% de incremento en la concentración promedio con respecto al testigo (ver la Figura 3). Las plántulas de soya mostraron mayor concentración de AS en comparación al sotol, mientras que las concentraciones en tomate solo fueron significativas mediante el análisis de las plántulas enteras.

Los resultados de este trabajo sugieren que el selenito aplicado a las semillas de sotol a concentraciones inferiores a 1 mg L^{-1} no es tóxico, ya que no afecta significativamente la germinación final, y solo es mínima la afectación en *Glycine max*, y *Solanum lycopersicum*. Las semillas de sotol son de lenta germinación por la característica de las brácteas (Palacios-Romero et al., 2019). Adicionalmente el selenito induce una acumulación de AS, lo cual invita a determinar las respuestas ante factores de estrés.

Existe evidencia de efectos positivos en algunos procesos metabólicos por la aplicación de selenio en las plantas cultivadas. Castillo-Godina et al. (2016) observaron que las aplicaciones exógenas de selenio en bajas concentraciones activan la actividad enzimática antioxidante en el cultivo de tomate (*Solanum lycopersicum* L.). Oraghi et al. (2019), observaron que el selenio a dosis de 25 y 50 mg L^{-1} presenta capacidad para mitigar los efectos inhibitorios de la salinidad en las plantas de soya (*Glycine max* L.). Llanes et al. (2016) mencionan que las plantas presentan alteraciones hormonales endógenas como una respuesta adaptativa a los factores de estrés. Contrariamente, se ha señalado que la aplicación exógena de ácido salicílico a las plantas mitiga los efectos fitotóxicos del selenio (Mostofa et al., 2020). Lo anterior sugiere que la alta concentración de ácido salicílico encontrado en las raíces tanto de soya como de sotol, es una respuesta al estrés ocasionado por el selenito, dicho incremento sugiere ser un indicador de estrés de las plantas al selenito.

Por otro lado, Smoleń et al. (2019), observaron una reducción en la producción de biomasa de una de seis variedades de lechuga (*Lactuca sativa* L.) ante aplicaciones de selenio a 0.5 mg L^{-1} más yodo. Kowalska et al. (2020) encontraron que las aplicaciones exógenas de selenio a 0.5 mg L^{-1} sobre plantas de lechuga acumulaban significativamente este elemento en las raíces, aún más que en las hojas.

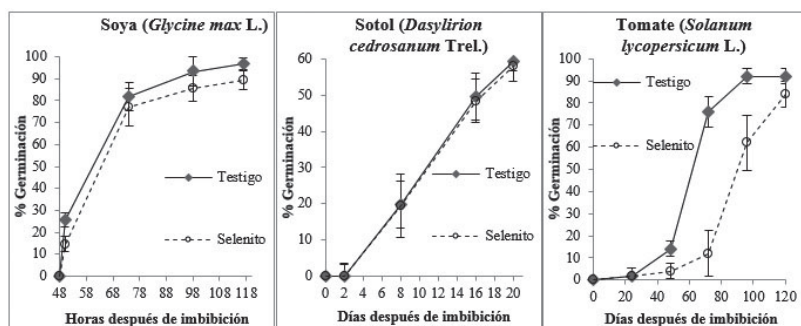


Figura 2. Germinación de semillas de soya (*Glycine max* L.), sotol (*Dasyllirion cedrosanum* Trel.) y tomate (*Solanum lycopersicum* L.) con y sin imbibición en selenito de sodio (1 mg L^{-1}). Las barras verticales representan las desviaciones estándar.

Fuente: Elaboración propia.

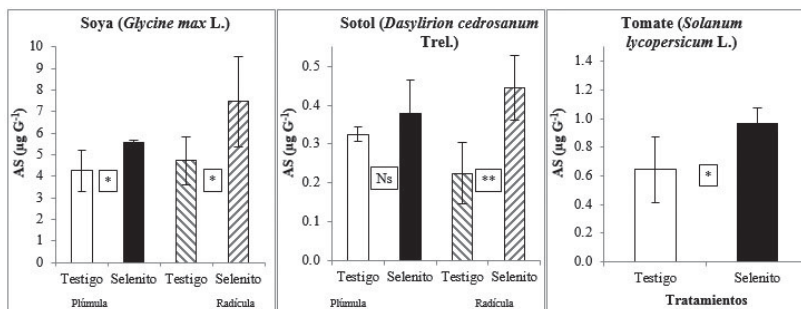


Figura 3. Concentración de ácido salicílico (AS) en tejido vegetal de plantas testigo (To) y plantas pretratadas con selenito de sodio (1 mg L^{-1}) de soya (*Glycine max* L.), sotol (*Dasyllirion cedrosanum* Trel.) y tomate (*Solanum lycopersicum* L.). Las barras representan la desviación estándar de 4 mediciones. **p < 0.01, *p < 0.05, Ns = No significativo (Student-Newman Keuls).

Fuente: Elaboración propia.

Conclusiones

La imbibición de semillas en solución de selenito de sodio a 1 mg L⁻¹ induce mayor concentración de ácido salicílico en tejido radicular con respecto a la concentración en la plúmula de sotol (*Dasyllirion cedrosanum* Trel.) sin la disminución del porcentaje de germinación. Los resultados sugieren la inducción de respuestas de tolerancia a factores de estrés en esta especie endémica del norte de México.

Bibliografía

- Castillo, G. R. G., Foroughbakhch P. R. y Benavides, M. A. (2016). Effect of selenium on elemental concentration and antioxidant enzymatic activity of tomato plants. *Journal of Agricultural Science and Technology*. 18(1), 233-244.
- D'amato, R., Regni, L., Falcinelli, B., Mattioli, S., Benincasa, P., Dal, B. A., Pacheco, P., Proietti, P., Troni, E., Santi, C. y Businelli, D. (2020). Current knowledge on selenium biofortification to improve the nutraceutical profile of food: a comprehensive review. *Journal of agricultural and food chemistry*. 68(14), 4075-4097.
- Han, H. W, Yang, E. J. y Lee, S. M. (2019). Sodium selenite alleviates breast cancer-related lymphedema independent of antioxidant defense system. *Nutrients*. 11(5), 1021.
- Hanson, B., Garifullina, G. F., Lindblom, S. D., Wangeline, A., Ackley, A., Kramer, K., Norton, A. P., Lawrence, C. B. y Pilon-Smiths, E. A. H. (2003). Selenium accumulation protects *Brassica juncea* from invertebrate herbivory and fungal infection. *New Phytologist*. 159(2), 461-469.
- Kowalska, I., Smolen, S., Czernicka, M., Halka, M., Keska, K. y Pitala, J. (2020). Effect of Selenium Form and Salicylic Acid on the Accumulation of Selenium Speciation Forms in Hydroponically Grown Lettuce. *Agriculture*. 10(12), 584.
- Llanes, A., Andrade, A., Alemanno, S. y Luna, V. (2016). Alterations of endogenous hormonal levels in plants under drought and salinity. *American Journal of Plant Sciences*. 7(09), 1357.
- Mostofa, M. G., Rahman, M. M., Siddiqui, M. N., Fujita, M. y Tran, L. S. P. (2020). Salicylic acid antagonizes selenium phytotoxicity in rice: Selenium homeostasis, oxidative stress metabolism and methylglyoxal detoxification. *Journal of hazardous materials*. 394, 122572.
- Oraghi, A. N., Iranbakhsh, A., y Oraghi, A. Z. (2019). Efficiency of selenium and salicylic acid protection against salinity in soybean. *Plant Physiology*. 9(2), 2727-2738.
- Palacios-Romero, A., Rodríguez-Laguna, R., Razo-Zárate, R. y Jiménez-Muñoz, E. (2019). Efecto de diferentes sustratos en el crecimiento de plántulas de *Dasyllirion acrotrichum* (Schiede) Zucc. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*. 10(54), 27-38.
- Smolen, S., Kowalska, I., Czernicka, M., Halka, M., Keska, K., y Sandy, W. (2016). Iodine and selenium biofortification with additional application of salicylic acid affects yield, selected molecular parameters and chemical composition of lettuce plants (*Lactuca sativa* L. var. capitata). *Frontiers in plant science*. 7, 1553.
- Yadav, K. K., Gupta, N., Kumar, A., Reece, L. M., Singh, N., Rezanía, S. y Khan, S. A. (2018). Mechanistic understanding and holistic approach of phytoremediation: a review on application and future prospects. *Ecological engineering*. 120, 274-298.

Autores:

Adalberto Benavides Mendoza¹
Julia Medrano Macias¹
Alejandro Morales Ruiz²
Nazario Francisco Francisco^{2*}

¹Departamento de Horticultura
Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro

²Departamento de Agricultura Sustentable y Protegida,
Universidad Tecnológica de Tehuacán

Correspondencia:

*nazariof.franco@utthecuan.edu.mx

Recibido: 13-06-2022 Aceptado: 28-11-2022
(Artículo Arbitrado)