








## Foliar fertilization of sodium selenite and its effects on yield and nutraceutical quality in grapevine

Fertilización foliar con selenito de sodio y su efecto sobre el rendimiento y calidad nutracéutica en el cultivo de vid

Fertilização foliar com selenita de sódio e seu efeito sobre o rendimento e qualidade nutracêutica no cultivo de videiras

María de los Ángeles Sariñana-Navarrete<sup>1</sup>, Luis Guillermo Hernández-Montiel<sup>2</sup>, Esteban Sánchez-Chavez<sup>3</sup>, Juan José Reyes-Perez<sup>4</sup>, Bernardo Murillo-Amador<sup>2</sup>, Arturo Reyes-González<sup>5</sup>, Pablo Preciado-Rangel<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Tecnológico Nacional de México/ Instituto Tecnológico de Torreón. Carretera Torreón-San Pedro km 7.5, Ejido Ana. Torreón, Coahuila, 27170, México. Correos electrónicos: (MA) est\_primo23@hotmail.com; ; (PP) ppreciador@yahoo.com.mx; . <sup>2</sup>Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste. Av. Instituto Politécnico Nacional 195, Col. Playa Palo de Santa Rita, La Paz, Baja California Sur, 23096, México. Correos electrónicos: (LG) hernandez@cibnor.mx; ; (BM) bmurillo04@cibnor.mx; . <sup>3</sup>Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Unidad Delicias, Avenida Cuarta Sur No. 3820 Fraccionamiento Vencedores del Desierto, Delicias, Chihuahua, México Chihuahua, México. Correo electrónico: (ES) esteban@ciad.mx . <sup>4</sup>Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Av. Quito. Km 1 ½ vía a Santo Domingo. Quevedo, Los Ríos, Ecuador. Correo electrónico: (JJ) jreyes@uteq.edu.ec; . <sup>5</sup>Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Blvd. José Santos Valdez No: 1200 pte. Matamoros, Coahuila, 27440, México. Correo electrónico: (AG) reyes.arturo@inifap.gob.mx; .

### Abstract

Selenium (Se) is an essential micronutrient for humans, but in plants, this essentiality has not been demonstrated. However, the supplementation of Se in crops has been shown to improve the yield and the quality of the edible part. The objective of this research was to evaluate the effect of Se foliar fertilization on yield, nutraceutical quality and Se accumulation in grape. Five doses of Se ( $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  at 0.25, 0.5, 0.75, 1.0 and 1.25 mg.L<sup>-1</sup>) and a control were evaluated.

Received: 16-11-2020 • Accepted: 01-02-2021.

\*Corresponding autor. Email: ppreciador@yahoo.com.mx

The results obtained showed that the application in low doses of Se increased the yield; high doses increase nutraceutical quality and induced the accumulation of Se in grapes. In conclusion, the grapevine is a crop with the potential to be biofortified and improve the quality of grape.

**Keywords:** *Vitis vinifera*; plant nutrition; selenium; phytochemical compounds.

### Resumen

El selenio (Se) es un micronutriente esencial para el ser humano, pero en las plantas, esta esencialidad no se ha demostrado. Sin embargo, la suplementación de Se en los cultivos ha demostrado mejorar el rendimiento, y la calidad de la parte comestible. El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de la fertilización foliar de Se sobre el rendimiento, calidad nutracéutica y la acumulación de Se en bayas de uva. Se evaluaron cinco dosis de Se ( $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  a 0,25; 0,5; 0,75; 1,0 y 1,25  $\text{mg.L}^{-1}$ ) y un control. Los resultados obtenidos mostraron que la aplicación en dosis bajas de Se incrementó el rendimiento; en contraste dosis altas mejoran la calidad nutracéutica e inducen la acumulación de Se en las uvas. En conclusión, la vid es un cultivo con potencial de ser biofortificado y mejorar calidad de las bayas de uva.

**Palabras clave:** *Vitis vinifera*; nutrición de las plantas; selenio; compuestos fitoquímicos.

### Resumo

O selênio (Se) é um micronutriente essencial para humanos, mas em plantas essa essencialidade não foi demonstrada. No entanto, a suplementação de Se nas lavouras tem mostrado melhorar o rendimento e a qualidade da parte comestível. O objetivo desta pesquisa foi avaliar o efeito da adubação foliar com Se na produtividade, qualidade nutracéutica e acúmulo de Se em bagos de uva. Foram avaliadas cinco doses de Se ( $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  a 0,25; 0,5; 0,75; 1,0 y 1,25  $\text{mg.L}^{-1}$ ) e um controle. Os resultados mostraram que a aplicação de baixa dose de aumento de desempenho; Em contrapartida, altas doses melhoram a qualidade nutracéutica e induzem o acúmulo de se em uvas. Em conclusão, a videira é uma cultura com potencial para ser bioesperificada e melhorar a qualidade das frutas de uva.

**Palavras-chave:** *Vitis vinifera*; nutrição de plantas; selênio; compostos fitoquímicos.

### Introduction

Selenium (Se) is an important mineral in human nutrition and is essential to form vital proteins and enzymes such as glutathione

### Introducción

El selenio (Se) es un mineral importante en la nutrición humana y es esencial para formar proteínas y enzimas vitales tales como: glutatión

peroxidase, thyroxine 5-deiodinase and selenoprotein. It also has antioxidant properties and protects against free radicals and various carcinogenic factors (Ducsay *et al.*, 2016). According to the World Health Organization, Se consumption in the human diet should be between 55 to 200  $\mu\text{g day}^{-1}$  per adult (WHO, 2009). The most common way in which the human organism acquires Se is by consumption of foods, such as meat or fish (Willers *et al.*, 2015). In the world, there is one billion people with Se deficiencies, due to the consumption of primarily plant-based diets (Wu *et al.*, 2015); plants contain low concentrations of Se, because this mineral is found in small quantities in the soil (Ponavic and Scheib, 2014). Biofortification increases the absorption and accumulation of specific nutrients, *e.g.*, Se, in agricultural food products through plant breeding, genetic engineering and synthetic fertilization (Bocchini *et al.*, 2018). In recent years, studies on the biofortification have increased Se concentration in plants offering the potential to increase Se intake by humans through the consumption of agricultural crops (Mora *et al.*, 2015). Foliar fertilization to agricultural crops is an alternative for incorporating Se into the food chain. Although Se is not considered essential to plants, it has been shown that at low concentrations Se increases crop growth, yield and antioxidant content (Gaucín-Delgado *et al.*, 2020) and its concentration in the edible part (Kuldeep *et al.*, 2010). One of the ways of applying Se to plants is through application of

peroxidasa, tiroxina 5-deiodinasa y selenoproteína. También posee propiedades antioxidantes y protege contra los radicales libres y diversos factores carcinógenos (Ducsay *et al.*, 2016). De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud, el consumo de Se en la dieta humana debe estar entre 55 a 200  $\mu\text{g día}^{-1}$  por adulto (WHO, 2009). La forma más común por la cual el organismo humano adquiere el Se es a través del consumo de alimentos, tales como la carne o el pescado (Willers *et al.*, 2015). En el mundo, existen mil millones de personas con deficiencias de Se, debido al consumo de dietas basadas en vegetales principalmente (Wu *et al.*, 2015); las plantas contienen bajas concentraciones de Se, ya que este mineral se encuentra en pequeñas cantidades en el suelo (Ponavic y Scheib, 2014). La biofortificación aumenta la absorción y la acumulación de nutrientes específicos como por ejemplo, el Se en los productos alimentarios agrícolas a través del fitomejoramiento, ingeniería genética y fertilización sintética (Bocchini *et al.*, 2018). En los últimos años, los estudios sobre la biofortificación han incrementado la concentración de Se en las plantas, ofreciendo el potencial de aumentar la ingesta de Se por parte de los seres humanos a través del consumo de cultivos agrícolas (Mora *et al.*, 2015). La fertilización foliar para los cultivos agrícolas es una alternativa para incorporar el Se a la cadena alimenticia. Aunque el Se no se considera esencial para las plantas, se ha demostrado que a bajas concentraciones el Se aumenta el crecimiento del cultivo, el rendimiento

sodium selenite ( $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ ). Sodium selenite is effective, safe, and has proven to be more bioavailable to plants when applied directly to foliage than when incorporated into the soil (Kápolna *et al.*, 2009). The grape (*Vitis vinifera* L.), is considered to be a functional food because it contains glucose and fructose and has a high amount of phenolic compounds that have pharmacological, antimicrobial and antioxidant properties (Aviña de la Rosa *et al.*, 2016); contains vitamins A, C, E, B1, B3, B6 and B9, and minerals such as Ca, P, Na, K, Fe, Cu, Mg, and Zn. The shell and seed of grape contain polyphenols, vitamins C, E and flavonoids that provide protection against oxidative stress in human (Molina-Quijada *et al.*, 2010). Therefore, the objective of this study was the biofortification with Se in grapevine, and to evaluate its impact on the performance parameters, nutraceutical quality and the accumulation of Se in fruit.

## Materials and methods

### Study area

The experiment was carried out in 2018 in a commercial orchard located in Monterrey, Durango, Mexico at 25°29'20"N, 103°37'37"W. The climate of study area is dry steppe; average temperature of 21 °C and annual rainfall of 253 mm. The soil texture is sandy loam (81 % sand, 14 % silt and 5 % clay); bulk density 1.67 g.cm<sup>-3</sup>; pH of 8.37; water retention capacity of 25.2 %; electrical conductivity of 1.28 dS.m<sup>-1</sup>; organic matter content 1.18 mg.kg<sup>-1</sup>; total nitrogen of 32.8 mg.kg<sup>-1</sup>;

y el contenido antioxidante (Gaucín-Delgado *et al.*, 2020) y su concentración en la parte comestible (Kuldeep *et al.*, 2010). Una de las formas de aplicar el Se a las plantas es mediante la aplicación de selenito de sodio ( $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ ). El selenito de sodio es eficaz, seguro y ha demostrado ser más biodisponible para las plantas cuando se aplica directamente al follaje que cuando se incorpora al suelo (Kápolna *et al.*, 2009). La vid (*Vitis vinifera* L.) se considera un alimento funcional ya que contiene glucosa y fructuosa y tiene una alta cantidad de compuestos fenólicos que tienen propiedades farmacológicas, antimicrobianas y antioxidantes (Aviña de la Rosa *et al.*, 2016); contiene vitaminas A, C, E, B1, B3, B6 y B9, y minerales tales como Ca, P, Na, K, Fe, Cu, Mg, y Zn. La cáscara y la semilla de la uva contienen polifenoles, vitaminas C, E y flavonoides que proporcionan protección contra el estrés oxidativo en el ser humano (Molina-Quijada *et al.*, 2010). Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue la biofortificación con Se en la vid, y evaluar su impacto en los parámetros de rendimiento, la calidad nutraceutica y la acumulación de Se en el fruto.

## Materiales y métodos

### Área de estudio

El experimento se llevó a cabo en el 2018, en un huerto comercial ubicado en Monterrey, Durango, México a 25°29'20"N, 103°37'37"W. El clima del área de estudio es de estepa seca; temperatura promedio de 21 °C y una precipitación anual de 253 mm. La

available phosphorus of 24.4 mg.kg<sup>-1</sup> and removable potassium of 90.43 mg.kg<sup>-1</sup>.

### Plantation

Grape “Cabernet Sauvignon” plants of 7 years old were used. The planting system was 1 m between plants and 3 m between rows, with a plant density 3,333 plant.ha<sup>-1</sup>.

### Selenite doses and application on grape plants

The sodium selenite (Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>, 95 % purity, Sigma-Aldrich®) was prepared at 0.25, 0.5, 0.75, 1.0 and 1.25 mg.L<sup>-1</sup> using distilled water, and a non-toxic commercial surfactant (INEX-A®, 2 mL.L<sup>-1</sup>). Sodium selenite solutions were applied (200 mL per plant) by foliar sprays using a manual sprinkler backpack (Truper®). Applications were conducted in the morning (at sunrise), during fruit formation, veraison, and 15 days before harvest. The control plants (0 mg.L<sup>-1</sup> Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>) received only 200 mL per plant of distilled water. Each experimental plot consisted of 10 plants. The experiment was repeated twice.

### Yield and quality of grapes

Fruit yield, and bunches weight was measured in 10 plants per treatment. Fruit total soluble solids (TSS) and titratable acidity (TA) were determined in the juice of 50 fruit per treatment. TSS was measured with manual refractometer 0-32 % (Sper Scientific® 30001, Sper Scientific LTD, Scottsdale Az, USA) and expressed in °Brix. TA was determined following the methodology of AOAC (AOAC, 1990), using NaOH (0.1 N) and phenolphthalein (1 %) as an indicator; results expressed as percentage of

textura del suelo es franco arenosa (81% arena, 14% limo y 5% arcilla); densidad aparente 1,67 g.cm<sup>-3</sup>; pH de 8,37; capacidad de retención de agua del 25,2%; conductividad eléctrica de 1,28 dS.m<sup>-1</sup>; contenido de materia orgánica 1,18 mg.kg<sup>-1</sup>; nitrógeno total de 32,8 mg.kg<sup>-1</sup>; fósforo disponible de 24,4 mg.kg<sup>-1</sup> y potasio removible de 90,43 mg.kg<sup>-1</sup>.

### Plantación

Se utilizaron las plantas de vid “Cabernet Sauvignon” de 7 años de edad. El sistema de plantación fue de 1 m entre plantas y 3 m entre hileras, con una densidad de planta de 3.333 planta.ha<sup>-1</sup>.

### Dosis de selenito y aplicación en las plantas de vid

El selenito de sodio (Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>, 95 % de pureza, Sigma-Aldrich®) se preparó a 0,25; 0,5; 0,75; 1,0 y 1,25 mg.L<sup>-1</sup> utilizando agua destilada, y un surfactante comercial no tóxico (INEX-A®, 2 mL.L<sup>-1</sup>). Las soluciones de selenito de sodio se aplicaron (200 mL por planta) por aspersión foliar utilizando una mochila de aspersión manual (Truper®). Las aplicaciones se realizaron por la mañana (al amanecer), durante la formación del fruto, en enero y 15 días antes de la cosecha. Las plantas de control (0 mg.L<sup>-1</sup> de Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>) recibieron sólo 200 mL por planta de agua destilada. Cada parcela experimental constaba de 10 plantas. El experimento se repitió dos veces.

### Rendimiento y calidad de las uvas

Se midió el rendimiento de los frutos, y el peso de los racimos en 10 plantas por tratamiento. Se

tartaric acid per 100 g. Fruit volume was determined by water displacement in 50 fruit per treatment. Maturity index (MI) was calculated with the relationship TSS/TA.

## Nutraceutical fruit quality

### Polyphenol content

Total phenolic content was determined using a Folin-Ciocalteu method (García-Nava, 2009). Samples were quantified in an ultraviolet (UV)-Vis spectrophotometer at 760 nm (master spectrum FISHER SCIENTIFIC 415). The standard was prepared with gallic acid. Results were expressed in mg GAE.100 g<sup>-1</sup> fresh weight (FW).

### Flavonoids content

Total flavonoids were determined by colorimetry (García-Nava, 2009). Samples were quantified in a UV-Vis spectrophotometer at 510 nm (master spectrum Fisher Scientific 415). The standard was prepared with quercetin dissolved in absolute ethanol ( $y = 0.0122x - 0.0067$ ;  $R^2 = 0.965$ ). Results were expressed in mg QE.100 g<sup>-1</sup> FW.

### Antioxidant capacity

Total antioxidant capacity was measured by the in-vitro DPPH<sup>+</sup> method (Brand-Williams *et al.*, 1995). Samples were quantified in a UV-Vis spectrophotometer at 517 nm (master spectrum Fisher Scientific 415). The standard was prepared with Trolox (0.1-1.0 mM,  $R^2 = 0.998$ ). Results were expressed in  $\mu$ M equivalent in Trolox.100 g<sup>-1</sup> FW.

### Selenium accumulation in fruits

The Se concentration in fruits was determined by atomic absorption

determinaron los sólidos solubles totales de la fruta (SST) y la acidez titulable (AT) en el zumo de 50 frutas por tratamiento. Los SST se midieron con un refractómetro manual 0-32 % (Sper Scientific® 30001, Sper Scientific LTD, Scottsdale Az, USA) y se expresaron en °Brix. La AT se determinó siguiendo la metodología de AOAC (AOAC, 1990), usando NaOH (0,1 N) y fenoltaleína (1 %) como indicador; los resultados se expresaron como porcentaje de ácido tartárico por 100 g. El volumen de los frutos se determinó por desplazamiento de agua en 50 frutos por tratamiento. El índice de madurez (IM) se calculó con la relación SST/TA.

## Calidad nutracéutica del fruto

### Contenido de polifenoles

El contenido fenólico total se determinó mediante el método de Folin-Ciocalteu (García-Nava, 2009). Las muestras se cuantificaron en un espectrofotómetro ultravioleta (UV)-Vis a 760 nm (master spectrum FISHER SCIENTIFIC 415). El estándar se preparó con ácido gálico. Los resultados se expresaron en mg GAE.100 g<sup>-1</sup> peso fresco (PF).

### Contenido de flavonoides

Se determinaron los flavonoides totales por colorimetría (García-Nava, 2009). Las muestras se cuantificaron en un Espectrofotómetro UV-Vis a 510 nm (master spectrum Fisher Scientific 415). El estándar se preparó con quercetina disuelta en etanol absoluto ( $y = 0,0122x - 0,0067$ ;  $R^2 = 0,965$ ). Los resultados se expresaron en mg QE.100 g<sup>-1</sup> PF.

spectrophotometry (Varian SpectrAA, modelo 220Fast) using the methodology reported by Silva-Trejos, (2011). Fifty fruits per treatment were used and the results were expressed in  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  dry weight (DW).

**Statistical analysis**

Data were analyzed by a one-way analysis of variance (ANOVA) and Tukey’s HSD multiple range test with a significance level of 5 %, using Statistica v. 10.0 (StatSoft, 2011).

**Results and discussions**

**Yield and quality of grapes**

The foliar application of different doses of sodium selenite to grapevine affected the fruit yield per plant, bunches weight, titratable acidity and grape volume (Table 1).

**Capacidad antioxidante**

La capacidad antioxidante total se midió por el método in vitro de DPPH+ (Brand-Williams *et al.*, 1995). Las muestras se cuantificaron en un espectrofotómetro UV-Vis a 517 nm (master spectrum Fisher Scientific 415). El estándar se preparó con Trolox (0,1-1,0 mM,  $r^2 = 0,998$ ). Los resultados se expresaron en  $\mu\text{M}$  equivalente en Trolox.100  $\text{g}^{-1}$  PF.

**Acumulación de selenio en los frutos**

La concentración de Se en los frutos se determinó por espectrofotometría de absorción atómica (Varian SpectrAA, modelo 220Fast) utilizando la metodología reportada por Silva-Trejos, (2011). Se usaron cincuenta frutos por tratamiento y los resultados se expresaron en  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  peso seco (PS).

**Table 1. Effect of doses of sodium selenite applied foliar on fruit yield, total soluble solids (TSS), titratable acidity (TA), and fruit volume in grape ‘Cabernet Sauvignon’ var.**

**Cuadro 1. Efecto de las dosis de selenito de sodio aplicadas por vía foliar sobre el rendimiento del fruto, los sólidos solubles totales (SST), la acidez titulable (AT) y el volumen del fruto en la uva var ‘Cabernet Sauvignon’.**

$\text{Na}_2\text{SeO}_3$ (mg.L <sup>-1</sup> )	Fruit yield. plant <sup>-1</sup> (kg)	Bunches weight (g)	TSS (°Brix)	TA (%)	Maturity index	Fruit volume (cc)
0.25	2.18 <sup>a</sup>	77.74 <sup>ab</sup>	22.0 <sup>a</sup>	6.84 <sup>a</sup>	3.21 <sup>a</sup>	1.11 <sup>d</sup>
0.50	2.34 <sup>a</sup>	76.26 <sup>ab</sup>	22.3 <sup>a</sup>	6.59 <sup>b</sup>	3.39 <sup>ab</sup>	1.17 <sup>cd</sup>
0.75	1.25 <sup>ab</sup>	58.14 <sup>c</sup>	22.7 <sup>a</sup>	6.60 <sup>b</sup>	3.43 <sup>ab</sup>	1.26 <sup>c</sup>
1.00	1.24 <sup>ab</sup>	61.80 <sup>bc</sup>	22.3 <sup>a</sup>	6.61 <sup>b</sup>	3.37 <sup>ab</sup>	1.45 <sup>b</sup>
1.25	0.76 <sup>b</sup>	58.34 <sup>bc</sup>	23.0 <sup>a</sup>	6.60 <sup>b</sup>	3.48 <sup>b</sup>	1.62 <sup>a</sup>
Control	2.17 <sup>a</sup>	80.96 <sup>a</sup>	22.3 <sup>a</sup>	6.77 <sup>a</sup>	3.30 <sup>ab</sup>	1.07 <sup>d</sup>

a, b, c, d: Different letters indicate significant difference ( $p < 0.05$ ) according to Tukey’s HSD test.

a, b, c, d: Different letters indicate significant difference ( $p < 0.05$ ) according to Tukey’s HSD test.



Yield and bunch weight decrease 27.17 and 64.49 respectively; instead, the grape volume increased 51 %. The TSS did not show differences among treatments. The treatments with 0.25 and 1.25 mg.L<sup>-1</sup> of sodium selenite increased maturity index between 3.21 and 3.48 in the grape. In species such as lettuce, potato and tomato, highlight that the application of low doses of Se (10 µM) had growth promoting effects, while higher concentrations induced symptoms of toxicity in plants (Schiavon *et al.*, 2013). Se is not considered essential in plant metabolism; therefore, the addition of this element is not expected to change the crop yield (Broadley *et al.*, 2006). However, other studies reported that the application of Se in low concentration causes positive effects on yield, biomass production, among other (Zhu *et al.*, 2017). In contrast, high doses of Se cause toxicity in the plants because there is a high production of reactive oxygen species, found to inhibit growth and performance (Lapaz *et al.*, 2019). The studies previously reported support our results that there is a decrease in grape production with higher concentrations of Se. Another study found a decrease of more than 21 % in tomato crop yield with high doses of NPs-Se (Hernández-Hernández *et al.*, 2019). In general, the response of the plant to Se differs according to the applied concentration (Puccinelli *et al.*, 2017a), the sensitivity of the species (Lyons *et al.*, 2005), the chemical species of Se used and the method of application; then, the optimal doses for each culture must be determined

## Análisis estadístico

Los datos se analizaron mediante un análisis de varianza (ANOVA) de una vía y la prueba de rango múltiple HSD de Tukey con un nivel de significancia del 5 %, utilizando Statistica v. 10.0 (StatSoft, 2011).

## Resultados y discusión

### Rendimiento y calidad de las uvas

La aplicación foliar de diferentes dosis de selenito de sodio a la vid afectó al rendimiento de frutos por planta, el peso de los racimos, la acidez titulable y al volumen de la uva (Cuadro 1).

El rendimiento y el peso del racimo disminuyeron un 27,17 y un 64,49 respectivamente; en cambio el volumen de la uva aumentó un 51 %. El SST no mostró diferencias entre los tratamientos. Los tratamientos con 0,25 y 1,25 mg.L<sup>-1</sup> de selenito de sodio aumentaron el índice de madurez en la uva entre 3,21 y 3,48. En especies tales como la lechuga, la papa y el tomate se destaca que la aplicación de dosis bajas de Se (10 µM) tuvo efectos promotores del crecimiento, mientras que a concentraciones más altas indujeron síntomas de toxicidad en las plantas (Schiavon *et al.*, 2013). El Se no se considera esencial en el metabolismo de las plantas; por lo tanto, no se espera que la adición de este elemento modifique el rendimiento del cultivo (Broadley *et al.*, 2006). Sin embargo, otros estudios reportaron que la aplicación de Se en bajas cantidades causa efectos positivos en el rendimiento,



(Oliveira *et al.*, 2018). In previous studies, Se enrichment can have a positive influence on fruit ripening and sugar metabolism. In fact, recent studies conducted on *Camellia sinensis* leaves have demonstrated a positive correlation between Se concentration and soluble sugars and the sweetness index (Zhao *et al.*, 2016), suggesting that Se could play a role in acceleration ripening of fruit. Similarly, the rest of the Se doses did not produce any significant effect on TSS compared to the control; however, the TSS values were in the range of 20 to 26 %, similar to other reported results (Weaver, 1985). Other studies reported a relationship between TSS and TA (Zhu *et al.*, 2017). Furthermore, a TA decrease was found in grapes treated with Se. The decrease in TA is attributed to malic acid, which is used as a substrate for the synthesis of sugars and for respiration during ripening (Ruffner, 1982). Variation in Se availability for plants has often been associated with impaired sulfur absorption, leading to changes in the synthesis of secondary metabolites (Malagoli *et al.*, 2015). Walteros *et al.* (2012) discussed that the aromatic compounds and sugar/acid content are two elements important in the flavor of the grapes and that the maturity index between 3 and 3.5 suggest the commercial maturity of the fruit.

### **Nutraceutical quality of grapes**

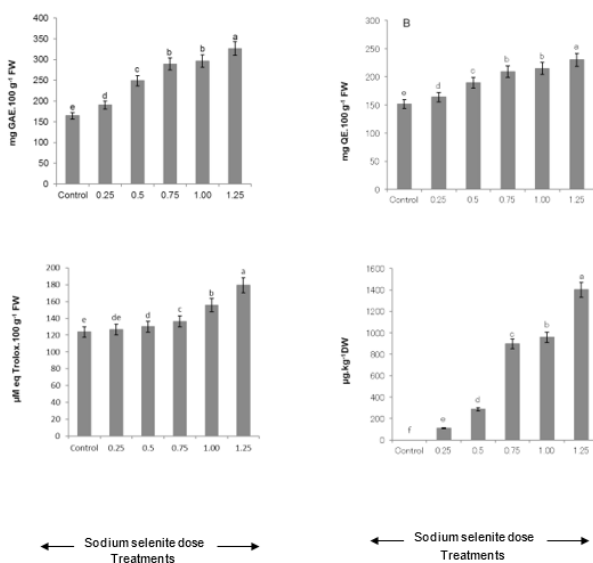
#### **Total phenolic, flavonoids and antioxidant capacity**

Phenols concentration in grape fruits increased as doses of sodium

producción de biomasa, entre otros (Zhu *et al.*, 2017). Por el contrario, altas dosis de Se causan toxicidad en las plantas ya que existe una alta producción de especies reactivas de oxígeno, que se han descubierto que inhiben el crecimiento y el rendimiento (Lapaz *et al.*, 2019). Los estudios previamente reportados apoyan nuestros resultados sobre que existe una disminución en la producción de uva con mayores concentraciones de Se. Otro estudio encontró una disminución de más del 21 % en el rendimiento del cultivo de tomate con altas dosis de NPs-Se (Hernández-Hernández *et al.*, 2019). En general, la respuesta de la planta al Se difiere en función de la concentración aplicada (Puccinelli *et al.*, 2017a), de la sensibilidad de las especies (Lyons *et al.*, 2005), de la especies químicas de Se utilizadas y el método de aplicación; entonces, se deben determinar las dosis óptimas para cada cultivo (Oliveira *et al.*, 2018). En estudios previos, el enriquecimiento con Se puede tener una influencia positiva en la maduración de la fruta y en el metabolismo de los azúcares. De hecho, estudios recientes realizados en hojas de *Camellia sinensis* han demostrado una correlación positiva entre la concentración de Se, los azúcares solubles y el índice de dulzor (Zhao *et al.*, 2016), lo que sugiere que el Se podría desempeñar un papel en la aceleración de la maduración del fruto. Del mismo modo, el resto de las dosis de Se no produjeron ningún efecto significativo sobre el SST en comparación con el control; sin embargo, los valores de SST estuvieron

selenite increased. Compared with control treatment, the phenols concentration increase of 98 % when 1.25 mg.L<sup>-1</sup> of sodium selenite was applied (Figure 1A). High concentration of Se increased total flavonoids in grape fruits by 52 % (Figure 1B). The foliar application of 1.25 mg.L<sup>-1</sup> of Se increased the total antioxidant capacity in grape fruits by 44 % (Figure 1C).

en el rango de 20 al 26 %, similar a otros resultados reportados (Weaver, 1985). Otros estudios informaron de una relación entre el SST y la AT (Zhu *et al.*, 2017). Además, se encontró una disminución de la AT en las uvas tratadas con Se. La disminución de la AT se atribuye al ácido málico, que se utiliza como sustrato para la síntesis de azúcares y para la respiración durante la maduración



**Figure 1. Effect of doses of sodium selenite on content of phenolic content (A), total flavonoids (B), antioxidant capacity (C), and Se concentration (D) in grape fruits. Data are shown as mean  $\pm$  standard deviation (SD) ( $n = 50$ ). Columns with different letters were significantly different according to Tukey's HSD test ( $p < 0.05$ ).**

**Figura 1. Efecto de las dosis de selenito de sodio sobre el contenido fenólico total (A), los flavonoides totales (B), la capacidad antioxidante (C), y la concentración de Se (D) en los frutos de uva. Los datos se muestran como media  $\pm$  desviación estándar (SD) ( $n = 50$ ). Las columnas con letras diferentes fueron significativamente diferentes según la prueba HSD de Tukey ( $p < 0,05$ ).**

The biofortification significantly increases the amount of essential elements in the edible part of plant, which is consistent with what has been reported previously (Garduño-Zepeda and Márquez-Quiroz, 2018). Several studies have also highlighted the contrasting effects of Se fertilization on the concentration of total phenols, either positive or negative, depending on the plant species and the Se concentration applied (Schiavon *et al.*, 2013). In the case of grapes, the concentration of total phenolic compounds, flavonoids and antioxidant capacity was affected by the biofortification of Se. There is evidence that the cause is the positive regulation of the phenylpropanoid biosynthetic pathway which leads to the accumulation of specific metabolites that belong to a class of flavonoids and polyphenols (Mimmo *et al.*, 2017), and play a central role in determining the organoleptic characteristics and antioxidant capacity of grapes.

Phenols are the third most abundant component in grapes, distributed mainly in the seeds and in the shell of the berries (Rousserie *et al.*, 2019). Phenolic compounds, in addition to their astringent properties (Molina-Quijada *et al.*, 2010), participate as natural antioxidants in food, characterizing themselves in functional foods (Porrás-Loaiza and López-Malo, 2009). In grapes, whose final destination is wine production, the presence of these compounds determines the quality, since it gives them the oxidative capacity necessary to maintain the characteristic red color (Valls *et al.*, 2000).

(Ruffner, 1982). La variación en la disponibilidad de Se para las plantas se ha asociado a menudo con la alteración de la absorción de azufre, lo que conduce a cambios en la síntesis de metabolitos secundarios (Malagoli *et al.*, 2015). Walteros *et al.* (2012) discutieron que los compuestos aromáticos y el contenido de azúcar/ácido son dos elementos importantes en el sabor de las uvas y que el índice de madurez entre 3 y 3,5 sugiere la madurez comercial de la fruta.

### **Calidad nutracéutica de las uvas**

#### **Fenoles totales, flavonoides y capacidad antioxidante**

La concentración de fenoles en los frutos de uva aumentó a medida que se incrementaban las dosis de selenito de sodio. En comparación con el tratamiento de control, la concentración de fenoles aumentó un 98 % cuando se aplicó 1,25 mg. L<sup>-1</sup> de selenito de sodio (Figura 1A). La alta concentración de Se aumentó los flavonoides totales en los frutos de uva en un 52 % (Figura 1B). La aplicación foliar de 1,25 mg.L<sup>-1</sup> de Se aumentó la capacidad antioxidante total en los frutos de uva en un 44 % (Figura 1C).

La biofortificación aumenta significativamente la cantidad de elementos esenciales en la parte comestible de la planta, lo que coincide con lo reportado anteriormente (Garduño-Zepeda y Márquez-Quiroz, 2018). Varios estudios también han destacado que los efectos contrastados de la fertilización con Se sobre la concentración de los fenoles totales, positivos o negativos depende de las especies vegetales y de la concentración de Se aplicada (Schiavon *et al.*, 2013).

Studies support the increase in the content of phenolic compounds with the application of Se, reporting an increase of 8.07 % in the total phenolic content in pomegranate fruits (*Punica granatum*) when performing foliar applications of 1 and 2  $\mu\text{M}$  Se and NPs-Se (Zahedi *et al.*, 2019). In garlic (*Allium sativum* L.) a study found a positive response in the total phenolic content by foliar application of Se, with an increase of 82.23 % compared to the control (Shafiq *et al.*, 2019). Another study reported that the increase in phenolic compounds was showed with the application of stimulants during fruit veraison (Jeong *et al.*, 2004). Although the context is not clearly defined, mechanisms of action of Se in plant metabolism have been proposed. One of them is through the biosynthetic pathway of organic compounds such as phenylpropanoid, which leads to the accumulation of secondary metabolites (Zahedi *et al.*, 2019).

Flavonoids are bioactive compounds contained in all foods (Porrás-Loaiza and López-Malo, 2009) and these groups of compounds are especially relevant in wine quality (Valls *et al.*, 2000). Its structure gives them an antioxidant capacity, providing protection against oxidative damage in cells and also has a positive effect in a number of pathologies, including heart disease, atherosclerosis and cancer (Martínez-Flórez *et al.*, 2002). Regarding the total content of flavonoids, a study reveals that there is evidence of an effect of trace elements such as Se on the antioxidant capacity of plants

En el caso de las uvas, la concentración de los compuestos fenólicos totales, flavonoides y la capacidad antioxidante se vio afectada por la biofortificación de Se. Existen evidencias de que la causa es la regulación positiva de la vía biosintética de los fenilpropanoides que conduce a la acumulación de metabolitos específicos que pertenecen a una clase de flavonoides y polifenoles (Mimmo *et al.*, 2017), y desempeñan un papel central en la determinación de las características organolépticas y la capacidad antioxidante de las uvas.

Los fenoles son el tercer componente más abundantes en la uva, distribuidos principalmente en las semillas y en la cáscara de las bayas (Rousserie *et al.*, 2019). Los compuestos fenólicos, además de tener propiedades astringentes (Molina-Quijada *et al.*, 2010), participan como antioxidantes naturales en los alimentos, caracterizándose en alimentos funcionales (Porrás-Loaiza y López-Malo, 2009). En las uvas, cuyo destino final es la producción de vino, la presencia de estos compuestos determina la calidad, ya que les confiere la capacidad oxidativa necesaria para mantener el color rojo característico (Valls *et al.*, 2000).

Los estudios apoyan el aumento en el contenido de compuestos fenólicos con la aplicación de Se, reportando un aumento de 8,07 % en el contenido fenólico total en frutos de granada (*Punica granatum*) al realizar aplicaciones foliares de 1 y 2  $\mu\text{M}$  de Se y NPs-Se (Zahedi *et al.*, 2019). En ajo (*Allium sativum* L.) un estudio encontró una respuesta positiva en el

(Blasco *et al.*, 2008). To explain this behavior, three synergistic transport mechanisms have been proposed in flavonoid biosynthesis, transport mediated by vesicle traffic, via membrane transporters, and transport mediated by the enzyme Glutathione-S-transferase (GST) (Rousserie *et al.*, 2019). The latter, in turn, uses a cysteine residue (Cys), which is an amino acid where Se can replace sulfur, and form selenocysteine (Se-Cys) (Casals-Mercadal *et al.*, 2005). Other studies aimed at increasing the total flavonoid content by the application of micronutrients have obtained favorable results. For example, a study reports a 63 % increase in total flavonoids in garlic (*Allium sativum* L.) due to the application of Se (Shafiq *et al.*, 2019).

The antioxidant capacity of fruits and vegetables is influenced by the total phenolic content (Franco-Bañuelos *et al.*, 2019). In this research, a positive correlation ( $r = 0.82$ ) was found between total antioxidant capacity and total phenolic compounds. Zahedi *et al.* (2019), reports an increase of 18.24 % in the antioxidant capacity in pomegranate (*Punica granatum*) because of foliar application of Se. In the same way, an increase in the antioxidant capacity of tomato seeds and seedlings when Se was provided by nutrient solution and foliar spray was reported (de los Santos-Vázquez *et al.*, 2016). Plant species contain a complex antioxidant defense network, where the most important compounds are ascorbate, glutathione, tannins, flavonoids and carotenoids, which provide protection against oxidative

contento fenólico total por aplicación foliar de Se, con un incremento del 82,23 % respecto al control (Shafiq *et al.*, 2019). Otro estudio reportó que el aumento en los compuestos fenólicos se mostró con la aplicación de estimulantes durante el envero de la fruta (Jeong *et al.*, 2004). Aunque el contexto no está claramente definido, se han propuesto mecanismos de acción del Se en el metabolismo vegetal. Uno de ellos es a través de la vía biosintética de compuestos orgánicos como el fenilpropanoide, que conduce a la acumulación de metabolitos secundarios (Zahedi *et al.*, 2019).

Los flavonoides son compuestos bioactivos contenidos en todos los alimentos (Porrás-Loaiza y López-Malo, 2009) y estos grupos de compuestos son especialmente relevantes en la calidad del vino (Valls *et al.*, 2000). Su estructura les confiere una capacidad antioxidante, proporcionando protección contra el daño oxidativo en las células y también tiene un efecto positivo en una serie de patologías, incluyendo enfermedades cardíacas, aterosclerosis y cáncer (Martínez-Flórez *et al.*, 2002). En cuanto al contenido total de flavonoides, un estudio revela que existe evidencia de un efecto de oligoelementos como el Se en la capacidad antioxidante de las plantas (Blasco *et al.*, 2008). Para explicar este comportamiento, se han propuesto tres mecanismos de transporte sinérgicos en la biosíntesis de los flavonoides, el transporte mediado por el tráfico de vesículas, a través de transportadores de membrana, y el transporte mediado

stress (Peralta-Pérez and Volke-Sepúlveda, 2012). These compounds are classified according to their nature, and some mineral elements such as Cu, Zn, Mn, Fe and Se act as cofactors in the production of antioxidant compounds (Porrás-Loaiza and López-Malo, 2009); e.g. the enzyme Glutathione peroxidase, where Se is a structural part of each of the four catalytic centers (Casals-Mercadal *et al.*, 2005).

### Selenium concentration in fruits

Selenium concentration in grapefruits increased linearly ( $y=290.11x-406.21$   $R^2=0.9478$ ) as doses of Se increased (Figure 1D). The use of  $1.25 \text{ mg.L}^{-1}$  of Se favored an accumulation of his element in grape fruits. This accumulation is 12.72 times more than obtained in the lowest dose evaluated. The accumulation of Se in edible parts of some biofortified plant products has been reported in some studies with increases of about 30 % in Se (Zhu *et al.*, 2017). In general, the accumulation of Se through plant metabolic pathways, not only depends on the species to which the element is being applied, but also on the chemical compound used and the way in which it is supplied (Li *et al.*, 2018).

Although Se is not an essential element for plant species, given its affinity for Sulfur, this element can replace inside the plant metabolism by Se, because it exists in the same oxidation states (Broadley *et al.*, 2006), creating the hypothesis that it can fulfill biological functions of great benefit (Puccinelli *et al.*, 2017a) and obtain an additional

por la enzima glutatión-S-transferasa (GST) (Rousserie *et al.*, 2019). Esta última, a su vez, utiliza un residuo de cisteína (Cys), que es un aminoácido en el que el Se puede sustituir al azufre, y formar selenocisteína (Se-Cys) (Casals-Mercadal *et al.*, 2005). Otros estudios dirigidos a aumentar el contenido total de flavonoides mediante la aplicación de micronutrientes han obtenido resultados favorables. Por ejemplo, un estudio informa de un aumento del 63 % de los flavonoides totales en el ajo (*Allium sativum* L.) debido a la aplicación de Se (Shafiq *et al.*, 2019).

La capacidad antioxidante de las frutas y vegetales está influenciada por el contenido fenólico total (Franco-Bañuelos *et al.*, 2019). En esta investigación, se encontró una correlación positiva ( $r = 0.82$ ) entre la capacidad antioxidante total y los compuestos fenólicos totales. Zahedi *et al.* (2019), reportan un aumento del 18,24 % en la capacidad antioxidante en granada (*Punica granatum*) debido a la aplicación foliar de Se. De la misma manera, se reportó un aumento en la capacidad antioxidante de las semillas y plántulas de tomate cuando se aplicó Se por una solución nutritiva y por aspersión foliar (de los Santos-Vázquez *et al.*, 2016). Las especies vegetales contienen una compleja red de defensa antioxidante, donde los compuestos más importantes son: ascorbato, glutatión, taninos, flavonoides y carotenoides, que proporcionan protección contra el estrés oxidativo (Peralta-Pérez y Volke-Sepúlveda, 2012). Estos compuestos se clasifican según su naturaleza, y algunos

source of Se. Previous studies show that biofortification significantly increases the amount of essential elements in the edible part of plants (da Silva *et al.*, 2020). This study has demonstrated the ability of grapevine to accumulate Se in the edible part, from the smallest dose applied to the one with the highest concentration, which leaves open the possibility of including this plant species for future biofortification programs. In addition, the accumulation obtained from Se in grape fruits could supplement the daily intake recommended by the USDA (Puccinelli *et al.*, 2017b).

## Conclusions

Grapes appear to be a good target for Se biofortification to increase human intake of this essential micronutrient without affecting performance and quality parameters. In addition, the biofortification increases the content of Se, total phenolic compounds, flavonoids, and greater antioxidant capacity of grapes, which translates into an improvement in the synthesis of antioxidant compounds and their nutraceutical quality. Selenium enrichment could play a critical role in triggering metabolic pathways leading to an increase in compounds beneficial to health in humans.

---

### *End of English Version*

---

elementos minerales tales como Cu, Zn, Mn, Fe y Se actúan como cofactores en la producción de compuestos antioxidantes (Porrás-Loaiza y López-Malo, 2009); por ejemplo, la enzima

glutación peroxidasa, donde el Se forma parte estructural de cada uno de los cuatro centros catalíticos (Casals-Mercadal *et al.*, 2005).

## Concentración de selenio en los frutos

La concentración de selenio en las uvas aumentó linealmente ( $y=290,11x-406,21$   $R^2=0,9478$ ) a medida que aumentaban las dosis de Se (Figura 1D). El uso de  $1,25 \text{ mg.L}^{-1}$  de Se favoreció una acumulación de este elemento en los frutos de uva. Esta acumulación es 12,72 veces superior a la obtenida en la dosis más baja evaluada. La acumulación de Se en las partes comestibles de algunos productos vegetales biofortificados ha sido reportada en algunos estudios con aumentos de alrededor del 30 % de Se (Zhu *et al.*, 2017). En general, la acumulación de Se mediante las vías metabólicas de las plantas, no solo depende de las especies en las cuales el elemento es aplicado, sino también del compuesto químico utilizado y de la forma en la que se suministra (Li *et al.*, 2018). Aunque el Se no es un elemento esencial para las especies vegetales, dada su afinidad por el Azufre, este elemento se puede sustituir dentro del metabolismo de la planta por el Se, ya que existe en los mismos estados de oxidación (Broadley *et al.*, 2006), creando la hipótesis de que puede cumplir funciones biológicas de gran beneficio (Puccinelli *et al.*, 2017a) y obtener una fuente adicional de Se. Estudios anteriores muestran que la biofortificación aumenta significativamente la cantidad de elementos esenciales en la parte comestible de las plantas (da Silva *et*



*al.*, 2020). Este estudio ha demostrado la capacidad de la vid para acumular Se en la parte comestible, desde la menor dosis aplicada hasta la de mayor concentración, lo que deja abierta la posibilidad de incluir esta especie vegetal para futuros programas de biofortificación. Además, la acumulación obtenida de Se en los frutos de la uva podría complementar la ingesta diaria recomendada por el USDA (Puccinelli *et al.*, 2017b).

## Conclusion

Las uvas parecen ser un buen objetivo para la biofortificación del Se con el fin de aumentar la ingesta humana de este micronutriente esencial sin afectar a los parámetros de rendimiento y calidad. Además, la biofortificación aumenta el contenido de Se, los compuestos fenólicos totales, los flavonoides y la mayor capacidad antioxidante de las uvas, lo que se traduce en una mejora de la síntesis de compuestos antioxidantes y de su calidad nutracéutica. El enriquecimiento con selenio podría desempeñar un papel fundamental en la activación de las vías metabólicas que conducen a un aumento de los compuestos beneficiosos para la salud en los seres humanos.

## Literature cited

Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 1990. Official Methods of Analysis, 15th Edition. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC.

Aviña de la Rosa, D. M. d. R., J. Carranza-Tellez, B. A. Vázquez-Huirtrón and J. Carranza-Concha. 2016. Capacidad

antioxidante y contenido fenólico de uva blanca (*Vitis vinifera* L.) sin semilla. Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología en Alimentos. 1(1): 801-805.

- Blasco, B., J. Rios, L. Cervilla, E. Sánchez Rodríguez, J. Ruiz and L. Romero. 2008. Iodine biofortification and antioxidant capacity of lettuce: potential benefits for cultivation and human health. *Ann Appl Biol.* 152(3): 289-299.
- Bocchini, M., R. D'Amato, S. Ciancaleoni, M. Fontanella, C. A. Palmerini, G. M. Beone, A. Onofri, V. Negri, G. Marconi and E. Albertini. 2018. Soil selenium (Se) biofortification changes the physiological, biochemical and epigenetic responses to water stress in *Zea mays* L. by inducing a higher drought tolerance. *Front. Plant Sci.* 9: 389.
- Brand-Williams, W., M. Cuvelier and C. Berset. 1995. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *LWT-Food Sci. Technol.* 28(1): 25-30.
- Broadley, M. R., P. J. White, R. J. Bryson, M. C. Meacham, H. C. Bowen, S. E. Johnson, M. J. Hawkesford, S. P. McGrath, F. J. Zhao and N. Breward. 2006. Biofortification of UK food crops with selenium. *P Nutr. Soc.* 65(2): 169-181.
- Casals-Mercadal, G., M. Torra-Santamaria, R. Deulofeu-Piquet and A. Ballesta-Gimeno. 2005. Importancia del selenio en la práctica clínica. *Química Clínica.* 24(3): 141-148.
- da Silva, D. F., P. E. Cipriano, R. R. de Souza, M. S. Júnior, V. Faquin, M. L. de Souza Silva and L. R. G. Guilherme. 2020. Biofortification with selenium and implications in the absorption of macronutrients in *Raphanus sativus* L. *J. Food Compos. Anal.* 86: 103382.
- de los Santos-Vázquez, M. E., A. Benavides-Mendoza, N. A. Ruiz-Torres, M. Cabrera-de la Fuente and Á. Morelos-Moreno. 2016. Sodium selenite treatment of vegetable

seeds and seedlings and the effect on antioxidant status. Emir J. Food Agr. 589-593.

Ducsay, L., O. Ložek, M. Marček, M. Varėnyiová, P. Hozlár and T. Lošák. 2016. Possibility of selenium biofortification of winter wheat grain. Plant Soil Environ. 62(8): 379-383.

Franco-Bañuelos, A., S. Hernández-Trujillo, C. S. Contreras-Martínez, J. Carranza-Téllez and J. Carranza-Concha. 2019. Use of growth regulators on the total phenolic content and the antioxidant capacity of "red globe" grape. Agrociencia. 53(6): 881-894.

García-Nava, M. A. 2009. Cuantificación de fenoles y flavonoides totales en extractos naturales. Universidad Autónoma de Querétaro Revista Académica 1: 1-4.

Garduño-Zepeda, A. and C. Márquez-Quiroz. 2018. Aplicación de selenio en cultivos agrícolas. Revisión bibliográfica. ITEA, información técnica económica agraria: revista de la Asociación Interprofesional para el Desarrollo Agrario. 114(4): 327-343.

Gaucín-Delgado, J. M., L. G. Hernández-Montiel, E. Sánchez-Chávez, H. Ortega-Ortiz, M. Fortis-Hernández, J. J. Reyes-Pérez and P. Preciado-Rangel. 2020. Agronomic biofortification with selenium improves the yield and nutraceutical quality in tomato under soilless conditions. Not. Bot. Horti. Agrobot. 48(3): 1221-1232.

Hernández-Hernández, H., T. Quiterio-Gutiérrez, G. Cadenas-Pliego, H. Ortega-Ortiz A. D. Hernández-Fuentes, M. Cabrera de la Fuente, J. Valdés-Reyna and A. Juárez-Maldonado. 2019. Impact of selenium and copper nanoparticles on yield, antioxidant system, and fruit quality of tomato plants. Plants. 8(10): 355.

Jeong, S. T., N. Goto-Yamamoto, S. Kobayashi and M. J. P. S. Esaka. 2004. Effects of plant hormones and shading on the accumulation of

anthocyanins and the expression of anthocyanin biosynthetic genes in grape berry skins. Plant Sci. 167(2): 247-252.

Kápolna, E., P. R. Hillestrøm, K. H. Laursen, S. Husted and E. H. Larsen. 2009. Effect of foliar application of selenium on its uptake and speciation in carrot. Food Chem. 115(4): 1357-1363.

Kuldeep, V., A. Yadav, H. Singh and D. Yadav. 2010. Effect of foliar spray of nutrients on fruit drop, yield and quality attributes of mango fruit (*Mangifera indica* L.) cv-Amrapali. Plant Arch. 10: 359-360.

Lapaz, A. d. M., L. F. d. M. Santos, C. H. P. Yoshida, R. Heinrichs, M. Campos and A. R. D. Reis. 2019. Physiological and toxic effects of selenium on seed germination of cowpea seedlings. Bragantia. 78(4) :498-508.

Li, M., Z. Zhao, J. Zhou, D. Zhou, B. Chen, L. Huang, Z. Zhang and X. Liu. 2018. Effects of a foliar spray of selenite or selenate at different growth stages on selenium distribution and quality of blueberries. Journal of the Science of Food and Agriculture, 98(12), 4700-4706. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9004>

Lyons, G., I. Ortiz-Monasterio, J. Stangoulis and R. Graham. 2005. Selenium concentration in wheat grain: is there sufficient genotypic variation to use in breeding?. Plant Soil. 269(1-2): 369-380.

Malagoli, M., M. Schiavon, S. Dall'Acqua and E. A. Pilon-Smits. 2015. Effects of selenium biofortification on crop nutritional quality. Front. Plant Sci. 6: 280.

Martínez-Flórez, S., J. González-Gallego, J. M. Culebras and M. J. Tuñón. 2002. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. Nutrición Hospitalaria. 17(6): 271-278.

Mimmo, T., R. Tiziani, F. Valentinuzzi, L. Lucini, C. Nicoletto, P. Sambo, M. Scampicchio, Y. Pii and S. Cesco. 2017. Selenium Biofortification in *Fragaria x ananassa*: Implications on Strawberry Fruits Quality, Content of Bioactive Health Beneficial Compounds and Metabolomic Profile. Front Plant Sci. 8: 1887.

- Molina-Quijada, D., L. Medina-Juárez, G. González-Aguilar, R. Robles-Sánchez and N. Gámez-Meza. 2010. Compuestos fenólicos y actividad antioxidante de cáscara de uva (*Vitis vinifera* L.) de mesa cultivada en el noroeste de México. Phenolic compounds and antioxidant activity of table grape (*Vitis vinifera* L.) skin from northwest Mexico. *CyTA-J Food*. 8(1): 57-63.
- Mora, M., P. Durán, J. Acuña, P. Cartes, R. Demanet and L. Gianfreda. 2015. Improving selenium status in plant nutrition and quality. *Journal of Soil Science Plant Nutrition*. 15(2): 486-503.
- Oliveira, V. C. d., V. Faquin, K. C. Guimarães, F. R. Andrade, J. Pereira and L. R. G. Guilherme. 2018. Agronomic biofortification of carrot with selenium. *Ciência e Agrotecnologia*. 42(2), 138-147. <https://doi.org/10.1590/1413-70542018422031217>
- Peralta-Pérez, M. d. R. and T. Volke-Sepúlveda. 2012. La defensa antioxidante en las plantas: una herramienta clave para la fitorremediación. *Rev Mex Ing Quim*. 11(1): 75-88.
- Ponavic, M. and A. Scheib. 2014. Distribution of Selenium in European Agricultural and Grazing Land Soil. pp. 131-144. *In* "Chemistry of Europe's Agricultural Soils" (C. Reimann, M. Birke, A. Demetriades, P. Filzmoser and P. O'Connor, eds.), vol. 103.
- Porrás-Loaiza, A. and A. López-Malo. 2009. Importancia de los grupos fenólicos en los alimentos. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*. 3(1): 121-134.
- Puccinelli, M., F. Malorgio and B. Pezzarossa. 2017a. Selenium Enrichment of Horticultural Crops. *Molecules*. 22: 933.
- Puccinelli, M., F. Malorgio, I. Rosellini and B. Pezzarossa. 2017b. Uptake and partitioning of selenium in basil (*Ocimum basilicum* L.) plants grown in hydroponics. *Sci Hortic*. 225: 271-276.
- Rousserie, P., A. I. Rabot and L. Geny-Denis. 2019. From Flavanols Biosynthesis to Wine Tannins: What Place for Grape Seeds?. *J. Agric. Food Chem*. 67(5): 1325-1343.
- Ruffner, H. 1982. Metabolism of tartaric and malic acids in *Vitis*: A review-Part B. *Vitis*. 21: 346-358.
- Schiavon, M., S. Dall'acqua, A. Mietto, E. A. Pilon-Smits, P. Sambo, A. Masi and M. Malagoli. 2013. Selenium fertilization alters the chemical composition and antioxidant constituents of tomato (*Solanum lycopersicon* L.). *J. Agric. Food Chem*. 61(44): 10542-10554.
- Shafiq, M., A. Qadir and S. Ahmad. 2019. Biofortification: A Sustainable Agronomic Strategy to Increase Selenium Content and Antioxidant Activity in garlic. *Appl Ecol Env Res*. 17(2): 1685-1704.
- Silva-Trejos, P. 2011. Validación de la metodología analítica para cuantificación de Selenio en alimentos de la canasta básica del costarricense. *Revista Costarricense de Salud Pública*. 20(1): 31-35.
- StatSoft Inc. 2011. *Statistica*. System reference. StatSoft, Inc., Tulsa, Oklahoma, EUA.
- Valls, J., M. Lampreave, M. Nadal and L. Arola. 2000. Importancia de los compuestos fenólicos en la calidad de los vinos tintos de crianza. *Alimentación Equipos y Tecnología*. 19(2): 119-124.
- Walteros, I., D. Molano, P. J. Almanza, M. Camacho and S. González Almanza. 2012. Effect of pruning on chemical changes during fruit ripening of *Vitis vinifera* L. var. Cabernet Sauvign. *Cultura Científica*. 10: 8-15.
- Weaver, R. 1985. "Cultivo de Uva". Segunda Impresión. Editorial Continental, México.
- Willers, J., M. Heinemann, N. Bitterlich and A. Hahn. 2015. Intake of minerals from food supplements in a German population-a nationwide survey. *Food Nutrition Sciences*, 6(2), 205-215. <https://doi.org/10.4236/fns.2015.62021>

- World Health Organization (WHO). 2009. Global Health Risks: Mortality and Burden of Disease Attributed to Selected Major Risks. Retrieved March 5 from [http://www.who.int/healthinfo/global\\_burden\\_disease/GlobalHealthRisks\\_report\\_annex.pdf](http://www.who.int/healthinfo/global_burden_disease/GlobalHealthRisks_report_annex.pdf)
- Wu, Z., G. S. Bañuelos, Z.-Q. Lin, Y. Liu, L. Yuan, X. Yin and M. Li. 2015. Biofortification and phytoremediation of selenium in China. *Front. Plant Sci.* 6: 1-8.
- Zahedi, S. M., M. S. Hosseini, N. D. H. Meybodi and J. A. T. da Silva. 2019. Foliar application of selenium and nano-selenium affects pomegranate (*Punica granatum* cv. Malase Saveh) fruit yield and quality. *S. Afr. J. Bot.* 124: 350-358.
- Zhao, H., J. Huang, Y. Li, X. Song, J. Luo, Z. Yu and D. Ni. 2016. Natural variation of selenium concentration in diverse tea plant (*Camellia sinensis*) accessions at seedling stage. *Sci. Hortic.* 198: 163-169.
- Zhu, S., Y. Liang, X. An, F. Kong, D. Gao and H. Yin. 2017. Changes in sugar content and related enzyme activities in table grape (*Vitis vinifera* L.) in response to foliar selenium fertilizer. *J. Sci. Food Agric.* 97: 4094-4102.