# IMPACTO DE NANOPARTÍCULAS DE SELENIO VERSUS Se(VI) EN CEBADA SOMETIDA A ESTRÉS POR Cd: RESPUESTA FISIOLÓGICA-METABÓLICA Y ACUMULACIÓN DE Cd, Se Y SeNPS POR ICP-MS/SPICP-MS

**Marina Rodríguez Marín[1], Gustavo Moreno Martín[1], Yolanda Madrid[1]**

[1]Departamento de Química Analítica, Facultad de CC. Química, Universidad Complutense de Madrid, 28040-Madrid, España

**Abstract**

La exposición a contaminantes metálicos como el cadmio (Cd) puede afectar negativamente al crecimiento y funcionamiento fisiológico vegetal. En este contexto, el selenio (Se), además de ser micronutriente esencial, ha mostrado potencial para mitigar los efectos adversos asociados al Cd. La biofortificación de Se constituye una estrategia de interés para incrementar su contenido en los cultivos, siendo las nanopartículas (SeNPs) una alternativa prometedora a las formas convencionales de aplicación. En este trabajo se estudió el efecto de la aplicación foliar de Se en forma nanoparticulada (Ch-SeNPs) y de Se(VI) en cebada (*Hordeum vulgare*) sometida a estrés por Cd. Se evaluaron parámetros fisiológicos y metabólicos, así como la acumulación de Se y Cd, y la presencia de SeNPs en tejidos vegetales. Los resultados mostraron el potencial de las Ch-SeNPs como alternativa debido a los efectos beneficiosos y protectores frente al Cd en algunos parámetros evaluados, en comparación con el Se(VI).

## 1. Introducción

La biofortificación es una de las estrategias de mayor interés para mejorar el valor nutricional de los cultivos mediante el aumento de la concentración de micronutrientes en los tejidos comestibles [1]. Entre los elementos empleados en este ámbito, el Se despierta un creciente interés debido a las funciones fisiológicas que desempeña en diversos organismos. Este micronutriente participa en múltiples procesos fisiológicos al formar parte de selenoproteínas implicadas en la regulación del estrés oxidativo, la respuesta inmunitaria y el metabolismo de las hormonas tiroideas. Sin embargo, en cantidades excesivas, el Se puede pasar de ejercer efectos beneficiosos a resultar perjudicial y tóxico [2, 3]. En el reino vegetal, aunque no se considera un elemento indispensable para la mayoría de las especies, diversos estudios indican que una suplementación controlada puede favorecer el crecimiento y ejercer efectos beneficiosos sobre distintos procesos fisiológicos. Entre ellos se encuentran la modulación de la actividad antioxidante y de la eficiencia fotosintética, así como el refuerzo de los mecanismos de defensa frente a factores de estrés abiótico [3-6].

En los sistemas agrícolas, las plantas pueden estar expuestas a múltiples factores de estrés abiótico, como temperaturas extremas, sequía, condiciones desfavorables de pH o la presencia de elementos tóxicos [4, 7, 8]. Estas condiciones pueden alterar procesos fisiológicos y metabólicos, condicionando el desarrollo vegetal y la acumulación de micronutrientes en los tejidos [9]. Entre los contaminantes de mayor interés se encuentra el Cd, cuya presencia en los suelos agrícolas supone una amenaza debido a su elevada toxicidad y a su capacidad para ser absorbido por las plantas. El Cd puede inducir estrés oxidativo y provocar alteraciones en la germinación, el crecimiento y la capacidad fotosintética, entre otros efectos. Estas características lo convierten en uno de los contaminantes más estudiados desde el punto de vista de la producción agrícola y la seguridad alimentaria [7, 10].

En este sentido, el empleo de SeNPs surge como una alternativa de interés frente a las formas de Se inorgánicas convencionales empleadas en procesos de biofortificación. Sus propiedades fisicoquímicas, como su elevada superficie de contacto y la posibilidad de desarrollar sistemas de liberación controlada, pueden favorecer su interacción con los tejidos vegetales. No obstante, su comportamiento y sus efectos dependen tanto de sus propias características fisicoquímicas como de la especie vegetal, y de las condiciones de exposición [11, 12].

## 2. Objetivo

El presente estudio tuvo como objetivo evaluar el efecto de SeNPs estabilizadas con quitosano (Ch-SeNPs), en comparación con Se(VI), como estrategias de biofortificación en cebada sometida a estrés inducido por Cd. Para ello, se evaluaron diferentes parámetros biométricos y metabólicos, así como la acumulación de Se y Cd y la presencia de SeNPs en tejidos vegetales.

## 3. Metodología

Las plantas de cebada fueron cultivadas en un sistema hidropónico, tal como se muestra en la Fig. 1, empleando

una disolución Hoagland 0,5x como medio de cultivo. Se aplicaron concentraciones equimolares de Ch-SeNPs y Se(VI) mediante tratamiento foliar, tanto en ausencia como en presencia de Cd, este último aplicado por vía radicular.



**Fig. 1.** Sistema de cultivo hidropónico de cebada.

Una vez finalizado el periodo de crecimiento, se determinaron parámetros biométricos, incluyendo la longitud de la parte aérea y de la raíz, así como la biomasa de las plantas sometidas a los diferentes tratamientos. Asimismo, se estudiaron parámetros relacionados con el perfil metabólico y el estrés oxidativo. Para ello, se determinó el contenido de pigmentos fotosintéticos (clorofila a, clorofila b, clorofila total y carotenos totales), así como los niveles de polifenoles y flavonoides, la capacidad antioxidante y el contenido de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) mediante métodos colorimétricos y detección espectrofotométrica.

De forma paralela, se determinó el contenido total de Se y Cd acumulado en los tejidos vegetales (raíz y parte aérea) mediante espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS), previa digestión ácida asistida por microondas. Finalmente, la presencia y caracterización de Ch-SeNPs en las hojas se evaluó mediante *single-particle* ICP-MS (spICP-MS), analizando tras una extracción enzimática, hojas previamente lavadas y sin lavar. Los resultados obtenidos se compararon con el tamaño promedio de las Ch-SeNPs determinado tras su síntesis mediante microscopía electrónica de transmisión.

## 4. Resultados y discusión

### 4.1. Efecto sobre los parámetros biométricos

La determinación de parámetros biométricos aporta información sobre el crecimiento y desarrollo de las plantas, constituyendo uno de los primeros indicadores para evaluar su respuesta frente a condiciones adversas. La exposición al Cd puede afectar significativamente al desarrollo vegetal, provocando una disminución de la biomasa y alteraciones tanto en el crecimiento de la parte aérea como de la raíz. Esta última resulta de especial interés, ya que constituye la principal vía de entrada del Cd en la planta y, por tanto, uno de los primeros tejidos expuestos a sus efectos. La inhibición de la elongación radicular es uno de los síntomas más característicos de la toxicidad inducida por este elemento [13].

Se observó que la exposición al Cd produjo alteraciones significativas en la longitud de la parte aérea. En ausencia de Cd, las plantas tratadas con Ch-SeNPs mostraron un mayor crecimiento de la parte aérea en comparación con aquellas tratadas con Se(VI), lo que indica una respuesta diferencial en función de la forma de Se aplicada. Cuando ambos tratamientos se aplicaron conjuntamente con Cd, tanto las Ch-SeNPs como el Se(VI) atenuaron el efecto negativo del Cd sobre el crecimiento de la parte aérea.

En cuanto al desarrollo radicular, las Ch-SeNPs no produjeron cambios significativos en la longitud de la raíz. No obstante, se observaron diferencias morfológicas visibles en el desarrollo del sistema radicular entre las plantas sometidas a los distintos tratamientos (Fig. 2). Con respecto a la biomasa, las plantas tratadas únicamente con Ch-SeNPs presentaron los mayores valores. Sin embargo, la aplicación conjunta de Cd con Ch-SeNPs o Se(VI) no permitió mejorar la biomasa respecto a las plantas expuestas únicamente a Cd, lo que indica que la presencia de Se no compensó el efecto negativo del Cd sobre este parámetro.

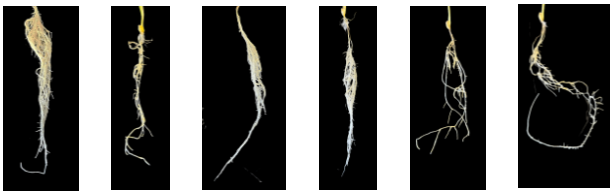



**Fig. 2.** Imágenes del desarrollo del sistema radicular de plantas de cebada sometidas a los diferentes tratamientos.

### 4.2. Efecto sobre el perfil metabólico y estrés oxidativo

Está documentado que la exposición al Cd no solo puede provocar cambios en el proceso de crecimiento y desarrollo de las plantas, sino también alterar diferentes procesos metabólicos e inducir estrés oxidativo.

El sistema fotosintético es particularmente sensible a la exposición a Cd, dando lugar a una posible alteración en el aparato fotosintético y la reducción del contenido de clorofilas [14]. Por ello, la determinación de los pigmentos fotosintéticos constituye un parámetro de interés a evaluar en plantas expuestas a este contaminante. En este estudio, los resultados mostraron

que la exposición al Cd provocó una disminución significativa de su contenido, tanto para la clorofila a como para la clorofila total, mientras que el contenido de carotenos totales no se vio afectado. En ausencia de Cd, la aplicación de Ch-SeNPs incrementó el contenido de clorofila a y de clorofila total, mostrando un efecto positivo sobre el estado fotosintético de las plantas. Sin embargo, cuando las Ch-SeNPs o el Se(VI) se aplicaron juntamente con Cd, ninguno de los tratamientos permitió contrarrestar significativamente la disminución de los pigmentos fotosintéticos inducida por el Cd a las concentraciones estudiadas.

El estrés oxidativo puede evaluarse mediante los diferentes parámetros relacionados tanto con los mecanismos de defensa antioxidante como con las consecuencias del daño oxidativo. Entre ellos, la determinación de compuestos fenólicos, como los polifenoles y flavonoides, y de la capacidad antioxidante aporta información sobre este efecto en la planta. Estos compuestos participan en diferentes mecanismos de defensa frente a las especies reactivas de oxígeno (ROS), cuya producción puede verse incrementada durante la exposición a Cd [15].

En el presente estudio, la exposición de las plantas de cebada a Cd produjo una modificación de su respuesta metabólica. Aunque no se observaron diferencias significativas en el contenido de polifenoles para ninguno de los tratamientos estudiados, sí se detectaron diferencias en el contenido de flavonoides y en la capacidad antioxidante. Como se muestra en la Fig. 3, el tratamiento con Cd produjo un incremento de ambos parámetros respecto al control. Este aumento podría estar relacionado con la activación de mecanismos de defensa antioxidante frente al estrés inducido por el metal.

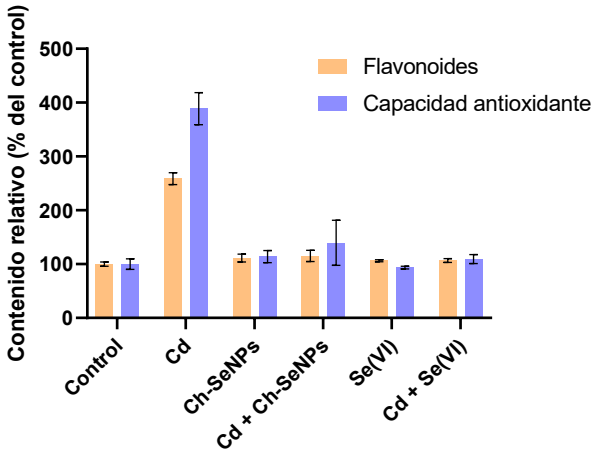



**Fig. 3.** Contenido relativo de flavonoides y capacidad antioxidante respecto al tratamiento control.

Por el contrario, en los tratamientos combinados de Cd con Se se observó una disminución significativa del contenido de flavonoides y de la capacidad antioxidante respecto al tratamiento con Cd. Tanto las Ch-SeNPs como el Se(VI) mostraron un efecto protector similar en la reducción de estos parámetros, lo que sugiere una atenuación de la respuesta asociada al estrés oxidativo inducido por Cd. Este comportamiento es consistente con estudios previos que han descrito la capacidad del Se para mitigar el estrés oxidativo mediante la regulación de la producción de ROS [16].

La evaluación del estrés oxidativo también puede realizarse mediante la determinación de TBARS. Este análisis permite estimar la presencia de productos derivados de la oxidación de lípidos, proporcionando una medida indirecta del grado de peroxidación lipídica en los tejidos vegetales [17].

La presencia de Cd en el cultivo de las plantas de cebada produjo un aumento de los niveles de TBARS tanto en la parte aérea como en la raíz, lo que indica una mayor peroxidación lipídica asociada al estrés inducido por este metal. Sin embargo, la respuesta obtenida fue diferente según la forma química de Se empleada y el tejido analizado. En la parte aérea, las Ch-SeNPs no lograron atenuar los efectos del Cd, a diferencia del Se(VI), que sí mostró un efecto de mitigación. En cambio, en la raíz, redujeron significativamente la peroxidación lipídica asociada a la exposición a Cd.

## 5. Determinación del contenido total de Se y Cd mediante ICP-MS

Determinar la acumulación de Se y Cd en los tejidos vegetales permite evaluar la absorción, acumulación y distribución de estos elementos en la planta. En el caso del Se, esta información resulta fundamental para valorar la eficacia de las diferentes estrategias de biofortificación, mientras que la determinación simultánea de Cd permite evaluar su incorporación a los tejidos vegetales bajo condiciones de estrés [4]. Asimismo, el análisis conjunto de la acumulación permite establecer posibles relaciones entre la incorporación de Se y la respuesta de la planta frente a la exposición a Cd, aportando información sobre el potencial papel del Se en la mitigación de los efectos asociados a este metal. De este modo, la evaluación de la acumulación y distribución de Se y Cd contribuye a una mejor comprensión de la interacción entre ambos elementos y de los mecanismos implicados en la respuesta vegetal frente a su exposición combinada. Para ello, la ICP-MS es una técnica de elevada sensibilidad que permite cuantificar el contenido total de Se y Cd acumulado en los diferentes tejidos vegetales.

Los resultados del estudio mostraron que las Ch-SeNPs redujeron de forma significativa el contenido total de Cd tanto en la raíz como en la parte aérea, indicando un efecto protector más favorable que el observado para Se(VI). Aunque los mecanismos responsables de la reducción observada requieren de estudios adicionales, se ha descrito que el Se puede modificar la absorción, distribución y movilidad del Cd en las plantas mediante diferentes mecanismos fisiológicos y bioquímicos [4, 10]. Asimismo, en el tratamiento conjunto con Ch-SeNPs se observó una mayor translocación de Se a la raíz. Estos resultados evidencian el comportamiento diferenciado de las Ch-SeNPs frente a la forma inorgánica convencional, Se(VI), y su interés como una posible alternativa en estrategias de biofortificación.

## 6. Identificación y caracterización de Ch-SeNPs por spICP-MS

La detección de nanopartículas tras su aplicación a las plantas resulta de especial interés para evaluar su comportamiento tras la interacción con el sistema vegetal. En este contexto, la técnica spICP-MS permite detectar y caracterizar las nanopartículas, proporcionando información sobre su tamaño. Esta aproximación permite evaluar posibles cambios en las nanopartículas tras su interacción con la planta y comparar sus propiedades con las determinadas tras su síntesis.

Los análisis mediante spICP-MS permitieron detectar SeNPs en las muestras foliares, las cuales presentaron un tamaño de partícula de 134-170 nm, superior al determinado tras su síntesis ((50 ± 5) nm). Esta diferencia podría estar relacionada con modificaciones experimentadas por las nanopartículas durante su interacción con la planta, como posibles procesos de agregación o aglomeración, aunque tampoco puede descartarse la influencia del procedimiento de extracción empleado previamente al análisis. En este sentido, diversos estudios han descrito cambios en la distribución de tamaños de nanopartículas tras su interacción con tejidos vegetales, incluyendo procesos de aglomeración en hojas de plantas tratadas con nanopartículas [18].

En las condiciones estudiadas, no se observaron diferencias significativas en el tamaño de las partículas de Se detectadas mediante spICP-MS entre las plantas tratadas con Ch-SeNPs en ausencia de Cd y aquellas sometidas al tratamiento conjunto con Cd. Este resultado indica que la presencia de Cd no produjo modificaciones significativas en el tamaño de las partículas detectadas mediante esta técnica. Asimismo, los análisis permitieron cuantificar las partículas de Se presentes en los extractos, cuya concentración fue de aproximadamente $(1{,}0 \pm 0{,}4) \times 10^6$ partículas $L^{-1}$, sin observarse diferencias significativas entre las distintas condiciones experimentales.

Por otra parte, el análisis de las hojas previamente lavadas y sin lavar permitió evaluar la posible presencia de partículas asociadas a la superficie foliar. Esta comparación aporta información adicional sobre el comportamiento de las Ch-SeNPs tras su aplicación foliar, sin asumir necesariamente su incorporación al tejido vegetal. No se observaron diferencias significativas ni en el tamaño ni en la concentración de partículas entre hojas lavadas y sin lavar. Asimismo, la tendencia observada no fue consistente entre los tratamientos en el caso de la concentración, ya que en las plantas tratadas únicamente con Ch-SeNPs se obtuvo una concentración numérica mayor en las hojas sin lavar, mientras que, en presencia de Cd, la concentración fue mayor en las muestras sometidas al lavado foliar.

## 7. Conclusiones

En este estudio la exposición de las plantas de cebada a Cd alteró el crecimiento, el metabolismo y el estado oxidativo de las plantas de cebada, confirmando la respuesta de la planta frente al estrés provocado por este contaminante. La aplicación de Se mostró respuestas dependientes de la forma química empleada. Las Ch-SeNPs presentaron un comportamiento más favorable que el Se(VI) sobre determinados parámetros de crecimiento y contribuyeron a atenuar algunos efectos asociados a la exposición a Cd. La aplicación de Ch-SeNPs también se relacionó con una menor acumulación de Cd en los tejidos vegetales, lo que sugiere un posible papel de estas nanopartículas en la mitigación de los efectos del metal. El empleo de spICP-MS permitió detectar y caracterizar las SeNPs presentes en las muestras foliares, observándose diferencias en su tamaño respecto a las Ch-SeNPs originales.

En conjunto, los resultados ponen de manifiesto el potencial de las Ch-SeNPs como alternativa para la biofortificación con Se y su posible aplicación para mejorar la respuesta de las plantas frente al estrés por Cd.

## Agradecimientos

Los autores agradecen a la revista *Analytical and Bioanalytical Chemistry* la concesión del Premio al Mejor Póster presentado en el I Congreso de Análisis Instrumental (CAI2026). Asimismo, agradecen el apoyo financiero del Proyecto PID2023-148425NB-I00 financiado por MCIU/AEI/10.13039/501100011033 y ERDF, EU.

**Referencias**

[1] T. Johns, P.B. Eyzaguirre, Biofortification, biodiversity and diet: a search for complementary applications against poverty and malnutrition, Food Policy 32 (2007) 1-24. https://doi.org/10.1016/j.foodpol.2006.03.014.

[2] M. Schiavon, S. Nardi, F. Dalla Vecchia, A. Ertani, Selenium biofortification in the 21st century: status and challenges for healthy human nutrition, Plant Soil 453 (2020) 245-270. https://doi.org/10.1007/s11104-020-04635-9.

[3] A. Hossain, M. Skalicky, M. Brestic, S. Maitra, S. Sarkar, Z. Ahmad, H. Vemuri, S. Garai, M. Mondal, R. Bhatt, P. Kumar, P. Banerjee, S. Saha, T. Islam, A.M. Laing, Selenium Biofortification: Roles, Mechanisms, Responses and Prospects, Molecules 26 (2021) 881. https://doi.org/10.3390/molecules26040881.

[4] X. Zhou, J. Yang, H.J. Kronzucker, W. Shi, Selenium biofortification and interaction with other elements in plants: a review, Front. Plant Sci. 11 (2020) 586421. https://doi.org/10.3389/fpls.2020.586421.

[5] L. Skrypnik, P. Feduraev, A. Golovin, P. Maslennikov, T. Styran, M. Antipina, A. Riabova, D. Katserov, The integral boosting effect of selenium on the secondary metabolism of higher plants, Plants 11 (2022) 3432. https://doi.org/10.3390/plants11243432.

[6] A. Banerjee, A. Roychoudhury, Role of selenium in plants against abiotic stresses: phenological and molecular aspects, in: A. Roychoudhury, D. Tripathi (Eds.), Molecular Plant Abiotic Stress: Biology and Biotechnology, Wiley, Hoboken, 2019, pp. 123-133. https://doi.org/10.1002/9781119463665.ch7.

[7] Z. Khan, T.C. Thounaojam, D. Chowdhury, H. Upadhyaya, The role of selenium and nano selenium on physiological responses in plant: a review, Plant Growth Regul. 100 (2023) 409-433. https://doi.org/10.1007/s10725-023-00988-0.

[8] J. Szerement, A. Szatanik-Kloc, J. Mokrzycki, M. Mierzwa-Hersztek, Agronomic biofortification with Se, Zn, and Fe: an effective strategy to enhance crop nutritional quality and stress defense-A review, J. Soil Sci. Plant Nutr. 22 (2022) 1129-1159. https://doi.org/10.1007/s42729-021-00719-2.

[9] L. Wang, C. Ju, C. Han, Z. Yu, M.-Y. Bai, C. Wang, The interaction of nutrient uptake with biotic and abiotic stresses in plants, J. Integr. Plant Biol. 67 (2025) 455–487. https://doi.org/10.1111/jipb.13827.

[10] M. Rizwan, S. Ali, M. Adrees, H. Rizvi, M. Zia-ur-Rehman, F. Hannan, M.F. Qayyum, F. Hafeez, Y.S. Ok, Cadmium stress in rice: toxic effects, tolerance mechanisms, and management: a critical review, Environ. Sci. Pollut. Res. 23 (2016) 17859-17879. https://doi.org/10.1007/s11356-016-6436-4.

[11] Y. Kumar, T. Singh, R. Raliya, K.N. Tiwari, Nano fertilizers for sustainable crop production, higher nutrient use efficiency and enhanced profitability, Indian J. Fertil. 17 (2021) 1206-1214. (DOI no disponible).

[12] S. León-Silva, R. Arrieta-Cortes, F. Fernández-Luqueño, F. López-Valdez, Design and production of nanofertilizers, in: F. López-Valdez, F. Fernández-Luqueño (Eds.), Agricultural Nanobiotechnology: Modern Agriculture for a Sustainable Future, Springer International Publishing, Cham, 2018, pp. 17-31.

[13] Y. Li, S.U. Rahman, Z. Qiu, S.M. Shahzad, M.F. Nawaz, J. Huang, S. Naveed, L. Li, X. Wang, H. Cheng, Toxic effects of cadmium on the physiological and biochemical attributes of plants, and phytoremediation strategies: A review, Environ. Pollut. 325 (2023) 121433. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2023.121433.

[14] E.A. Goncharuk, N.V. Zagoskina, Heavy Metals, Their Phytotoxicity, and the Role of Phenolic Antioxidants in Plant Stress Responses with Focus on Cadmium: Review, *Molecules* 28 (2023) 3921. https://doi.org/10.3390/molecules28093921.

[15] J. Song, Z. Sun, S. Saud, S. Fahad, T. Nawaz, Exploring the deleterious effects of heavy metal cadmium on antioxidant defense and photosynthetic pathways in higher plants, Plant Stress 15 (2025) 100716. https://doi.org/10.1016/j.stress.2024.100716.

[16] M.G.D.B. Lanza, A.R. dos Reis, Roles of selenium in mineral plant nutrition: ROS scavenging responses against abiotic stresses, Plant Physiol. Biochem. 164 (2021) 27-43. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.04.026.

[17] D.R. Janero, Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury, Free Radic. Biol. Med. 9 (1990) 515-540. https://doi.org/10.1016/0891-5849(90)90131-2.

[18] B.M. Moreira Freire, A. Rua-Ibarz, F.V. Nakadi, E. Bolea-Fernandez, J.J. Barriuso-Vargas, C.N. Lange, M. Aramendía, B.L. Lemos Batista, M. Resano, Tracing isotopically labeled selenium nanoparticles in plants via single-particle ICP-mass spectrometry, Talanta 277 (2024) 126417. https://doi.org/10.1016/j.talanta.2024.126417.

Los autores conservan los derechos de autor de este trabajo. Este artículo se publica en acceso abierto bajo la licencia