



# 7º CONGRESO FORESTAL ESPAÑOL

**Gestión del monte: servicios  
ambientales y bioeconomía**

26 - 30 junio 2017 | Plasencia  
Cáceres, Extremadura

---

---

7CFE01-220

---

---

Edita: Sociedad Española de Ciencias Forestales  
Plasencia. Cáceres, Extremadura. 26-30 junio 2017  
ISBN 978-84-941695-2-6

© Sociedad Española de Ciencias Forestales

## Biofortificación con selenio en *Trifolium subterraneum* L.: influencia de la dosis y número de aprovechamientos

POBLACIONES. M.J.<sup>1</sup>, RODRIGO. S.<sup>1</sup>, SANTAMARIA. O.<sup>1</sup> y GARCIA-WHITE. T.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dpto. de Ingeniería del Medio Agronómico y Forestal e Instituto Universitario de Investigación de la Dehesa (INDEHESA) de la Universidad de Extremadura. Escuela de Ingenierías Agrarias, Avda. Adolfo Suárez s/n, 06007 Badajoz.

### Resumen

El selenio (Se) es un micronutriente esencial para los animales cuya deficiencia causa enfermedades de la gravedad del músculo blanco en ovino, de gran importancia en Extremadura. Para paliarlo, se propone realizar biofortificación agronómica con Se, que consiste en la aplicación de un fertilizante rico en Se para que las plantas lo acumulen de forma orgánica en sus partes comestibles. En un ensayo realizado en ambiente controlado con *Trifolium subterraneum* L., se evaluó la influencia de la dosis (0, 10 y 20 g de selenato disódico ha<sup>-1</sup>) y el número de aprovechamientos (cortando a final de ciclo y combinando el corte final con uno intermedio) sobre la biomasa herbácea en términos de materia seca y de concentración de Se. Se encontró una fuerte correlación lineal entre la concentración de Se acumulada en la biomasa aérea y la dosis de Se aplicada, así como un efecto muy positivo del corte intermedio, que aumentó el Se total acumulado. La dosis de 10 g Se ha<sup>-1</sup> sobre trébol aprovechado mediante dos cortes (a mitad de ciclo y otro al final) fue la combinación más adecuada, proporcionando concentraciones de Se total en ambos momentos sin disminuir la producción de biomasa aérea.

### Palabras clave

Trébol subterráneo, biofortificación, selenato, microelementos, forraje

### 1. Introducción

El selenio (Se) es un micronutriente esencial tanto para animales como para humanos, ya que es un componente básico en más de 30 selenoproteínas o selenoenzimas (BROWN & ARTHUR, 2001) que contribuyen especialmente a la prevención de la degradación celular oxidativa (ZENG & COMBS, 2008). En los animales una ingesta deficiente provoca enfermedades como miocardiopatía en cerdos jóvenes, vacas, caballos y aves de corral, diátesis linfática en aves, hepatitis dietética en cerdos, la enfermedad conocida como “*selenium responsive unthriftiness*” y la enfermedad del músculo blanco en el ganado ovino y bovino (ANDREWS et al., 1968; HAWKESFORD & ZHAO, 2007; BODNAR et al., 2012). Estas dos últimas son de gran importancia económica, especialmente en rumiantes sometidos a pastoreo (WATKINSON, 1983; GUNES et al., 2010). En cuanto a la ingesta mínima diaria, se recomienda un mínimo de 200-300 µg Se para prevenir las deficiencias en ovino y vacuno respectivamente (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1996).

En cambio, no se ha encontrado hasta el momento ningún rol funcional, aunque sí tóxico, para el Se en las especies vegetales. La incorporación de selenoamino-ácidos en proteínas vegetales ocurre de forma casual como sustituto de la cisteína o la metionina (HAWKESFORD & ZHAO, 2007) siendo absorbido de la solución del suelo principalmente bajo la forma de selenato y, a un nivel mucho menor, como selenito (TERRY et al., 2000). Por tanto, la concentración de Se en los diferentes tejidos de las plantas, y por tanto su entrada en la cadena trófica, está directamente relacionada con el contenido de Se biodisponible en el suelo. Según la clasificación de HAWKESFORD & ZHAO (2007) suelos con concentraciones inferiores a 150 µg Se kg<sup>-1</sup> pueden ser considerados como suelos de deficientes a marginales en Se. STROUD et al. (2010) establecieron el límite de 27 µg kg<sup>-1</sup> de Se extractable como el mínimo necesario para que produzcan cultivos con suficiente Se para cubrir las

necesidades de la alimentación animal y humana. Estudios previos de POBLACIONES et al. (2014) y GARCIA LATORRE et al. (2014) pusieron de manifiesto la baja concentración de Se tanto total como extractable en la provincia de Badajoz.

La biofortificación, definida por WHITE y BROADLEY (2005) como ‘*el proceso de incrementar la concentración biodisponible de elementos esenciales en la parte comestible de los productos vegetales cosechados mediante la intervención agronómica o la selección genética*’, ha mostrado ser una técnica eficaz y no muy costosa para paliar la deficiencia de Se. Las experiencias más exitosas en pastos herbáceos y forrajes han sido llevadas a cabo en Finlandia (BARROW & WHELAN, 1989), Reino Unido (BROADLEY et al., 2006) y Australia (WHELAN et al., 1994). Sin embargo, el efecto del pastoreo en cuanto al rebrote de especies biofortificadas agronómicamente no ha sido prácticamente estudiado y la determinación de la persistencia en la biomasa aérea sería de gran interés tanto económico como nutricional. En Extremadura los pastos herbáceos, estimados en unos 2.2 millones de ha (INIA, 2005), extensión equivalente a la mitad de la superficie regional, constituyen la base de la alimentación de la extensa cabaña ganadera, compuesta por más de cinco millones de cabezas entre ovino, bovino y porcino (MAPAMA, 2013). Por tanto, en esta región, y en otras con situaciones análogas, la ampliación de los conocimientos sobre biofortificación agronómica con Se y su persistencia en el tiempo pueden ser de gran utilidad para el sector ganadero.

## 2. Objetivos

Para evaluar la biofortificación agronómica sobre el trébol subterráneo (*Trifolium subterraneum* L.), leguminosa de gran abundancia en los pastos herbáceos extremeños y de gran uso en mezclas pratenses para la implantación de praderas, se realizó este ensayo en ambiente controlado bajo condiciones de invernadero. Por tanto el objetivo fue evaluar la influencia de la dosis de aplicación de un fertilizante selénico (0, 10 y 20 g de selenato disódico ha<sup>-1</sup>) y el número de aprovechamientos (sólo a final de ciclo y combinando un corte a mitad de ciclo y luego al final) sobre la producción de biomasa herbácea tanto aérea como radicular y sobre la concentración de Se en el forraje.

## 3. Metodología

El ensayo tuvo lugar entre febrero y mayo de 2015, en un invernadero iluminado con luz natural, localizado en la Escuela de Ingenierías Agrarias de la Universidad de Extremadura, en Badajoz. El sustrato empleado para el ensayo fue una mezcla a partes iguales de perlita y un medio de crecimiento compuesto de turba, perlita, limo, activador radicular y fertilizante NPK (COMPO SANA Universal, COMPO GmbH & Co. KG, Münster, Alemania). Sobre cuatro muestras de sustrato secadas y tamizadas, se determinó: pH, de  $4,43 \pm 0,01$  (media  $\pm$  error estándar), mediante un pH-metro (ratio 10 g suelo: 25 ml agua desionizada); N total,  $9,6 \pm 0,2$  g kg<sup>-1</sup>, mediante el método Kjeldahl, con una unidad de destilación Kjeltex™ K350 (Buchi Ltd., Flawil, Switzerland); fósforo extractable,  $5,11 \pm 0,3$  mg kg<sup>-1</sup>, mediante el método Olsen y potasio (K),  $238,5 \pm 0,01$  mg kg<sup>-1</sup> mediante extracción con acetato amonio (1N) y cuantificado utilizando un electrodo selectivo Crison 96 61. El contenido de Se total fue determinado sobre 1 g de muestra digeridas con 2 ml de peróxido de hidrógeno utilizando un digestor microondas (Mars X. CEM Corp. Matthews. NC) y diluidas con 25 ml de agua MilliQ (Adams et al., 2002). La concentración de Se fue determinada usando un ICP-MS (Inductively-Coupled Plasma Mass Spectrometer) (Agilent 7500ce, Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA) operando en modo hidrógeno. La concentración de Se extractable fue determinada en 10 g de muestra de suelo digeridas con 30 ml de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (ZHAO & MCGRATH, 1994). La concentración de Se en el extracto fue determinada por ICP-MS, de la misma forma que la descrita anteriormente. Las concentraciones de Se total y extractable en el sustrato fueron de  $25 \pm 3$  y  $0,1 \pm 0,01$  µg kg<sup>-1</sup>, respectivamente.

Diez semillas de *T. subterraneum* var. ‘Valmoreno’, previamente desinfectadas mediante inmersión en NaClO durante 5 min y enjuagadas tres veces con agua destilada, fueron sembradas en macetas de plástico de 7x7x6 cm. Dos semanas después de la emergencia, se dejaron cuatro plantas

de aspecto homogéneo por maceta. El contenido de humedad se mantuvo próximo a la capacidad de campo regando cada 2-3 días. No hubo incidencias de plagas o enfermedades durante el desarrollo del experimento. El experimento se dispuso en un diseño factorial completamente aleatorio con dos factores: dosis de aplicación del selenio en forma de selenato disódico (0, 10 y 20 g ha<sup>-1</sup>) y tipo de aprovechamiento (cortando a final de ciclo después de 12 semanas de crecimiento (Final<sub>sc</sub>) y combinando un corte a mitad de ciclo después de 8 semanas (½Ciclo) con el corte de su rebrote (Final<sub>REB</sub>) a las 4 semanas del corte intermedio (½Ciclo + Final<sub>REB</sub>)). Para cada combinación dosis-tipo de aprovechamiento se pusieron 5 macetas (por tanto, 5 repeticiones). Los tratamientos fertilizantes consistieron en la pulverización de cada dosis de Se disuelta en 5 ml de agua destilada por maceta a las 4 semanas de edad de las plantas.

La parte aérea de las plantas se cosechó por tanto a las 8 y/o 12 semanas de crecimiento, según tratamiento, cortándola justo por encima de la superficie del suelo y lavándola con agua destilada. La parte radicular, que sólo se obtuvo al final del ensayo, es decir, a las 12 semanas, fue separada del sustrato mediante lavado con agua corriente del grifo y enjuagada posteriormente con agua destilada tres veces. Las muestras se secaron en estufa a 60 °C hasta peso constante y se registró la materia seca (MS) de la parte aérea y radicular. La concentración de Se total del pasto en cada momento de corte se analizó sobre 1 g de muestra digerida con 2 ml de ácido nítrico ultrapuro, 2 ml de peróxido de hidrógeno y 25 ml de agua MilliQ, usando el mismo equipamiento ICP-MS descrito anteriormente. Además se determinó el contenido de Se total por maceta, multiplicando la concentración de Se en cada corte por la cantidad de biomasa aérea de la maceta correspondiente.

Los datos fueron analizados mediante ANOVA de dos vías incluyendo 'dosis de selenato disódico' (0, 10 y 20), 'aprovechamiento' y su interacción en el modelo. En la biomasa aérea y radicular, así como en el Se total por maceta, los aprovechamientos fueron dos: (i) Final<sub>sc</sub> y (ii) ½Ciclo + Final<sub>REB</sub> y en la concentración de Se por kilogramo fueron tres aprovechamientos: (i) a mitad de ciclo (½Ciclo), (ii) en el corte de final de ciclo que no había sido cortado previamente (Final<sub>sc</sub>), y (iii) en el corte de final de ciclo, después de haber sido cortado a mitad (Final<sub>REB</sub>). Cuando se encontraron diferencias significativas, las medias se compararon mediante el test de Fisher de mínima diferencia significativa, MDS. También se determinó el test de correlación de Pearson entre el Se total y la dosis de Se aplicado. Los análisis se realizaron con el paquete estadístico Statistix v. 8.10.

#### 4. Resultados

Tanto la dosis de Se foliar aplicada, el aprovechamiento como su interacción influyeron significativamente sobre la concentración de Se total y sobre el contenido de Se total por maceta (Tabla 1).

Tabla 1. Resumen de los ANOVA de dos vías para los parámetros estudiados.

	g.l.	Concentración de Se total (µg kg <sup>-1</sup> )	g.l.	Contenido de Se total (µg maceta <sup>-1</sup> )	Biomasa aérea (g maceta <sup>-1</sup> )	Biomasa radicular (g maceta <sup>-1</sup> )
Dosis Se	2	99.2***	2	43.3***	4.1*	3.5
Aprovechamiento	2	51.2***	1	25.5***	2.3	10.4*
Dosis Se*Aprov.	2	17.8***	2	7.6**	1.5	0.1

g.l. grados de libertad; Estadístico F en el resto de columnas. Nivel de significación \*P ≤ 0,05; \*\*P ≤ 0,01; \*\*\*P ≤ 0,001.

La no aplicación de Se produjo concentraciones medias de Se total de 14 µg kg<sup>-1</sup>, mientras que la aplicación foliar de Se, tanto en la dosis de 10 como en la de 20 g Se ha<sup>-1</sup> provocó aumentos significativos hasta concentraciones medias de 1.812 y 3.476 µg Se kg<sup>-1</sup>, respectivamente. Este

incremento fue lineal y significativo al 99,9% siguiendo la recta de regresión la siguiente ecuación  $y = 172,6x + 45,2$ . En cuanto al tipo de aprovechamiento, la concentración de Se fue significativamente superior en el corte a mitad del ciclo,  $3203 \mu\text{g Se kg}^{-1}$  con respecto al corte de final del ciclo, ya fuera con corte intermedio como sin él ( $1013$  y  $1087 \mu\text{g Se kg}^{-1}$ , respectivamente). Estudiando la interacción de ambos factores (Tabla 2), fue en la dosis de  $10$  y de  $20 \text{ g Se ha}^{-1}$  cuando observamos diferencias significativas entre los diferentes aprovechamientos, a favor, en ambas dosis, del aprovechamiento a mitad del ciclo. En cambio, si comparamos el contenido de Se por maceta a final de ciclo vemos como el Se total acumulado cuando había sido dado un corte intermedio fue mucho mayor que cuando se cortó sólo al final, concretamente en  $2,9$ ,  $2,5$  y  $2,4$  veces mayor en las dosis de  $0$ ,  $10$  y  $20 \text{ g Se ha}^{-1}$  respectivamente (Tabla 2).

Tabla 2. Concentración total de Se y contenido de Se por maceta (media  $\pm$  error estándar) influida por la interacción dosis de Se \* aprovechamiento, en cada uno de los cortes para la concentración Se total ( $\frac{1}{2}$ Ciclo, Final<sub>reb</sub> y Final<sub>sc</sub>) y para los cortes finales en el contenido de Se por maceta ( $\frac{1}{2}$ Ciclo + Final<sub>REB</sub> y Final<sub>sc</sub>)

Tratamiento	Concentración de Se ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ )	Tratamiento	Contenido de Se ( $\mu\text{g maceta}^{-1}$ )
<b><math>\frac{1}{2}</math>Ciclo</b>			
0 g ha <sup>-1</sup>	23 $\pm$ 2 e		
10 g ha <sup>-1</sup>	3254 $\pm$ 0.9 b		
20 g ha <sup>-1</sup>	6329 $\pm$ 0.9 a		
<b>Final<sub>sc</sub></b>		<b>Final<sub>sc</sub></b>	
0 g ha <sup>-1</sup>	8 $\pm$ 1 e	0 g ha <sup>-1</sup>	0.06 $\pm$ 0,1 e
10 g ha <sup>-1</sup>	828 $\pm$ 72 de	10 g ha <sup>-1</sup>	12,8 $\pm$ 0,8 cd
20 g ha <sup>-1</sup>	2424 $\pm$ 369 bc	20 g ha <sup>-1</sup>	22,4 $\pm$ 1,0 bc
<b>Final<sub>REB</sub></b>		<b><math>\frac{1}{2}</math>Ciclo+ Final<sub>reb</sub></b>	
0 g ha <sup>-1</sup>	11 $\pm$ 1 e	0 g ha <sup>-1</sup>	0,2 $\pm$ 0,1 de
10 g ha <sup>-1</sup>	1352 $\pm$ 319 d	10 g ha <sup>-1</sup>	31,4 $\pm$ 0,4 b
20 g ha <sup>-1</sup>	1676 $\pm$ 342 cd	20 g ha <sup>-1</sup>	54,5 $\pm$ 3,6 a

Letras diferentes en una misma columna indican diferencias significativas ( $P \leq 0,05$ ) de acuerdo con el test de Fisher de MDS para la interacción dosis de Se \* aprovechamiento

En cuanto a la producción de biomasa, se observó un efecto significativo de la dosis de Se sobre la biomasa aérea, en la que la dosis de  $10 \text{ g Se ha}^{-1}$  aumentó significativamente el valor respecto a las otras dos dosis, aunque sólo de forma significativa respecto a la dosis testigo. El tipo de aprovechamiento, sin embargo, influyó en el desarrollo radicular, siendo mayor significativamente cuando el aprovechamiento se hizo al final del ciclo sin ningún corte intermedio (Tablas 1 y 3).

Tabla 3. Biomasa aérea y radicular (media  $\pm$  error estándar) influida por la dosis de Se y el tipo de aprovechamiento

	Biomasa aérea (g maceta <sup>-1</sup> )	Biomasa radicular (g maceta <sup>-1</sup> )
<b>Dosis de Se</b>		
0 g ha <sup>-1</sup>	9.1 $\pm$ 0.7 B	1.2 $\pm$ 0.03 A
10 g ha <sup>-1</sup>	13.1 $\pm$ 0.9 A	0.9 $\pm$ 0.02 A
20 g ha <sup>-1</sup>	11.0 $\pm$ 1.1 AB	1.0 $\pm$ 0.03 A
<b>Aprovechamiento</b>		
Final <sub>sc</sub>	10.2 $\pm$ 0.9 a	1.1 $\pm$ 0.08 a
$\frac{1}{2}$ Ciclo+Final <sub>REB</sub>	11.9 $\pm$ 0.9 a	0.9 $\pm$ 0.07 b

Letras mayúsculas diferentes en una misma columna indican diferencias significativas ( $P \leq 0,05$ ) de acuerdo con el test de Fisher de MDS para la dosis de Se. Letras minúsculas diferentes en una misma columna indican diferencias significativas ( $P \leq 0,05$ ) de acuerdo con el test de Fisher de MDS para el aprovechamiento.

## 5. Discusión

La concentración de Se obtenida del forraje de tréboles en los que no se había aplicado Se fue muy baja, en torno a  $14 \mu\text{g kg}^{-1}$ , sin diferenciarse según fuera cosechada a mediados del ciclo o al final del mismo, rebrotada o no. Estos valores son demasiado bajos para cubrir las necesidades de Se del ganado, de  $200\text{-}300 \mu\text{g Se al día}$  (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 2001) y se deben a los bajísimos niveles tanto de Se total ( $25 \mu\text{g kg}^{-1}$ ) como extractable ( $0,1 \mu\text{g kg}^{-1}$ ) del sustrato, lo que pone de manifiesto la necesidad de biofortificación cuando los contenidos de Se presente en el suelo/sustrato en el que crecen las plantas tengan niveles tan bajos, siendo en este caso muy deficientes tanto en Se total (HAWKESFORD & ZHAO, 2007) como en Se extractable (STROUD et al., 2010). GARCIA LATORRE et al. (2014) encontraron valores similares en pastos de dehesa del S.O. de la península ibérica.

El incremento lineal entre la dosis de Se aplicada y la concentración de Se en la biomasa aérea fue muy superior al encontrado por Poblaciones et al. (2013 y 2014) en otras leguminosas, guisantes y garbanzos, respectivamente, aunque en el grano. La ingesta de  $100 \text{ g}$  de M.S. de biomasa de tréboles biofortificados supondrían, según el momento de aprovechamiento, la incorporación de entre  $83$  y  $325 \mu\text{g}$  de Se en la dosis de  $10 \text{ g Se ha}^{-1}$  y entre  $168$  y  $633 \mu\text{g}$  de Se en la de  $20 \text{ g Se ha}^{-1}$ . Por tanto, las necesidades de Se del ganado quedarían prácticamente cubiertas consumiendo la biomasa del trébol biofortificado con  $10 \text{ g Se ha}^{-1}$  a lo largo de su ciclo de crecimiento, ya que la dosis de  $20 \text{ g Se ha}^{-1}$  podría provocar puntualmente problemas de toxicidad en el ganado, problemas que se presentan con consumos superiores a los  $1000 \mu\text{g Se al día}$  (GISSEL-NIELSEN, 1998). La dosis de  $10 \text{ g Se ha}^{-1}$  estaría en consonancia con la utilizada en Finlandia, país modelo en la biofortificación que fertiliza con Se todos sus cultivos (EUROLA, 1991).

La concentración de Se fue mayor, en las dos dosis aplicadas, en el corte realizado a mitad del ciclo, posiblemente debido a la cercanía con el momento de aplicación (4 semanas). Sin embargo, se observaron dos hechos muy interesantes en ambas dosis de Se. Por un lado, el corte intermedio no afectó a la concentración de Se de la biomasa aérea al final del ciclo; y por otro lado, que al estudiar la acumulación de Se por maceta al final del ciclo, ésta fue significativamente mayor cuando existió un corte intermedio (Tabla 2). Es sabido que del selenato absorbido por la planta, una parte es utilizada para producir selenoproteínas (BROADLEY et al., 2006) mientras que otra se almacena como selenito en las raíces (ASHER et al., 1977), y este selenito, una vez comienza el rebrote se vuelve a movilizar para ponerse a disposición de toda la planta. Teniendo en cuenta los resultados obtenidos en este ensayo se pone de manifiesto que, desde el punto de vista de la biofortificación, sería más apropiado aprovechar el pasto añadiendo un corte a mitad del ciclo, ya que se observa una buena capacidad de movilización del Se traslocado previamente al sistema radicular, que se incorpora de nuevo al sistema aéreo al rebrotar las plantas. Cuando no se hizo corte intermedio, parece que parte de ese Se acumulado en la raíz no se movilizó posteriormente a la parte aérea quedándose en el sistema radicular, o perdiéndose en el suelo/sustrato. Este punto debe ser confirmado con futuras investigaciones en las que se aplique un número mayor de cortes y se analice el contenido de Se, tanto en el suelo/sustrato como en el sistema radicular. Lo que sí se pone de manifiesto es que el *T. subterraneum*, especie fundamental en los pastos de dehesa, aprovechados por el ganado en extensivo, tiene un gran potencial para ser biofortificado debido, precisamente, a su buena capacidad de rebrote, y a su buena aptitud, según parece, de movilizar a la parte aérea tras el rebrote el Se previamente acumulado en la raíz.

En consonancia con resultados obtenidos por GARCIA LATORRE et al. (2014) en pastos de dehesa, la producción de biomasa aérea del *T. subterraneum* se benefició por la aplicación foliar de Se en la dosis de  $10 \text{ g Se ha}^{-1}$  respecto a la no aplicación de Se. Esto se puede achacar a la protección que el Se proporciona frente a diferentes estreses abióticos (YAO et al., 2013). Sin embargo, no se observó ningún efecto sobre la biomasa radicular, hecho que debe considerarse como muy positivo, ya que la implementación de un programa de biofortificación sería mucho más

complicada de llevarse a cabo por parte de los agricultores si vieran mermada la producción de biomasa como consecuencia de la aplicación de Se.

La producción final de biomasa aérea de aquellos tréboles a los que no se les había sometido a corte a mitad de su ciclo, no difirió significativamente de aquellos a los que sí, demostrando una buena capacidad de rebrote del trébol, prátense habitualmente sometida a pastoreo. Resultados similares fueron encontrados por GARCÍA LATORRE et al. (2014) en pastos de dehesa doblemente aprovechados, en invierno y primavera, frente a los aprovechados únicamente en primavera.

## 6. Conclusiones

En este estudio se comprueba el más que aceptable efecto positivo de la biofortificación con Se foliar sobre el *T. subterraneum* en el que el aumento en la dosis de aplicación produjo un aumento lineal sobre la concentración de Se en la biomasa aérea. El corte intermedio tuvo un efecto muy favorable sobre el contenido de Se total recuperado, que aumentó claramente al ser aprovechado a mitad de ciclo sin disminuir la biomasa total producida. Se podría considerar la dosis de 10 g Se ha<sup>-1</sup> sobre trébol sometido a dos aprovechamientos, uno a mitad de ciclo y otro al final, como el manejo más adecuado, ya que proporciona concentraciones de Se total por encima de las recomendadas para el ganado en extensivo, durante todo su ciclo, sin merma en la producción.

## 7. Agradecimientos

## 8. Bibliografía

ANDREWS, E.D.; HARTLEY, W.J.; GRANT, A.B.; 1968. Selenium-responsive diseases of animals in New Zealand. *New Zealand Vet J* 16 433.

ASHER, C.J.; BUTLER, G.W.; PETERSON, P.J.; 1977) Selenium transport in root systems of tomato. *J Exp Bot* 28 279-291.

BARROW, N.J.; WHELAN, B.R.; 1989. Texting a mechanistic model. The effects of pH and of electrolyte on the reaction of selenite and selenite with a soil. *J Soil Sci* 40 17-28.

BODNAR, M.; KONIECZKA, P.; NAMIESNIK, J.; 2012. The Properties, Functions, and Use of Selenium Compounds in Living Organisms. *J Environ Sci Health* 30 225-252.

BROADLEY, M.R.; WHITE, P.J.; BRYSON, R.J.; MEACHAN, M.C.; BOWEN, H.C.; JOHNSON, S.E.; HAWKESFORD, M.J.; MCGRATH, S.P.; ZHAO, F.J.; BREWARD, N.; HARRIMAN, M.; TUCKER, M.; 2006. Biofortification of UK food crops with selenium. *Proc Nutr Soc* 65 169-181.

BROWN, K.M.; ARTHUR, J.R.; 2001. Selenium, selenoproteins and human health: a review. *Publ Health Nutr* 4 593-599.

EUROLA, M.H.; EKHOLM, P.I.; YLINEN, M.E.; VARO, P.T.; KOIVISTOINEN, P.E.; 1991. Selenium in Finnish foods after beginning the use of selenate-supplemented fertilizers. *J Sci Food Agr* 56 57-70.

GARCÍA LATORRE, C.; RODRIGO, S.; POBLACIONES, M.J.; GARCÍA-WHITE, T.; HERNÁNDEZ, L.; OLEA, L.; 2014. Influencia del manejo sobre el pasto fertilizado con selenio en la Serena (Extremadura). 53ª Reunión Científica de la Sociedad Española para el Estudio de los Pastos, SEEP.231-239.

GISSEL-NIELSEN, G.; 1998. Effects of selenium supplementation of field crops. En "Environmental chemistry of selenium". Frankenberger, W.T. Jr, Engberg R.A. (eds). Pp. 99–128. Marcel Dekker Inc, New York.

GUNES, V.; OZCAN, K.; CITIL, M.; ONMAZ, A.C.; ERDOGAN, H.M.; 2010. Detection of myocardial degeneration with point-of-care cardiac troponin assays and histopathology in lambs with white muscle disease. *Vet J* 184 376-378.

HAWKESFORD, M.J.; ZHAO, F.; 2007. Strategies for increasing the selenium content of wheat. *J Cer Sci* 46 282-292.

INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES AGRARIAS (INIA); 2005 Tipificación, cartografía y evaluación de los pastos de la Comunidad de Extremadura. Informe final proyecto OT00-037-C17-11.

MINISTERIO DE AGRICULTURA PESCA, ALIMENTACIÓN Y MEDIO AMBIENTE (MAPAMA); 2013. <http://www.mapama.gob.es/es/estadistica/temas/estadisticas-agrarias/ganaderia/encuestas-ganaderas/#para5>

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC); 2001. The nutrient requirement of dairy cattle. Seventh edition; National Academy Press. Pp. 381. Washington, D. C.

POBLACIONES, M.J.; RODRIGO, S.; SANTAMARÍA, O.; 2013. Evaluation of the potencial of Peas (*Pisum sativum* L.) to be used in selenium biofortification programs under Mediterranean conditions. *Biol Trace Elem Res* 151 132-137.

POBLACIONES, M.J.; RODRIGO, S.; SANTAMARÍA, O.; CHEN, Y.; MCGRATH, S.P.; 2014. Selenium accumulation and speciation in biofortified chickpea (*Cicer arietinum* L.) under Mediterranean conditions. *J Agr Food Chem* 94(6) 1101-106.

STROUD, J.L.; LI, H.F.; LÓPEZ-BELLIDO, F.J.; BROADLEY, M.R.; FOOT, I.; FAIRWEATHER-TAIT, S. J.; HART, D.J.; HURST, R.; KNOTT, P.; MOWAT, H.; NORMAN, K.; SCOTT, P.; TUCKER, M.; WHITE, P. J.; MCGRATH, S. P.; ZHAO, F.J.; 2010. Impact of sulphur fertilization on crop response to selenium fertilization. *Plant Soil* 332 31-40.

TERRY, N.; ZAYED, A.M.; DE SOUZA, M.P.; TARUM, A.S.; 2000. Selenium in higher plants. *An Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 51 401-432.

WATKINSON, J.H.; 1983. Prevention of selenium deficiency in grazing animals by annual topdressing of pasture with sodium selenite. *New Zealand Vet J* 31 321-325.

WHELAN, B.R.; BARROW, N.J.; PETER, D.W.; 1994. Selenium fertilizers for pastures grazed by sheep. 1. Wool and live weight responses to selenium. *Aus J Agric Res* 45 863-875

WHITE P. J.; BROADLEY M. R.; 2005. Biofortifying crops with essential mineral elements. *Trends Plant Sci* 10 586–593.

ZENG, H.; COMBS, G.F.; 2008. Selenium as an anticancer nutrient: roles in cell proliferation and tumor cell invasion. *J Nutr Biochem* 19 1–7.

ZHAO, F.; MCGRATH, S.P.; CROSLAND, A.R.; 1994. Comparison of three wet digestion methods for the determination of plant sulphur by inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy (ICP – AES). *Com Soil Sci Plant Anal* 25 (3-4) 407-418.