

UNIVERSIDAD DE LA FRONTERA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y FORESTALES



**EFFECTO DE LA RELACION NITROGENO-AZUFRE-SELENIO SOBRE LA
ABSORCION Y ASIMILACION DE SELENIO EN CULTIVARES DE PLANTAS
BALICAS (LOLIUM PERENNE) PROVENIENTES DE SEMILLAS PELETIZADAS
CON SELENITO.**

Tesis presentada a la Facultad de
Ciencias Agropecuarias y Forestales
de la Universidad de La Frontera.
Como parte de los requisitos para
optar al título de Ingeniero Agrónomo.

ADAN MATIAS MORALES HUEICHALEO.

TEMUCO-CHILE

2012

**EFFECTO DE LA RELACION NITROGENO-AZUFRE-SELENIO SOBRE LA
ABSORCION Y ASIMILACION DE SELENIO EN CULTIVARES DE PLANTAS
BALLICAS (LOLIUM PERENNE) PROVENIENTES DE SEMILLAS PELETIZADAS
CON SELENITO.**

PROFESORA GUIA

: PAULA ANDREA CARTES INDO.

Ingeniero Agrónomo.

Doctor en Ciencias de Recursos Naturales.

Departamento de Ciencias Químicas y Recursos
Naturales.

PROFESOR CONSEJERO

: EMMA AMANDA BENSCH TAPIA

Ingeniero Agrónomo.

Magister en Fisiología Vegetal.

Departamento de Ciencias Agropecuarias.

CALIFICACION PROMEDIO TESIS:

AGRADECIMIENTOS.

A hija Julieta y mi novia Natalia por su apoyo incondicional e impulsarme a seguir adelante para poder lograr los retos que se imponen cada día en nuestro camino y demostrarme que al final de cada túnel siempre se encuentra la salida. A mis padres Eva y Adán por guiarme siempre por el buen camino y forjarme como persona.

Un agradecimiento especial mi profesora guía Dra. Paula Cartes por haberme dado la oportunidad de realizar la tesis de grado junto a ella y por su inmensa paciencia para lograr llevar fin la tesis.

Al Proyecto FONDECYT 11080215 por el financiamiento otorgado para el desarrollo de esta investigación.

INDICE GENERAL

CAPITULO	PÁGINA
1. INTRODUCCIÓN.	1
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.	3
2.1 Caracterización de la especie <i>Lolium perenne</i> .	3
2.2. Adaptación y requerimientos.	4
2.3 Clasificación de cultivares de ballica perenne.	4
2.3.1 Clasificación de los cultivares según época de floración.	4
2.3.2 Clasificación según la ploidia.	4
2.4 Ciclo de nitrógeno.	6
2.4.1 Fases del ciclo del nitrógeno.	6
2.4.2 Fertilizantes nitrogenados.	8
2.4.3 Nitrógeno: importancia para las plantas.	9
2.5 Azufre en el suelo.	9
2.5.1 Mineralización del azufre en el suelo.	10
2.5.2 Azufre en la planta.	10
2.6 Selenio.	10
2.6.1 Selenio en las plantas.	13
2.6.2 Absorción y translocación de selenio en las plantas.	14
2.6.3 Selenio en nutrición animal.	16

3. MATERIALES Y MÉTODOS.	18
3.1 Características del suelo.	18
3.2 Selección de cultivares.	19
3.3 Características de los cultivares.	20
3.3.1 Ballica perenne diploide Aries.	20
3.3.2 Ballica perenne tetraploide Quartet.	20
3.4 Ensayos de invernadero.	21
3.4.1 Primer ensayo de invernadero.	21
3.4.2 Peletización de semillas.	22
3.4.3 Segundo ensayo de invernadero.	23
3.4.3.1 Establecimiento del segundo ensayo.	23
3.4.3.2 Fertilización de suelo para el segundo ensayo.	24
3.4.3.3 Cosecha.	25
3.5 Análisis de suelo y foliar.	26
3.6 Fraccionamiento de Se en los tejidos vegetales.	27
3.6.1 Preparación de la columna de intercambio iónico.	27
3.6.2 Obtención de la fracción de Se-residual.	28
3.6.3 Precipitación de proteínas solubles.	29
3.6.4 Intercambio iónico.	29

3.7 Análisis estadístico.	32
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	33
4.1 Características químicas del suelo.	33
4.2 Primer ensayo de invernadero: Producción de materia seca y concentración de Se foliar en plantas de <i>Lolium perenne</i> evaluadas a cuatro cortes consecutivos.	33
4.3 Segundo ensayo de invernadero: Efecto de la relación nitrógeno-azufre-selenio sobre la producción de materia seca foliar y radicular de <i>Lolium perenne</i> cultivares Aries y Quartet.	36
4.4 Concentración de nitrógeno foliar en plantas de <i>Lolium perenne</i> cultivar Aries y Quartet.	40
4.5 Concentración de azufre foliar en plantas de <i>Lolium perenne</i> cultivares Aries y Quartet.	43
4.6 Concentración Se foliar en plantas de <i>Lolium perenne</i> cultivares Aries y Quartet.	47
4.7 Distribución de Se en distintas fracciones de tejido vegetal en dos cultivares de <i>Lolium perenne</i> .	49
5. CONCLUSIONES.	53
6. RESUMEN.	54
7. ABSTRACT.	55
8. LITERATURA CITADA.	56

1. INTRODUCCIÓN

Los microelementos son nutrientes esenciales los cuales son requeridos en pequeñas cantidades en relación a los macroelementos y normalmente actúan en concentraciones cercanas a $\mu\text{g kg}^{-1}$.

El selenio (Se) actúa en pequeñas concentraciones con resultados benéficos para los seres humanos y animales, con propiedades antioxidantes, siendo cofactor de la enzima glutatión peroxidasa (GSH-Px), la cual es responsable de catalizar la reducción del peróxido de hidrógeno y de varios peróxidos orgánicos solubles. La cantidad de Se tanto en las plantas, animales y humanos depende de las concentraciones existentes a nivel del suelo, la forma química en la cual se presenta en el suelo, cadena trófica y la capacidad de interaccionar con otros elementos por ejemplo nitrógeno (N) y azufre (S).

Siendo analizado desde el punto de vista de la nutrición vegetal, su esencialidad es controversial siendo considerado como no esencial para las plantas, a pesar de encontrar evidencia que demuestra que cumple un rol en la actividad antioxidante de las plantas además de reportarse estudios que informan de aumento en la producción de materia seca y crecimiento. La concentración de Se en las plantas se encuentra relacionada con la concentración de éste en el suelo, siendo aplicado en la fertilización para aumentar la concentración.

A inicios de año 2011 se estima que Chile posee cerca de 3,3 millones de cabezas de ganado bovino y 3,5 millones de cabezas de ganado ovino. La mayor concentración de cabezas de ganado se encuentra en el sector sur del país, con aproximadamente el 56 % de ganado bovino y el 75% del ganado ovino. En esta zona del país se han identificado deficiencias nutricionales de Se, que arrojan como resultado la disminución de la actividad GSH-Px.

Un consumo insuficiente en el ganado bovino se asocia a síndromes tales como miopatía cardíaca, enfermedad del músculo blanco, debilidad neonatal, retención de placenta, aborto, degeneración testicular entre otros, dando como resultado la disminución tanto en el ámbito de la

reproducción como en el rendimiento productivo. Por el contrario, un exceso podría dar como resulta una posible intoxicación.

Hipótesis

Las semillas de cultivares de *Lolium perenne* L. peletizadas con selenito aumentarán la concentración de Se foliar a niveles compatibles con los requerimientos del ganado bovino.

La absorción de Se y su asimilación hacia formas orgánicas, será influenciada negativamente por el aumento en la relación nitrógeno-azufre-selenio, disminuyendo su concentración en la planta de *Lolium perenne* L.

Objetivo general

Evaluar la influencia de fertilizantes nitrogenados y azufrados sobre la absorción y asimilación de selenio en plantas de *Lolium perenne*, provenientes de semillas peletizadas con selenito.

Objetivos específicos

- Evaluar el rendimiento y concentración de Se en dos cultivares de *Lolium perenne* L. proveniente de semillas peletizadas con dosis crecientes de selenito.
- Analizar efecto de la relación nitrógeno-azufre-selenio sobre la concentración de selenio foliar.
- Determinar efecto de la relación nitrógeno-azufre-selenio sobre la acumulación Se en la fracción orgánica en los tejidos vegetales.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 Caracterización de la especie *Lolium perenne*

La ballica inglesa o ballica perenne (*Lolium perenne*) es originaria de la zona templada de Asia, África y Europa, por lo que su adaptación es mejor en la zona de nuestro país de clima templado o frío. Es una de las especies vegetales de mayor importancia en los ecosistemas de praderas (Heinke *et al.*, 2007). La ballica perenne es una especie perteneciente a la familia Poaceae, de persistencia perenne, con hojas glabras de coloración verde oscuro, cara inferior brillante, nervadura en la cara superior y macollos achatados (López, 1996: citado por Ruiz, 1996). Su aurícula es muy pequeña casi imperceptible o por lo general ausente y de lígula corta. Las flores se agrupan en una inflorescencia simple denominada espiga con espiguillas sésiles de dispuestas de forma alternada (Matthey, 1995); su fruto es una cariósida. El crecimiento de sus raíces es superficial y de macollos achatados.

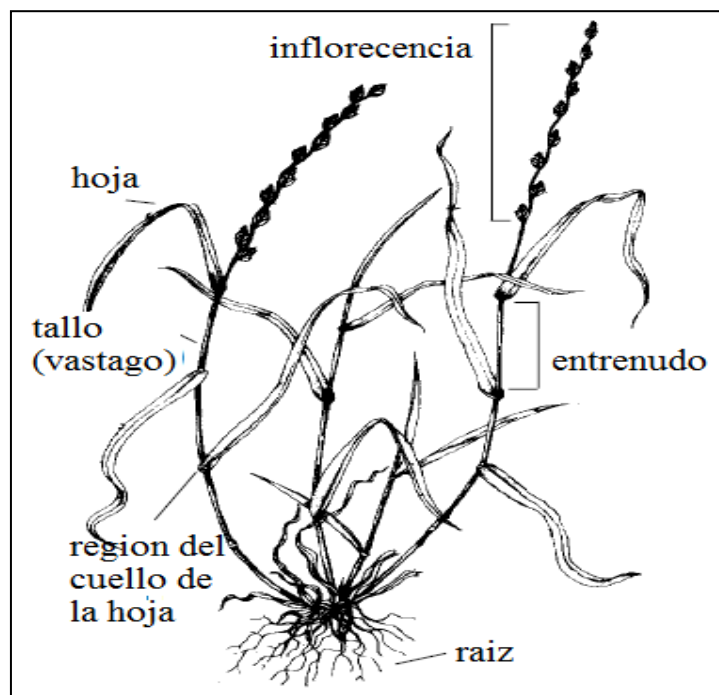


Figura 1. Esquema de una planta de *Lolium perenne* (Hannaway *et al.*, 1999)

La ballica perenne es ampliamente utilizada en el pastoreo, aunque igualmente es posible su uso en henificación o enilaje. Esta especie es utilizada preferentemente en las praderas para el consumo animal, debido a la adaptación edafoclimática que posee, su aporte de nutrientes a la dieta animal y la variada gama de cultivares presentes en el mercado. Es común encontrar a la ballica perenne en asociación a otras especies como el trébol blanco (*Trifolium repens L.*).

Los cultivares de ballica en general se clasifican según su ciclo reproductivo, el cual se diferencia en el tiempo de persistencia en la pradera, de los cuales se reconocen anuales, bianuales y perennes.

2.2. Adaptación y requerimientos

Como especie de clima templado, se adapta a ambientes húmedos y fríos que presentan buena distribución de lluvias. En cuanto a la temperatura mínima para su crecimiento, Muslera y Ratera (1992) indican que a partir de 5° C se presenta escaso rendimiento. Requiere temperaturas que oscilan entre 18° C y 20° C para su óptimo crecimiento, por el contrario su crecimiento disminuye a medida que la temperatura sobrepasa los 25° C y se detiene a los 35°C.

2.3 Clasificación de cultivares de ballica perenne

2.3.1 Clasificación de los cultivares según época de floración: Según la época en la cual la ballica comienza la floración y la posterior aparición de la espiga se clasifican en: precoz, intermedia y tardía, siendo de gran importancia esta característica al momento de ser utilizada ya sea para pastoreo, henilaje o ensilaje (Demanet, 1994).

2.3.2 Clasificación según la ploidia: El número básico de cromosomas de esta especie es de 14. Para su comercialización se realizó una duplicación artificial (Muslera y Ratera, 1992), existiendo cultivares del tipo diploide (2n, un par de cromosomas) y tetraploides (4n, poseen dos pares de cromosomas). En el Cuadro 1 se presentan las principales diferencias entre ambos tipos de cultivares.

Cuadro 1. Comparación entre cultivares de ballica perenne diploides y tetraploides.

	Diploide	Tetraploide
Números de macollos	Mayor	Menor
Tamaño de macollos	Menor	Mayor
Tipo de crecimiento	Achaparrado	Erecto
Color de follaje	Verde brillante	Verde intenso
Tipo de hoja	Pequeñas y finas	Grandes y gruesas
Requerimiento fertilidad del suelo	Resistencia a menor fertilidad	Requiere mayor fertilidad
Condiciones hídrica	Resistencia a estrés hídrico	Requiere condiciones de humedad
Altura de residuo	2 a 5 cm	5 a 7 cm
Palatabilidad	Buena	Excelente

Adaptado de: Balocchi (1999)

Los cultivares diploides son caracterizados por presentar hojas finas, mayor número de macollos por metro cuadrado generando una mayor cobertura y competencia con las especies componentes de una mezcla (Demanet, 2007). Además, los cultivares diploides presentan un crecimiento más achaparrado, con mayor tolerancia a periodos de estrés hídrico, al igual que al ataque de insectos plagas.

En cuanto a los cultivares tetraploides, estos poseen hojas de forma alargada y gruesa; en cuanto a los macollos, contienen menor número por metro cuadrado, el tamaño de macollos, es mayor que en los cultivares diploides, la coloración del follaje es de verde intenso. La principal ventaja que presentan los cultivares tetraploides es su calidad, ya que poseen una mejor relación pared celular/contenido celular que los cultivares diploides, mayor contenido de carbohidratos, lípidos y proteína, menor nivel de FDN y mejor relación carbohidratos/proteína degradable, situación que genera en el rumen de los animales una mayor producción de proteína bacteriana (Demanet, 2007).

2.4 Ciclo de nitrógeno.

El ciclo del nitrógeno (N) es el de mayor complejidad, ya que se encuentra presente en diferentes formas en la biosfera. Un 80 % de nitrógeno molecular (N_2) se encuentra presente en la atmósfera. Aun así, la mayor parte de este gran reservorio de N no se encuentra disponible para los organismos. La adquisición del N de la atmósfera requiere la ruptura del enlace triple covalente entre dos átomos de N ($N \equiv N$) para producir amonio (Pereira, 2001). En suelos de praderas se encuentra un gran reservorio de N, está presente en forma orgánica, siendo esta fracción en comparación a la fracción mineral de mayor proporción (Jarvis *et al.*, 1996).

2.4.1 Fases del ciclo del nitrógeno

El ciclo de nitrógeno tiene cinco etapas:

Fijación: para ser utilizado el N por la planta debe ser fijado y posteriormente reducido a la forma de ion amonio (NH_4^+) esto mediante la fijación biológica del nitrógeno (FBN), llevada a cabo por microorganismos de vida libre o de simbiosis con las plantas (Allan y Graham, 2005). Entre los microorganismos que participan en la FBN se encuentran: bacterias, algas verde-azules (cianobacterias) y actinomicetes.

Mineralización: La mineralización es el proceso llevado a cabo por microorganismos heterotróficos, en la cual la materia orgánica del suelo es transformada, dando como resultado la liberación de NH_4^+ , siendo liberada hacia la solución del suelo. Como resultado de la liberación de N inorgánico, este se encuentra disponible para el subsiguiente reciclaje y la utilización de por parte de las plantas o microorganismos o ser perdido por el sistema al no ser utilizado (Jarvis *et al.*, 1996).

Nitrificación: Corresponde a la oxidación de los compuestos nitrogenados reducidos, inicialmente NH_4^+ , como resultado de la acción de bacterias autotróficas denominadas nitrosomas y nitrobacter, dando como resultado la producción de NO_3^- (Jarvis *et al.*, 1996). La tasa de nitrificación es dependiente de la población de microorganismos, aireación del suelo, pH y la disponibilidad de sustrato.

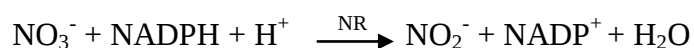
Desnitrificación: Proceso dependiente de la temperatura, contenido de humedad del suelo, oxigenación, concentración de carbono, pH y concentración de NO^{-3} , en el cual al ser los suelos saturados de agua, se excluye el oxígeno presente en el suelo comenzando con la descomposición anaeróbica. Algunos organismos aeróbicos tienen capacidad de obtener el oxígeno del NO^{-2} y NO^{-3} , siendo la combinación de estos gases una pérdida de nitrógeno, sin embargo para que los microorganismos realicen este cambio en la forma de respiración aeróbica hacia un tipo de metabolismo desnitrificante, las condiciones deben ser muy favorables (Follet, 2001)

Existe una fuerte relación entre la nitrificación y las condiciones locales del suelo. Progresivamente en el suelo se produce una liberación de NO_3^- a la solución del suelo, el cual es altamente móvil. El exceso por sobre la demanda inmediata de la planta resulta en la pérdida por lixiviación bajo condiciones de alta pluviometría (Jarvis, 1998).

La acidez es incrementada por acción natural de la nitrificación, aunque las excesivas aplicaciones de fuentes de N en forma de NH_4^+ incrementan la acidificación del suelo (Havlin *et al.*, 1999).

Fenton y Heylar (2000) indican que el NO_3^- es encontrado en mayores concentraciones disponibles para la absorción de las raíces. La disponibilidad de NH_4^+ y NO_3^- para la planta son dependientes de las aplicaciones de fertilizantes nitrogenados y de la cantidad de N que es mineralizado del N del suelo.

Asimilación vegetal: La asimilación del N que se encuentra en el suelo disponible para la planta, comienza con la absorción de amonio (NH_4^+), siendo está sujeta a una regulación positiva y negativa, dependiente del nivel de N que se encuentra en la planta. El NO_3^- es llevado hacia el citoplasma vía plasmalema, siendo un transporte termodinámicamente desfavorable, en términos de gradientes de potencial químico $(\text{NO}_3^-)_{\text{exterior}} < (\text{NO}_3^-)_{\text{citoplasmático}}$ y de potencial eléctrico (interior negativo). En el citoplasma se produce la reducción de NO_3^- a nitrito (NO_2^-), catalizando esta reacción la enzima nitrato reductasa (NR), según la siguiente reacción:



$$\Delta G = -34.2 \text{ Kcal/mol}; \Delta E = 0,74 \text{ voltios}$$

Al ser el NO_2^- altamente reactivo, con potencial de ion tóxico, es rápidamente transportado desde el citoplasma hacia los cloroplastos en las hojas, y a los plastidios en las raíces (Pereira, 2001), en donde la enzima nitrito reductasa reduce el NO_2^- a amonio (NH_4^+). Para evitar la toxicidad del NH_4^+ este es incorporado a esqueletos carbonados, para componer aminoácidos.

2.4.2 Fertilizantes nitrogenados.

Entre los fertilizantes nitrogenados, se encuentran del tipo orgánico como son la urea y el guano y del tipo inorgánico, que se basan en sales amoniacales y nitratos. La principal ventaja de los productos inorgánicos que contienen nitrato es la rápida asimilación por parte de las plantas. Las sales amoniacales en general pasan primero por el proceso de nitrificación llevado a cabo por bacterias del suelo para luego ser el N asimilado por la planta; por el contrario, en los productos orgánicos, la transformación a nitratos es realizada más lentamente, lo que conlleva a que su acción como fertilizante se realice en mayor tiempo.

Los fertilizantes nitrogenados son productos de alta solubilidad en el agua y poseen gran eficiencia en su utilización. Existen fertilizantes nitrogenados sintéticos y naturales; los primeros se producen comúnmente a partir de N atmosférico (N_2) fijado en forma amoniacal, utilizando derivados de petróleo como fuente de hidrogeno para este proceso. Los fertilizantes nitrogenados naturales son extraídos desde yacimientos de sodio (Na) y/o potasio (K) que se encuentran en la zona norte de nuestro país (Pinilla y Sanhueza, 2000).

2.4.3 Nitrógeno: importancia para las plantas

La mayoría de los compuestos que se encuentran presente en las células vegetales contienen N, tales como aminoácidos, nucleósidos fosfatos, componentes de fosfolípidos, clorofila (Pereira, 2001). Para ello las plantas absorben este elemento generalmente desde el suelo principalmente en la forma de ion nitrato y también como amonio. Posterior a la absorción el N es asimilado en moléculas orgánicas como son aminoácidos y proteínas importantes para el desarrollo y la constitución de tejidos vegetales.

Las cantidades de N requeridas por las plantas son altas ya que este elemento es fundamental para crecimiento vegetativo de éstas de ahí que el crecimiento sea lento al no aplicarse N; síntomas en deficiencia se presentan como clorosis general, siendo acentuada en las hojas más antiguas, tornándose completamente amarillas en casos severos (Salisbury y Ross, 1992)

Como fue previamente mencionado, algunas bacterias poseen la capacidad de convertir el N atmosférico en amonio. Éstas forman asociaciones simbióticas con algunas plantas superiores con las cuales se realiza un intercambio de nutrientes e hidratos de carbono. La simbiosis ocurre en los nódulos formados en las raíces de las plantas y contienen a estas bacterias fijadoras de N. El tipo más común de la simbiosis se da entre los miembros de la familia de plantas *Leguminosae* y bacterias del suelo de los géneros *Azorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Photorhizobium*, *Rhizobium* y *Sinorhizobium*, los cuales son comúnmente llamados rizobios.

2.5 Azufre en el suelo

El azufre (S) se encuentra en fracciones orgánicas e inorgánicas, ambas conformando el S total en el suelo. Las plantas absorben S en forma de sulfato (SO_4^{-2}), pero éste es encontrado solamente en un 10%, siendo mayormente el S orgánico el que predomina en el S total del suelo (Watkinson y Kear, 1996). Al retornar al suelo, los residuos animales y vegetales se convierten en humus, lo cual mantiene el S en forma orgánica. Igualmente, las lluvias llevan hacia el suelo el SO_2 presente en el aire, debido a procesos industriales donde son combustiónados en productos que contienen S (Tisdale y Nelson, 1988).

2.5.1 Mineralización del azufre en el suelo.

La mineralización es un proceso mediante el cual la actividad microbiana del suelo transforma el S orgánico a SO_4^{-2} . Tisdale y Nelson (1988) indican que dicha transformación genera disminución del pH del suelo. Dicho proceso está íntimamente ligado a las condiciones edafoclimáticas y al contenido de S en la solución del suelo. Generalmente el suelo no presenta los niveles óptimos de sulfato para que la planta logre un normal desarrollo, siendo dependientes de la mineralización desde S orgánico. (Tisdale y Nelson, 1988).

2.5.2 Azufre en la planta

Mengel y Kirkby (1987), indican que el S es incorporado rápidamente en las moléculas de cisteína, y luego puede formar parte de la metionina. Deficiencia de S en la planta disminuirá tanto la cisteína como la metionina, resultando en una disminución tanto en calidad como rendimiento del cultivo.

Los compuestos azufrados son diversos ya sea en tipo como en su complejidad, variando entre moléculas pequeñas a medianas (en su mayoría de olores y sabores característicos), llegando inclusive a proteínas y polímeros; aproximadamente el 40 % de las enzimas (incluyendo ferredoxina, nitrogenasas) requieren del grupo sulfidrilo (SH) para realizar su actividad catalítica (Benavides-Mendoza, 1998), al igual que muchas proteínas necesitan en su estructura terciaria y cuaternaria la presencia de puentes de disulfuro (-S-S-).

2.6 Selenio

El selenio (Se) es un elemento de origen volcánico, teniendo en general una abundancia de entre 0,05 – 0,09 mg kg⁻¹ (Matamoros, 2001). El Se como microelemento es encontrado en forma de compuestos inorgánicos tales como selenito y seleniato, o compuestos orgánicos como Se-aminoácidos (Se-cisteína y Se-metionina). Posee 4 estados de oxidación comunes siendo éstos Se -II (seleniuro), Se 0 (elemental), Se +IV (selenito), Se +VI (seleniato).

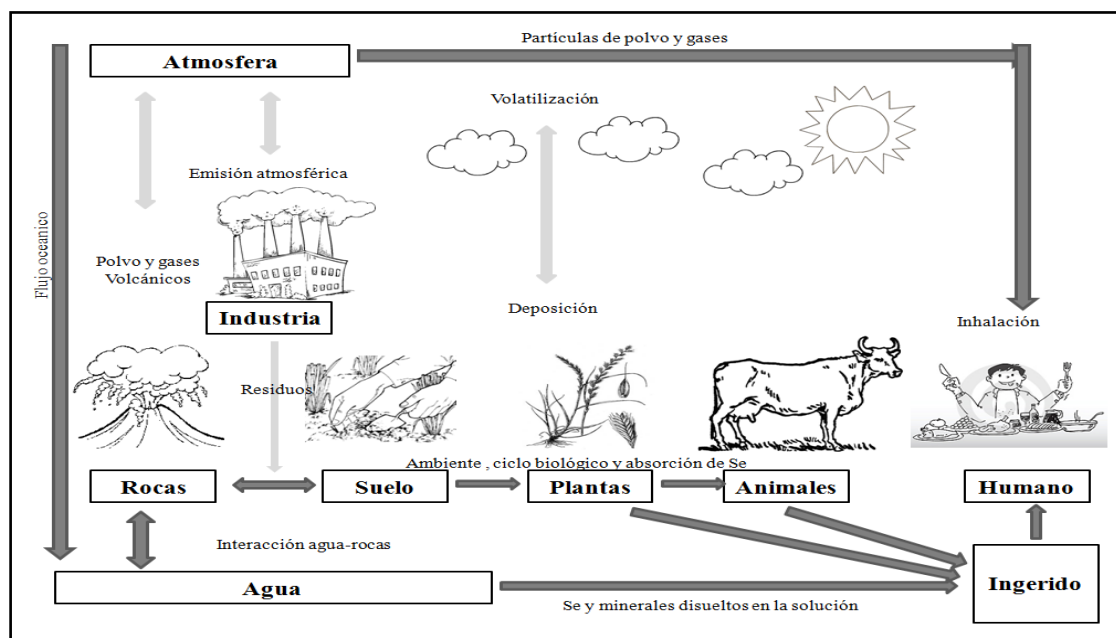


Figura 2. Esquema simplificado del ciclo de Se, desde el ambiente hasta el hombre. Adaptado de: Fordyce (2005).

Logramos encontrar el Se en mucha material natural en la Tierra, desde las rocas hasta tejidos de plantas, animales, microorganismos y suelo. El Se está en un constante reciclaje, ya sea en el ambiente marino como el terrestre. Dentro del ciclo del Se la actividad antropogénica es de importancia para la liberación de Se al medio. Los ambientes con altos contenidos de Se son producto de fuentes naturales, afectados ya sea por prácticas agrícolas o acumulación de las plantas, mientras que otras son producto de las operaciones industriales, utilización de combustibles fósiles o la minería (Oldfield, 2002).

Aunque es posible encontrar Se en todo el planeta, su distribución no es uniforme debido a condiciones locales de suelo y ambiente sumado a la actividad biológica (Fordyce, 2005). El Se puede ser considerado tanto benéfico como tóxico, ya que una ingesta insuficiente o excesiva produce daños a la salud humana y animal (Hartikainen, 2005). Su rango de ingesta es muy estrecho tanto para la deficiencia y toxicidad. La deficiencia de Se es generalmente a causa de las bajas concentraciones en el forraje y alimentos; por el contrario, los efectos producidos por la toxicidad son en general el resultado de la acumulación en los tejidos del cuerpo y de biomagnificación en la cadena alimentaria (Gissel-Nielsen, 1998).

La baja la ingesta de Se en la dieta de los seres humanos influye en trastornos de salud, reduciendo la fertilidad, la función inmune y generando mayor susceptibilidad de cáncer (Rayman, 2002). La importancia del Se dentro de la nutrición humana y animal radica en la cantidad de enfermedades que se presentan con la deficiencia de este en distintas especies, dentro de éstas algunas que componen la dieta humana, como vaca, cerdo, conejo, pollo y pavo. (Cuadro 2)

Cuadro 2. Enfermedades relacionadas con la deficiencia de Selenio.

Enfermedad	Especie
Necrosis hepática	Rata, conejo, cerdo, pollo
Distrofia muscular	Cerdos, vacas, ovejas
Microangiopatía	Cerdos
Diátesis exudativa	Pollos, pavos
Fibrosis pancreática	Pollos
Retención placentaria	Vacas
Enfermedad de Keshan	Hombre
Cáncer y enfermedad cardiovascular	Hombre
Enfermedades relacionadas con el sistema inmune	Todas las especies

Fuente: Acosta (2007).

Se han logrado identificar varias Se-proteínas esenciales para humanos, animales, siendo la más conocida las componentes del tipo glutatión peroxidasa (GSH-Px). El Se forma parte integral de esta enzima, en forma de Se-cisteína.

La función enzimática de la GSH-Px radica en reducir el peróxido de hidrógeno a agua y los lípidos hidroperóxidos de fosfolípidos en las células humanas. La acción protectora de la GSH-Px, explica los síntomas ante un bajo suministro de Se en la nutrición humana y animal. (Acosta, 2007). Como componente de la GSH-Px, el Se actúa junto a Vitamina E (VitE) con el fin de proteger las membranas biológicas ante un daño del tipo oxidativo.

2.6.1 Selenio en las plantas

El Se no es considerado un elemento que las plantas requieran (Terry *et al.*, 2000). Sin embargo, Hartikainen, (2005) informa que suelos con baja concentración de Se en Finlandia, la fertilización con Se en praderas no solo beneficia la cadena trófica, ya sea en la salud humana o animal con los beneficios que este conlleva, sino también genera un aumento en el rendimiento de las plantas, mejorando el crecimiento (Hartikainen *et al.*, 1997). La aplicación en forma de seleniato reduce la fitotoxicidad por Se. Ríos (2008) indica un incremento en la biomasa foliar de especies como la lechuga (*Lactuca sativa*), aumento de los compuestos antioxidantes, con lo cual se ve aumentado el valor nutricional de los cultivos.

La respuesta fisiológica de las plantas frente al Se varía considerablemente entre una especie y otra. Encontramos especies vegetales Se-acumuladoras, Se-tolerantes y Se-sensibles (Terry *et al.*, 2000). Al existir altos niveles de Se, la planta tiende a convertir el Se inorgánico a compuestos volátiles con la finalidad de reducir los altos niveles. Por el contrario con bajos niveles la planta se ve beneficiada en su crecimiento; además el Se ayuda contrarrestando el estrés oxidativo producido.

De acuerdo a la capacidad de las especies vegetales para acumular y tolerar, se pueden clasificar en:

1. Hiperacumuladoras o acumuladoras primarias: acumulan altas concentraciones de Se en rangos de $>1000 \mu\text{g kg}^{-1}$ de materia seca. Los miembros de este grupo incluyen varias especies de la familia Fabaceae y un miembro de la familia Brassicaceae (*Stanleya pinnata*) (Marilan *et al.*, 1989).
2. Especies indicadoras o acumuladoras secundarias: este grupo acumula proporcionalmente Se según la disponibilidad del suelo, en concentraciones de hasta $1000 \mu\text{g kg}^{-1}$ de materia seca. A este grupo pertenecen especies de la familia Asteraceae, del género *Atriplex* o *Melilotus*.
3. No acumuladoras: aquellas plantas que en general no toman Se mas allá de $25 \mu\text{g kg}^{-1}$ de materia seca (incluyendo granos, forrajes y malezas).

2.6.2 Absorción y translocación de selenio en las plantas

La acumulación y la concentración de Se dependerán de la forma que cual ha sido suministrada y la concentración de otros elementos. En la planta el seleniato es mantenido en forma inorgánica; por el contrario el selenito es acumulado en forma orgánica (Terry *et al.*, 2000). Zayed *et al.* (1998) realizó un estudio en *Brassicas* donde se observa que la absorción de seleniato es cinco veces más rápida que la de selenito.

Por otra parte, la translocación de Se desde la raíz es dependiente de la forma de Se que es suministrada a la planta. El seleniato es más fácilmente transportado que el selenito o formas de Se orgánico, tales como Se-metionina (SeMet). Así el seleniato es movilizado hacia el follaje quedando una pequeña fracción en las raíces y por el contrario la selenito queda mayoritariamente en las raíces siendo solo una pequeña fracción movilizada hacia el follaje (Arvy, 1993).

La absorción de seleniato en plantas es llevada a cabo por medio de los transportadores de sulfato y la asimilación por la ruta metabólica de este, en respuesta a la similitud química entre S y Se (Terry *et al.*, 2000). Los iones seleniato y sulfato compiten en la absorción, siendo absorbidos por transportadores de sulfato (SO_4^{2-}) en la membrana de la raíz.

En la Figura 3 se muestra la absorción de seleniato por la raíz a través de transportadores del sulfato.

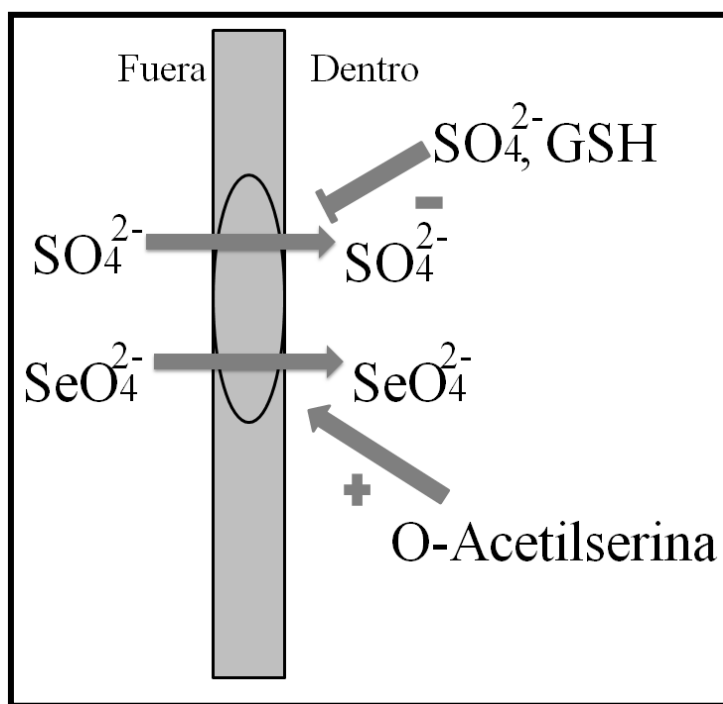


Figura 3. La absorción del seleniato por la raíz de la planta Adaptado de Terry *et al.*, (2000).

El transportador de alta afinidad del sulfato se regula positivamente por O-Acetilserina y negativamente por el sulfato y el glutatión (GSH). Es decir a mayores niveles de sulfato disminuye la transcripción de GSH; altos niveles de O-Acetilserina aumentan la transcripción de genes transportadores de alta afinidad, así como la absorción de sulfato. Por lo tanto, el aumento en el nivel de O-Acetilserina puede aumentar la absorción de seleniato (Davidan *et al.*, 2000)

Como se ha indicado, el seleniato compite con el sulfato por los transportadores de sulfato. Las plantas Se-acumuladoras absorben preferentemente el seleniato por sobre el sulfato, como es el caso de *A. bisulcatus*, *O. sativa* o *B. juncea*, que tienen la capacidad de absorber principalmente Se en presencia de altos niveles de sulfato (Bell y Parker, 1992). En otras especies (alfalfa, el trigo, centeno, cebada, brócoli), se ve inhibida significativamente la absorción de seleniato por el sulfato (Terry *et al.*, 2000).

Boleta y Ulrich (1969) han sugerido que la absorción de selenito es por las raíces de las plantas es pasiva. La distribución de Se es diferenciada entre las plantas acumuladoras y las no

acumuladoras, las primeras acumulan en brotes jóvenes de la planta, mientras que las no acumuladoras la acumulan igualmente en semillas que raíces (Reilly, 2006).

En especies como el trigo la absorción de selenito y seleniato son similares. Al ser absorbido selenito de forma rápida se asimila a formas orgánicas como SeMet siendo conservado en las raíces, teniendo una baja movilidad en el transporte xilemático (Terry *et al.*, 2000). Por el contrario, el seleniato no se asimila fácilmente en formas orgánicas, pero posee una mayor movilidad en el transporte del xilema (Li *et al.*, 2007).

Como fue previamente mencionado, la diferencia más notable entre seleniato y selenito radica en la translocación desde las raíces hacia la parte aérea. Estudios en diferentes especies tales como en *Triticum ssp.* (Li *et al.*, 2007), *Lactuca ssp.* (Rios *et al.*, 2008), *Astragalus ssp.* (de Souza *et al.*, 1998), *Brassica ssp.* (Zayed *et al.*, 1998) indican esta diferencia entre estas formas de Se, siendo selenito principalmente acumulado en las raíces de la planta, mientras que el seleniato es fácilmente distribuido hacia la parte aérea. Los resultados reportados por Li *et al.*, (2007) mostraron que 24 horas después de las aplicaciones de seleniato el 74% del Se fue distribuido hacia la parte aérea mientras que para las aplicaciones de selenito la translocación fue alrededor del 4%.

2.6.3 Selenio en nutrición animal.

Las enfermedades provocadas por la deficiencia de selenio son de considerar, ya que el déficit puede ser fatal, pero en cualquier caso, el efecto de mayor importancia es la producción de animales enfermos e improductivos de baja calidad nutritiva, necesarios para el consumo humano. Dentro de los efectos observados en pacientes adultos con deficiencia en su dieta de Se, se reconocen un bajo comportamiento en la reproducción, la cantidad de esperma es baja y la reducción en motilidad de esto, a su vez la mortalidad embrionaria se eleva, al igual que los partos con crías prematuras y la incidencia de retenciones placentarias. En cuanto a crías las enfermedades son asociadas a un menor crecimiento, distrofia muscular como al sistema inmune. La baja ingesta de Se en los productos agrícolas tiene efectos negativos para la salud humana (Hartikainen, 2005). El requerimiento de Se para ganado bovino de carne o lechero en cualquiera de sus etapas es de 0,1 a 0,3 $\mu\text{g kg}^{-1}$ de materia seca para ganado ovino es de 0.1 a 0.2

$\mu\text{g kg}^{-1}$ de materia seca, rango necesario para el normal funcionamiento del sistema inmune, músculos, corazón, hígado, riñones, páncreas, testículos, plasma, glóbulos rojos y otros órganos como la tiroides. Es también muy importante para mantener la integridad de las membranas celulares. (Gerardo y Villanueva, 2011). Es importante respetar estos rango en animales, ya sea para evitar un déficit o exceso de Se, con las respectivas repercusiones en el animal (NRC, 2000).

Entre las funciones biológicas, el Se actúa como cofactor de la enzima GSH-Px, la cual en colaboración con la vitamina E y otros agentes antioxidantes reducen los efectos nocivos de las reacciones peroxidativas sobre células vivas, con lo cual se disminuye el proceso de envejecimiento celular.

Al ser proporcionado en forma de seleniato, es absorbido principalmente en el duodeno (no existe absorción por el rumen o el abomaso); de esta forma entra al organismo y es reducido a selenito. Posteriormente, se une a proteínas plasmáticas; de esta forma se transporta a través de la corriente sanguínea hacia el hígado y al bazo. La eliminación del Se es rápida y considerable; aun así, al ser alto el consumo, tiende a ser acumulado y causar lesiones en los tejidos.

Dentro de los problemas en la salud que conlleva la deficiencia de Se en la dieta animal, se ve afectado negativamente la producción pecuaria, ya que los productores incurren en mayores gastos para la mantención de éstos; al igual disminuye la calidad nutritiva de los productos de origen animal, repercutiendo sobre la salud humana.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Características del suelo

Se utilizó suelo proveniente de la Estación Experimental Maquehue, de la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales de la Universidad de La Frontera, Temuco (38°50' LS, 72°42' LO) Región de La Araucanía, para realizar dos ensayos de invernadero. Este suelo corresponde al tipo Andisol de la Serie Freire, que se encuentra a una altura de 74 m.s.n.m. Esta Serie se caracteriza por una topografía plana de suave ondulación, cuyas pendientes no superan 1 a 3 %. Presenta texturas medias y colores pardos superficialmente y finas en profundidad, alto contenido de materia orgánica (MO) y son suelos moderadamente profundos de 50–70 cm (Cid, 2008).

Se le realizó un análisis químico de suelo en el Laboratorio de Análisis de Suelo y Planta de la Universidad de la Frontera, Temuco, cuyo resultado se presenta en el Cuadro 3

Cuadro 3.- Análisis de un suelo Andisol de la Serie Freire de la IX Región. Los datos son promedios de tres repeticiones $\pm$ desviación estándar.

Parámetro	Unidad	Concentración		
Materia Orgánica	%	18	$\pm$	1
P Olsen	mg kg ⁻¹	20	$\pm$	1
S	mg kg ⁻¹	12	$\pm$	1
pH	H ₂ O	5,38	$\pm$	0,01
Ca	cmol + kg ⁻¹	14,13	$\pm$	0,05
Mg	cmol + kg ⁻¹	1,75	$\pm$	0,02
Na	cmol + kg ⁻¹	0,09	$\pm$	0,02
K	cmol + kg ⁻¹	0,90	$\pm$	0,02
Al	cmol + kg ⁻¹	0,02	$\pm$	0,01
Suma de Bases	cmol + kg ⁻¹	16,87	$\pm$	0,07
Saturación de Al	%	0,12	$\pm$	0,01

3.2 Selección de cultivares

Para el establecimiento de los dos ensayos de invernadero se utilizaron dos cultivares de ballica perenne (*Lolium perenne*), para diferenciar respuestas a los distintos tratamientos aplicados. Los cultivares fueron seleccionados en base a sus diferencias en características fisiológicas y genéticas. En la selección de los cultivares se optó por Aries (cultivar diploide) y Quartet (tetraploide), cuya comercialización de semillas las realiza la empresa ANASAC.

3.3 Características de los cultivares

3.3.1 Ballica perenne diploide Aries

Origen	: Nueva Zelanda
Características	: Floración precoz, con hongo endófito AR1. Adecuada para condiciones de pastoreo intensivo, de crecimiento semipostrado, hojas finas, gran capacidad de producción de macolla, tolerancia al polvillo de la corona (<i>Puccinia coronata</i>) y polvillo del tallo (<i>Puccinia graminis</i>).
Siembra	: El establecimiento se realiza durante los meses de Febrero-Marzo o Septiembre-Octubre, tanto en sistema de cero labranza, mínima labranza o labranza tradicional.
Dosis de Siembra	: 25 – 30 kg de semillas ha ⁻¹ , en siembra sin asociación.
Valor nutritivo	: en estado vegetativo presenta niveles de digestibilidad por sobre el 78%, proteína entre 18-25% y energía metabolizable alrededor de 2,5 Mcal kg ⁻¹ .

3.3.2 Ballica perenne tetraploide Quartet

Origen	: Nueva Zelanda
Características	: Floración tardía, con hongo endófito ARN1, de crecimiento semi-erecto con producción concentrada principalmente en temporada primavera-verano, generando forraje vigoroso, con alta cantidad de macollos, buena cobertura y densidad de bocado para los animales. Por su condición de tetraploide presenta alta digestibilidad y palatabilidad.
Siembra	: El establecimiento se realiza durante los meses de Febrero-Marzo o Septiembre-Octubre, tanto en sistema de cero labranza, mínima labranza o labranza tradicional.

Dosis de siembra : 25 kg de semillas ha⁻¹ asociadas a trébol blanco (3 kg de semillas ha⁻¹)

Valor nutritivo : en estado vegetativo presenta niveles de digestibilidad por sobre el 78%, proteína entre 18-25% y energía metabolizable alrededor de 2,5 Mcal kg⁻¹.

3.4 Ensayos de invernadero.

3.4.1 Primer ensayo de invernadero

El primer ensayo se realizó para evaluar el efecto de la peletización con selenito en dosis creciente (0, 30, 60 g de Se ha⁻¹), sobre la concentración de Se y producción de materia seca de los cultivares Aries y Quartet en un estudio a mediano plazo, evaluado a cuatro cortes.

Para el establecimiento del ensayo fue realizado bajo condiciones controladas de suelo, riego y temperatura óptimos para la emergencia y desarrollo de los cultivos en estudio. Fueron utilizadas macetas con 2,2 kg de suelo, fertilizados en el tercio superior con 200 mg de P kg⁻¹ de suelo (como Superfosfato triple) y 100 mg de S kg⁻¹ de suelo (Sulpomag (K₂SO₄x 2MgSO₄, sal)). Previamente a la siembra las semillas fueron peletizadas con Se (según ítem 3.4.2) ya a la emergencia de la plántulas y posterior a cada corte se aplicó una solución de urea en dosis de 50 mg N kg⁻¹ de suelo.

Durante el periodo de crecimiento, las plantas fueron regadas con agua destilada. Se realizaron cuatro cortes del ensayo, una vez que la plántula alcanza una altura de 30 cm, para la determinación de la producción de materia seca y el análisis de la concentración de Se foliar.

3.4.2 Peletización de semillas.

La fertilización con Se fue llevada a cabo según el método de peletización propuesto por Mora *et al.*, (2008) cual consiste en:

- .- Embeber las semillas del cultivar en solución adhesiva y Se
- .- Agregar a la semilla con una capa de dolomita, producto agrícola Magnecal, como material de recubrimiento (Figuras 4 y 5).

La forma química en la cual se aplicó Se fue selenito de sodio ($\text{Na}_2\text{SeO}_3 \times 5\text{H}_2\text{O}$ MERCK p.a). Se consideraron tres tratamientos experimentales para cada cultivar de ballica, equivalentes a aplicaciones de campo de 0, 30 y 60 g Se ha^{-1} .



Figura 4.- Semillas de *Lolium perenne* cultivar Aries peletizadas con selenito.



Figura 5.- Semillas de *Lolium perenne* cultivar Quartet peletizadas con selenito

3.4.3 Segundo ensayo de invernadero

El segundo ensayo se realizó para estudiar el efecto de la fertilización nitrogenada y azufrada sobre la concentración de Se foliar en y la distribución de Se en distintas fracciones orgánicas e inorgánicas en los tejidos vegetales de cultivares de *Lolium perenne*. Aries y Quartet provenientes de semillas peletizadas con selenito.

3.4.3.1 Establecimiento del segundo ensayo

Para mantener las condiciones óptimas para la emergencia y desarrollo de las plantas, se controlaron tanto las condiciones de suelo, riego y temperatura. En la siembra, se utilizaron 54 macetas sembradas con Aries y 54 sembradas con Quartet, dando un total de 108.

Para el suelo a utilizar en cada maceta se requirieron 2,2 kg pesados dispuestos en cada una individualmente, pre-siembra este es llevado a capacidad de campo.



Figura 6. Pesaje de las muestras de suelo.

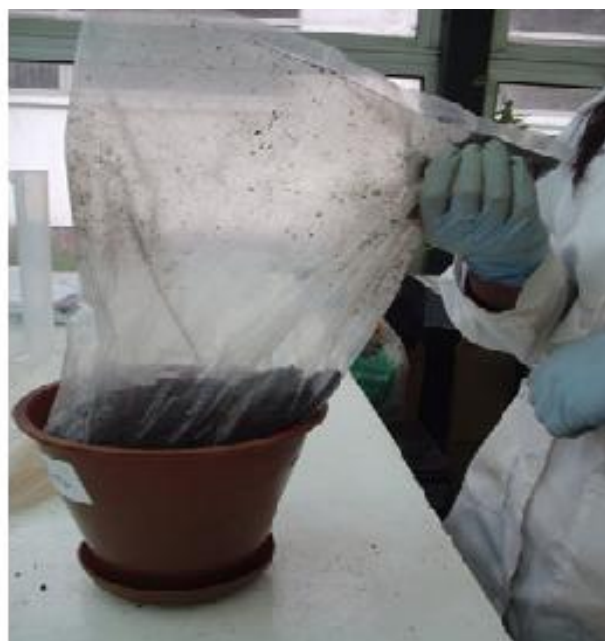


Figura 7. Preparación de suelo para capacidad de campo.

3.4.3.3 Fertilización de suelo para el segundo ensayo.

La fertilización del ensayo se realizó de la siguiente manera:

- 1.- Para la fertilización con Se, fue utilizado el método de peletización descrita en el ítem (3.4.2).
- 2.- La fertilización con fósforo (P) y azufre (S), fueron aplicadas directamente a cada maceta en los 770 g de suelo, equivalente al tercio superior de cada una de las macetas. Fueron aplicadas 100 mg kg⁻¹ de P, siendo utilizado el producto Superfosfato triple como fuente de P. Para la fertilización del S se utilizó el producto Sulpomag (K₂SO₄ × 2MgSO₄, sal) aplicándose tres dosis de 0, 50 y 100 mg S kg⁻¹ de suelo.
- 3.- La fertilización con N, fue realizada en el estado de emergencia de las plántulas, siendo aplicado dos tratamientos experimentales: 0 y 100 mg N kg⁻¹ de suelo, siendo proporcionado en forma de Urea. En los tratamientos que recibieron 100 mg N kg⁻¹ de suelo, la fertilización fue parcializada en dos dosis semanales de 50 mg N kg⁻¹.

3.4.3.3 Cosecha

Las plantas fueron regadas diariamente con agua destilada y se realizó la cosecha de las plantas al momento de alcanzar 30 cm de altura. Se realizó un corte del material vegetal figura 8, 9, 10, 11 y las hojas junto a las raíces fueron llevadas al horno de ventilación forzada durante 48 horas a una temperatura de 65°C, para la determinación del peso seco (PS) de las muestras.



Figura 8.- Desarrollo vegetativo del cultivar Aries



Figura 9.- Corte del materias vegetal cultivar Quartet



Figura 10.- Pesaje del materias vegetal del cultivar Aries



Figura 11.- Macetas del cultivar Quartet posterior al corte del material vegetal.

3.5 Análisis de suelo y foliar

Luego del corte, el suelo de cada maceta por separado fue secado y tamizado a 2mm, para luego realizar análisis de pH, P, S, Ca, Mg, K, Na y Al de acuerdo a la metodología descrita por Sadzwka *et al.*, (2004)

La concentración de Se fue analizada en las hojas y raíces por espectrofotómetro de absorción atómica con generador de hidruros (EAA-GH), utilizando para la digestión de las muestras la metodología propuesta por Kumpulaine *et al.*, (1983).

La concentración de N foliar se determino por el método Kjeldahl mediante la digestión con H_2SO_4 y una mezcla de catalizadores ($Cu SO_4 * 5H_2O$, K_2SO_4), de acuerdo a lo descrito en Sdzawka (1990).

El S se determinó por turbidimetría a 440 nm, después de que la muestra hojas se incinera a 500 C durante 4 h en presencia de nitrato de magnesio y se digerida con ácido clorhídrico como se describe por Sadzawka *et al.*, (2004).

3.6 Fraccionamiento de Se en los tejidos vegetales

Según el método planteado por Gissel-Nielsen (1987) modificado por Hartikainen *et al.*, (1997), se estudió la distribución de Se en distintas fracciones (Se-aminoácidos libres, Se-residual y Se-proteína soluble y Se-inorgánico), en los tejidos foliares de los cultivares Aries y Quartet proveniente de semillas peletizadas con Se en dosis de 30 y 60 g ha⁻¹.

3.6.1 Preparación de la columna de intercambio iónico

Para la preparación de la columna de intercambio iónico esta requirió de 0,50 g lana de vidrio, 12 g de cuarzo y 13 g de resina Dowex 50WX8-400. Para la activación de la columna se dejó eluir primeramente 50 mL de HCl, seguido de 200 mL y NaOH 0,2N y nuevamente 50 mL 1N HCl. Luego de haberse dejado eluir las soluciones, las columnas se dejaron con aproximadamente 30 mL de agua desionizada.

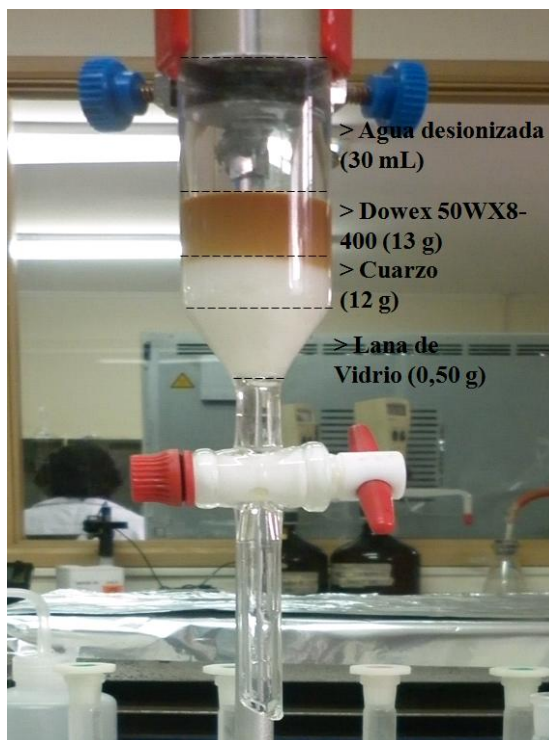


Figura 12. Preparación de la columna para intercambio iónico.

3.6.2 Obtención de la fracción de Se-residual

De las muestras secas y molidas se pesó 6 g de cada una, las cuales fueron extraídos 3 veces en agitador reciproco (200 rpm) por 30 minutos siendo agregado en cada ocasión 60, 60 y 50 mL de agua desionizada, respectivamente. Posterior a cada extracción, las muestras fueron centrifugadas; en las dos primeras centrifugaciones se realizaron a 10.000 rpm por 30 minutos, para finalizar en la tercera extracción con una centrifugación a 11.000 rpm por 30 minutos. El sobrenadante obtenido después de cada extracción fue mezclado y el residuo insoluble en agua (contiene proteínas, lípidos y componentes insolubles en agua), fue secado en horno de ventilación forzada a 65° C por 48 horas.

3.6.3 Precipitación de proteínas solubles.

Al sobrenadante obtenido de la extracción se le agrega 36 mL de ácido tricloroacético al 30 %, siendo llevado luego a la centrifugación por 40 minutos a 11.000 rpm. El residuo insoluble se secó en horno de ventilación forzada a 70° C por 8 horas. El extracto acuoso fue almacenado a 5°C, para la determinación de las fracciones de Se-inorgánico y Se-aminoácidos libres.

3.6.4 Intercambio iónico.

Para la obtención de la fracción de Se inorgánico, la solución obtenida de la extracción acuosa (pH 2) se adicionó a una columna de intercambio iónico, para lo cual se utilizó una resina Dowex 50WX8-400 (forma H^+) (Figuras 12 y 13). El Se-inorgánico fue eluido desde la columna con 200 mL de HCl 1M y 50 mL de agua desionizada, siendo concentrada en rotavapor a 55 °C. La fracción de Se-aminoácidos libres fue eluido con 275 mL de NaOH 0,2 M y concentrada en rotavapor a 55 °C.

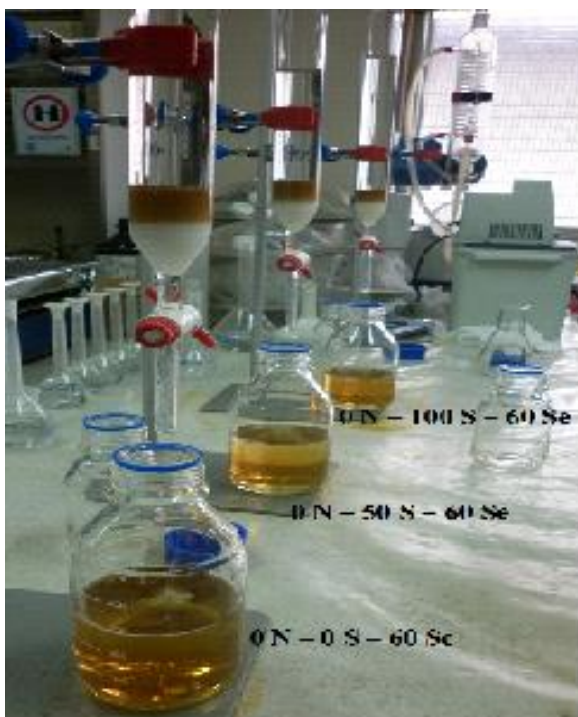


Figura 13.- Columna de intercambio iónico, extracción de Se-inorgánico en muestras de cultivar Aries.



Figura 14.- Extracción de Se-inorgánico en muestras de cultivar Aries.

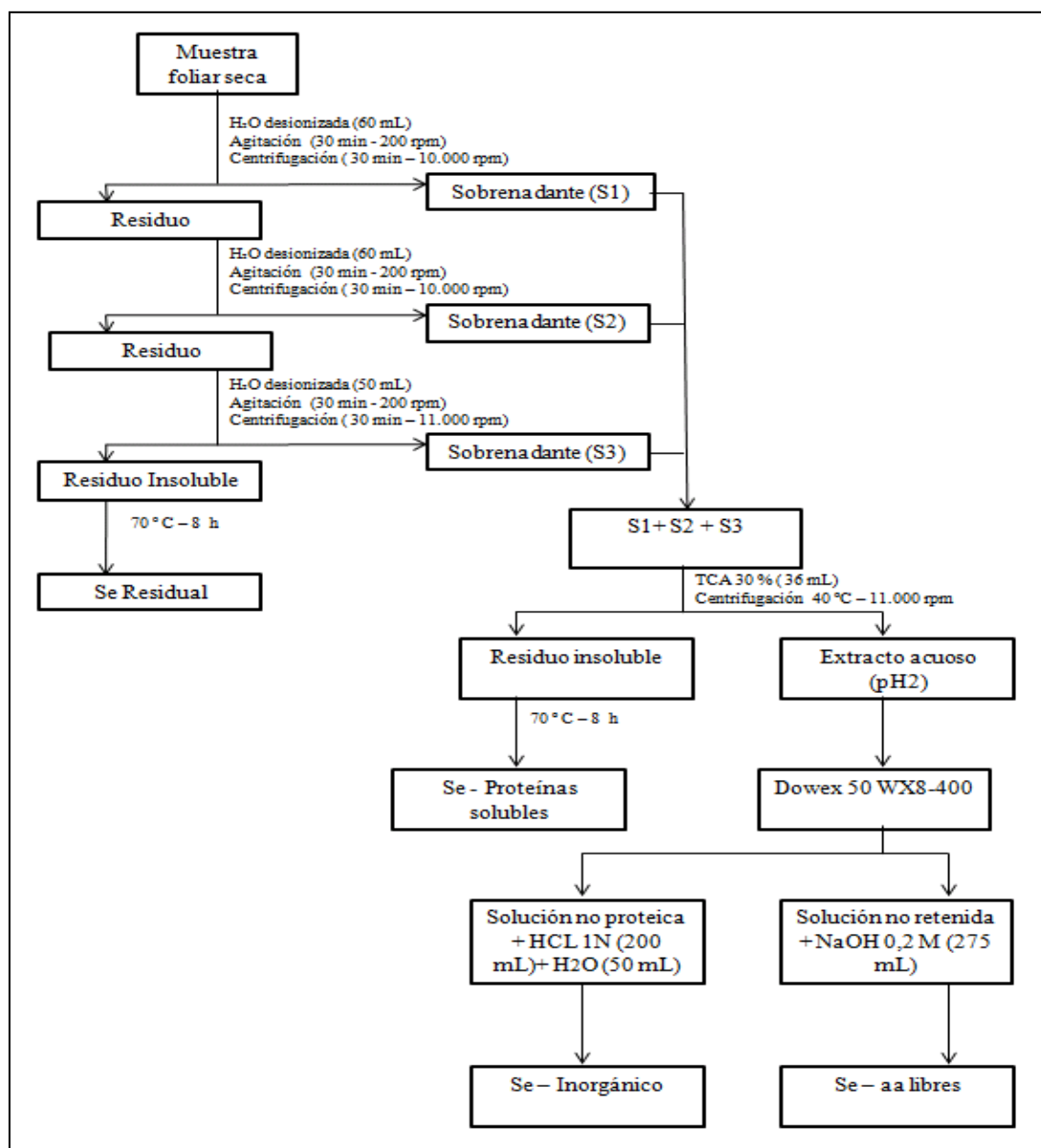


Figura 15. Esquema general del fraccionamiento del Se en tejidos vegetales (Cartes, 2005).

3.7 Análisis estadístico.

Para el primer y segundo ensayo de invernadero, los resultados fueron analizados a través de un análisis de varianza (ANDEVA) y las comparaciones entre promedio se realizaron a través de la prueba de diferencia mínima significativa (DMS) a un nivel de significancia del 5%.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Características químicas del suelo.

El suelo en estudio es proveniente del sector Maquehue, Temuco IX Región de La Araucanía, el cual corresponde al tipo Andisol, de la Serie de suelo Freire, el cual que nunca ha sido fertilizado con Se y fue evaluado en el perfil de 0 a 20 cm cuya composición química de suelo se presenta en la Cuadro 3.

Los resultados del análisis de suelo indican que este presenta una reacción moderadamente acida, con un valor de pH (H₂O) de 5,38. La suma de bases alcanzó 16,87 cmol (+) kg⁻¹, en el cual el catión predominante es Ca con 14,13 cmol (+) kg⁻¹. La elevada suma de bases, se refleja en la baja saturación de Al (0,12%). En cuanto a las concentraciones de P Olsen y S disponible, se encuentran en nivel medio con 20 mg P kg⁻¹ de suelo y 12 mg kg⁻¹ de suelo respectivamente. Las concentraciones de los nutrientes observadas en el análisis de suelo indican condiciones adecuadas para la producción de las plantas.

4.2 Primer ensayo de invernadero: Producción de materia seca y concentración de Se foliar en plantas de *Lolium perenne* evaluadas a cuatro cortes consecutivos.

El Cuadro 4 muestra la producción de materia seca foliar en plantas de *Lolium perenne* cultivares Aries y Quartet, provenientes de semillas peletizadas con tres dosis de selenito (0, 30 y 60 g Se ha⁻¹). Se observó que existe diferencia entre ambos cultivares para el tercer y cuarto corte a igual tratamiento de Se. Evaluando el tratamiento control en ambos cultivares se obtiene rendimientos similares al primero y segundo corte. Sin embargo, al comparar la producción de materia seca de los cortes sucesivos, los resultados de los tratamientos control de los cultivares (los cuales no presenta aplicaciones de Se), son coincidentes con Meza (2009), que al comparar el rendimiento foliar en plantas de *Lolium perenne* encontró que el cultivar Quartet presenta mayor a producción de materia seca que Aries, estudio realizado en tres cortes consecutivos.

Cuadro 4. Producción de materia seca durante cuatro cortes consecutivos en los cultivares de *Lolium perenne* Aries y Quartet provenientes de semillas peletizadas con dosis de selenito entre 0 y 60 g Se ha⁻¹.

Cultivar	Tratamiento	Peso seco foliar (g)			
		Primer corte	Segundo corte	Tercer corte	Cuarto corte
Aries	0Se	0,93 ± 0,05	2,59 ± 0,20	2,37 ± 0,06	1,93 ± 0,41
	30Se	0,82 ± 0,03	2,19 ± 0,15	2,85 ± 0,32	2,20 ± 0,13
	60Se	0,76 ± 0,13	2,70 ± 0,21	2,87 ± 0,06	2,12 ± 0,37
Quartet	0Se	1,14 ± 0,11	2,87 ± 0,06	3,23 ± 0,14	2,26 ± 0,28
	30Se	1,10 ± 0,14	2,51 ± 0,15	3,21 ± 0,21	3,13 ± 0,10
	60Se	0,85 ± 0,09	2,52 ± 0,20	3,84 ± 0,39	2,99 ± 0,09
DMS ₀₀₅					
Cultivar * Se* Corte		0,34			

Al ser aplicado como selenito, se observa un efecto negativo en la producción de materia seca en el primer corte, donde se observa una tendencia a la disminución entre el tratamiento control y el tratamiento de 60 g ha⁻¹, viéndose disminuida la producción en 18,3% en Aries y 25,4% en Quartet. No obstante, a partir del tercer corte, las plantas fertilizadas con Se aumentaron significativamente su producción de materia seca en comparación a los tratamientos control. Estudios realizados por Whelan y Barrow (1994), Hartiniken (2005) y Cartes *et al.*, (2011) indican que no se encuentra efecto negativo en la producción de materia seca por efecto de la aplicación de dosis bajas de Se, lo que coincide con los resultados expuestos en el Cuadro 4 a partir del tercer corte.

Estudios realizados por Cartes (2005) indican que el cultivar Aries es el que presentaría mayor potencial de concentración de Se foliar que el cultivar Quartet a nivel de campo en un suelo no fertilizado con Se. En este experimento, las concentraciones de Se más altas fueron alcanzadas por el cultivar Quartet, logrando en el primer corte un 23% más de Se foliar que el cultivar Aries con el tratamiento 60 Se g ha⁻¹, mientras que para los cortes sucesivos no se encontró diferencia

entre los cultivares en la acumulación de Se foliar para una misma dosis de Se aplicada (Figura 16).

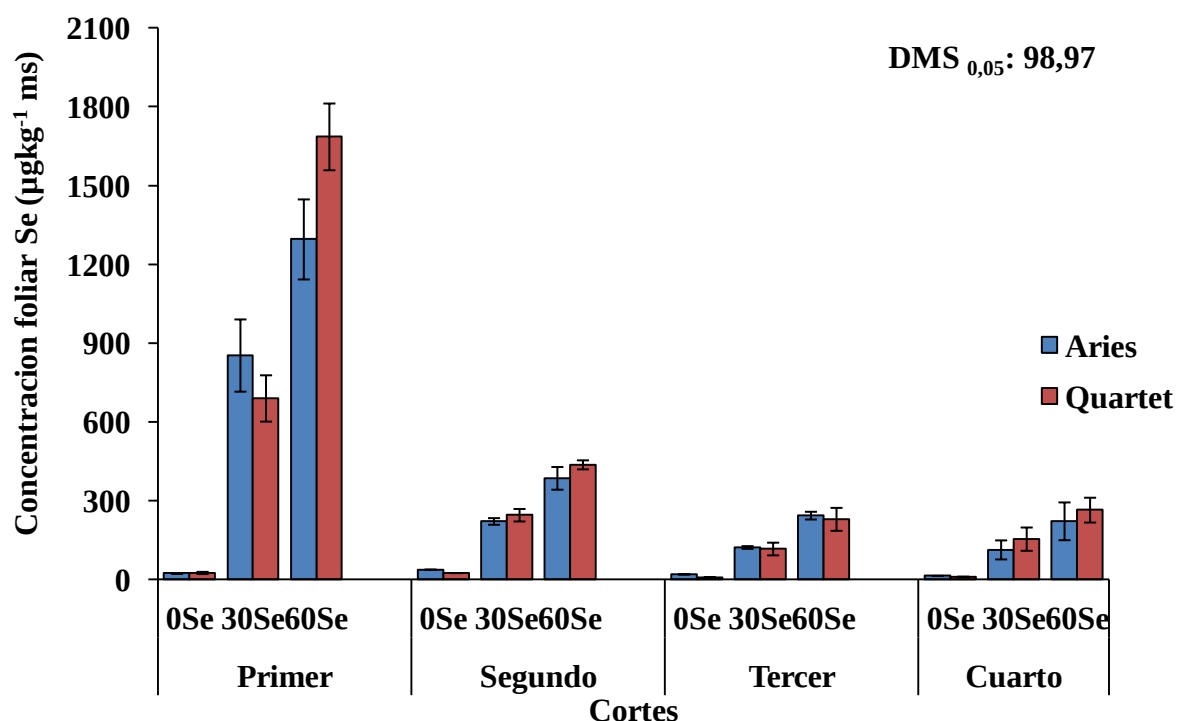


Figura 16. Concentración de Se foliar durante cuatro cortes consecutivos de cultivares de *Lolium perenne* Aries y Quartet, sometidas dosis crecientes de aplicaciones de Se (0 a 60 g ha⁻¹).

En cuanto a la absorción de Se al no ser este micronutriente continuamente aplicado la concentración foliar disminuyó paulatinamente. Se observó que la disminución para un mismo tratamiento entre el primer y segundo corte fue de al menos un 68 y 72 % en los tratamientos de 30 y 60 g ha⁻¹ para Aries y Quartet, respectivamente. La Figura 16 muestra que la mayor concentración de Se foliar se presentó en el primer corte y en los tres cortes siguientes presentan concentraciones de Se dentro del rango necesario para animales, planteado que corresponde a un requerimiento de alrededor de 100 µg kg⁻¹ de materia seca (NCR, 2000).

4.5 Segundo ensayo de invernadero: Efecto de la relación nitrógeno-azufre-selenio sobre la producción de materia seca foliar y radicular de *Lolium perenne* cultivares Aries y Quartet.

El Cuadro 5 y las Figuras 17 y 18, indica que para los cultivares Aries y Quartet no existe diferencia significativa entre la producción de materia seca foliar y radicular a dosis crecientes de aplicaciones de N, S y Se. Estudios realizados Cartes *et al.* (2011) indican que al peletizar semillas de *Lolium perenne* con dosis de selenito entre 5 y 60 g Se ha⁻¹ no afectada la producción de materia seca foliar, resultado coincidente con aquellos presentados en el Cuadro 5. Por ejemplo, al ser comparado el tratamiento control (sin adición de N, S y Se), los pesos secos foliar y radicular fue de $3,29 \pm 0,41$ g maceta⁻¹ y $0,66 \pm 0,08$ g maceta⁻¹ en Aries, con el tratamiento que contiene la mayor dosis (100N-100S-60Se), $3,52 \pm 0,39$ g maceta⁻¹ y $0,41 \pm 0,08$ g maceta⁻¹, respectivamente. Análogamente, para Quartet se registraron respectivamente pesos secos foliares y radiculares de $2,80 \pm 0,30$ g maceta⁻¹ y $0,44 \pm 0,11$ g maceta⁻¹ para el tratamiento control (0N-0S-0Se) en comparación con $3,10 \pm 0,40$ g maceta⁻¹ y $0,47 \pm 0,07$ g maceta⁻¹ obtenidos con el tratamiento 100N-100S-60Se. Estos resultados demostraron que los tratamientos utilizados no afectan la producción de materia seca de las plantas.

Cuadro 5. Producción de materia seca foliar de *Lolium perenne* cultivares Aries y Quartet asociado a crecientes aplicaciones de N, S y Se.

N	S	Se	Producción de materia seca (g maceta ⁻¹)		
mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	g ha ⁻¹	Aries	Quartet	
0	0	0	3,29 ± 0,41	2,80 ± 0,30	
		30	3,25 ± 0,26	2,87 ± 0,28	
		60	3,34 ± 0,37	2,91 ± 0,15	
	50	0	3,39 ± 0,39	2,93 ± 0,15	
		30	3,59 ± 0,33	2,88 ± 0,10	
		60	3,63 ± 0,30	2,90 ± 0,14	
	100	0	3,21 ± 0,22	3,24 ± 0,10	
		30	3,06 ± 0,37	3,00 ± 0,27	
		60	3,42 ± 0,27	3,05 ± 0,25	
	100	0	0	3,00 ± 0,33	2,78 ± 0,15
			30	3,42 ± 0,38	3,13 ± 0,29
			60	2,68 ± 0,35	3,39 ± 0,33
50		0	2,89 ± 0,20	3,31 ± 0,37	
		30	3,58 ± 0,35	3,19 ± 0,07	
		60	3,35 ± 0,32	3,18 ± 0,18	
100		0	3,54 ± 0,27	3,61 ± 0,38	
		30	3,32 ± 0,36	3,18 ± 0,27	
		60	3,52 ± 0,39	3,10 ± 0,40	
Valor promedio de tres repeticiones ± desviación estándar (DS)					

Estos resultados podrían atribuirse a que al ser aplicado el Se bajo la forma de selenito, éste es principalmente acumulado en las raíces (Li *et al.*, 2007; Rios *et al.*, 2008; de Souza *et al.*, 1998, Zayed *et al.*, 1998) no generando toxicidad en dosis bajas de Se como fue mencionado anteriormente Cartes *et al.*, (2011), indica que la producción de materia seca no se ve afectada al peletizar semillas de ballica con dosis de Se entre 5 y 60 g ha⁻¹.

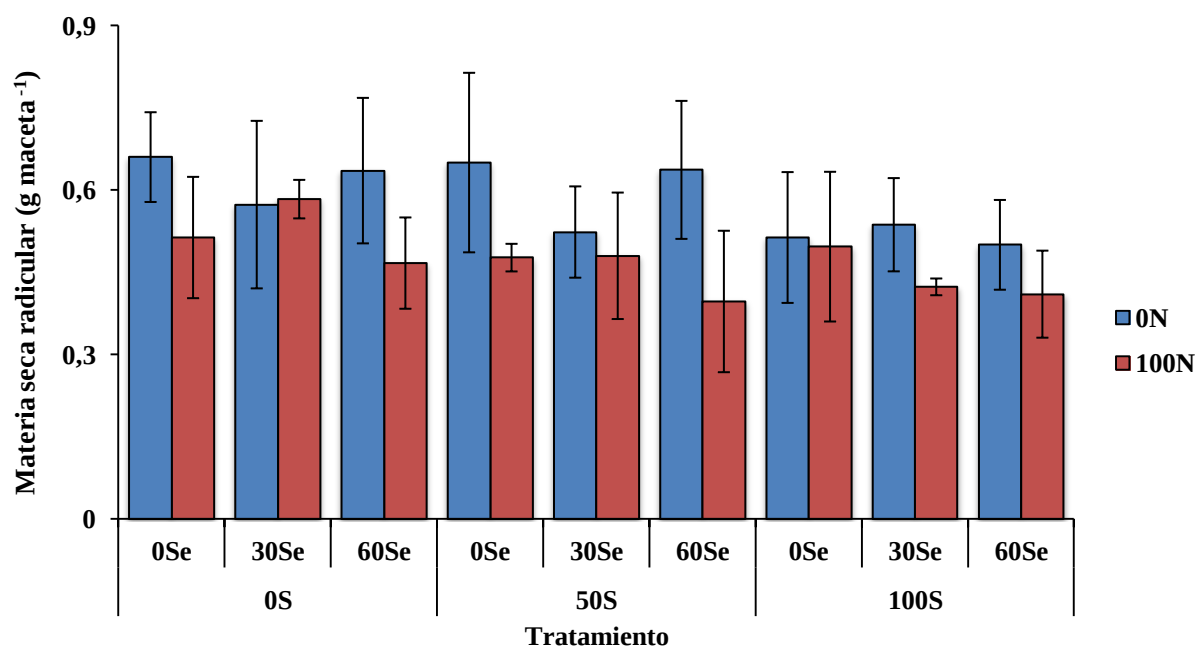


Figura 17. Producción de materia seca radicular en plantas de *Lolium perenne* cultivar Aries cultivadas a dosis crecientes de aplicación de N, S y Se.

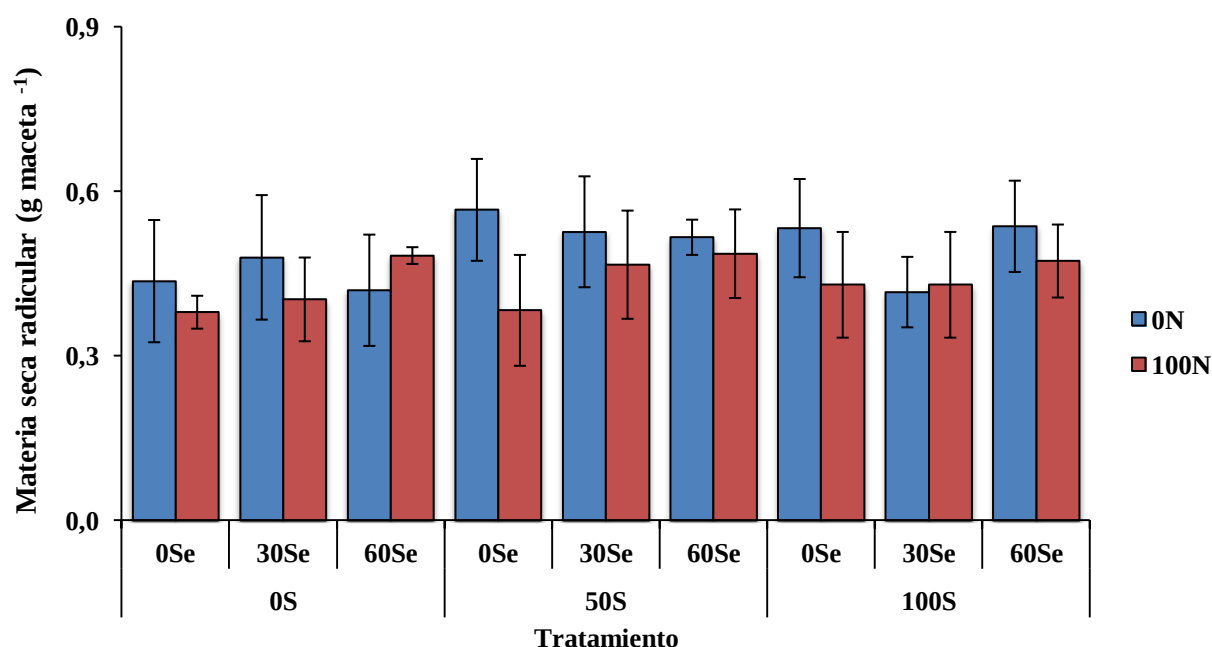


Figura 18. Producción de materia seca radicular en plantas de *Lolium perenne* cultivar Quartet cultivadas a dosis crecientes de aplicación de N, S y Se.

Como se indicó anteriormente no existe diferencia significativa para la producción de materia seca foliar y radicular, tanto para el cultivar Aries como para Quartet. Esto se puede deberse a que las aplicaciones de Se no excedieron los 60 g Se ha⁻¹, como indica Cartes *et al.*, (2010) y la fuerte fijación del selenito a los suelos Andisoles (Barrow *et al.*, 2005), disminuyendo posibles efectos de toxicidad en la plantas de *Lolium perenne*, siendo este manteniendo en equilibrio con la solución del suelo por una mayor cantidad de tiempo.

4.6 Concentración de nitrógeno foliar en plantas de *Lolium perenne* cultivar Aries y Quartet.

Likkineni y Abrol (1994) observaron que ante un déficit en el suministro de S a los cultivos, éste reduce la utilización de N disponible para la planta, lo que produce el aumento de N lixiviado en el suelo. Por el contrario, altos suministros de N producen deficiencia en la absorción de S (Eppendorfer, 1991). Tanto el N como el S son necesarios para la síntesis de proteínas; por lo tanto, la relación N:S puede reflejar la capacidad de la planta en la síntesis de proteínas (Brunol y Suter, 1984).

En el Cuadro 6 se puede observar que existe diferencia significativa en la concentración de N foliar de N debido a la interacción N-S en Aries y N-Se y S-Se en Quartet.

Estudios realizados en mostaza (Dev y Kumar, 1982), trigo (Kastoric y Jocic, 1995), girasol (Sharman y Dev, 1980) y maíz (Rabufetti y Kamprath, 1977), encontraron que altas aplicaciones de S disminuyen la concentración de N en plantas. Janzen y Bettany (1984) indican la relación óptima de N disponible: S disponible es 7:1; al ser menor la relación se observan efectos negativos en la producción de semillas de mostazas, rango similar al mencionado por Tisdale *et al.*, (1993) que fluctúa entre 6-8:1. Estudios de campo realizados por Janzen y Bettany (1984) para evaluar la interacción N-S en el rendimiento de *Brassica campestris* L. demostraron que la producción de semillas es muy sensible a la deficiencia de S.

La deficiencia de S genera cambios en el metabolismo de N, ya sea en la síntesis de proteínas como en la acumulación de compuestos solubles de $N_{\text{orgánico}}$ y $N_{\text{inorgánico}}$ (Charliers y Carpenter, 1956). La mayor concentración de N se observa en los tratamientos en los cuales se aplicaron 100 mg N kg⁻¹ y 50 ó 100 mg S kg⁻¹, coincidente con estudios realizados por Aulak *et al.*, (1977) quienes observaron efectos positivos y significativos de la relación N-S aplicada a los cultivos. En esta tesis el efecto de la relación N-S fue más evidente en el cultivar Quartet.

Cuadro 6. Concentración de N foliar de *Lolium perenne* cultivares Aries y Quartet asociado a crecientes aplicaciones de N, S y Se.

N	S	Se	N foliar (g kg ⁻¹ ms)		
mg k ⁻¹	mg k ⁻¹	g ha ⁻¹	Aries	Quartet	
0	0	0	46,2±1,4	42,5±0,9	
		30	45,8±2,8	39,5±1,3	
		60	46,5±1,1	40,7±2,5	
		50	0	44,7±0,7	42,1±1,2
			30	45,3±2,2	39,9±0,5
			60	43,1±0,6	38,9±1,0
		100	0	39,9±2,5	39,3±2,4
			30	38,6±0,5	41,4±2,9
			60	40,4±0,8	39,1±0,3
	100	0	0	45,2±1,7	43,6±2,6
			30	46,2±2,5	48,1±0,8
			60	45,8±1,1	49,4±1,1
		50	0	47,4±1,6	49,8±0,5
			30	47,3±1,7	50,1±0,8
			60	49,4±0,7	50,8±1,2
		100	0	45,4±1,7	50,5±0,7
			30	46,1±1,7	50,5±1,1
			60	44,3±1,7	51,3±1,2
DMS _{0,05}					
N*S			1,8		
N*Se				3,2	
S*Se				2,6	

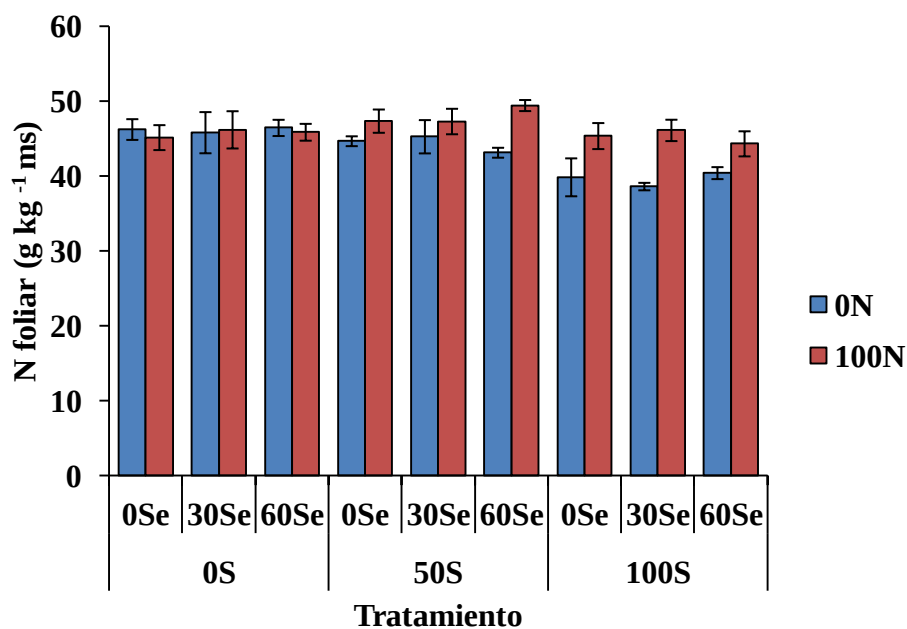


Figura 19. Concentración de N foliar en plantas de *Lolium perenne* en cultivar Aries cultivadas a dosis crecientes de aplicación de N, S y Se.

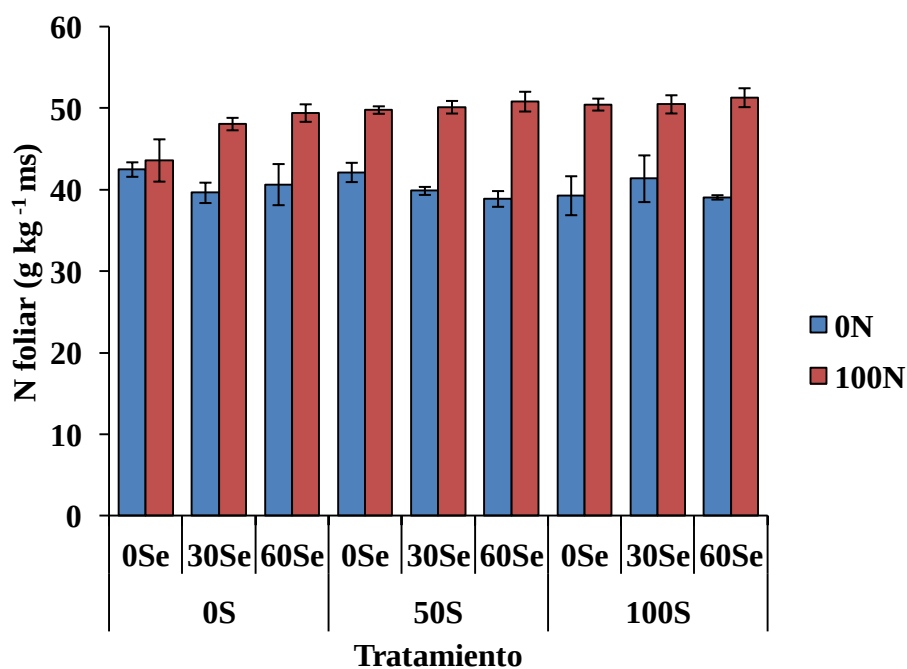


Figura 20. Concentración de N foliar en plantas de *Lolium perenne* en cultivar Quartet cultivadas a dosis crecientes de aplicación de N, S y Se.

Como se indico anteriormente la mayor concentración de N es observada en los tratamientos en los cuales se le aplico dosis creciente de N-S. El efecto producido por el Se podría deberse a la competencia S-Se siendo absorbido menor cantidad de S influenciando negativamente la relación N-S.

4.6 Concentración de azufre foliar en plantas de *Lolium perenne* cultivares Aries y Quartet.

Para cada nivel de N y S aplicadas al suelo, los resultados muestra en general una tendencia a la disminución en la concentración de S foliar (g maceta^{-1}) por efecto de la aplicación de Se, lo que coincide con los estudios realizados en cebollas por Kopsell y Randler (1997), quienes indican que al ser suministrado menos cantidades de Se favorece la absorción y acumulación de S. Para el cultivar Aries el tratamiento control (sin adición de N, S, Se) presentó concentraciones de S de $2,33 \pm 0,21 \text{ g kg}^{-1}$ de ms, aportado solo por el S disponible en el suelo. Sin embargo, en Aries se observo un incremento significativo de la concentración de S foliar en tratamiento 100N-100S-60Se, alcanzando un valor $2,95 \pm 0,21 \text{ g S kg}^{-1} \text{ ms}$ como consecuencia de un aumento de la disponibilidad de S en el suelo (40 mg kg^{-1}) debido a la aplicación de fertilización azufrada (Cuadro 7).

Cuadro 7. Concentración de S foliar en plantas de *Lolium perenne* cultivar Aries y Quartet, peletizadas con selenito, adicionado niveles crecientes de N, S, Se.

N	S	Se	S foliar (g kg ⁻¹ ms)		
mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	g ha ⁻¹	Aries	Quartet	
0	0	0	2,33±0,21	2,22±0,23	
		30	2,27±0,07	2,19±0,26	
		60	2,16±0,08	2,55±0,18	
		50	0	2,67±0,05	2,18±0,14
			30	2,21±0,05	2,01±0,04
			60	2,40±0,35	1,85±0,13
	100	0	2,33±0,33	3,17±0,08	
		30	2,49±0,18	2,84±0,23	
		60	2,45±0,18	2,29±0,23	
	100	0	0	2,83±0,36	2,17±0,06
			30	2,45±0,06	2,21±0,04
			60	2,35±0,23	2,34±0,07
		50	0	2,71±0,18	2,56±0,06
			30	2,87±0,32	2,49±0,30
			60	2,55±0,38	2,27±0,33
		100	0	2,61±0,29	2,31±0,21
			30	2,88±0,19	2,64±0,30
			60	2,95±0,21	2,47±0,18
DMS _{0,05}					
S*Se		0,43	0,36		
N*S*Se			0,34		

El cultivar. Quartet presentó concentraciones en su tratamiento control (0N-0S-0Se) de 2,22 ± 0,23 (g de S kg⁻¹ de ms), obteniendo la concentración de S valor más alto en el tratamiento con un valor 0N-100S-0Se, 3,16 ± 0,076 g de S kg⁻¹ de ms, el cual presentó una disponibilidad de S en el suelo de 42 mg kg⁻¹ (Cuadro 8). Ylaranta (1991) realizó estudios de campo demostrando que la lixiviación de S aumenta la absorción de Se al existir menor competencia entre ellos

Cuadro 8. Análisis de suelo final del ensayo de *Lolium perenne* cultivar Aries cultivado a dosis crecientes de aplicación de N, S y Se.

N	S	Se	pH	Al	P	S	Ca	Mg	Na	K	Suma de bases	
mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	g ha ⁻¹		cmol(+) kg ⁻¹	mg/kg	mg/kg	cmol(+) kg ⁻¹	cmol(+) kg ⁻¹	cmol(+) kg ⁻¹	cmol(+) kg ⁻¹	cmol(+) kg ⁻¹	
0	0	0	5,86±0,05	0,01±0,01	32±1	10±1	12,63±0,04	2,07±0,03	0,11±0,01	0,74±0,03	15,55±0,05	
		30	5,84±0,02	0,01±0,01	30±1	9±1	13,64±0,56	2,01±0,09	0,14±0,02	0,80±0,09	16,59±0,49	
		60	5,86±0,05	0,02±0,00	32±1	9±1	15,48±0,17	2,08±0,02	0,12±0,00	0,77±0,03	18,46±0,18	
	50	0	5,98±0,06	0,03±0,02	31±1	30±2	14,93±0,46	2,08±0,01	0,11±0,00	0,71±0,03	17,83±0,44	
		30	5,94±0,08	0,02±0,01	31±1	28±1	14,92±0,06	2,02±0,04	0,11±0,00	0,71±0,06	17,75±0,14	
		60	5,97±0,04	0,02±0,00	31±1	29±4	15,07±0,12	2,19±0,05	0,12±0,01	0,74±0,02	18,11±0,13	
	100	0	6,03±0,04	0,03±0,01	30±1	50±1	15,23±0,35	2,18±0,07	0,12±0,02	0,79±0,06	18,33±0,41	
		30	6,02±0,01	0,03±0,00	29±3	44±6	14,67±0,19	2,29±0,02	0,12±0,01	0,85±0,02	17,92±0,24	
		60	6,02±0,03	0,03±0,00	29±1	45±4	13,75±0,32	2,20±0,13	0,11±0,00	0,78±0,03	16,84±0,41	
	100	0	0	5,66±0,03	0,03±0,00	31±1	8±1	13,09±0,37	2,22±0,02	0,11±0,01	0,83±0,03	16,24±0,40
			30	5,70±0,04	0,03±0,01	32±1	7±1	13,13±1,01	2,12±0,11	0,11±0,00	0,82±0,01	16,18±1,09
			60	5,66±0,03	0,03±0,00	32±1	7±1	14,98±0,61	2,19±0,02	0,12±0,01	0,85±0,09	18,13±0,51
		50	0	5,73±0,02	0,02±0,01	31±1	23±1	15,15±0,12	2,16±0,03	0,12±0,01	0,81±0,05	18,24±0,17
			30	5,83±0,11	0,01±0,01	32±1	27±3	15,11±0,02	2,17±0,05	0,12±0,01	0,79±0,04	18,19±0,03
			60	5,88±0,18	0,02±0,01	31±1	24±1	14,63±1,19	2,25±0,02	0,11±0,01	0,83±0,05	17,82±1,21
		100	0	5,80±0,03	0,02±0,00	31±1	43±1	15,39±0,45	2,17±0,08	0,12±0,01	0,78±0,06	18,46±0,38
			30	5,79±0,02	0,02±0,00	30±1	39±7	15,24±0,27	2,24±0,08	0,12±0,01	0,79±0,03	18,40±0,32
			60	5,80±0,02	0,02±0,00	30±1	40±3	14,57±0,18	2,07±0,01	0,12±0,01	0,81±0,03	17,57±0,18
Valor promedio de tres repeticiones ± desviación estándar (DS)												

Cuadro 9. Análisis de suelo final del ensayo de *Lolium perenne* cultivar Quartet cultivado a dosis crecientes de aplicación de N, S y Se.

N	S	Se	pH	Al	P	S	Ca	Mg	Na	K	Suma de bases		
mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	g ha ⁻¹		cmol(+) kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	cmol(+) kg ⁻¹	cmol(+) kg ⁻¹	cmol(+) kg ⁻¹	cmol(+) kg ⁻¹	cmol(+) kg ⁻¹	cmol(+) kg ⁻¹	
0	0	0	5,80±0,05	0,05±0,00	26±3	9±1	14,18±0,20	2,24±0,12	0,17±0,02	0,80±0,14	17,39±0,45	1	
		30	5,82±0,01	0,11±0,00	26±1	9±1	14,24±0,09	2,23±0,04	0,18±0,01	0,89±0,07	17,55±0,18	1	
		60	5,86±0,03	0,02±0,00	29±4	9±1	14,17±0,08	2,28±0,09	0,18±0,01	0,85±0,13	17,48±0,23	1	
	50	0	5,90±0,04	0,01±0,00	24±1	27±1	13,91±0,41	2,14±0,07	0,17±0,01	0,93±0,05	17,16±0,49	1	
		30	5,93±0,06	0,01±0,00	24±2	25±4	14,32±0,27	2,16±0,08	0,18±0,01	1,04±0,11	17,70±0,25	1	
		60	5,87±0,03	0,01±0,01	25±1	28±2	14,19±0,47	2,20±0,07	0,19±0,04	1,00±0,17	17,58±0,68	1	
	100	0	5,98±0,06	0,02±0,00	24±1	42±3	14,08±0,23	2,09±0,01	0,16±0,01	1,00±0,03	17,33±0,22	1	
		30	5,97±0,06	0,02±0,00	25±3	49±6	14,23±0,15	2,17±0,05	0,17±0,01	1,04±0,10	17,61±0,08	1	
		60	5,93±0,07	0,03±0,00	25±3	47±4	14,16±0,12	2,21±0,12	0,19±0,01	1,05±0,05	17,61±0,25	1	
	100	0	0	5,62±0,00	0,03±0,00	27±3	8±1	13,68±0,66	2,24±0,13	0,17±0,01	1,09±0,02	17,18±0,79	1
			30	5,67±0,06	0,03±0,00	25±1	8±1	14,51±0,13	2,20±0,02	0,18±0,02	0,99±0,19	17,88±0,21	1
			60	5,68±0,04	0,04±0,01	28±3	8±1	14,53±0,85	2,28±0,18	0,18±0,02	0,80±0,14	17,78±1,14	1
50		0	5,69±0,03	0,04±0,00	24±1	28±4	13,97±0,45	2,11±0,07	0,17±0,01	0,75±0,15	17,00±0,67	1	
		30	5,71±0,03	0,05±0,01	25±3	25±7	14,39±0,04	2,22±0,12	0,17±0,01	0,80±0,07	17,58±0,07	1	
		60	5,73±0,01	0,07±0,02	24±1	23±2	13,98±0,57	2,13±0,08	0,18±0,03	0,85±0,10	17,15±0,76	1	
100		0	5,77±0,03	0,08±0,01	24±1	42±5	14,05±0,25	2,37±0,34	0,18±0,02	0,85±0,15	17,46±0,36	1	
		30	5,75±0,03	0,03±0,00	26±2	49±5	14,14±0,29	2,21±1,07	0,22±0,01	0,97±0,05	17,54±0,94	1	
		60	5,75±0,01	0,03±0,00	25±1	42±3	14,39±0,11	2,83±0,07	0,22±0,01	1,01±0,10	18,44±0,16	1	
Valor promedio de tres repeticiones ± desviación estándar (DS)													

4.6 Concentración Se foliar en plantas de *Lolium perenne* cultivares Aries y Quartet.

El Se presente en las hojas de ambos cultivares de *Lolium perenne* aumentó al aplicar dosis crecientes de Se (30-60 g ha⁻¹) independiente de los niveles de N o S aplicados al suelo. Las Figuras 21 y 22 muestran que los niveles de Se foliar más bajos se presentaron en los tratamientos que no fueron fertilizadas con Se, alcanzando concentraciones de 75 ± 10 y 82 ± 2 $\mu\text{g Se kg}^{-1}$ ms en el cultivar Aries y Quartet, respectivamente. Por el contrario, la concentraciones foliares más altas se registraron en los tratamientos que recibieron 60 g Se ha⁻¹, con valores promedio de 1098 ± 95 $\mu\text{g Se kg}^{-1}$ ms y 903 ± 165 $\mu\text{g Se kg}^{-1}$ ms.

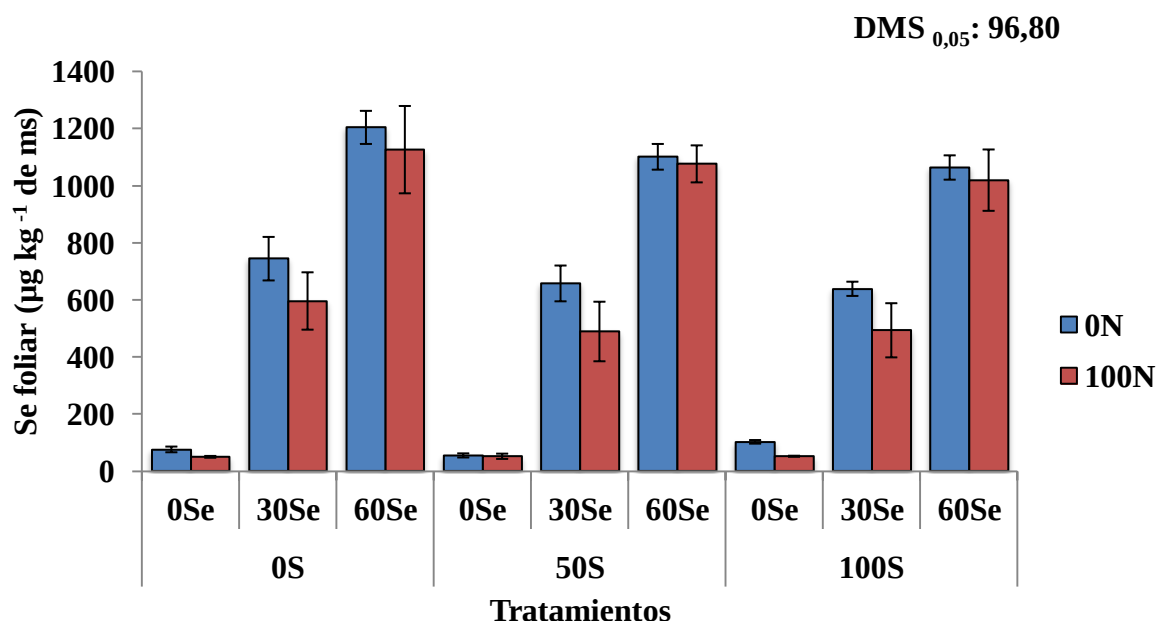


Figura 21. Concentración de Se foliar en plantas de *Lolium perenne* cultivar Aries, procedentes de semillas peletizadas con selenito con niveles crecientes de adición N, S, Se.

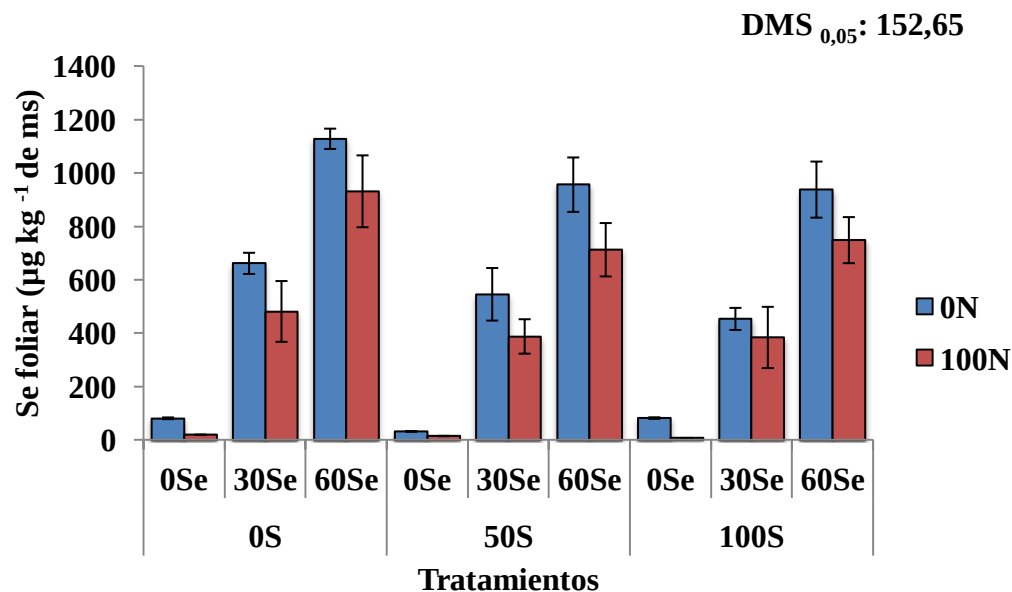


Figura 22. Concentración de Se foliar en plantas de *Lolium perenne* cultivar Quartet, procedentes de semillas peletizadas con selenito con niveles crecientes de adición N, S, Se.

Los fertilizantes de reacción ácida, tales como la urea y el nitrato de amonio, contribuyen al aumento de la concentración de protones en el suelo; por lo tanto disminuye el valor del pH, lo que genera un aumento de la adsorción de selenito y con ello una reducción de su disponibilidad para las plantas. Esta reacción ácida es mantenida a corto y largo plazo por la urea (Pinilla y Sanhueza, 2000). Cartes (2005) reporta que la adsorción de selenito es mayor que la del seleniato a rango de pH 4.0-8.0. Pezzarossa y Petruzzelli (2001) realizaron estudios en suelos ácidos y neutros, donde mayoritariamente se observa selenito, pero su movilidad en este tipo de suelos es baja, influenciado por su afinidad de absorción en sitios de la materia orgánica y de la superficie mineral del suelo. Por otra parte, Terry *et al.*, (2000) y Lauchli (1993) reportan que la disminución en el nivel de Se en la planta se produce en gran parte por un efecto de competencia entre S y Se por los transportadores de sulfato.

4.7 Distribución de Se en distintas fracciones de tejido vegetal en dos cultivares de *Lolium perenne*.

El cuadro 9 muestra las distintas concentraciones de Se ($\mu\text{g kg}^{-1}$ de ms) en las distintas fracciones, en donde la mayor parte es incorporado en forma orgánica que es conformada por el Se-residual, Se-proteína soluble y Se-aminoácido libre. Las aplicaciones crecientes de S (mg kg^{-1} de suelo) disminuyeron la absorción de Se ($p \leq 0,05$) en las distintas fracciones, pero se mantiene la mayor concentración en la fracción orgánica de Se absorbida en cada tratamiento que representa del $< 94 \%$ en ambos cultivares mientras que la fracción inorgánica representa un porcentaje cercano al 6% .

Al ser analizado la fracción de Se orgánico y Se inorgánico, se observa la mayor concentración ocurre en los tratamientos donde se adiciono 0N-0S-60Se y 100N-0S-60Se, esto podría ser como resultado de la baja competencia por los transportadores de sulfato. Las figuras son resultado de la aplicación de S sobre la absorción de Se en las fracciones orgánicas e inorgánicas, observándose la disminución al ser adicionado S.

Cuadro 9.- Concentración de Se foliar de fracciones orgánicas e inorgánicas de tejido vegetal de *Lolium perenne*, cultivar Aries (A) y Quartet (B), con dosis crecientes de nitrógeno-azufre-selenio.

A)			Se			
N	S	Se	Residual	Proteína soluble	Aminoácido libre	Inorgánico
(mg kg ⁻¹)	(mg kg ⁻¹)	(µg kg ⁻¹)	(µg kg ⁻¹ de ms)	(µg kg ⁻¹ de ms)	(µg kg ⁻¹ de ms)	(µg kg ⁻¹ de ms)
0	0	30	692,8 ± 70,6	9,0 ± 0,9	6,8 ± 0,6	34,9 ± 4,3
		60	1083,9 ± 44,8	8,1 ± 0,4	8,5 ± 0,3	102,7 ± 12,5
	50	30	608,6 ± 57,2	6,6 ± 0,7	5,5 ± 0,5	36,6 ± 4,3
		60	981,5 ± 39,9	11,0 ± 0,5	7,0 ± 0,4	100,7 ± 4,2
	100	30	583,7 ± 22,9	7,0 ± 0,4	5,2 ± 0,2	42,0 ± 1,7
		60	980,5 ± 39,8	21,2 ± 0,8	12,3 ± 0,5	48,9 ± 1,6
100	0	30	543,7 ± 92,6	7,7 ± 1,4	3,4 ± 0,9	40,5 ± 5,8
		60	1022,8 ± 139,2	15,5 ± 2,0	6,4 ± 0,7	80,6 ± 11,1
	50	30	446,8 ± 90,9	5,6 ± 2,2	5,7 ± 2,0	30,3 ± 9,8
		60	978,7 ± 58,9	9,9 ± 0,5	9,5 ± 0,6	77,4 ± 5,0
	100	30	458,6 ± 87,5	4,3 ± 0,7	3,6 ± 0,9	26,0 ± 7,8
		60	945,3 ± 99,0	11,8 ± 1,3	8,4 ± 0,9	53,2 ± 6,3
DMS 0,05						
N*S			-	5,4	3,8	-
N*Se			345,1	-	-	-
S*Se			-	4,4	2	13,3
N*S*Se			-	2	1,5	12,7

B)			Se			
N	S	Se	Residual	Proteína soluble	Aminoácido libre	Se inorgánico
(mg kg ⁻¹)	(mg kg ⁻¹)	(µg kg ⁻¹)	(µg kg ⁻¹ de ms)	(µg kg ⁻¹ de ms)	(µg kg ⁻¹ de ms)	(µg kg ⁻¹ de ms)
0	0	30	612,8 ± 37,4	12,2 ± 0,5	1,2 ± 0,1	36,2 ± 1,8
		60	979,4 ± 32,7	0,6 ± 0,1	6,3 ± 0,6	142,5± 6,3
	50	30	504,4 ± 91,5	7,5 ± 1,5	1,6 ± 0,3	33,1 ± 5,2
		60	839,6 ± 89,5	11,3 ± 1,3	2,6 ± 0,1	103,6 ± 11,1
	100	30	417,2 ± 37,9	14,1 ± 1,3	0,9 ± 0,2	22,3 ± 2,1
		60	848,0 ± 94,6	1,0 ± 0,1	6,9 ± 1,2	82,7 ± 9,2
100	0	30	439,7 ± 102,8	10,1 ± 2,4	4,0 ± 1,0	28,6 ± 7,6
		60	839,3 ± 120,8	21,9 ± 3,1	8,5 ± 1,2	63,2 ± 9,5
	50	30	339,1 ± 55,9	23,5 ± 4,0	4,2 ± 0,7	22,1 ± 3,9
		60	607,8 ± 86,3	38,9 ± 4,9	4,4 ± 0,3	63,0 ± 8,5
	100	30	352,8 ± 105,2	8,5 ± 2,6	1,7 ± 0,5	22,0 ± 6,4
		60	670,3 ± 78,4	21,6 ± 2,7	3,9 ± 0,4	53,5 ± 4,9
DMS 0.05						
N*S			-	8,67	3,41	43,43
N*Se			-	6,99	1,94	29,4
S*Se			150,2	13,42	1,96	34,78
N*S*Se			-	4,71	1,41	13,9

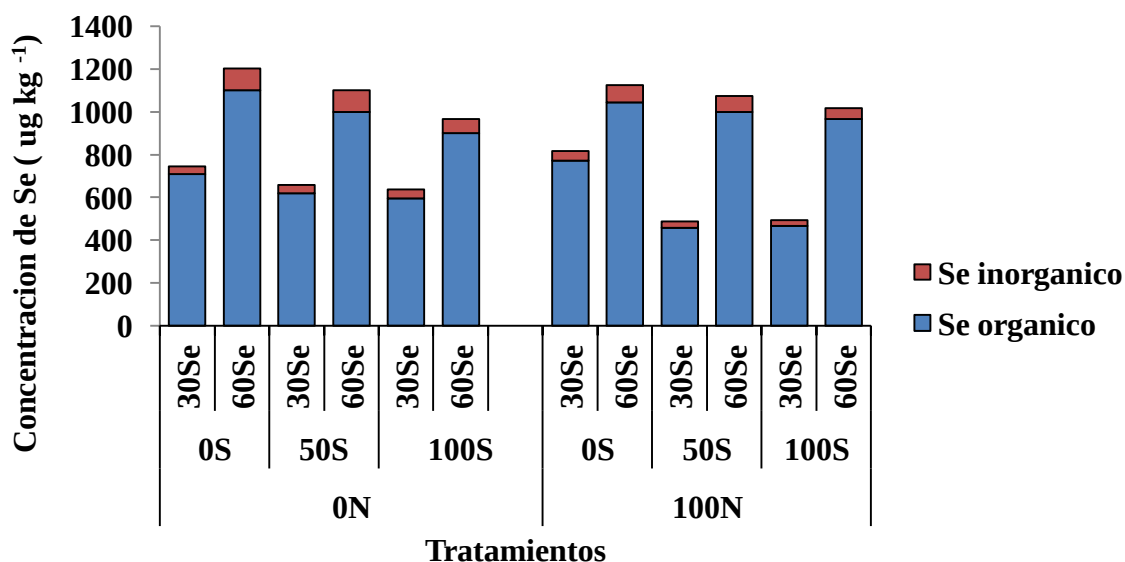


Figura 23. Concentración de Se foliar en fracciones de Se orgánico y Se inorgánico en plantas de *Lolium perenne* cultivar Aries procedentes de semillas peletizadas con selenito con niveles crecientes de adición N, S, Se.

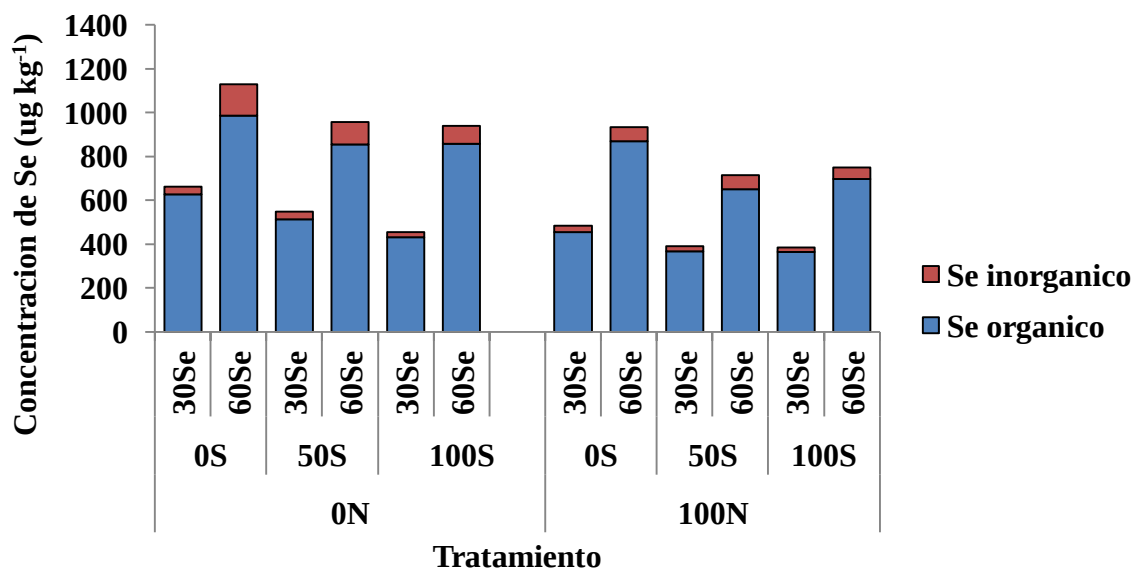


Figura 24. Concentración de Se foliar en fracciones de Se orgánico y Se inorgánico en plantas de *Lolium perenne* cultivar Quartet procedentes de semillas peletizadas con selenito con niveles crecientes de adición N, S, Se.

5. CONCLUSIONES.

- La peletización de semillas de *Lolium perenne* cv. Aries y cv. Quartet con selenito en dosis equivalentes a 30 y 60 g Se ha⁻¹ incrementó la concentración de Se foliar, sin generar efectos sobre el rendimiento de las plantas. A pesar de que el contenido de Se disminuyó significativamente en los cortes sucesivos, la concentración de Se foliar permaneció dentro del rango requerido por el ganado bovino.
- La fertilización con distintos niveles de N, S y Se afectó diferencialmente el contenido de Se foliar y su asimilación hacia formas orgánicas en los tejidos vegetales. Aplicaciones de S en dosis de 50 ó 100 mg kg⁻¹ de suelo disminuyeron la concentración de Se foliar, y con ello su incorporación hacia formas de Se orgánico, lo cual puede ser atribuido a un competitivo del S por los transportadores de sulfato en las plantas. Por otra parte, la aplicación de urea en dosis de 100 mg N kg⁻¹ de suelo disminuyó la concentración de Se foliar, debido a una reducción del Se potencialmente disponible en el suelo.
- Finalmente, el análisis de fraccionamiento de Se en el follaje indica que la mayor parte de Se fue localizado en la fracción de Se-orgánico, compuesto por Se-residual, Se-aminoácido libre y Se-proteína soluble, independientemente de los niveles de N y S aplicados al suelo.

6. RESUMEN

El selenio (Se) es un micronutriente esencial para la salud animal, y una baja o excesiva ingesta ha sido relacionada a una serie de enfermedades y desórdenes fisiológicos. No obstante, la esencialidad del Se para la plantas es controversial, debido a que a la fecha no existe evidencia molecular que confirme la presencia de Se-proteínas esenciales en plantas vasculares.

Se realizaron dos ensayos de invernadero. El objetivo del primer ensayo fue evaluar el rendimiento y la concentración de Se foliar en dos cultivares de *Lolium perenne* (Aries y Quartet) cultivados con dosis crecientes de Se (0, 30 y 60 g Se ha⁻¹) durante cuatro cortes sucesivos. Los resultados indican que la mayor concentración de Se fue observada en el primer corte, excediendo los niveles requeridos por el ganado bovino, pero se mantiene dentro de un rango adecuado desde el segundo al cuarto corte.

El segundo ensayo de invernadero tuvo como objetivo analizar el efecto de la relación nitrógeno (N) - azufre (S) - selenio (Se) sobre la producción de materia seca, concentración de Se, así como sobre la acumulación de Se en la fracción orgánica en hojas de *Lolium perenne* cv. Aries y cv. Quartet. Los resultados muestran que las dosis crecientes de Se no afectaron la producción de materia seca foliar de ambos cultivares de ballica. Sin embargo, la concentración de Se así como su asimilación hacia formas de Se- orgánico disminuyó al adicionar niveles crecientes N y S al suelo. En particular, se observó un efecto negativo del S sobre la acumulación de Se, alcanzando los valores más altos los tratamientos de 0N-0S-60Se y 100N-0S-60Se. Finalmente, el análisis de fraccionamiento de Se en el follaje indica que la mayor parte de Se fue localizado en la fracción de Se-orgánico, compuesto por Se-residual, Se-aminoácido libre y Se-proteína soluble, independientemente de los niveles de N y S aplicados al suelo.

7. ABSTRACT

Selenium (Se) is an essential micronutrient for animal health, and either low or excessive intake has been related to several illness or physiological disorders. Nevertheless, Se essentiality to plants is controversial, due to currently there is not molecular evidence that confirm the presence of essential Se-proteins in vascular plants.

Two greenhouse trials were conducted. The objective of the first trial was to evaluate the yield and shoot Se concentration in two *Lolium perenne* cultivars (Aries and Quartet) grown at increasing Se doses (0, 30 or 60 g ha⁻¹) during four consecutive cuts. The results indicate that the greatest shoot Se concentration was observed at the first cut, exceeding the levels required by cattle, but it remained within the adequate range from the second to the fourth cut.

The second greenhouse trial was conducted to analyze the effect of the nitrogen (N) - sulfur (S) - selenium (Se) relationship on dry matter production, Se concentration, as well as on Se accumulation into the organic fraction in the shoots of *Lolium perenne* cv. Aries and cv. Quartet. The results show that increasing Se doses did not affect the dry matter production of both ryegrass cultivars. However, shoot Se concentration as well as its assimilation into organic Se forms decreased when increasing levels of N and S were added to the soil. In particular, a negative effect of S on Se accumulation was observed, reaching the treatments 0N-0S-60Se and 100N-0S-60 Se the higher values. Finally, Se fractionation analysis in the shoots indicates that most of Se was allocated into the organic-Se faction, which is composed by residual-Se, free amino acid-Se and protein-Se, irrespectively of the levels of N and S applied to the soil.

8. LITERATURA CITADA.

- Acosta, L.** 2007. El Selenio. Laboratorio Santa Elena, Uruguay .Pág. 1-3.
- Alfaro M., Bernier R., Iraira S.** 2005. Efecto de fuentes de azufre sobre el rendimiento y la calidad de trigo y praderas en dos andisoles. *Agricultura Tecnica (Chile)* 66:283-294.
- Allan D and Graham P.** 2005. Soil Biology and Fertility: Symbiotic nitrogen fixation. Dep. Of Soil, Water and Climate. University of Minnesota.
- Anasac.** Catalogo de forrajeras. 32 pag.
- Anderson J.** 1981. Light-energy-dependent processes other than CO₂ assimilation. In *Biochemistry of Plants* vol. 8. Photosynthesis. Academic Press, Inc. New York. Pp. 473-500.
- Arvy, M.P.,** 1993, Selenate and selenite uptake and translocation in bean plants (*Phaseolus vulgaris*), *J.Exp Bot.*44. Pag 1083–1087.
- Aulakh MS, Pasricha NS y Sahota NS** (1977) Nitrogen-sulfur relationship in brown sarson and Indian mustard. *Ind J Agric Sci.* 47: 249-253.
- Balocchi, O.** 1986. II Novedades en gramíneas y leguminosas forrajeras. Produccion de Forraje, Facultad de Ciencias agrarias, Universidad Austral de Chile. 10p.
- Bañuelos G, Terry N, LeDuc DL, Pilon-Smits EAH and Mackey B.** 2005. Field trial of transgenic Indian mustard plants shows enhanced phytoremediation of selenium-contaminated sediment. *Environmental Science and Technology* 39: 1771–1777.
- Barrow N. and Whelan B.** 1989. Testing a mechanistic model. VII. The effects of pH and of electrolyte on the reaction of selenite and selenate with a soil. *J.Soil Sci.* p 17-28.
- Barrow NJ, Cartes P. and Mora ML.** 2005. Modifications to the Freundlich equation to describe anion sorption over a large range and to describe competition between ions. *European Journal of Soil Science* 56, 601-606.
- Bell P. and Parker D..** 1992. Contrasting selenioto sulfate interactions in selenium-accumulating and nonaccumulating plant species. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 56:1818–24
- Benavides- Mendoza, A.** 1998. El Azufre en las plantas. Departamento de Horticultura, UAAAN, pág. 1-7.
- Benavides- Mendoza, A.** 2010. Elementos traza y calidad nutricional, casos de iodo, zinc y selenio. Departamento de Nutrición Animal, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Pág. 11-12.
- Brown T. and Shrift A.** 1982. Selenium: toxicity and tolerance in higher plants. *Biol. Rev.* 57:59–84.

- Brunold, C. y Suter M.** (1984). Regulation of sulphate assimilation by nitrogen nutrition in the duckweed *Lemna minor* L. *Plant Physiol* 76: 579-583.
- Cartes P.** 2005. Dinámica de selenio en el sistema suelo-planta: evaluación de un sistema pretense modelo. 141 pag.
- Cartes P., Shene C. and Mora M.** 2006. Selenium distribution in ryegrass and its antioxidant role as affected by sulfur fertilization. 9 pag.
- Cartes, P., Gianfreda, L., Paredes, C. and Mora, M. L.** 2010. The effect of seed pelletization with selenite on the yield and selenium uptake of ryegrass cultivars. *Proceedings of the 19th Congress of Soil Science*. pp: 310-313. ISBN 978-0-646-53783-2.
- Charliers RS, Carpenter LJ (1956) The role of Sulfur in biology and its importance in agriculture. Bull Docum Assoc intern Fabr Superph. 19: 1-37**
- Cid I.** 2008. Relación entre el consumo aparente de forraje en primavera y la producción de leche de vacas en pastoreo. Tesis para optar al título de Ingeniero Agrónomo, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile. 86 p.
- Davidan J., Hatzfield Y., Cathala N., Tagmount A. and Vidmar J.** 2000. Sulfate uptake and transport in plants. In *Sulfur Nutrition and Sulfur Assimilation in Higher Plants: Molecular, Biochemical and Physiological Aspects*, ed. C Brunold, H Rennenberg, LJ De Kok, I Stuhlen, J-C Davidian. Bern: Paul Haupt. In press pp.1-19
- Demagnet R.** 1994. Variedades de ballica perenne. *Frontera Agrícola (Chile)*. 2: 38-43.
- Demagnet, R.** 2007. Ballica Perenne en pasturas para producción de leche. Programa de desarrollo de proveedores 2004-2007. Pág. 1-11.
- Dev G. y Kumar V.** (1982) Secondary nutrients IN review of soil research in India, Part I, 12th International Congress of Soil Science, New Delhi, India, pp.342-360
- Ellis D., Salt D.** 2003. Plants, selenium and human health. 7 pag.
- Eppendorfer WH.** (1971). Effects of sulfur, nitrogen and phosphorous on amino acid composition of field beans (*Vicia faba*) and responses of the biological value of the seed protein and sulfur-amino acid content. *J Sci Food Agric* 22: 501-505.
- Fenton, G.; Helyar, K.** 2000. Soil acidification. *In: Charman, P.; Murphy, B. ed. Soils: Their properties and management*. 2 ed. Oxford University Press. p. 223-237.
- Follett, R.** 2001. Nitrogen transformation and transport processes. *In: Follett, R.; Hatfield, J. eds. Nitrogen in the environment: Sources, problems and management*. Elsevier Science, The Netherlands. p. 17-44.
- Fordyce, F.** 2005. Selenium deficiency and toxicity in the environment. *Essentials of Medical Geology*, Chap. 15, pp. 373-415.

- Gissel-Nielsen G.** 1987. Fraction of selenium in barley and rye-grass. J.Plant nutr. 10: 2147-2152.
- Gissel-Nielsen G.** 1998. Effects of selenium supplementation on field crops. In: Frankenberger Jr WT, Engberg RA, editors. Environmental chemistry of selenium.p. 99–128.1
- Heike H., McManus M.,Warnstorff K, Monahan B. and Young C.** 2007 Neotyphodium fungal endophytes confer physiological protection to perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) subjected to a water deficit. Environmental and Experimental Botany. 183-199.
- Hannaway D.** 1999. Perennial Ryegrass (*Lolium perenne* L.) Oregon State University. 20 pag.
- Hartikainen H., Ekholm P., Piironen V., Xue T., Koivu T. and Yli-Halla M.** 1997. Quality of the ryegrass and lettuce yields as affected by selenium fertilization. Agric. Food Sci. Finland. 6: 381-387.
- Hartikainen H.,** 2005. Biogeochemistry of selenium and its impact on food chain quality and human health. J Trace Elem Med Biol 18:309–318.
- Havlin J., Beaton J., Tisdale S. and Nelson W.** 1999. Soil Fertility and Fertilizers, An Introduction to Nutrient Management. Prentice- Hall, Inc. New Jersey, Union States of America. 6th Ed. 499 p.
- Janzen HH y Bettany JR** (1984) Sulfur nutrition of rapeseed. Influence of fertilizer nitrogen and sulfur rates. Soil Sci Soc Am J 48: 100-107.
- Jarvis S., Stockdale E., Shepherd M. and Owison D.** 1996. Nitrogen mineralization in temperate agricultural soils: processes and measurements. Advances in Agronomy.58: 187-235.
- Jarvis S.** 1998. Nitrogen managenet and sustentability. In: Grass for dairy cattle. CABI publishing. UK. 161-192 p.
- Kastori R, Jovic .** 1995. Sulfur and nitrogen content in wheat after long term application of NPK fertilizer. Zemljiste-Ibiljka (Yugoslovia) 44: 191-197.
- Lakkineni KC. y Abrol YP.** (1994). Sulfur requirement of crop plants:Physiological Analysis. Fert News 39: 11-18.
- Lyons G., Lewis J., Lorimer M. and Holloway R.** 2004. High-selenium wheat: agronomic biofortification strategies to improve human nutrition.8 pag.
- Li H, McGrath S. and Zhao F.** 2007. Selenium uptake, translocation and speciation in wheat supplied with selenate or selenite. 11 pag.
- Maryland H., James L., Panter K. and Songeregger J.,** 1989. Selenium in seleniferous environments. In Selenium in Agriculture and the Environment. Edited by JacobsLW. Madison, WI: Soil Science Society of America; pag. 15-50.

- Matamoros A.**, 2001. Distribución espacial de selenio en suelos y su comportamiento geoquímico local al oriente de los municipios de Utiaca y Villeta. Proyecto compilación y levantamiento de la información geoquímica. 231 pag.
- Matus F.** 1997. Mineralización de nitrógeno en suelos agrícolas; predicción, medición y recomendaciones de fertilización. Ciencia e Investigación Agraria 24: 59-72. ISI
- Matthey O.**, 1995. Manual de malezas que crecen en Chile. Editorial Alfabeta impresiones. 545 p.
- Mengel, K., and E. Kirkby.** 1987. Sulphur. p. 385-402. In International Potash Institute (ed.). Principles of plant nutrition. Bern, Switzerland.
- Meza P.**, 2009. Producción de siete cultivares de *Lolium perenne* L. en el secano de la IX región de la Araucanía. 41 pag.
- Muslera P. and Ratera G.**, 1992. Praderas y forraje, producción y aprovechamiento. Ediciones Mundi Prensas. 674 p.
- Pereyra M.** 2001. Asimilación del nitrógeno en plantas. Universidad de la Pampa, Facultad de Agronomía. Pág. 1-16.
- Pezzarossa B. and Petruzzelli G.** 2001. Selenium in soil: sorption and desorption processes. En: Selim H. M., Sparks, D. L (Eds). Heavy Metals Release in Soil. Lewis Publishers, Boca Raton, FL. Pp: 191-206.
- Oldfield JE.** 2002. Selenium world atlas. Selenium-Tellurium Development Association (STDA). Pag. 59.
- Ortman K. and Pehrson B.** 1999. Effect of selenate as a feed supplement to dairy cows in comparison to selenite and selenium yeast. J Anim Sci 77:3365–3370
- Pinilla H. and Sanhueza H.**, 2000. Fertilizantes nitrogenados y su impacto sobre la productividad de los suelos volcánicos del sur de Chile. Compendio de investigaciones realizadas entre 1985-1998. Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile. 35 p.
- Rayman, M.** 2002. The argument for increasing selenium intake. Proc. Nutr. Soc. 61:203-215.
- Reilly C.** 2006, Selenium in plant, p 27 – 30. In Champman and Hall (eds.). Selenium in food and health. London, UK.
- Rios J., Rosales M., Blasco B., Cervilla ML., Romero L. and Ruiz.** 2008, Biofortification of Se and induction of the antioxidant capacity lettuce plants.
- Ruiz I.** 1996, Praderas para Chile. 2º Edición. INIA, Ministerio de Agricultura, Editor Ignacio Ruiz. Santiago, Chile. 733 p.

- Sadzawa A., Carrasco M., Grez R., Mora ML.** 2004. Métodos de análisis recomendados para los suelos chilenos. Comisión de Normalización y Acreditación (CNA) de la sociedad Chilena de la Ciencia del Suelo. 113 pag.
- Salisbury F. and Ross C,** 1992. Fisiología Vegetal. Edición Iberoamericana. México D.F. 759 p.
- Sharma RL. y Dev G.** 1980. Interaction of amide-nitrogen and sulfur for growth and nutrient accumulation in sunflower. J Nuclear Agri Biol 9(4): 146-148.
- Shrift A. and Ulrich JM.** 1969. Transport of selenate and selenite into Astragalus roots. Plant physiology 44: 893–896.
- Terry N., Zayed A., de Souza M. and Tarum A.** 2000. Selenium in higher plants. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 51: 401 – 432.
- Tisdale S., Nelson W.** 1988. Fertilidad de los suelos y fertilizantes. Editorial Montares y Simon. (España) 760 p.
- Tisdale SL, Nelson WL, Beaton JD, Havlein JL.** 1993 (5ed.) Soil fertility and fertilizer. Macmillan. New York. 634p.
- Watkinson, J.H., and M.J. Kear.** 1996. Sulfate and mineralisable organic sulphur in pastoral soils of New Zealand. I. A quasi equilibrium between sulphate and mineralisable organic sulphur. Aust. J. Soil Res. 34:385-403.
- Zayed, A., Lytle, C.M., and Terry, N.,** 1998. Accumulation and volatilization of different chemical species of selenium by plants, *Planta* 206, 284–292.