



GUSTAVO FERREIRA DE SOUSA

**AGRONOMIC BIOFORTIFICATION OF SOYBEAN WITH
SELENIUM VIA FOLIAR APPLICATION**

**LAVRAS – MG
2019**

GUSTAVO FERREIRA DE SOUSA

**AGRONOMIC BIOFORTIFICATION OF SOYBEAN WITH
SELENIUM VIA FOLIAR APPLICATION**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, área de concentração em Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas, para a obtenção do título de Mestre.

Professor D. Sc. Guilherme Lopes
Orientador

Professor Ph.D. Luiz Roberto Guimarães Guilherme
Coorientador

**LAVRAS – MG
2019**

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Sousa, Gustavo Ferreira de.
Agronomic biofortification of soybean with selenium via foliar
application / Gustavo Ferreira de Sousa. - 2019.
54 p.

Orientador(a): Guilherme Lopes.
Coorientador(a): Luiz Roberto Guimarães Guilherme.
Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de
Lavras, 2019.
Bibliografia.

1. Aplicação foliar. 2. Qualidade alimentar. 3. Fabaceae. I.
Lopes, Guilherme. II. Guilherme, Luiz Roberto Guimarães. III.
Título.

GUSTAVO FERREIRA DE SOUSA

**AGRONOMIC BIOFORTIFICATION OF SOYBEAN WITH
SELENIUM VIA FOLIAR APPLICATION**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, área de concentração em Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 24 de Julho de 2019.

D. Sc Nilton Curi

UFLA

D. Sc Fábio Aurélio Dias Martins

EPAMIG

Professor D. Sc. Guilherme Lopes
Orientador

Professor Ph.D. Luiz Roberto Guimarães Guilherme
Coorientador

**LAVRAS – MG
2019**

*Aos meus pais, Vicente e Márcia,
À minha querida noiva, Maila,
Aos meus irmãos Kamilla e Mateus.
DEDICO!*

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Ciência do Solo pela oportunidade.

Aos professores do Departamento de Ciência do Solo, pois todos contribuíram para o meu crescimento de alguma forma.

Aos orientadores Guilherme Lopes e Bebeto pelos incentivos, ensinamentos acadêmicos e pessoais.

Aos meus pais Vicente e Márcia pelos esforços realizados para que seus filhos estudassem, vocês são meu maior exemplo.

À minha querida noiva Maila pelos intensos dias de trabalho, pela compreensão nos dias difíceis e principalmente pelo sonho que compartilhamos até aqui.

Aos meus irmãos Kamilla e Mateus pelo apoio e amizade.

Aos laboratoristas e técnicos que me auxiliaram na condução de análises e foram prestativos a todo momento, em especial à Geila, Alexandre, Mariene e Lívia.

Aos alunos de iniciação científica que auxiliaram na instalação e condução do experimento, especialmente ao Danilo, Fábio, Jéssica e Yasmim.

Aos amigos que fiz durante esta etapa e que me ajudaram nos momentos difíceis.

À empresa “Compass Minerals®” pelo apoio financeiro.

À Fundação de Amparo e Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pela concessão de bolsa de estudo, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio indireto.

E a todos que, de uma forma ou outra, me engrandeceram.

*“Caminhe até onde você possa enxergar,
Quando chegar lá, você poderá enxergar mais longe”*

Autor desconhecido

RESUMO

O selênio (Se) é um componente chave de alguns aminoácidos e um elemento mineral essencial para a saúde humana e animal. Entretanto, em vários países - incluindo o Brasil - a sua concentração no solo é muito baixa, o que frequentemente resulta em níveis baixos de Se nos alimentos. Para superar este problema, diferentes estratégias agronômicas têm sido propostas para várias plantas cultivadas, especialmente aquelas ricas em proteína, como a soja. Este trabalho objetivou avaliar o efeito da aplicação foliar de fontes e doses de Se associadas ou não à aplicação de fertilizante produzido com a finalidade de potencializar a translocação de nutrientes (FIT), na produção de grãos, massa seca e teor de Se em plantas de soja. Para avaliar o potencial da soja como espécie acumuladora de Se e também a associação de selenato de sódio e fontes alternativas de Se com o FIT, foram conduzidos diferentes experimentos em condições de casa de vegetação. A primeira sequência de experimentos foi constituída de dois ensaios avaliando doses de selenato de sódio (SS) e de SS+FIT e, na segunda sequência de experimentos, foram avaliados 4 fontes de Se associadas ou não ao FIT. Os compartimentos vegetais (grãos, folhas, vagens e caules) foram separados a fim de se obter massa seca e o teor de Se, o qual foi determinado por espectrofotometria de absorção atômica com atomização por forno de grafite, após digestão ácida do tecido vegetal. Não foi observado efeito da aplicação foliar de Se na produtividade de grãos e na massa seca, em todos os experimentos conduzidos. O teor total de Se nos compartimentos vegetais foi afetado linearmente em função das doses aplicadas, mas a associação do SS com o FIT não alterou este parâmetro. Foi observado maior teor de Se nas folhas se comparado aos demais compartimentos vegetais. No 1º experimento, a média de recuperação de Se no grão foi de 23,6% enquanto que no 2º experimento, esta foi de 26,6%. A aplicação foliar de fontes alternativas de Se, associadas ou não ao FIT, resultou em incrementos significativos no teor de Se nos grãos, folha e vagem. A fonte SeM1 apresentou potencial para uso nas práticas de biofortificação agronômica, principalmente quando foi associada ao FIT. Nossos resultados revelam que a aplicação foliar de Se em soja é uma prática eficiente para produção de alimentos biofortificados e que o uso de fontes alternativas pode ser uma estratégia para aumentar a eficácia da biofortificação agronômica de grãos de soja com selênio.

Palavras chave: Aplicação foliar. Qualidade alimentar. Fabaceae.

ABSTRACT

Selenium (Se) is a key component of selected amino acids and an important micronutrient for humans and animals, yet in several countries - Brazil included - soil Se concentrations are very small, which often leads to low Se content in feed and food. To overcome this problem, different agronomic strategies have been proposed for various crop plants, especially the protein-rich ones, e.g., soybean. This work aimed to evaluate the effect of sources and doses of Se, associated or not with a fertilizer aimed at improving nutrient translocation (FIT), upon grain yield and Se content in soybean. In order to evaluate the potential of soybean as a Se seed-accumulating species and also the association of sodium selenate as well as alternative sources of Se (organic Se compounds) with FIT, different experiments were conducted under greenhouse conditions. The first sequence of experiments consisted of two trials evaluating doses of sodium selenate (SS) and SS+FIT, and the second sequence of experiments assessed the effect of four sources of Se, associated or not with FIT. Plant parts (grains, leaf, stem and pods) were separated in order to obtain dry mass and their content of Se, which was determined by atomic absorption spectrophotometry with graphite furnace atomization, after acid digestion of the vegetal tissue. Foliar application of Se did not affect grain yield and dry mass in all experiments. Total Se content in grain, leaf, and pod plant parts increased linearly as a function of the applied doses of SS, yet the association of SS with FIT did not alter this parameter. Leaf had higher contents of Se, when compared with other plant parts. In the 1st experiment, the average recovery of Se in the grain was 23.6%, while in the 2nd experiment, it was 26.6%. Foliar application of alternative sources of Se, associated or not with FIT, resulted in significant increases in Se content in grain, leaf, and pod plant part, but the stem presented Se content. The SeM1 source presented potential for use in agronomic biofortification practices, especially when associated with FIT. Our findings revealed that the foliar application of Se in soybean is an efficient approach for production of biofortified food and that the use of organic Se compounds may be a strategy to increase the effectiveness of the agronomic biofortification of soybean grains with selenium.

Keywords: Foliar spray. High quality food. Fabaceae.

SUMÁRIO

PARTE I.....	9
1 INTRODUÇÃO	9
2 HIPÓTESES	10
3 OBJETIVO	10
4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	11
4.1 SELÊNIO	11
4.2 SELÊNIO NO AMBIENTE E DISPONIBILIDADE PARA PLANTAS	12
4.3 BIOFORTIFICAÇÃO DE SELÊNIO EM PLANTAS.....	14
4.4 PROGRAMAS DE BIOFORTIFICAÇÃO DE SELÊNIO	17
4.5 BIOFORTIFICAÇÃO DE SOJA	18
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	20
PARTE II – ARTIGO	20
1 INTRODUCTION.....	30
2 MATERIAL AND METHODS.....	32
2.1 SOIL PREPARATION.....	32
2.2.1 APPLICATION OF SELENIUM DOSES	32
2.2 SELENIUM SOLUTION PREPARATION AND APPLICATION	34
2.3 HARVEST AND MEASUREMENTS	34
2.4 STATISTICAL ANALYSIS.....	35
3 RESULTS AND DISCUSSION	35
5 CONCLUSION.....	45
6 ACKNOWLEDGMENTS	46
7 REFERENCES.....	46

PARTE I

1 INTRODUÇÃO

O Selênio (Se) é um elemento de ocorrência natural que é considerado essencial para humanos e animais. Sua deficiência em animais é comum, afetando o setor agropecuário de alguns países da América do Sul, América do Norte, África, Europa, Ásia e Nova Zelândia (FORDYCE, 2007). Em humanos o Se pode afetar diretamente o metabolismo dos hormônios tireoidianos, o que prejudica o crescimento e desenvolvimento (KÖHRLE, 1994). Ele também possui propriedades anticancerígenas e pode prevenir doenças cardíacas (SHALTOUT *et al.*, 2011). Além disso, algumas províncias chinesas que apresentam baixo teor de Se nos solos têm relatado doenças cardíacas (doença de Keshan) e ósseas (Kashin-Beck) (CHEN *et al.*, 1980; GE; YANG, 1993; TUIJTELAARS *et al.*, 2008).

A ingestão de Se pela população é feita principalmente por meio de alimentos que apresentem quantidades significativas do elemento (COMBS, 2001). Apesar do Se não ser considerado nutriente para as plantas, ele pode apresentar efeitos benéficos no sistema antioxidante e promover o crescimento (DJANAGUIRAMAN *et al.*, 2005; PANDEY; GUPTA, 2015; YASIN *et al.*, 2015) e pode ser incorporado em aminoácidos (FENG; WEI; TU, 2013; SCHIAVON; PILON-SMITS, 2016), mas também pode ser acumulado nos vacúolos celulares na forma inorgânica (LIMA; PILON-SMITS; SCHIAVON, 2018).

Apesar da importância do selênio nos alimentos, grande parte dos solos agrícolas possui baixo teor de Se natural (FORDYCE, 2013). Devido à isto, uma das estratégias para diminuir a deficiência de Se tem sido aumentar o teor desse elemento nos alimentos através da biofortificação (BOLDRIN *et al.*, 2012; WHITE; BROADLEY, 2009). A biofortificação agrônômica tem sido uma alternativa importante para aumentar a concentração de Se nas plantas cultivadas (BOLDRIN *et al.*, 2013a; RAMOS *et al.*, 2012) e consiste no fornecimento de Se por meio da adubação das culturas de interesse (BOLDRIN *et al.*, 2012; FARIA; KARP, 2015; GONZALI; KIFERLE; PERATA, 2017). As técnicas de biofortificação agrônômica têm sido aplicadas através de adubação via solo ou pulverização foliar.

As formas de Se encontradas no ambiente podem ser inorgânicas ou orgânicas, de modo que as principais formas inorgânicas são selenato (SeO_4^{2-}), selenito (SeO_3^{2-}) e seleneto (Se^{2-}), enquanto que, as principais formas orgânicas estão na forma de aminoácidos como seleno-cisteína (Se-Cys) e seleno-metionina (Se-Met) (CHAN; AFTON; CARUSO, 2010; LOPES; ÁVILA; GUILHERME, 2017; NAWAZ *et al.*, 2015a; WU *et al.*, 2015). Deste modo,

diferentes formas de fornecimento de Se podem resultar em diferentes quantidades de Se acumuladas nas plantas (SCHIAVON *et al.*, 2013).

A soja é uma cultura que tem se destacado na prática de biofortificação, devido ao seu amplo consumo e alta produção em todo o mundo. Ela é utilizada de várias formas na alimentação, sendo consumida na forma de óleo vegetal, *tofu*, leite, molho e também para ração animal (CARVALHO *et al.*, 2007; DORFF, 2007). Além disso, a soja apresenta alto potencial de biofortificação, tendo como alvo outros elementos além do Se, por exemplo zinco (Zn) e ferro (Fe) (GHASEMIAN; GHALAVAND; PIRZAD, 2010; ZOU *et al.*, 2014).

2 HIPÓTESES

- A soja é uma espécie que apresenta potencial para biofortificação com Se;
- Associação entre fontes de Se e outros nutrientes recomendados para prover maior enchimento de grãos pode promover maior acúmulo de Se;
- Fontes alternativas de Se podem ser uma possibilidade para biofortificação de plantas;

3 OBJETIVO

- Avaliar a biofortificação de plantas de soja submetidas à aplicação foliar de fontes e doses de selênio associadas ou não ao produto potencializador de translocação.

4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1 Selênio

Selênio (Se) é um elemento classificado como um semi-metal, possui número atômico 34, massa atômica 78,96 g (LOPES; ÁVILA; GUILHERME, 2017; NATASHA *et al.*, 2017). Ele é bastante utilizado na indústria para produção de vários produtos, tais como: semicondutores, retificadores, células fotovoltaicas, ligas resistentes à corrosão, substâncias farmacêuticas, pigmentos para tintas, cerâmicas e processos de produção de vidro (MEHDI *et al.*, 2013).

Além das funções para indústria, o Se é considerado um micronutriente para animais e humanos (MATOS *et al.*, 2017). Seu papel nutricional essencial para os animais foi descoberto nos anos de 1950 e para humanos em 1973 (ALAEJOS; DÍAZ ROMERO; DÍAZ ROMERO, 2000). Apesar de não ser nutriente para as plantas, ele pode ser considerado como elemento benéfico ou tóxico, dependendo da concentração, especiação e espécie da planta (DRAHOŇOVSKÝ *et al.*, 2016). Em concentrações elevadas de Se, as plantas podem apresentar crescimento reduzido e clorose causada pelo dano oxidativo e substituição demasiada de S pelo Se (VAN HOEWYK, 2013).

Nos mamíferos e humanos, o Se atua nos processos de desintoxicação metabólica através da síntese e ativação das selenoproteínas que desempenham atividade antioxidante capaz de reduzir peróxidos do organismo (RAYMAN, 2012). Além disso, ele também participa da desidrinase da iodotironina (DIO), enzima que auxilia no metabolismo de hormônios da tireoide (KÖHRLE, 1994), possui propriedades anticancerígenas e pode prevenir doenças cardíacas (SHALTOUT *et al.*, 2011).

Apesar do Se ser um elemento de grande importância para o metabolismo humano e animal, a deficiência de Se em humanos é cada vez mais frequente no cenário mundial (REIS *et al.*, 2018), em que, estima-se que cerca de 0,5 a 1,0 bilhão de pessoas estejam em condições de provável deficiência de Se (COMBS, 2001). Para que a alimentação seja considerada deficiente em Se, a ingestão diária deve estar abaixo da recomendação mundial, que é de 50–55 µg dia⁻¹ de Se (MALAGOLI *et al.*, 2015; WU *et al.*, 2015). De modo geral, os efeitos da deficiência de Se nos humanos incluem fraqueza e inflamações musculares, coloração

anormal da pele, disfunção do músculo cardíaco, suscetibilidade ao câncer e pré-disposição à doença de Keshan (MORA *et al.*, 2015).

A principal forma de ingestão de Se pela população é através da alimentação, e a carência de nutrientes ocorre principalmente devido à alta ingestão de alimentos básicos como arroz, milho e trigo. Estes alimentos são considerados como pobres em minerais e vitaminas quando comparados aos grãos de leguminosas, verduras e produtos de origem animal (REIS, 2014). Algumas ações têm sido realizadas com intuito de aumentar a ingestão de Se tanto pelos humanos quanto para animais, como por exemplo, o uso de suplementos minerais ou enriquecimento de alimentos com Se durante o processo de produção.

Apesar da adição de Se na forma inorgânica em alimentos ser uma alternativa importante, algumas pesquisas têm reportado que esta prática não tem atingido o seu propósito, visto que, neste caso, as fontes de Se são principalmente sais inorgânicos, e deste modo, não estão prontamente disponíveis para o organismo (LOPES; ÁVILA; GUILHERME, 2017).

4.2 Selênio no ambiente e disponibilidade para plantas

O Se pode ser encontrado na natureza em várias reservas, inclusive no solo e na água, sendo que sua concentração no solo é governada pela composição do material de origem (NATASHA *et al.*, 2017). O intemperismo das rochas é considerado a maior fonte de deposição de Se no solo (WHITE *et al.*, 2004). Fontes naturais de Se podem incluir erupções vulcânicas, restos de vegetação carbonizada, processos de oxidação de superfícies dos mares e solos naturalmente ricos neste elemento, bem como as plantas que desenvolvem nestes locais (CUVARDIC, 2003).

O teor de Se nos solos está entre 0,01 e 2,0 mg kg⁻¹, com uma média mundial de 0,4 mg kg⁻¹ (FORDYCE, 2013), enquanto que em solos seleníferos a quantidade pode ser ainda maior, podendo apresentar até 1.200 mg kg⁻¹ de Se (FORDYCE, 2007). De modo geral, solos que apresentam teores de Se < 0,5 mg kg⁻¹ são considerados pobres em Se (MIRLEAN; SEUS-ARRACHE; VLASOVA, 2018), fazendo com que as plantas apresentem absorção insuficiente para suprir as necessidades humanas.

As plantas cultivadas em solos seleníferos podem ainda serem utilizadas como fitorremediadoras de solos, de modo que após seu crescimento em regiões com alto teor de Se, os resíduos podem ser adicionados em locais em que a concentração natural de Se é baixa

(LIMA; PILON-SMITS; SCHIAVON, 2018). Além disso, mesmo em solos com alto teor deste elemento, pode haver produção de alimentos com baixo teor de Se. Isto ocorre, em condições que o Se não está em forma disponível para a absorção da planta (FORDYCE, 2013). Vários estudos evidenciam que a disponibilidade para plantas não está relacionada somente com a concentração de Se no solo, mas com todo o ambiente em que as plantas se desenvolvem.

A disponibilidade de Se para as plantas está intimamente relacionada ao teor de argila presente no solo (LESSA *et al.*, 2016), de forma que, essa fração textural exerce correlação negativa com os teores de Se biodisponível (FORDYCE, 2013). O aumento dos teores de argila aumenta os processos de adsorção nas partículas finas, e conseqüentemente, diminui a disponibilidade de Se para as plantas. De fato, a absorção de Se pelas plantas cultivadas em solos argilosos podem apresentar metade do conteúdo de Se selênio se comparadas às plantas cultivadas em solos arenosos (FORDYCE, 2013).

Além da fração argila no solo, o teor de matéria orgânica no solo (MOS) também possui papel decisivo na disponibilidade de Se, sendo que a MOS também é responsável por parte da adsorção de Se (LI *et al.*, 2017; WANG *et al.*, 2016). Alguns estudos mostram que a quantidade de Se adsorvida na MOS pode chegar a 50% (QIN; ZHU; SU, 2012) enquanto que a fração mineral corresponde a cerca de 20% do Se presente no solo (SUPRIATIN; WENG; COMANS, 2015). A força de ligação do Se é afetada pela fração de MOS, desta forma, a dinâmica de adsorção e dessorção é governada pela composição da MOS (COPPIN; CHABROULLET; MARTIN-GARIN, 2009; QIN; ZHU; SU, 2012; SUPRIATIN; WENG; COMANS, 2015).

Outro fator que interfere na disponibilidade de Se para as plantas é a presença de íons competidores de adsorção, como o sulfato (SO_4^{2-}) e fosfato (PO_4^-) (FORDYCE, 2013). A presença de SO_4^{2-} pode inibir a absorção de Se pelas plantas, e apresenta um efeito maior sobre o Se na forma de selenato (FORDYCE, 2013). Já o PO_4^{3-} pode promover maior absorção de selenito, já que ele é facilmente adsorvido nos solos e desloca o selenito fixado no solo, podendo promover maior disponibilidade na solução do solo (FORDYCE, 2013). Na planta, o Se é quimicamente análogo ao S e portanto, pode ser influenciado pelos mesmos processos de carregamento dentro da planta (MALAGOLI *et al.*, 2015).

Os teores de Se nas plantas também diferem entre as espécies e sua capacidade de bioacumulação. A atividade enzimática característica de cada espécie vegetal também pode ser influenciada a acumulação de Se, geralmente espécies que possuem maior capacidade de acúmulo de Se apresentam maior formação de proteínas seleníferas (MALAGOLI *et al.*,

2015). Algumas espécies de *Fabaceas* (*Astragalus* spp.), *Asteraceae* (*Symphyotrichum*, *Xylorhiza* and *Oenopsis* spp.) e *Brassicaceae* (*Stanleya pinnata*) podem acumular Se em maiores concentrações, podendo atingir 0,1 a 1,5% de matéria seca. As plantas que podem acumular altos teores de Se são conhecidas como hiperacumuladoras (CAPPA; PILON-SMITS, 2013), enquanto que plantas não acumuladoras como gramíneas absorvem menos de 50 mg kg⁻¹ (FORDYCE, 2007).

Devido aos vários fatores que interferem na disponibilidade de Se para as plantas e sua necessidade de suplementação para população através da alimentação, têm sido realizados vários estudos com o intuito de aumentar os teores de Se nas culturas. Tal prática é denominada de biofortificação e as principais formas de implementação são através do melhoramento genético (CAKMAK, 2008) e/ou através do uso de fertilizantes enriquecidos (FIGUEIREDO *et al.*, 2017; MIRLEAN; SEUS-ARRACHE; VLASOVA, 2018; WANG *et al.*, 2016).

4.3 Biofortificação de selênio em plantas

O consumo de nutrientes pela população humana está fortemente associado à diversidade de alimentos que ela consome, de forma que, quanto mais diversificada, maior é a probabilidade de consumir quantidades adequadas destes elementos. Além da carência em Se, há estudos que relatam que a grande maioria da população mundial apresentam ingestão insuficiente principalmente de ferro (Fe), zinco (Zn) e em menores proporções de iodo (I), cálcio (Ca), magnésio (Mg) e cobre (Cu). A desnutrição pode ser contornada por meio do aumento nos teores de nutrientes nas plantas utilizadas para alimentação (WHITE; BROADLEY, 2009).

As práticas de biofortificação têm recebido grande atenção de pesquisadores em todo cenário mundial, isso ocorre graças ao grande potencial de desenvolvimento de produtos agrícolas enriquecidos com vários nutrientes, que podem ser utilizados para melhorar a saúde humana e animal (BAÑUELOS; LIN, 2010). Aliado a isto, a biofortificação com Se tem apresentado grande avanço nos últimos anos, e isto ocorreu principalmente pelo desenvolvimento de técnicas capazes de determinar Se em diferentes compartimentos (tais como solo, água, fertilizantes, plantas e tecido humano) (LOPES; ÁVILA; GUILHERME, 2017).

A biofortificação de alimentos pode ser realizada de duas formas, através da biofortificação genética ou biofortificação agrônômica. A biofortificação genética consiste na obtenção de produtos alimentares com maior concentração de vitaminas e minerais via variações genotípicas e melhoramento de plantas, selecionando espécies e cultivares com maior capacidade de metabolização e armazenamento destes compostos (REIS *et al.*, 2014). Esse método visa proporcionar uma maneira mais sustentável e de menor custo em relação à suplementação e fortificação pós-colheita, além disso, objetiva alcançar populações que possuem acesso limitado aos sistemas de mercado e saúde (GRAHAM *et al.*, 2007; REIS *et al.*, 2014).

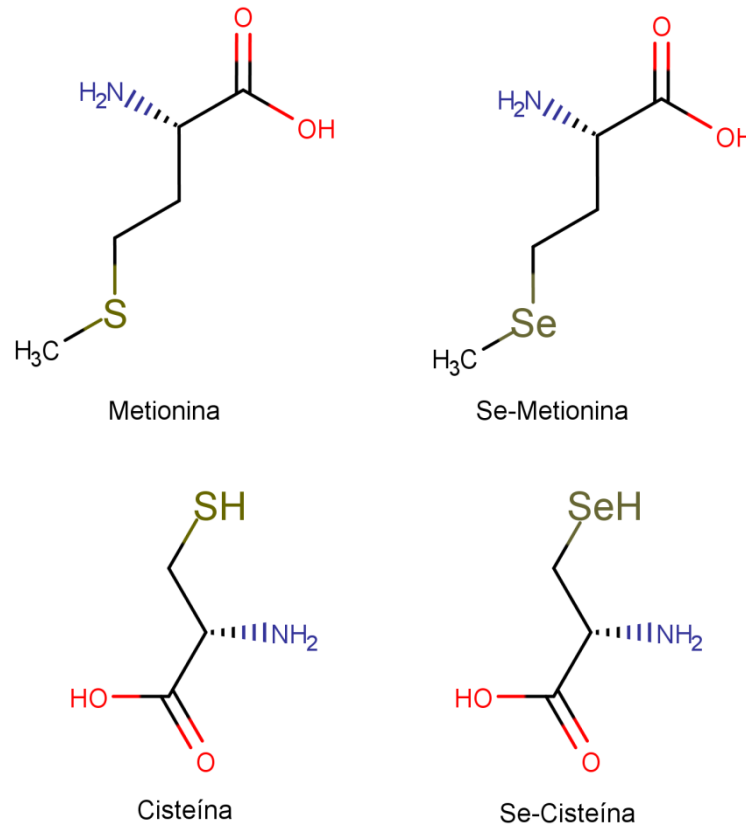
Porém, somente a biofortificação genética não é suficiente para aumentar os teores de Se nas plantas, visto que grande parte do solos agrícolas e a maioria dos solos brasileiros não possuem teores suficientes de Se para que o elemento esteja em quantidades suficientes para as plantas. Desta forma, a suplementação da lavoura com fontes de Se é uma alternativa para suprir essa necessidade e pode ser realizada principalmente através de fertilizantes comerciais (REIS *et al.*, 2014).

Quando o Se é aplicado via solo, ele está sujeito às perdas por adsorção e precipitação nos coloides do solo, e isto pode ocorrer principalmente em solos oxídicos, como os solos brasileiros (GABOS; ALLEONI; ABREU, 2014; LESSA *et al.*, 2016). Uma forma de melhorar o aproveitamento do Se é a aplicação via pulverização foliar. A prática de pulverização foliar possibilita menor contato do Se com o solo, diminuindo assim, os problemas com sorção (NAWAZ *et al.*, 2015a). Outra explicação que embasa a adubação foliar é devido à redução da atividade radicular que ocorre no início do estágio reprodutivo e se estende até a maturação. Desta forma, a absorção de nutrientes diminui, ao mesmo tempo que há grande translocação de nutrientes das folhas para os grãos (REZENDE *et al.*, 2005).

A pulverização foliar favorece o transporte de Se pelo xilema e floema, sendo observado transferência direta e acúmulo de Se nas plantas. Após sua aplicação foliar, há entrada na planta pelas folhas e metabolização nos plastídeos pela rota de assimilação do enxofre, formando selenoaminoácidos como Se-cisteína (SeCys) e Se-metionina (SeMet) (Figura 1) (FENG; WEI; TU, 2013; SCHIAVON; PILON-SMITS, 2016; TERRY *et al.*, 2000). Nesta rota, para que a planta utilize o SeO_4^{2-} aplicado, ele deve ser reduzido à SeO_3^{2-} e posteriormente à seleneto (Se^{2-}), para que depois, seja incorporado aos Se-aminoácidos (EL MEHDAWI *et al.*, 2012). Após a formação dos Se-aminoácidos, há incorporação em proteínas seleníferas como, por exemplo, a metilselenocisteína (SeMSeCys), γ -glutamil-

SeMSeCys e metilselenometionina, (BROADLEY *et al.*, 2006; EL MEHDAWI *et al.*, 2012; LIMA; PILON-SMITS; SCHIAVON, 2018).

Figura 1 - Estrutura de aminoácidos metionina e cisteína representando a substituição de enxofre (S) pelo selênio(Se) mantendo a conformidade estrutural análoga em ambos de aminoácidos. UFLA, Lavras, MG, 2019. Fonte: Arquivo pessoal.



A movimentação do Se dentro da planta também é influenciada pelas formas presentes, de modo que o Se inorgânico (SeO_4^{2-} e SeO_3^{2-}) é transportado via floema e xilema, enquanto que as formas orgânicas (Se-metionina e Se-cisteína) são apenas pelo floema. Esta diferença entre os modos de transporte de Se influencia seu local de deposição dentro da planta, indicando que a biofortificação deve ser realizada observando o órgão comestível para incrementar os teores de Se (CAREY *et al.*, 2012).

4.4 Programas de biofortificação de Se

A concentração de Se no solo é altamente variável, podendo apresentar valores de 0,005 mg kg⁻¹ em áreas da China e Finlândia, a 8.000 mg kg⁻¹ em solos seleníferos da Rússia (MORA *et al.*, 2015). Vários países do mundo já relataram baixa disponibilidade de Se nos solos, resultando em baixo consumo pela população. Solos deficientes podem ser encontrados no Reino Unido, África, Finlândia, Turquia, Nepal, algumas regiões da China, Dinamarca e Índia (YASIN *et al.*, 2015) e também no Brasil. Os solos brasileiros apresentam grande variabilidade do teor de Se, em que os teores podem variar de < 0,08 a 1,61 mg kg⁻¹, com a média de 0,19 mg kg⁻¹ no estado de São Paulo (GABOS; ALLEONI; ABREU, 2014) e 0,30 a 5,97 mg kg⁻¹ no Vale do Jequitinhonha, Minas Gerais (MATOS *et al.*, 2017). Neste cenário, alguns países têm adotado medidas que visam aumentar a ingestão de Se pela população.

Um dos países que têm tido resultados contundentes em relação à biofortificação é a Finlândia. A partir dos resultados encontrados em experimentos conduzidos, as autoridades governamentais do país decidiram por adicionar Se aos fertilizantes NPK e avaliar o impacto dessa medida na concentração sérica da população. Inicialmente foi proposto a adição de 16 mg kg⁻¹ de Se em fertilizantes destinados à lavouras convencionais. Contudo, os teores séricos aumentaram demasiadamente, e então, os valores foram reduzidos para 6 mg kg⁻¹ e posteriormente foi aumentado para 10 mg kg⁻¹ de Se (ALFTHAN *et al.*, 2015; CAKMAK, 2008; HARTIKAINEN, 2005).

A estratégia de adubação com Se resultou em aumento nos teores nos alimentos encontrados na Finlândia. Alimentos como carne bovina, leite, queijo e ovos apresentaram aumento significativo. Quando comparados aos teores de 1970, os incrementos no teor de Se foram da ordem de 10, seis e três vezes superiores após a adoção de fornecimento de Se, respectivamente para o leite, queijo e ovos. Já para carne bovina, o aumento foi ainda mais significativo, sendo 13 vezes superior na década de 1970 (HARTIKAINEN, 2005).

Apesar da baixa concentração de Se nos solos brasileiros, e conseqüentemente baixos teores nos alimentos, até o ano de 2016 não havia regulamentação governamental que incentivasse a adição de Se em fertilizantes. No ano de 2016, entrou em vigor uma instrução normativa que autoriza a adição de Se em fertilizantes (IN 46-2016). Esta instrução normativa porém, não abrange com detalhes a quantidade necessária para incrementar o teor nos alimentos, de forma que, faz-se necessário pesquisas para determinar o teor adequado para aumentar a concentração de Se no sistema de produção. Todavia, a autorização para fornecer Se via fertilizantes é um avanço significativo para os programas de biofortificação brasileiros.

4.5 Biofortificação de soja

Os alimentos são a principal fonte de minerais para alimentação humana, e com isso, a ingestão de alimentos que apresentam maior qualidade nutricional tem ganhado destaque nos últimos anos. Neste sentido, a soja apresenta grande potencial de biofortificação, pois é a leguminosa mais cultivada atualmente (BORNHOFEN *et al.*, 2015). Além disso, a soja está entre as quatro espécies mais cultivadas mundialmente, ocupando cerca de 6% das terras cultiváveis (VALLIYODAN *et al.*, 2017). Sua produção mundial no ano de 2018/19 está estimada em 360 milhões de toneladas, sendo que o Brasil irá produzir cerca de 117 milhões de toneladas, atrás apenas dos Estados Unidos, que é estimado em 123 milhões de toneladas (USDA, 2019).

Os principais usos da soja são para alimentação humana, animal e matéria prima para produtos industrializados. Na alimentação humana ela pode ser preparada de várias formas, como por exemplo, brotos de soja, proteína tostada, farinha, leite, tofu, *in natura*, cozida e também óleo vegetal (DORFF, 2007). A soja ainda apresenta grande importância para os Asiáticos, que consomem cerca de 20 a 80 gramas diariamente das mais diversas formas, além de ser um alimento de grande importância para vegetarianos e veganos (PENHA *et al.*, 2007; WANG; MURPHY, 1994). Para os animais, a soja é fornecida através de rações produzidas do farelo, *in natura*, na formação de combinações com outros alimentos e também de tegumento de soja (CARVALHO *et al.*, 2007).

A soja é uma cultura que apresenta alto teor de proteína nos grãos, que corresponde a 35 a 45% da matéria seca (YANG *et al.*, 2003). Associado à alta síntese proteica da cultura, o Se pode apresentar um papel benéfico para a cultura devido ele influenciar na síntese de Se-proteínas e desta forma, a aplicação de Se na soja pode ser uma alternativa viável para produção de alimentos funcionais enriquecidos com Se. Alguns autores ainda afirmam que a soja possui alta eficiência na incorporação de Se em compostos orgânicos, podendo apresentar cerca de 89% do Se nesta forma (SATHE *et al.*, 1992).

A adição de Se promove alterações na assimilação de S e, conseqüentemente, afeta a síntese de proteína e aminoácidos. Desta forma, apesar de controverso, alguns autores afirmam que a adição de Se pode ocasionar efeito adicional nos teores de proteínas e aminoácidos, pois, dentro das plantas, a formação de proteínas pode ser pela ligação de Se ou

S, ocasionando a formação de Se-aminoácidos como Se-Met e Se-Cys e também de aminoácidos sulfurados (GUPTA; GUPTA, 2017).

A prática de biofortificação na cultura da soja tem sido menos estudada quando se compara às culturas do trigo e arroz, mas sua capacidade em bioacumular Se nos grãos já é comprovada (DJANAGUIRAMAN *et al.*, 2004). Em trabalho realizado por Yang *et al.* (2003), os autores afirmam que a pulverização foliar com a dose 200 g ha⁻¹ de Se foi mais eficiente do que a aplicação de 300 g ha⁻¹ de Se no acúmulo de Se nos grãos, ambos na forma de selenito de sódio.

Além da biofortificação de soja com Se, a cultura tem sido utilizada para biofortificação com vários outros nutrientes, como por exemplo zinco (Zn) (GHASEMIAN; GHALAVAND; PIRZAD, 2010b; ZOU *et al.*, 2014), ferro (Fe) (GHASEMIAN; GHALAVAND; PIRZAD, 2010b; SILVA *et al.*, 2017), cálcio (Ca) (SILVA *et al.*, 2017) e manganês (Mn) (GHASEMIAN; GHALAVAND; PIRZAD, 2010b), possuindo resultados satisfatórios no incremento do teor destes nutrientes.

Tendo em vista a importância da biofortificação e do potencial da soja para esta finalidade, faz-se necessário a definição de técnica que proporcione melhor eficiência da prática, como por exemplo, definição do estágio fenológico da cultura que deve ser realizada a pulverização foliar de Se. De modo geral, alguns autores tem recomendado a aplicação de fertilizantes foliares na fase reprodutiva da cultura, para que haja translocação imediata no nutriente aplicado (SILVA *et al.*, 2018; SWIETLIK, 2002). Em relação à biofortificação com Se, a aplicação nos estádios reprodutivos também é interessante, pois espera-se que grande parte do Se seja translocado para os grãos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALAEJOS, M. S.; DÍAZ ROMERO, F. J.; DÍAZ ROMERO, C. Selenium and cancer: Some nutritional aspects. **Nutrition**, London, v. 16, n. 5, p. 376–383, may. 2000.

ALFTHAN, G. et al. Effects of nationwide addition of selenium to fertilizers on foods, and animal and human health in Finland: From deficiency to optimal selenium status of the population. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, Stuttgart, v. 31, p. 142–147, may. 2015.

ANDRADE, F. R. et al. Selenium protects rice plants from water deficit stress. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, New York, v. 164, p. 562–570, nov. 2018.

ARAÚJO, A. M. et al. Soil management and ionic strength on selenate retention in oxidic soils. **Ciencia e Agrotecnologia**, Lavras, v. 42, n. 4, p. 395–407, jul/aug. 2018.

BAÑUELOS, G. S. et al. Continued selenium biofortification of carrots and broccoli grown in soils once amended with Se-enriched *S. pinnata*. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 7, n. August, p. 1–11, aug. 2016.

BAÑUELOS, G. S.; LIN, Z. Q. Cultivation of the Indian fig *Opuntia* in selenium-rich drainage sediments under field conditions. **Soil Use and Management**, [S.l.], v. 26, n. 2, p. 167–175, may. 2010.

BERKELAAR, J. K. E. Plant uptake and translocation of inorganic and organic forms of selenium. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, [S.l.], v. 65, n. 3, p. 458–465, oct. 2013.

BOLDRIN, P. F. et al. Selenato e selenito na produção e biofortificação agrônômica com selênio em arroz. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 47, n. 6, p. 831–837, jun. 2012.

BOLDRIN, P. F. et al. Soil and foliar application of selenium in rice biofortification. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v. 31, n. 2, p. 238–244, sep. 2013.

BORNHOFEN, E. et al. Épocas de semeadura e desempenho qualitativo de sementes de soja. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 45, n. 1, p. 46–55, mar. 2015.

BROADLEY, M. R. et al. Biofortification of UK food crops with selenium. **Proceedings of the Nutrition Society**, [S.l.], v. 65, n. 02, p. 169–181, may. 2006.

BRUNETTO, G. et al. the Role of Mineral Nutrition on Yields and Fruit Quality in Grapevine, Pear and Apple. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 37, n. 4, p. 1089–1104, oct./dec. 2016.

CAKMAK, I. Enrichment of cereal grains with zinc: Agronomic or genetic biofortification? **Plant and Soil**, The Hague, v. 302, n. 1–2, p. 1–17, nov. 2007.

CAPPA, J. J.; PILON-SMITS, E. A. H. Evolutionary aspects of elemental

hyperaccumulation. **Planta**, Amsterdam, v. 239, n. 2, p. 267–275, feb. 2013.

CAREY, A. et al. Grain accumulation of selenium species in rice. **Environmental Science and Technology**, Berkeley, v. 46, n. April, p. 5557–5564, may. 2012.

CARVALHO, A. D. et al. Processamento da soja integral e uso em dietas para suínos: digestibilidade e metabolismo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 36, n. 6, p. 2023–2028, dec. 2007.

CARVALHO, G. S. et al. Selenium and mercury in brazilian Cerrado soils and their relationships with physical and chemical soil characteristics. **Chemosphere**, Oxford, v. 218, p. 412–415, mar. 2019.

CHAN, Q.; AFTON, S. E.; CARUSO, J. A. Selenium speciation profiles in selenite-enriched soybean (*Glycine Max*) by HPLC-ICPMS and ESI-ITMS. **Metallomics**, Cambridge, v. 2, n. 2, p. 147–153, feb. 2010.

CHEN, X. et al. Studies on the relations of selenium and Keshan disease. **Biological Trace Element Research**, Clifton, v. 2, n. 2, p. 91–107, jun. 1980.

COMBS, G. F. Selenium in global food systems. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 85, n. 05, p. 517, may 2001.

COPPIN, F.; CHABROULLET, C.; MARTIN-GARIN, A. Selenite interactions with some particulate organic and mineral fractions isolated from a natural grassland soil. **European Journal of Soil Science**, Oxford, v. 60, n. 3, p. 369–376, apr. 2009.

CORGUINHA, A. P. B. et al. Potential of cassava clones enriched with β -carotene and lycopene for zinc biofortification under different soil Zn conditions. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 99, n. 2, p. 666–674, aug. 2018.

CUVARDIC, M. S. Selenium in Soil. **Proceedings for Natural Sciences**, [S.l.], v. 104, n. jan. 2003, p. 23–37, 2003.

DENG, X. et al. Difference of selenium uptake and distribution in the plant and selenium form in the grains of rice with foliar spray of selenite or selenate at different stages. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 211, n. 1, p. 165–171, sep. 2017.

DJANAGUIRAMAN, M. et al. Impact of selenium spray on monocarpic senescence of soybean (*Glycine Max L.*). **Food, Agriculture & Environment**, Helsinki, v. 2, n. 2, p. 44–47, apr. 2004.

DJANAGUIRAMAN, M. et al. Selenium - An antioxidative protectant in soybean during senescence. **Plant and Soil**, The Hague, v. 272, n. 1–2, p. 77–86, sep. 2005.

DRAHOŇOVSKÝ, J. et al. Selenium uptake, transformation and inter-element interactions by selected wildlife plant species after foliar selenate application. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v. 125, p. 12–19, may 2016.

EKANAYAKE, L. J. et al. Selenium fertilization on lentil (*Lens culinaris* Medikus) grain

yield, seed selenium concentration, and antioxidant activity. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 177, p. 9–14, mar. 2015.

EL MEHDAWI, A. F. et al. Interactions of selenium hyperaccumulators and nonaccumulators during cocultivation on seleniferous or nonseleniferous soil - the importance of having good neighbors. **New Phytologist**, Lancaster, v. 194, n. 1, p. 264–277, 2012.

FARIA, L. DE A.; KARP, F. H. S. Selênio: um elemento essencial ao homem e aos animais e benéfico às plantas. **Informações agronômicas**, Piracicaba, n. 149, p. 17–22, mar. 2015.

FENG, R.; WEI, C.; TU, S. The roles of selenium in protecting plants against abiotic stresses. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v. 87, p. 58–68, mar. 2013.

FIGUEIREDO, M. A. DE et al. Zinc and selenium accumulation and their effect on iron bioavailability in common bean seeds. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v. 111, p. 193–202, feb. 2017.

FORDYCE, F. Selenium geochemistry and health. **Ambio**, [S.l.], v. 36, n. 1, p. 94–97, 2007.

FORDYCE F.M. (2013) Selenium Deficiency and Toxicity in the Environment. In: Selinus O. (eds) *Essentials of Medical Geology*. Springer, Dordrecht, pp 375-416, 2013.

GABOS, M. B.; ALLEONI, L. R. F.; ABREU, C. A. Background levels of selenium in some selected Brazilian tropical soils. **Journal of Geochemical Exploration**, Amsterdam, v. 145, p. 35–39, Oct. 2014.

GE, K.; YANG, G. The epidemiology of selenium deficiency in the etiological study of endemic diseases in China. **American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v. 57, n. February, p. 259–263, feb. 1993.

GERLAND, P. et al. World population stabilization unlikely this century. **Science**, New York, v. 346, n. 6206, p. 234 – 237, 10 out. 2014.

GERM, M. et al. Is foliar enrichment of pea plants with iodine and selenium appropriate for production of functional food? **Food Chemistry**, Washington, v. 267, n.1, feb. 2017, p. 368–375, 2018.

GERM, M.; KREFT, I.; OSVALD, J. Influence of UV-B exclusion and selenium treatment on photochemical efficiency of photosystem II, yield and respiratory potential in pumpkins (*Cucurbita pepo* L.). **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v. 43, n. 5, p. 445–448, may. 2005.

GHASEMIAN, V.; GHALAVAND, A.; PIRZAD, A. The effect of Iron, Zinc and Manganese on quality of soybean seed. **Journal of Phytochemistry**, Abu Dhabi, v. 2, n. 11, p. 73–79, jan. 2010.

GOLUBKINA, N.; KEKINA, H.; CARUSO, G. Yield, quality and antioxidant properties of Indian mustard (*Brassica juncea* L.) in response to foliar biofortification with selenium and iodine. **Plants**, Basel, v. 7, n. 4, p. 1-14, set. 2018.

GONZALI, S.; KIFERLE, C.; PERATA, P. Iodine biofortification of crops: agronomic biofortification, metabolic engineering and iodine bioavailability. **Current Opinion in Biotechnology**, [S.l.], v. 44, p. 16–26, apr. 2017.

GRAHAM, R. D. et al. Nutritious Subsistence Food Systems. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 92, n. 04, p. 1–74, may 2007.

GUPTA, M.; GUPTA, S. An Overview of Selenium Uptake, Metabolism, and Toxicity in Plants. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 7, n. 1, p. 1–14, jan. 2017.

HART, D. J. et al. Selenium concentration and speciation in biofortified flour and bread: Retention of selenium during grain biofortification, processing and production of Se-enriched food. **Food Chemistry**, Washington, v. 126, n. 4, p. 1771–1778, jun. 2011.

HARTIKAINEN, H. Biogeochemistry of selenium and its impact on food chain quality and human health. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, Stuttgart, v. 18, n. 4, p. 309–318, jun. 2005.

HATFIELD, D. L. et al. Selenium and selenocysteine: Roles in cancer, health, and development. **Trends in Biochemical Sciences**, [S.l.], v. 39, n. 3, p. 112–120, jan. 2014.

HU, J. et al. Antioxidant activities of Se-SPI produced from soybean as accumulation and biotransformation reactor of natural selenium. **Food Chemistry**, Washington, v. 146, p. 531–537, sep. 2014.

JIANG, Y. et al. Effects of selenium fertilizer on grain yield, se uptake and distribution in common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench). **Plant, Soil and Environment**, Prague, v. 61, n. 8, p. 371–377, aug. 2015.

KÁPOLNA, E. et al. Effect of foliar application of selenium on its uptake and speciation in carrot. **Food Chemistry**, Washington, v. 115, n. 4, p. 1357–1363, aug. 2009.

KÁPOLNA, E. et al. Bio-fortification and isotopic labelling of Se metabolites in onions and carrots following foliar application of Se and ⁷⁷Se. **Food Chemistry**, Washington, v. 133, n. 3, p. 650–657, aug. 2012.

KÖHRLE, J. Thyroid hormone deiodination in target tissues--a regulatory role for the trace element selenium? **Experimental and clinical endocrinology**, Stuttgart, v. 102, n. 2, p. 63–89, mar/apr. 1994.

KOPSELL, D. A. et al. Selenization of basil and cilantro through foliar applications of selenate-selenium and selenite-selenium. **HortScience**, Alexandria, v. 44, n. 2, p. 438–442, apr. 2009.

KUSHNER, E. J. On determining the statistical parameters for pollution concentration from a truncated data set. **Atmospheric Environment**, [S.l.], v. 10, n. 11, p. 975–979, nov. 1976.

LARA, T. S. et al. Selenium biofortification of wheat grain via foliar application and its effect on plant metabolism. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v. 81, n. October 2018, p. 10–18, aug. 2019.

LESSA, J. H. L. et al. Adsorption-desorption reactions of selenium (VI) in tropical cultivated and uncultivated soils under Cerrado biome. **Chemosphere**, Oxford, v. 164, p. 271–277, sep. 2016.

LI, H. F.; MCGRATH, S. P.; ZHAO, F. J. Selenium uptake, translocation and speciation in wheat supplied with selenate or selenite. **New Phytologist**, Lancaster, v. 178, n. 1, p. 92–102, jan. 2008.

LI, Z. et al. Interaction between selenium and soil organic matter and its impact on soil selenium bioavailability: A review. **Geoderma**, Amsterdam, v. 295, p. 69–79, n. 1, jun. 2017.

LIMA, L. W.; PILON-SMITS, E. A. H.; SCHIAVON, M. Mechanisms of selenium hyperaccumulation in plants: A survey of molecular, biochemical and ecological cues. **Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects**, Cambridge, v. 1862, n. 11, p. 2343–2353, apr. 2018.

LIU, X. et al. Effects of sulfur and sulfate on selenium uptake and quality of seeds in rapeseed (*Brassica napus* L.) treated with selenite and selenate. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v. 135, p. 13–20, mar. 2017.

LOPES, G.; ÁVILA, F. W.; GUILHERME, L. R. G. Review Selenium behavior in the soil environment and its implication for human health. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 41, n. 6, p. 605–615, nov./dec. 2017.

MALAGOLI, M. et al. Effects of selenium biofortification on crop nutritional quality. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 6, n. April, p. 1–5, apr. 2015.

MATOS, R. P. et al. Correlation between the natural levels of selenium and soil physicochemical characteristics from the Jequitinhonha Valley (MG), Brazil. **Journal of Geochemical Exploration**, Amsterdam, v. 172, p. 195–202, jan. 2017.

MEDIC, J.; ATKINSON, C.; HURBURGH, C. R. Current knowledge in soybean composition. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, [S.l.], v. 91, n. 3, p. 363–384, jan. 2014.

MEHDI, Y. et al. Selenium in the environment, metabolism and involvement in body functions. **Molecules**, Saltillo, v. 18, n. 3, p. 3292–3311, mar. 2013.

MIRLEAN, N.; SEUS-ARRACHE, E. R.; VLASOVA, O. Selenium deficiency in subtropical littoral pampas: environmental and dietary aspects. **Environmental Geochemistry and Health**, Nizhny Novgorod, v. 40, n. 1, p. 543–556, feb. 2018.

MORA, M. et al. Improving selenium status in plant nutrition and quality. **Journal of soil science and plant nutrition**, Temuco, v. 15, n. 2, p. 486–503, jun. 2015.

NATASHA et al. A critical review of selenium biogeochemical behavior in soil-plant system with an inference to human health. **Environmental Pollution**, Barking, v. 234, p. 915–934, mar. 2017.

NAWAZ, F. et al. Effect of selenium foliar spray on physiological and biochemical processes and chemical constituents of wheat under drought stress. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, New York, v. 113, p. 191–200, mar. 2015a.

NAWAZ, F. et al. Supplemental selenium improves wheat grain yield and quality through alterations in biochemical processes under normal and water deficit conditions. **Food Chemistry**, Washington, v. 175, p. 350–357, dec. 2015b.

PANDEY, C.; GUPTA, M. Selenium and auxin mitigates arsenic stress in rice (*Oryza sativa* L.) by combining the role of stress indicators, modulators and genotoxicity assay. **Journal of Hazardous Materials**, [S.l.], v. 287, p. 384–391, jan. 2015.

PENHA, L. A. O. et al. A soja como alimento: valor nutricional, benefícios para a saúde e cultivo orgânico. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 25, n. 1, p. 91–102, jul. 2007.

QIN, H. B.; ZHU, J. M.; SU, H. Selenium fractions in organic matter from Se-rich soils and weathered stone coal in selenosis areas of China. **Chemosphere**, Oxford, v. 86, n. 6, p. 626–633, feb. 2012.

RAMOS, S. J. et al. Selenate and selenite on yield, mineral nutrition and biofortification with selenium in lettuce cultivars. **Revista brasileira de ciência do solo**, Viçosa, v. 35, n. 4, p. 1347–1355, aug. 2011.

RAMOS, S. J. et al. Response of brachiaria grass to selenium forms applied in a tropical soil. **Plant, Soil and Environment**, Prague, v. 58, n. 11, p. 521–527, jan. 2012.

RAYMAN, M. P. Selenium and human health. **The Lancet**, Guildford, v. 379, n. 9822, p. 1256–1268, apr. 2012.

REIS. Summary for Policymakers. **Climate Change 2013 - The Physical Science Basis**, v. 8, n. 2, p. 1–30, 2014.

REIS, A. R. et al. Biofortificação agrônômica com selênio no Brasil como estratégia para aumentar a qualidade dos produtos agrícolas. **Revista Brasileira de Engenharia de Biosistemas**, Tupã, v. 8, n. 2, p. 128–138, dec. 2014.

REIS, H. P. G. et al. Agronomic biofortification of upland rice with selenium and nitrogen and its relation to grain quality. **Journal of Cereal Science**, London, v. 79, p. 508–515, jan. 2018.

REZENDE, P. M. DE et al. Adubação foliar. I. épocas de aplicação de fósforo na cultura da soja. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 29, n. 6, p. 1105–1111, nov/dec. 2005.

ROS, G. H. et al. Selenium fertilization strategies for bio-fortification of food: an agro-ecosystem approach. **Plant and Soil**, The Hague, v. 404, n. 1–2, p. 99–112, jul. 2016.

SATHE, S. K. et al. Chemical Form of Selenium in Soybean (*Glycine max* L.) Lectin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 40, n. 11, p. 2084–2091, nov. 1992.

SCHIAVON, M. et al. Selenium fertilization alters the chemical composition and antioxidant constituents of tomato (*Solanum lycopersicon* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 61, n. 44, p. 10542–10554, nov. 2013.

SCHIAVON, M.; PILON-SMITS, E. A. H. The fascinating facets of plant selenium accumulation – biochemistry, physiology, evolution and ecology. **New Phytologist**, Lancaster, v. 213, n. 4, p. 1582–1596, mar. 2017.

SHABBIR, R. N. et al. Selenium (Se) regulates seedling growth in wheat under drought stress. **Advances in Chemistry**, Cairo, v. 2014, p. 1–7, jul. 2014.

SHALTOUT, A. A. et al. Method development and optimization for the determination of selenium in bean and soil samples using hydride generation electrothermal atomic absorption spectrometry. **Talanta**, Cambridge, v. 85, n. 3, p. 1350–1356, sep. 2011.

SILVA, N. F. DA et al. Manejo fisiológico na fase de enchimento de grãos da cultura da soja com fertilizante foliar. **Global Science and Technology**, [S.l.], v. 10, n. 3, p. 54–65, set/dez. 2017.

SILVA, M. DE L. C. et al. Intestinal absorption of iron and calcium from soy and cow's milk-based infant formulas in weanling rats pups. **Revista de Nutrição**, Pinheiros, v. 30, n. 1, p. 13–22, jan./feb. 2017.

SINGH, M. K.; PRASAD, S. K. Agronomic aspects of zinc biofortification in rice (*Oryza sativa* L.). **Proceedings of the National Academy of Sciences India Section B - Biological Sciences**, Prayagraj, v. 84, n. 3, p. 613–623, sep. 2014.

SORS, T. G.; ELLIS, D. R.; SALT, D. E. Selenium uptake, translocation, assimilation and metabolic fate in plants. **Photosynthesis Research**, Dordrecht, v. 86, n. 3, p. 373–389, dec. 2005.

SUPRIATIN, S.; WENG, L.; COMANS, R. N. J. Selenium speciation and extractability in Dutch agricultural soils. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 532, p. 368–382, nov. 2015.

SWIETLIK, D. Zinc nutrition of fruit trees by foliar sprays. **Acta Horticulturae**, [S.l.], v. 594, p. 123–129, 2002.

TEIXEIRA, P. C. et al. **Micromorfologia do solo**. 3. ed. rev ed. 2017, 573p.

TERRY, N. et al. Selenium in higher plants. **Annual review of plant physiology and plant molecular biology**, Palo Alto, v. 51, p. 401–432, jun. 2000.

TUIJTELAARS, S. et al. Minimising the population risk of micronutrient deficiency and over-consumption: a new approach using selenium as an example. **European Journal of Nutrition**, Oxford, v. 47, n. 1, p. 17–25, feb. 2008.

VALLIYODAN, B. et al. Genetic diversity and genomic strategies for improving drought and waterlogging tolerance in soybeans. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 68, n. 8, p.

1835–1849, apr. 2017.

VAN HOEWYK, D. A tale of two toxicities: Malformed selenoproteins and oxidative stress both contribute to selenium stress in plants. **Annals of Botany**, Oxford, v. 112, n. 6, p. 965–972, oct. 2013.

WANG, H. J.; MURPHY, P. A. Isoflavone content in commercial soybean foods. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 42, n. 8, p. 1666–1673, aug. 1994.

WANG, J. et al. Transcriptome-wide comparison of selenium hyperaccumulator and nonaccumulator *Stanleya* species provides new insight into key processes mediating the hyperaccumulation syndrome. **Plant Biotechnology Journal**, Oxford, v. 16, n. 9, p. 1582–1594, feb. 2018.

WANG, Q. et al. Influence of long-term fertilization on selenium accumulation in soil and uptake by crops. **Pedosphere**, Nanjing, v. 26, n. 1, p. 120–129, feb. 2016.

WHITE, P. J. et al. Interactions between selenium and sulphur nutrition in *Arabidopsis thaliana*. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 55, n. 404, p. 1927–1937, aug. 2004.

WHITE, P. J. et al. Extraordinarily high leaf selenium to sulfur ratios define “Se-accumulator” plants. **Annals of Botany**, Oxford, v. 100, n. 1, p. 111–118, may. 2007.

WHITE, P. J. Selenium metabolism in plants. **Biochimica et Biophysica Acta – General Subjects**, [S.l.], v. 1862, n. 11, p. 2333–2342, may. 2018.

WHITE, P. J.; BROADLEY, M. R. Biofortification of crops with seven mineral elements often lacking in human diets – iron, zinc, copper, calcium, magnesium, selenium and iodine. **New Phytologist**, Lancaster, p. 49–84, v. 182, n. 1, jan. 2009.

WU, Z. et al. Biofortification and phytoremediation of selenium in China. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 6, n. 8, p. 1–8, mar. 2015.

YANG, F. et al. Effect of the application of selenium on selenium content of soybean and its products. **Biological Trace Element Research**, Clifton, v. 93, n. 1–3, p. 249–256, feb. 2003.

YASIN, M. et al. Microbial-enhanced Selenium and Iron Biofortification of Wheat (*Triticum aestivum* L.) - Applications in Phytoremediation and Biofortification. **International Journal of Phytoremediation**, Boca Raton, v. 17, n. 4, p. 341–347, apr. 2015.

ZHAO, X. et al. Distribution and effects of natural selenium in soybean proteins and its protective role in soybean β -conglycinin (7S globulins) under AAPH-induced oxidative stress. **Food Chemistry**, Washington, v. 272, n. October 2017, p. 201–209, jan. 2019.

ZOU, T. et al. Biofortification of soybean sprouts with zinc and bioaccessibility of zinc in the sprouts. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 94, n. 14, p. 3053–3060, nov. 2014.

PARTE II – ARTIGO

**AGRONOMIC BIOFORTIFICATION OF SOYBEAN WITH SELENIUM VIA
FOLIAR APPLICATION**

Manuscrito segundo as normas da revista “FOOD CHEMISTRY”

Gustavo Ferreira de Sousa¹, Maila Adriely Silva¹, Ana Paula Branco Corguinha¹, Josimar Henrique de Lima Lessa¹, Guilherme Lopes¹, Luiz Roberto Guimarães Guilherme¹

¹Departamento de Ciência do Solo, Universidade Federal de Lavras, Lavras, Minas Gerais, 37200-000, Brazil

AGRONOMIC BIOFORTIFICATION OF SOYBEAN WITH SELENIUM VIA FOLIAR APPLICATION

Gustavo Ferreira de Sousa^a; Maila Adriely Silva^a; Josimar Henrique de Lima Lessa^a; Ana Paula Branco Corguinha^a; Guilherme Lopes^a; Luiz Roberto Guimarães Guilherme^{a*}

^aDepartment of Soil Science, Federal University of Lavras, Minas Gerais State, Brazil

ABSTRACT – Selenium (Se) is a key component of selected amino acids and an important nutrient for humans and animals. To overcome problems associated to soil Se deficiency worldwide, different agronomic strategies have been proposed for increasing Se content in various crop plants, especially the protein-rich ones, e.g., soybean. We have performed different experiments under greenhouse conditions in order to evaluate: i) the potential of soybean as a Se seed-accumulating species following the foliar application of increasing doses of sodium selenate (SS); and, ii) the effect of associating foliar sprays of SS as well as alternative sources of Se (organic compounds) with a fertilizer aimed at improving nutrient translocation (FIT), upon Se content in soybean (grains, leaves, and pods). Foliar application of Se did not affect grain yield and dry mass in all experiments. Total Se content in different plant parts increased linearly as a function of the applied doses of SS, yet the association of SS with FIT did not alter this parameter. Leaves presented the higher amount of Se and the grain Se recovery efficiency was up to 29.43%. Foliar application of alternative sources of Se (organic compounds), associated or not with FIT, resulted in significant increases in Se content in all plant parts (grain, leaf, and pod). The SeM1 source presented potential for use in agronomic biofortification, especially when associated with FIT. Our findings revealed that the foliar application of Se in soybean is an efficient approach for production of biofortified food and that the use of organic Se compounds may be an effective strategy for the agronomic biofortification of soybean grains with selenium.

Keywords: Foliar sprays. High quality food. Alternative selenium sources.

Highlights

- Foliar spray is effective for agronomic biofortification of soybean with Se
- The grain Se recovery efficiency was up to 29.43%
- Alternative selenium sources can be more effective than sodium selenate for increasing Se content in grains

Corresponding author at: Department of Soil Science, Federal University of Lavras, Minas Gerais State, Brazil, CP 3037, Campus UFLA, 37200-000 Lavras (MG) Brazil. E-mail address: guilherm@ufla.br (L. R. G. Guilherme).

1 INTRODUCTION

Increasing food production is an urgent need as the worldwide population - currently at ~7.2 billion people - is estimated to reach 9.6 billion in 2050 (Gerland et al., 2014). In this context, not only food quantity, but also quality, i.e., food nutritional value, needs to be considered, since many people around the world suffer nutritional disorders that can lead to the development of serious diseases and eventually, death (Graham et al., 2007).

Selenium (Se) is an important nutrient for humans and animals (Gupta & Gupta, 2017; Lopes, Ávila, & Guilherme, 2017), and its deficiency occurs due to consumption of Se poor food (Schiavon et al., 2013). The optimum Se supply is $70 \mu\text{g day}^{-1}$ for adult men and $60 \mu\text{g day}^{-1}$ for an adult women and low Se intake may cause heart diseases, decrease male fertility, reduce immune system activity, increase susceptibility to infections and cancer, lower antioxidant activity and thyroid dysfunction (Gupta & Gupta, 2017; Hatfield, Tsuji, Carlson, & Gladyshev, 2014)

Se-poor food is related to poor Se content in the soil (Natasha et al., 2017) and several countries presents low soil Se level, such as China, Egypt, and Brazil (Carvalho, Oliveira, Curi, Schulze, & Marques, 2019; Feng, Wei, & Tu, 2013; Gabos, Alleoni, & Abreu, 2014; Matos, Lima, Windmüller, & Nascentes, 2017). Therefore, it is necessary to take strategies to improve food Se content in agricultural crops.

Several studies have been developed to increase Se content in food (Drahoňovský et al., 2016; Germ et al., 2018; Hart et al., 2011; Hu et al., 2014), as well as to evaluate its interaction with other nutrients (Ramos et al., 2011; Reis et al., 2018). Biofortification is a largely used strategy to improve the uptake and accumulation of specific nutrients in the edible parts of plants (Wu et al., 2015), and can be reached through genetic and agronomic approaches. Genetic biofortification consists of selecting genotypes that have greater capacity to accumulate certain nutrients and to produce beneficial compound (Cakmak, 2008; Hart et al., 2011; Sors, Ellis, & Salt, 2005; Wang et al., 2018), while agronomic biofortification consists in providing nutrients to the plants through agricultural practices, e.g., soil and/or foliar fertilization. In reality, several studies have shown that combining both strategies should be considered to increase the effectiveness of biofortification programs (Corguinha et al., 2018; Reis et al., 2018).

Agronomic biofortification - through soil and/or foliar application of the target nutrient - have been used to enhance Se content in grains (Kopsell, Sams, Barickman, Deyton,

& Kopsell, 2009; Schiavon et al., 2013). Among these strategies, foliar sprays tend to be more efficient than soil application, since it reduces the need of an extra nutrient supply that is required to compensate for interactions (e.g., sorption and microbiological) that occur in the soil, which might compromise Se uptake and accumulation (Kápolna, Laursen, Husted, & Larsen, 2012). Furthermore, Se foliar application facilitates Se transport through xylem and phloem (Nawaz, Ahmad, Ashraf, Waraich, & Khan, 2015).

Selenium uptake and bioavailability can be influenced not only by the fertilization strategy (foliar or soil application), but also by the chemical form of Se, such as selenate or selenite (Boldrin et al., 2012). Selenate is uptake by roots and immediately transferred to shoots via high-affinity sulfate transporters, whereas selenite is mostly incorporated to organic compounds in the roots and unlikely to translocate to the shoots (Sors et al., 2005).

Moreover, the use of selected fertilizers produced with the purpose of improving nutrient translocation together with foliar sprays of Se may be a promising strategy to enhance Se uptake by plants and, as a result, its levels in the grains, since such products have been currently used to increase the translocation of specific nutrients to grains and fruits in the filling stage (Brunetto, Melo, Toselli, Quartieri, & Tagliavini, 2016).

Different crops have been used for Se biofortification purposes, including carrots (Kápolna, Hillestrøm, Laursen, Husted, & Larsen, 2009), rice (Boldrin et al., 2012; Liu et al., 2017a; Singh & Prasad, 2014), wheat (Lara et al., 2019; Li, McGrath, & Zhao, 2008), broccoli (Bañuelos, Arroyo, Dangi, & Zambrano, 2016), lettuce (Ramos et al., 2011), and soybean (Yang, Chen, Hu, & Pan, 2003). Soybean is a good source of high-quality protein, which is relevant as protein-enriched species have greater potential for Se biofortification. Indeed, once absorbed by plants, Se is incorporated into amino acids - and their respective proteins - via the sulfur (S) route (Sors et al., 2005). Considering that soybean consumption is growing worldwide, studies concerning the biofortification of such plant crop with nutrients - Se included - are of great relevance, as this will contribute for a high nutritional quality of the food and feed that is required for the ever-growing global population.

This study assessed the effect of foliar application of different Se doses and sources, associated or not with a fertilizer aimed at improving nutrient translocation, upon soybean grains Se content and grain yield. With that, we hope not only to produce soybean grains of better quality for the national and international markets, but also to suggest strategies that are more effective for the agronomic biofortification of soybean grains with selenium

2 MATERIAL AND METHODS

Four foliar spray greenhouse experiments were performed in this study, with two trials aimed to assess the effect of Se doses (as sodium selenate - SS), associated or not with a fertilizer aimed at improving nutrient translocation (hereafter called FIT) and the other two to evaluate alternative Se-sources associated or not with FIT.

2.1 Soil preparation

All experiments were conducted under greenhouse conditions, using 5-dm³ pots filled with soil collected from the 0–20 cm depth of a clayey Oxisol. Soil physical and chemical analyses followed the methods described by Teixeira et al. (2017) with results as follows: sand = 290 g kg⁻¹; silt = 110 g kg⁻¹; clay = 600 g kg⁻¹; pH H₂O = 4.6; soil organic matter = 56 g kg⁻¹; P (Mehlich 1) = 3.11 mg dm⁻³; K = 91.17 mg dm⁻³; Ca = 1.21 cmol_c dm⁻³; Mg = 0.41 cmol_c dm⁻³; Al = 1.11 cmol_c dm⁻³; H + Al = 13.72 cmol_c dm⁻³; S = 4.11; V% = 11.9. The total soil Se content was 0.8 mg dm⁻³, which was determined after soil digestion according to the USEPA 3051A method (USEPA, 2007). Based on soil chemical analysis, liming was carried out to raise base saturation percentage to 60% using CaO and MgO at a ratio of 4:1, both with analytical reagent grade.

Soil fertilization consisted of 300 mg dm⁻³ of nitrogen (N), 200 mg dm⁻³ of phosphorus (P), 150 mg dm⁻³ of potassium (K), 50 mg dm⁻³ of sulfur (S), 0.5 mg dm⁻³ of boron (B), 0.1 mg dm⁻³ of molybdenum (Mo). For N and K, one third part was applied during sowing fertilization and the remaining amount was applied 15 and 30 days after seedling emergence. Afterward sowing fertilization, five soybean seeds (*Glycine max* L. cv. 58I60) were sowed per pot and seven days after seedling emergence the soybean seedlings were thinned and left two plants per pot.

2.2 Experimental design and treatments

2.2.1 Application of selenium doses

The 1st and 2nd experiments were performed with a randomized block design and tested two Se sources (sodium selenate and sodium selenate + FIT) at four doses, with three replicates. Selenium application was performed through foliar sprays at the beginning of the

seed development stage in the doses: 0; 0.05; 0.20, and 0.40 mg pot⁻¹ for the 1st experiment and 0; 0.10; 0.40, and 0.80 mg pot⁻¹. For the 2nd experiment selenium doses were divided in two sprays, stage one at the beginning pod development and the second one at the beginning of seed development (Table 1). The treatments with FIT received 0.02 g of the product pot⁻¹ and its composition was: nitrogen (N - 5%), phosphorus pentoxide (P₂O₅ - 10%), potassium oxide (K₂O - 20%), magnesium (Mg - 29%), sulfur (S - 12%), and boron (B - 0.5%).

Table 1. description of treatments involving foliar sprays of sodium selenate with or without the FIT in soybean.

Sources	Doses (mg pot ⁻¹)	
	1 st experiment*	2 nd experiment**
Sodium selenate	0	0
	0.05	0.10
	0.20	0.40
	0.40	0.80
Sodium selenate + (FIT)	0	0
	0.05	0.10
	0.20	0.40
	0.40	0.80

*Application performed at beginning seed development stage; **Application performed with half dose at beginning pod development stage and half at beginning seed development stage.

2.2.2 Alternative selenium sources associated with FIT

The 3rd and 4th experiments were performed with four Se sources (plus one control), i.e., sodium selenate, and three Se organic molecules containing different Se concentration (SeM1, SeM2, and SeM3 with 40, 26, and 38% of Se, respectively), associated or not with FIT and three replicates (Table 2).

In the 3rd experiment, it was applied 0.05 mg Se pot⁻¹ by foliar sprays in the beginning pod development stage. In the 4th experiment, the rate was 0.10 mg pot⁻¹ Se, with half being applied at the beginning of the pod development stage and half at the beginning of the seed development stage. The FIT application followed the same steps described for the 1st and 2nd experiments.

Table 2. Sources and doses of Se applied in soybean at different stages.

Sources	Doses (mg pot ⁻¹)	
	3 th experiment*	4 th experiment**
Sodium selenate		
SeM1		
SeM2		
SeM3		
Without Se		
<hr/>		
Sodium Selenate + FIT	0.05	0.10
SeM1 + FIT		
SeM2 + FIT		
SeM3 + FIT		
Without Se + FIT		

*Application performed at beginning seed development stage; **Application performed with half dose at beginning pod development stage and half at beginning seed development stage.

2.2 Selenium solution preparation and application

The solutions were prepared with distilled water and the treatments application were performed with a compression sprayer to distribute the solution on the whole plant. The application was carried out with 10 mL of solution in each pot separately to prevent contamination of neighboring plants.

2.3 Harvest and Measurements

After the complete cycle, soybean plants were harvested, separated into leaf, stem, pod, and grain and then weighed in order to obtain dry mass and grain yield per pot (0.001 g). Afterwards, leaves, stems, pods, and grains were oven-dried at 65-72°C prior to digestions and analyses.

For Se analyses, dried tissues of leaf, stem, pod, and grain (500 mg) were placed into 5.0 mL of concentrated p.a. HNO₃ and the solution was microwaved-digested for 10 minutes (model Mars 5, CEM Corporation, Matthews, NC, USA), according USEPA 3051A method (USEPA, 2007).

Total Se in the digested solutions was determined in an atomic absorption spectrophotometer using electrothermal atomization by graphite furnace (model PerkinElmer Analyst 800). Certified reference materials were included in each batch of samples (n = 9) for quality control. Accumulation of Se (mg pot⁻¹) was calculated as grain Se content (mg kg⁻¹) ×

dry mass for each part (kg pot^{-1}). Grain selenium absorption efficiency (%) was calculated as: $[(\text{mg Se accumulated on Se treatments} - \text{mg Se accumulated on control treatments})/\text{mg of applied Se}] \times 100$.

The detection and quantification limits (LOD and LOQ) were established using 9 blank extracts following the overall procedure. The values were calculated with three and ten times the standard deviation (LOD and LOQ, respectively) (Khan et al., 2013). The analysis the LOD (mg of Se kg^{-1} of extract) was 1.47 and LOQ was (4.90 mg kg^{-1} of extract). The LODs of the analytical methods used (mg kg^{-1} Se sample DW) were 122.07. Non-detects values, were substituted for half of LOD ($\frac{1}{2}\text{LOD}$) (Kushner, 1976; Gillespie et al., 2010). A sample of standard reference material (White Clover - BCR 402, Institute for Reference Materials and Measurements, Geel, Belgium) for plant material was included in each digestion batch for quality control purposes. The mean recovery for Se in this standard reference material (white clover) was 86.8% ($n = 9$, $\bar{x} [\text{Se}] = 5818,33 \text{ mg kg}^{-1}$).

2.4 Statistical analysis

All data were considered normal by the Shapiro-Wilk test. Subsequently, results were statistically analyzed using analysis of variance (ANOVA) and doses models regression were fitted using SISVAR software (version 5.6) for the 1st and 2nd experiment, while the means of 3rd and 4th experiments were compared by Tukey test at the 0.05.

3 RESULTS AND DISCUSSION

3.1. Grain yield and dry mass

There were no significant differences in grain yield, leaf, pod, and stem dry mass in the four evaluated experiments ($p > 0,05$). It has been reported that Se presents beneficial effects to the plants, since it increases the antioxidant activity (Golubkina, Kekina, & Caruso, 2018; Hu et al., 2014), protects the plant from abiotic stresses (Gupta & Gupta, 2017; Shabbir, Ashraf, Waraich, Nawaz, & Ahmad, 2014), reduces drought stress (Shabbir et al., 2014), improves nitrogen and protein contents (Reis et al., 2018), and affects carbohydrates metabolism (Lara et al. 2019), but in this work this was not observed.

Earlier studies indicate that Se addition may increase grain yield in common buckwheat (Jiang et al., 2015), wheat (Nawaz, Ashraf, et al., 2015), and lentil (Ekanayake et al., 2015). Boldrin et al. (2013) showed that the Se foliar application, in both inorganic forms (selenate and selenite), promoted higher rice grain yield in a study carried out in greenhouse, while Andrade et al. (2018) did not observed rice grain yield variation after Se application under field conditions. According to this last study, the increase in Se grain content without a decrease in grain yield can also be considered as an important factor for biofortification programs.

3.2. Application of selenium doses

3.2.1 Selenium content and accumulation

The results showed Relatively high percentages of <LOD data for stem samples (more than 50%), therefore, this plant compartment was not considered in this work. The ANOVA results showed that the Se doses affected Se content in grain, pod, and leaf plant parts and it was not observed significant interaction between sources and doses. It was detected a linear fit in 1st and 2nd experiments, showing that foliar Se application could be used to increase Se content in soybean. The FIT treatments did not affect Se content.

Plant species exhibit different ability to Se uptake and this ability is dependent of genetic characteristics, presence of high-affinity transporter, ability to accumulate organic or inorganic forms and ability to volatilize the Se in methylated forms through the leaves (Schiavon & Pilon-Smits, 2016). There are few studies evaluating the application of Se in soybean (Djanaguiraman, Devi, Shanker, Sheeba, & Bangarusamy, 2004, 2005; Liu et al., 2017; Zhao, Zhao, Chen, & Xiong, 2019), however this specie has great potential for Se biofortification. It is thought that selenate enters the leaf cells through sulfur transporters and it is assimilated by similar way as sulfate, being incorporated into amino acids and it also can be incorporated into numerous secondary Se metabolites derived from Se-Cysteine and Se-Methionine (White, 2018; White, Bowen, Marshall, & Broadley, 2007; White, White, & Broadley, 2009). Moreover, soybean grains have high protein content with an average of 40–41% protein, and this favors an incorporation of Se-amino acids into proteins (Medic, Atkinson, & Hurburgh, 2014).

In both experiments, the leaves presented higher Se content and a similar result was also found in studies with common buckwheat (Jiang et al., 2015). In our experiment, Se grain content increased from 0.06 to 2.7 mg kg⁻¹ in the 1st experiment (Figure 1A) from 0.06 to 6.79 mg kg⁻¹ in the 2nd experiment (Figure 1B). Regardless of SS or SS + FIT spraying, the Se content in different parts of soybean plants followed the descending order: leaf > grain > pod.

Comparing the highest doses of each experiment, the dose of 0.80 mg pot⁻¹ provided 2.5-fold higher Se grain content than the dose of 0.40 mg pot⁻¹, which shows that the application of higher doses divided in two development stages is better to enhance Se content in grains. Generally, Se contents in all plant parts increased linearly with the doses increase. Furthermore, Se content in the doses of 0.40 and 0.80 mg pot⁻¹ were up to 44-fold and 110-fold higher compared to the control, respectively. These results indicate that soybean is a responsive specie for Se biofortification.

Foliar application can promote better results in short term, besides prevents Se immobilization to the soil particles (Ros, van Rotterdam, Bussink, & Bindraban, 2016). Soil Se immobilization may be attributed to the higher availability of adsorption sites for anions as Se – selenate or selenite (Araujo, Lessa, Ferreira, Guilherme, & Lopes, 2018; Lessa, Araujo, Silva, Guilherme, & Lopes, 2016), influence of organic matter and microorganisms. Selenium foliar application could be directly transferred and accumulated in soybean grains, while Se applied to the soil needs to be first absorbed by the roots and then transferred to other organs.

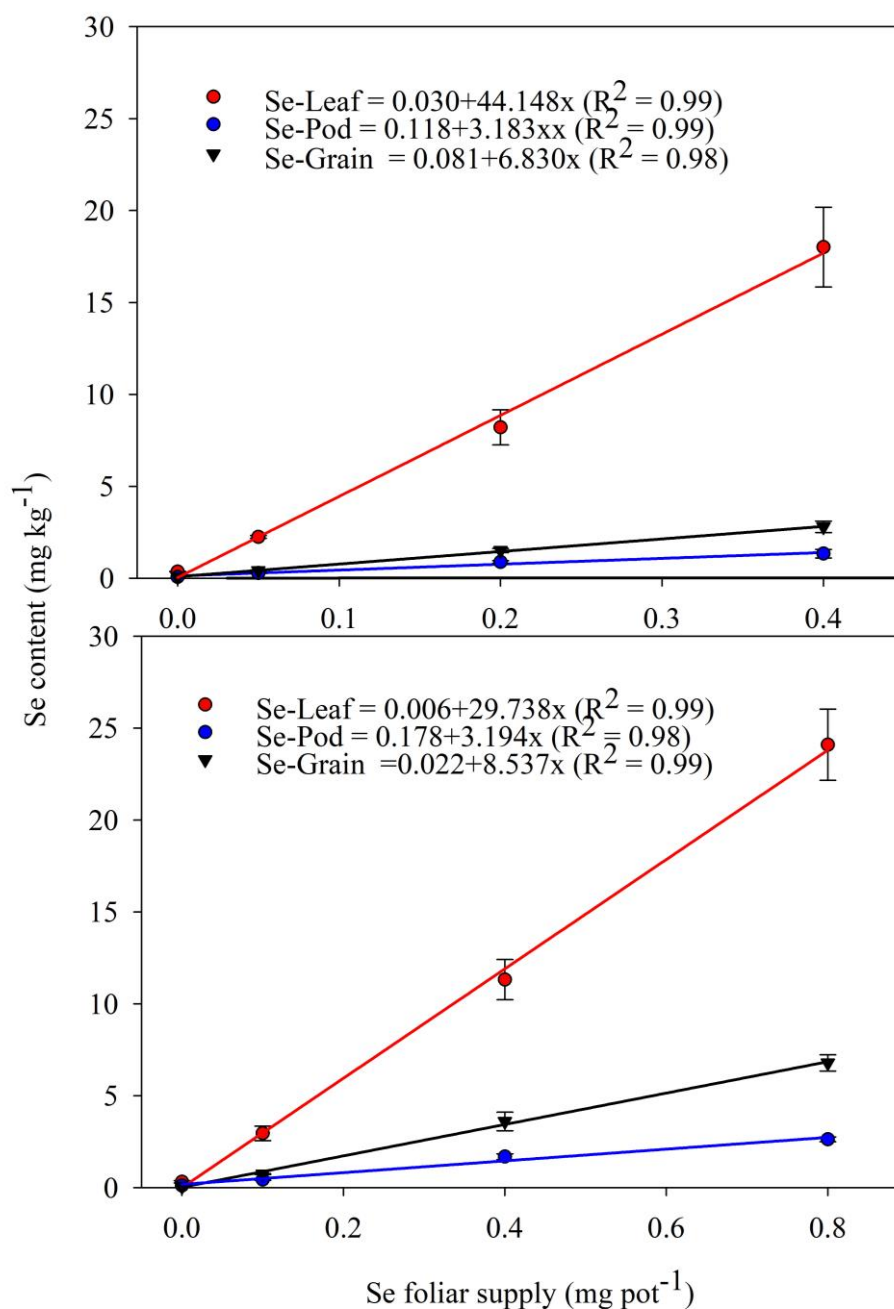


Figure 1. Se content in soybean plant parts submitted to Se foliar application in different sources and doses in 1st experiment (A) and 2nd experiment (B).

Leaf Se content was higher when sodium SS was applied with FIT (Figure 2), but these results did not affect Se grain content. One factor that affects nutrient uptake is the interaction with other elements and this interaction depends on the way that the nutrient is applied and on the accompanying ion. A previous study testing the application of iodine and Se forms in peas (*Pisum sativum* L.) showed that foliar application of SeO_4^{2-} associated to I^- provided higher absorption of Se than the association of SeO_4^{2-} with IO_3^- (Germ et al., 2018).

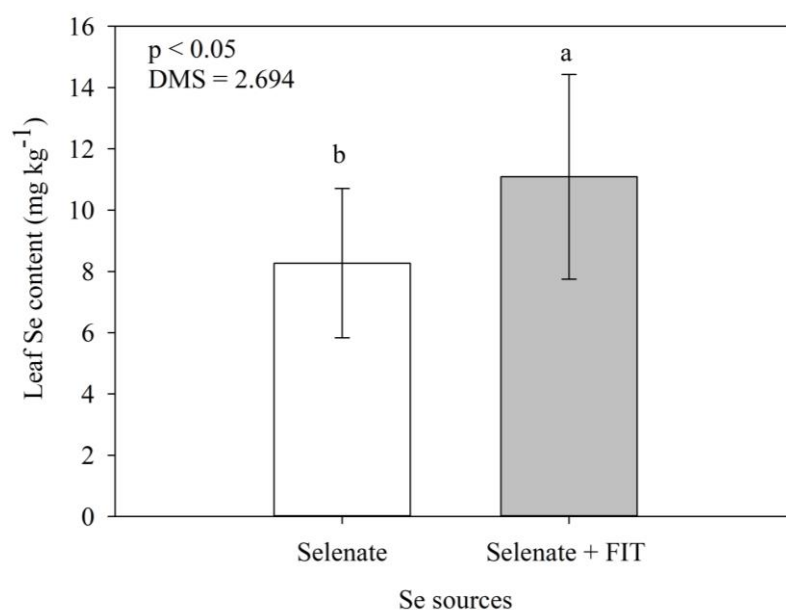


Figure 2: Se content average in soybean leaf submitted to foliar application of sodium selenate associated or not with FIT in the 2nd experiment.

For estimated and observed Se content in leaf, were showed that application performed in 1st experiment (beginning of seed development stage), promoted higher than Se content that application performed in 2nd experiment (with half dose at beginning of pod development stage and half at beginning of seed development stage), however, grain Se content was 15% and 32% higher in 2th, respectively to 0.2 and 0.4 mg pot⁻¹ of Se doses. Se sprayed in two applications is better to improve the Se content in grains (Table 3).

Table 3. Estimated (E) or observed (O) Se content in soybean leaf, pod and grain follow is the application of increasing doses of Se (as sodium selenate) at different plant development stages.

Compartment	1 st experiment*		
	0.1 (E)	0.2 (O)	0.4 (O)
	mg pot ⁻¹ of Se		
Leaf	4.41	8.21	18.014
Pod	0.44	0.88	1.33
Grain	0.76	1.50	2.79
Compartment	2 th experiment **		
	0.1 (O)	0.2 (E)	0.4 (O)
	mg pot ⁻¹ of Se		
Leaf	2.96	5.95	11.31
Pod	0.44	0.82	1.69
Grain	0.73	1.73	3.59

* Application performed at beginning of seed development stage ** Application performed with half dose at beginning of pod development stage and half at beginning of seed development stage.

Concerning the Se recovery efficiency, the average values in the grains were 23.6% and 26.6% in the 1st and 2nd experiments, respectively. Furthermore, our data show that applying the same dose (400 $\mu\text{g pot}^{-1}$) with split application resulted in increase of 6.17% in Se absorption efficiency by grain (Table 4). These results show that if the application of selenium is done twice with higher doses, the soybean biofortification can be more efficient. Boldrin et al. (2013) showed that Se foliar application in rice provided selenium grain absorption efficiency was less than 18% for rice, and varied from 10.1 to 17.3% in wheat in the study of Broadley et al. (2010) and from 13.24 to 15.14% in the Ducsay et al. (2016) study.

Table 4: Observed averages values for grain Se accumulation and grain Se absorption efficiency (%) of soybean after foliar sprays with different sources and doses.

Dose of Se ($\mu\text{g pot}^{-1}$) *	Grain Se accumulation ($\mu\text{g pot}^{-1}$)	Grain Se absorption efficiency (%)
0	1.95	-
50	13.91	23.91
200	49.26	23.65
400	95.00	23.26
	Mean	23.6

Dose ($\mu\text{g pot}^{-1}$) **	Grain Se accumulation ($\mu\text{g pot}^{-1}$)	Grain Se absorption efficiency (%)
0	1.94	-
100	24.43	22.49
400	119.65	29.43
800	225.55	27.95
	Mean	26.6

* Application performed at beginning of seed development stage ** Application performed with half dose at beginning of pod development stage and half at beginning of seed development stage.

Foliar Se supply is a practice that allows greater efficiency for plant nutrition and also is good to improve Se content in grains aiming biofortification (Deng et al., 2017; Germ, Kreft, & Osvald, 2005; Lara et al., 2019; Nawaz, Ahmad, et al., 2015). For greater fertilization effectiveness, this practice must be performed when the plants are in reproductive stages and also in greater metabolic activity. Therefore, beginning pod development and beginning seed development stages are the most suitable phases for nutrient supply through

foliar application for biofortification programs (Rezende, Gris, Carvalho, Gomes, & Bottino, 2005).

3.3. Alternative selenium sources associated with FIT

3.3.1. Selenium content

Evaluating the 3rd experiment, plants treated with 0.05 mg Se pot⁻¹ showed a significant effect in Se content in grain, leaf, and pod compartments (Figure 3). Similarly to the experiment with doses, we can say that Se application in soybean is an effective practice for the production of biofortified grains.

Higher values of Se were found in the leaf (Figure 3). Selenium application resulted in increased grain Se contents rather than control treatment, being that SS and SeM1 showed higher Se content in grains. Moreover, SS was the best source to improve Se contents in pod and leaf. The SeM1 source was also good to improve Se in the pod and all sources were efficient to increase Se content in the leaves (Figure 3). Organic forms of Se can be readily taken up and translocated to above-ground tissues (Berkelaar, 2013). Applying these organic forms (SeM1, SeM2, and SeM3) by foliar sprays, it is possible to enrich Se grains, but it seems that it is not different from inorganic form (sodium selenate) application.

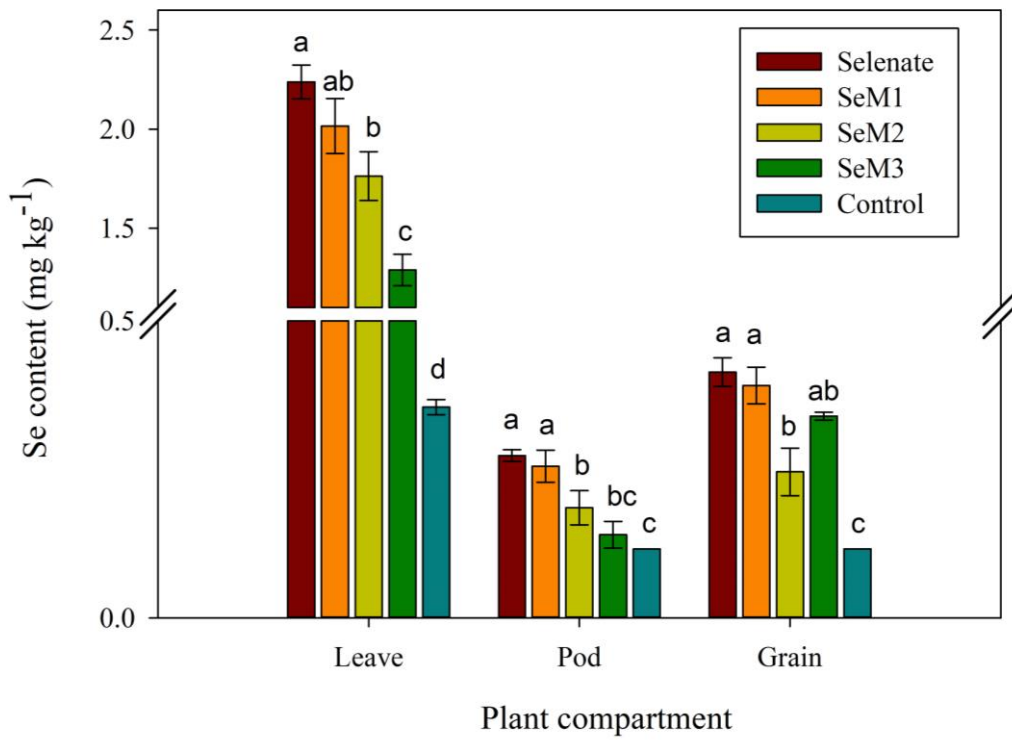


Figure 3. Se content in parts of soybean plant compartments submitted to foliar spray of 0.05 mg Se pot⁻¹. Different letters into plant parts indicate significant differences at $p < 0.05$ by Tukey test.

Table 5. Observed values for Se content of soybean plant parts submitted to foliar application of Se sources associated or no with FIT.

0.05 mg pot ⁻¹ of Se (50% beginning of seed development)									
Fonte	Leaf			Pod			Grain		
	+FIT	-FIT	Sources average	+FIT	-FIT	Sources average	+FIT	-FIT	Sources average
Se mg kg ⁻¹									
SS	2.18±0.06aA*	2.30±0.19aA	2.24±0.09a	0.25±0.03aA	0.27±0.02abA	0.26±0.02a	0.39±0.04aA	0.34±0.10aA	0.37±0.05a
SeM1	1.77±0.21abA**	2.26±0.10bA	2.02±0.15ab	0.24±0.03aA	0.29±0.02aA	0.27±0.02a	0.39±0.07aA	0.39±0.03aA	0.39±0.03a
SeM2	1.52±0.07bB	2.00±0.17abA	1.76±0.14b	0.16±0.02abA	0.23±0.03abA	0.20±0.02b	0.26±0.04abA	0.27±0.05abA	0.27±0.03a
SeM3	1.26±0.07bA	1.31±0.18cA	1.29±0.09c	0.13±0.07abA	0.15±0.04bcA	0.14±0.04bc	0.27±0.07abA	0.27±0.06abA	0.27±0.04a
Control	0.36±0.03cA	0.35±0.01dA	0.35±0.01d	0.10±0.04bA	0.06±0.00cA	0.08±0.02c	0.12±0.03bA	0.06±0.00bA	0.09±0.02b
Mean	1.52±0.19A	1.36±0.18A		0.17±0.02A	0.18±0.03A		0.29±0.03A	0.25±0.04A	
0.10 mg pot ⁻¹ of Se(50% beginning pod development stage + 50% beginning of seed development)									
Fonte	Leaf			Pod			Grain		
	+FIT	-FIT	Sources average	+FIT	-FIT	Sources average	+FIT	-FIT	Sources average
Se mg kg ⁻¹									
SS	3.76 ± 0.77aA	2.16 ± 0.15abB	2.96±0.50a	0.38±0.03abA	0.49±0.09abA	0.44±0.05a	0.75±0.05bA	0.73±0.05aA	0.74±0.03b
SeM1	2.78 ± 0.10abA	2.55 ± 0.20aA	2.81±0.11ab	0.56±0.03aA	0.44±0.02abA	0.50±0.03a	1.30±0.23aA	0.75±0.04aB	1.02±0.16a
SeM2	1.85 ± 0.10bcA	1.97 ± 0.45abA	1.91±0.21bc	0.38±0.03abA	0.34±0.04abA	0.36±0.02ab	0.49±0.04bA	0.35±0.07bA	0.42±0.05c
SeM3	1.43 ± 0.10cdA	1.25 ± 0.29bcA	1.34±0.14b	0.25±0.03abB	0.58±0.04aA	0.41±0.15a	0.45±0.05bA	0.33±0.08bA	0.39±0.05c
Control	0.30 ± 0.06dA	0.38 ± 0.12cA	0.34±0.06c	0.06±0.00bA	0.06±0.00cA	0.06±0.00b	0.08±0.02cA	0.09±0.03bA	0.09±0.02d
Mean	2.02±0.34A	1.66±0.23A		0.33±0.05A	0.38±0.07A		0.61±0.12A	0.45±0.07B	

*Lowercase letters compares the sources within row; capital letters compare application with or without FIT into sources.

**letters different do not differ by Tukey test at the 0.05 probability level.

In the 4th experiment, plants treated with 0.10 mg Se pot⁻¹ showed a significant effect in Se content in pod and leaf (Figure 4). Moreover, grain Se content was affected by association of sources and FIT, being that the association with FIT promote higher Se content in grains (Table 5). The application of the SS and SeM1 without FIT provided higher Se contents (Figure 5). In addition, the application of all sources associated with FIT was efficient to improve Se grain content comparing to the control and the association of SeM1 + FIT presented the greater value, promoting 1.7-times (1.29 mg kg⁻¹) higher Se content in grains than sodium SS (0.75 mg kg⁻¹).

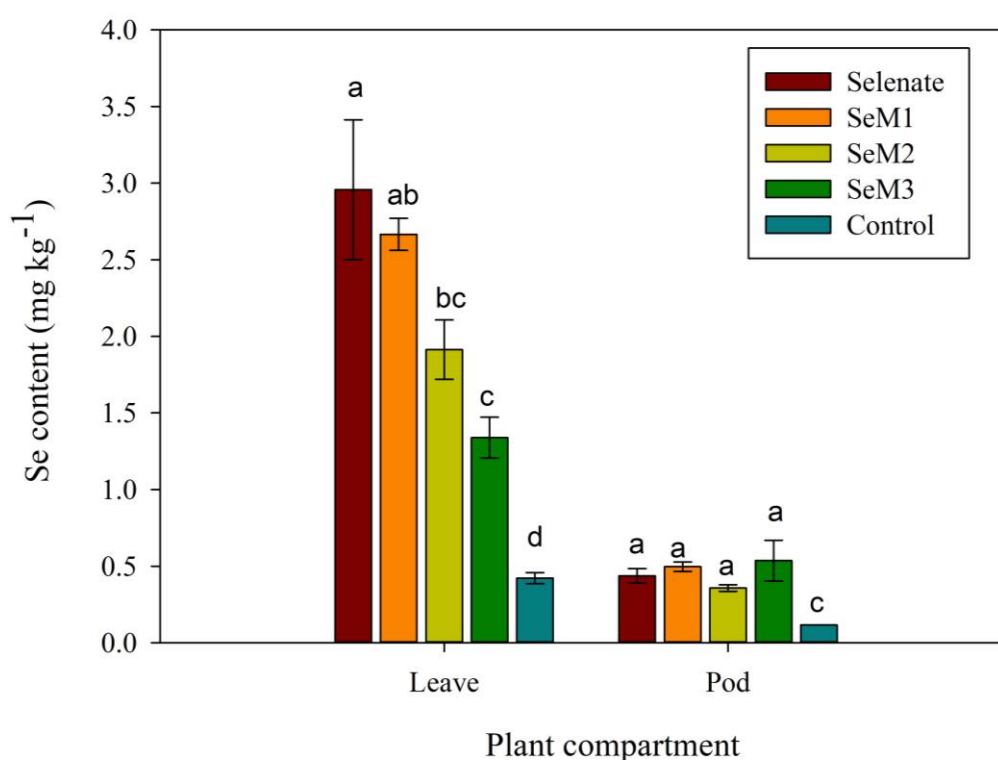


Figure 4: Se content in parts of soybean plants submitted to foliar spray of 0.10 mg Se pot⁻¹. Different letters into plant parts indicate significant differences at $p < 0.05$ by Tukey test.

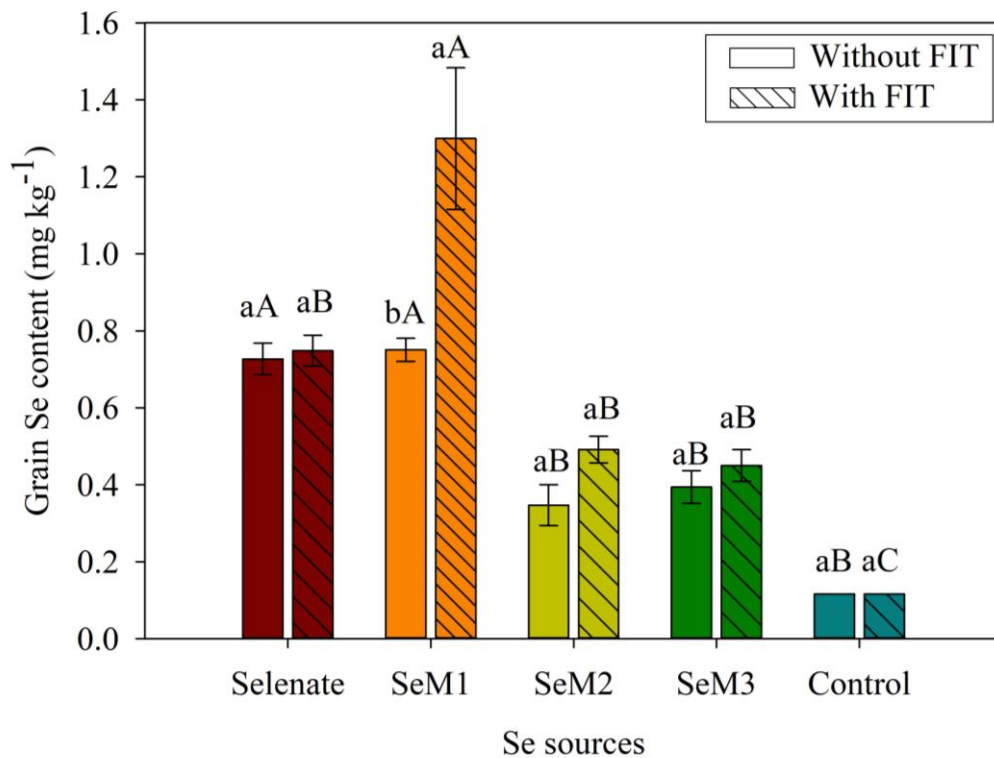


Figure 5. Grain Se content of soybean submitted to Se foliar spray. Values followed by different letters are significantly different according to the Tukey test at $p \leq 0.05$. Lowercase letters compare the association with or without FIT; capital letters compare sources.

Further studies should be carried out assessing agronomic soybean biofortification with Se in order to better define the doses to be applied through foliar application and mainly assessing the association of new sources (*e.g.* organic molecules) with fertilizers commonly used in agriculture.

5 CONCLUSION

Our results demonstrate that soybean is an excellent species for Se biofortification by foliar application, without presenting effects on grain yield and plant parts dry mass. The use of a fertilizer aimed at improving nutrient translocation (FIT) can potentialize Se grain content when applied with SeM1 source. However, further studies are necessary to better understand the effects of different Se sources and their association with FIT.

6 ACKNOWLEDGMENTS

The authors are thankful for the financial support provided by Compass Minerals® - Brazil, the Nacional Council for Scientific and Technological Development (CNPq), the Minas Gerais State Research Foundation (FAPEMIG), and the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES).

REFERENCES

- Andrade, F. R., da Silva, G. N., Guimarães, K. C., Barreto, H. B. F., de Souza, K. R. D., Guilherme, L. R. G., ... Reis, A. R. dos. (2018). Selenium protects rice plants from water deficit stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 164(March), 562–570. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.08.022>
- Araujo, A. M., Lessa, J. H. de L., Ferreira, L. A., Guilherme, L. R. G., & Lopes, G. (2018). Soil management and ionic strength on selenate retention in oxidic soils. *Ciencia e Agrotecnologia*, 42(4), 395–407. <https://doi.org/10.1590/1413-70542018424007318>
- Bañuelos, G. S., Arroyo, I. S., Dangi, S. R., & Zambrano, M. C. (2016). Continued selenium biofortification of carrots and broccoli grown in soils once amended with se-enriched *S. pinnata*. *Frontiers in Plant Science*, 7(August), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01251>
- Berkelaar, J. K. E. (2013). Plant uptake and translocation of inorganic and organic forms of selenium. *Arch Environ Contam Toxicol*, 65(3), 458–465. <https://doi.org/10.1007/s00244-013-9926-0>
- Boldrin, P. F., Faquin, V., Ramos, S. J., Boldrin, K. V. F., Ávila, F. W., & Guilherme, L. R. G. (2013). Soil and foliar application of selenium in rice biofortification. *Journal of Food Composition and Analysis*, 31(2), 238–244. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2013.06.002>
- Boldrin, P. F., Faquin, V., Ramos, S. J., Guilherme, L. R. G., Bastos, C. E. A., Carvalho, G. S., & Costa, E. T. de S. (2012). Selenato e selenito na produção e biofortificação agrônômica com selênio em arroz. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 47(6), 831–837. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2012000600014>
- Brunetto, G., Melo, G. W. B. de, Toselli, M., Quartieri, M., & Tagliavini, M. (2016). The role of mineral nutrition on yields and fruit quality in grapevine, pear and apple. *Revista*

- Brasileira de Fruticultura*, 37(4), 1089–1104. <https://doi.org/10.1590/0100-2945-103/15>
- Cakmak, I. (2008). Enrichment of cereal grains with zinc: Agronomic or genetic biofortification? *Plant and Soil*, 302(1–2), 1–17. <https://doi.org/10.1007/s11104-007-9466-3>
- Carvalho, G. S., Oliveira, J. R., Curi, N., Schulze, D. G., & Marques, J. J. (2019). Selenium and mercury in Brazilian Cerrado soils and their relationships with physical and chemical soil characteristics. *Chemosphere*, 218, 412–415. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.11.099>
- Corguinha, A. P. B., Carvalho, C. A., de Souza, G. A., de Carvalho, T. S., Vieira, E. A., Fialho, J. F., & Guilherme, L. R. G. (2018). Potential of cassava clones enriched with β -carotene and lycopene for zinc biofortification under different soil Zn conditions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(2), 666–674. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9231>
- Deng, X., Liu, K., Li, M., Zhang, W., Zhao, X., Zhao, Z., & Liu, X. (2017). Difference of selenium uptake and distribution in the plant and selenium form in the grains of rice with foliar spray of selenite or selenate at different stages. *Field Crops Research*, Vol. 211, pp. 165–171. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2017.06.008>
- Djanaguiraman, M., Devi, D. D., Shanker, A. K., Sheeba, J. A., & Bangarusamy, U. (2004). Impact of selenium spray on monocarpic senescence of soybean (*Glycine Max L.*). *Food, Agriculture & Environment*, 2(April), 44–47.
- Djanaguiraman, M., Devi, D. D., Shanker, A. K., Sheeba, J. A., & Bangarusamy, U. (2005). Selenium - An antioxidative protectant in soybean during senescence. *Plant and Soil*, 272(1–2), 77–86. <https://doi.org/10.1007/s11104-004-4039-1>
- Drahoňovský, J., Száková, J., Mestek, O., Tremlová, J., Kaňa, A., Najmanová, J., & Tlustoš, P. (2016). Selenium uptake, transformation and inter-element interactions by selected wildlife plant species after foliar selenate application. *Environmental and Experimental Botany*, 125, 12–19. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2016.01.006>
- Ekanayake, L. J., Thavarajah, D., Vial, E., Schatz, B., McGee, R., & Thavarajah, P. (2015). Selenium fertilization on lentil (*Lens culinaris Medikus*) grain yield, seed selenium concentration, and antioxidant activity. *Field Crops Research*, 177, 9–14. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2015.03.002>
- Feng, R., Wei, C., & Tu, S. (2013). The roles of selenium in protecting plants against abiotic stresses. *Environmental and Experimental Botany*, 87, 58–68. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2012.09.002>

- Gabos, M. B., Alleoni, L. R. F., & Abreu, C. A. (2014). Background levels of selenium in some selected Brazilian tropical soils. *Journal of Geochemical Exploration*, *145*, 35–39. <https://doi.org/10.1016/j.gexplo.2014.05.007>
- Gerland, P., Raftery, A. E., Ševčíková, H., Li, N., Gu, D., Spoorenberg, T., ... Wilmoth, J. (2014). World population stabilization unlikely this century. *Science*, *346*(6206), 234 LP – 237. <https://doi.org/10.1126/science.1257469>
- Germ, M., Kreft, I., & Osvald, J. (2005). Influence of UV-B exclusion and selenium treatment on photochemical efficiency of photosystem II, yield and respiratory potential in pumpkins (*Cucurbita pepo* L.). *Plant Physiology and Biochemistry*, *43*(5), 445–448. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2005.03.004>
- Germ, M., Kroflič, A., Jerše, A., Stibilj, V., Kacjan Maršič, N., & Šircelj, H. (2018). Is foliar enrichment of pea plants with iodine and selenium appropriate for production of functional food? *Food Chemistry*, *267*(February 2017), 368–375. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.02.112>
- Gillespie, B. W., Chen, Q., Reichert, H., Franzblau, A., Hedgeman, E., Lepkowski, J., ... Garabrant, D. H. (2010). Estimating population distributions when some data are below a limit of detection by using a reverse kaplan-meier estimator. *Epidemiology*, *21*(SUPPL. 4). <https://doi.org/10.1097/EDE.0b013e3181ce9f08>
- Golubkina, N., Kekina, H., & Caruso, G. (2018). Yield, quality and antioxidant properties of Indian mustard (*Brassica juncea* L.) In response to foliar biofortification with selenium and iodine. *Plants*, *7*(4), 80. <https://doi.org/10.3390/plants7040080>
- Graham, R. D., Welch, R. M., Saunders, D. A., Ortiz-Monasterio, I., Bouis, H. E., Bonierbale, M., ... Twomlow, S. (2007). Nutritious subsistence food systems. *Advances in Agronomy*, *92*(04), 1–74. [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(04\)92001-9](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(04)92001-9)
- Gupta, M., & Gupta, S. (2017). An overview of selenium uptake, metabolism, and toxicity in plants. *Frontiers in Plant Science*, *7*(January), 1–14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.02074>
- Hart, D. J., Fairweather-Tait, S. J., Broadley, M. R., Dickinson, S. J., Foot, I., Knott, P., ... Hurst, R. (2011). Selenium concentration and speciation in biofortified flour and bread: Retention of selenium during grain biofortification, processing and production of Se-enriched food. *Food Chemistry*, *126*(4), 1771–1778. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.12.079>
- Hatfield, D. L., Tsuji, P. A., Carlson, B. A., & Gladyshev, V. N. (2014). Selenium and

- selenocysteine: Roles in cancer, health, and development. *Trends in Biochemical Sciences*, 39(3), 112–120. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2013.12.007>
- Hu, J., Zhao, Q., Cheng, X., Selomulya, C., Bai, C., Zhu, X., ... Xiong, H. (2014). Antioxidant activities of Se-SPI produced from soybean as accumulation and biotransformation reactor of natural selenium. *Food Chemistry*, 146, 531–537. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.09.087>
- Jiang, Y., Zeng, Z. H., Bu, Y., Ren, C. Z., Li, J. Z., Han, J. J., ... Hu, Y. G. (2015). Effects of selenium fertilizer on grain yield, se uptake and distribution in common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench). *Plant, Soil and Environment*, 61(8), 371–377. <https://doi.org/10.17221/284/2015-PSE>
- Kápolna, E., Hillestrøm, P. R., Laursen, K. H., Husted, S., & Larsen, E. H. (2009). Effect of foliar application of selenium on its uptake and speciation in carrot. *Food Chemistry*, 115(4), 1357–1363. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.01.054>
- Kápolna, E., Laursen, K. H., Husted, S., & Larsen, E. H. (2012). Bio-fortification and isotopic labelling of Se metabolites in onions and carrots following foliar application of Se and ⁷⁷Se. *Food Chemistry*, 133(3), 650–657. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.01.043>
- Kopsell, D. A., Sams, C. E., Barickman, T. C., Deyton, D. E., & Kopsell, D. E. (2009). Selenization of basil and cilantro through foliar applications of selenate-selenium and selenite-selenium. *HortScience*, 44(2), 438–442.
- Kushner, E. J. (1976). On determining the statistical parameters for pollution concentration from a truncated data set. *Atmospheric Environment*, 10, 975–979.
- Lara, T. S., Lessa, J. H. de L., de Souza, K. R. D., Corguinha, A. P. B., Martins, F. A. D., Lopes, G., & Guilherme, L. R. G. (2019). Selenium biofortification of wheat grain via foliar application and its effect on plant metabolism. *Journal of Food Composition and Analysis*, 81(October 2018), 10–18. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2019.05.002>
- Lessa, J. H. L., Araujo, A. M., Silva, G. N. T., Guilherme, L. R. G., & Lopes, G. (2016). Adsorption-desorption reactions of selenium (VI) in tropical cultivated and uncultivated soils under Cerrado biome. *Chemosphere*, 164, 271–277. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.08.106>
- Li, H. F., McGrath, S. P., & Zhao, F. J. (2008). Selenium uptake, translocation and speciation in wheat supplied with selenate or selenite. *New Phytologist*, 178(1), 92–102. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2007.02343.x>
- Liu, X., Yang, Y., Deng, X., Li, M., Zhang, W., & Zhao, Z. (2017). Effects of sulfur and

- sulfate on selenium uptake and quality of seeds in rapeseed (*Brassica napus* L.) treated with selenite and selenate. *Environmental and Experimental Botany*, 135, 13–20. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2016.12.005>
- Lopes, G., Ávila, F. W., & Guilherme, L. R. G. (2017). Review Selenium behavior in the soil environment and its implication for human health. *Ciência e Agrotecnologia*, 41(6), 605–615.
- Matos, R. P., Lima, V. M. P., Windmüller, C. C., & Nascentes, C. C. (2017). Correlation between the natural levels of selenium and soil physicochemical characteristics from the Jequitinhonha Valley (MG), Brazil. *Journal of Geochemical Exploration*, 172, 195–202. <https://doi.org/10.1016/j.gexplo.2016.11.001>
- Medic, J., Atkinson, C., & Hurburgh, C. R. (2014). Current knowledge in soybean composition. *JAOCs, Journal of the American Oil Chemists' Society*, 91(3), 363–384. <https://doi.org/10.1007/s11746-013-2407-9>
- Natasha, Shahid, M., Niazi, N. K., Khalid, S., Murtaza, B., Bibi, I., & Rashid, M. I. (2017). A critical review of selenium biogeochemical behavior in soil-plant system with an inference to human health. *Environmental Pollution*, 234, 915–934. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.12.019>
- Nawaz, F., Ahmad, R., Ashraf, M. Y., Waraich, E. A., & Khan, S. Z. (2015). Effect of selenium foliar spray on physiological and biochemical processes and chemical constituents of wheat under drought stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 113, 191–200. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.12.003>
- Nawaz, F., Ashraf, M. Y., Ahmad, R., Waraich, E. A., Shabbir, R. N., & Bukhari, M. A. (2015). Supplemental selenium improves wheat grain yield and quality through alterations in biochemical processes under normal and water deficit conditions. *Food Chemistry*, 175, 350–357. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.11.147>
- Ramos, S. J., Faquin, V., de Almeida, H. J., Avila, F. W., Guimaraes Guilherme, L. R., Alves Bastos, C. E., & Avila, P. A. (2011). Selenate and Selenite on Yield, Mineral Nutrition and Biofortification With Selenium in Lettuce Cultivars. *Revista Brasileira De Ciencia Do Solo*, 35(4), 1347–1355. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2012000600014>
- Reis, H. P. G., Barcelos, J. P. de Q., Junior, E. F., Santos, E. F., Silva, V. M., Moraes, M. F., ... Reis, A. R. dos. (2018). Agronomic biofortification of upland rice with selenium and nitrogen and its relation to grain quality. *Journal of Cereal Science*, 79, 508–515. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2018.01.004>

- Rezende, P. M. de, Gris, C. F., Carvalho, J. G., Gomes, L. L., & Bottino, L. (2005). Adubação foliar. I. épocas de aplicação de fósforo na cultura da soja. *Ciência e Agrotecnologia*, 29(6), 1105–1111.
- Ros, G. H., van Rotterdam, A. M. D., Bussink, D. W., & Bindraban, P. S. (2016). Selenium fertilization strategies for bio-fortification of food: an agro-ecosystem approach. *Plant and Soil*, 404(1–2), 99–112. <https://doi.org/10.1007/s11104-016-2830-4>
- Schiavon, M., Dall’Acqua, S., Mietto, A., Pilon-Smits, E. A. H., Sambo, P., Masi, A., & Malagoli, M. (2013). Selenium fertilization alters the chemical composition and antioxidant constituents of tomato (*Solanum lycopersicon* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(44), 10542–10554. <https://doi.org/10.1021/jf4031822>
- Schiavon, M., & Pilon-Smits, E. A. H. (2016). The fascinating facets of plant selenium accumulation – biochemistry, physiology, evolution and ecology. *New Phytologist*, Vol. 213, pp. 1582–1596. <https://doi.org/10.1111/nph.14378>
- Shabbir, R. N., Ashraf, M. Y., Waraich, E. A., Nawaz, F., & Ahmad, R. (2014). Selenium (Se) Regulates Seedling Growth in Wheat under Drought Stress. *Advances in Chemistry*, 2014, 1–7. <https://doi.org/10.1155/2014/143567>
- Singh, M. K., & Prasad, S. K. (2014). Agronomic aspects of zinc biofortification in rice (*Oryza sativa* L.). *Proceedings of the National Academy of Sciences India Section B - Biological Sciences*, 84(3), 613–623. <https://doi.org/10.1007/s40011-014-0329-4>
- Sors, T. G., Ellis, D. R., & Salt, D. E. (2005). Selenium uptake, translocation, assimilation and metabolic fate in plants. *Photosynthesis Research*, 86(3), 373–389. <https://doi.org/10.1007/s11120-005-5222-9>
- Teixeira, P. C., Donagemma, G. K., Fontana, A., & Teixeira W. G. (2017). Micromorfologia do solo. In *Manual de métodos de análise de solo* (3. ed. rev).
- Wang, J., Cappa, J. J., Harris, J. P., Edger, P. P., Zhou, W., Pires, J. C., ... Pilon-Smits, E. A. H. (2018). Transcriptome-wide comparison of selenium hyperaccumulator and nonaccumulator *Stanleya* species provides new insight into key processes mediating the hyperaccumulation syndrome. *Plant Biotechnology Journal*, 16(9), 1582–1594. <https://doi.org/10.1111/pbi.12897>
- White, P. J. (2018). Selenium metabolism in plants. *Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects*, 1862(11), 2333–2342. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2018.05.006>
- White, P. J., Bowen, H. C., Marshall, B., & Broadley, M. R. (2007). Extraordinarily high leaf selenium to sulfur ratios define “Se-accumulator” plants. *Annals of Botany*, 100(1), 111–118. <https://doi.org/10.1093/aob/mcm084>

- Wu, Z., Bañuelos, G. S., Lin, Z.-Q., Liu, Y., Yuan, L., Yin, X., & Li, M. (2015). Biofortification and phytoremediation of selenium in China. *Frontiers in Plant Science*, 6(March), 1–8. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00136>
- Yang, F., Chen, L., Hu, Q., & Pan, G. (2003). Effect of the application of selenium on selenium content of soybean and its products. *Biological Trace Element Research*, 93(1–3), 249–256. <https://doi.org/10.1385/BTER:93:1-3:249>
- Zhao, X., Zhao, Q., Chen, H., & Xiong, H. (2019). Distribution and effects of natural selenium in soybean proteins and its protective role in soybean β -conglycinin (7S globulins) under AAPH-induced oxidative stress. *Food Chemistry*, 272(October 2017), 201–209. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.08.039>