



LEÔNIDAS CANUTO DOS SANTOS

**APLICAÇÃO DE SELÊNIO EM TRIGO: POTENCIAL DE
BIOFORTIFICAÇÃO AGRONÔMICA E MITIGAÇÃO DE
RESTRIÇÃO HÍDRICA**

LAVRAS – MG

2022

LEÔNIDAS CANUTO DOS SANTOS

**APLICAÇÃO DE SELÊNIO EM TRIGO: POTENCIAL DE BIOFORTIFICAÇÃO
AGRONÔMICA E MITIGAÇÃO DE RESTRIÇÃO HÍDRICA**

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

Prof. Dr. Guilherme Lopes

Orientador

LAVRAS – MG

2022

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

Santos, Leônidas Canuto dos.

Aplicação de selênio em trigo: potencial de biofortificação
agronômica e mitigação de restrição hídrica / Leônidas Canuto dos
Santos. - 2022.

69 p. : il.

Orientador(a): Guilherme Lopes.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de
Lavras, 2022.

Bibliografia.

1. Selenato de sódio. 2. Déficit hídrico. 3. Fome oculta. I.
Lopes, Guilherme. II. Título.

LEÔNIDAS CANUTO DOS SANTOS

**APLICAÇÃO DE SELÊNIO EM TRIGO: POTENCIAL DE BIOFORTIFICAÇÃO
AGRONÔMICA E MITIGAÇÃO DE RESTRIÇÃO HÍDRICA**

**APPLICATION OF SELENIUM IN WHEAT: POTENTIAL FOR AGRONOMIC
BIOFORTIFICATION AND MITIGATION OF WATER RESTRICTION**

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

Aprovado em 12 de julho de 2022.

Prof. Dr. Vitor de Laia Nascimento – UFLA

Dr. Hilário Junior de Almeida – UNESP

Dr. Fábio Aurélio Dias Martins – EPAMIG

Prof. Dr. Guilherme Lopes

Orientador

LAVRAS – MG

2022

A minha mãe (in memoriam), Luzia Canuto, que me criou e me amou incansavelmente, me protegeu e foi a melhor companheira e incentivadora. Seu fôlego de vida em mim me foi sustento, me deu coragem para questionar realidades e propor sempre um novo mundo de possibilidades.

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus pelo dom da vida e dada do conhecimento, por ter me ajudado a chegar até aqui e ter me dado forças nos dias mais difíceis e sombrios.

À Universidade Federal de Lavras, em especial ao Departamento de Ciência do Solo.

Aos meus familiares pelo apoio e palavras de incentivo nos momentos mais difíceis.

Ao professor Guilherme Lopes, pela orientação, paciência e disposição em estar sempre presente ao longo dessa minha etapa de formação.

Aos meus colegas do grupo de estudo, Marcio Neri, Ruby Ravello e Gabryel Silva.

Ao meu grande amigo que hoje posso chamar de irmão, Guilherme Augusto.

Aos colegas do Departamento de Ciência do Solo, pois muitos se tornaram amigos. Em especial, Geila Carvalho, Livia Botelho, Mariene Duarte, Aline Marques, Edinei Armani e Fábio Bispo.

Aos professores e amigos do setor de Fisiologia Vegetal da Universidade Federal de Lavras.

Ao CNPq pela concessão da bolsa de mestrado.

MUITO OBRIGADO!

“Jamais permita o julgamento das pessoas. Elas não sabem todos os demônios que você precisa vencer diariamente/internamente.”

RESUMO

O selênio (Se) é um elemento essencial aos seres humanos e animais, os quais requerem uma quantidade muito baixa do elemento para sua nutrição adequada (ingestão de 70 $\mu\text{g dia}^{-1}$ para um humano adulto). Entretanto, a má nutrição, incluindo a deficiência desse elemento, tem trazido problemas de saúde pública em regiões pobres ao redor do mundo, a fim de solucionar esse problema a biofortificação agrônômica tem despertado interesse, pois esta prática disponibiliza as plantas elementos que serão incorporados em compostos orgânicos e ingeridos pelos humanos, aumentando a segurança alimentar e diminuindo a desnutrição. Devido ao aumento da atividade de enzimas do sistema antioxidante das plantas, o Se tem sido utilizado para diminuir os efeitos deletérios causados por estresses ambientais, especialmente, o estresse hídrico, problema que limita a produção agrícola. Assim, buscou-se com este estudo avaliar tanto o efeito da aplicação de Se via solo na eficiência de acumulação do Se pelo trigo, como na resistência da cultura ao estresse hídrico imposto na fase fenológica de floração e de enchimento de grãos. O experimento foi realizado em casa de vegetação da Universidade Federal de Lavras – MG, na forma de um delineamento experimental em blocos casualizados, em esquema fatorial 5x3, com quatro repetições. O primeiro fator refere-se as diferentes doses de Se (0; 0,25; 0,50; 1,0 e 2,0 mg dm^{-3}) na forma de selenato de sódio (Na_2SeO_4) e o segundo fator pela fase fenológica da cultura na qual foi aplicado o estresse hídrico. Assim, o estresse hídrico foi induzido na fase fenológica de floração, enchimento de grãos e um tratamento controle o qual não houve restrição hídrica. A aplicação de Se via solo, na forma de Na_2SeO_4 , aumenta de forma crescente a concentração deste elemento em grãos de trigo. Esse efeito também acontece para as concentrações de enxofre e nitrogênio na parte aérea. Entretanto, a dose de 0,25 mg dm^{-3} de Se associado ao estresse hídrico na fase floração aumenta o perfilhamento, promove ganhos em biomassa, massa de grãos e produtividade, além de aumentar o metabolismo do nitrogênio (N). Diminui o estresse oxidativo devido uma maior atividade da dismutase do superóxido (SOD) e menor concentração de peróxido de hidrogênio (H_2O_2). Por outro lado, a dose de 1,0 mg dm^{-3} de Se promove uma maior proteção as plantas quando o estresse é induzido na fase de enchimento de grãos. Uma vez que o Se preservou o aparato fotossintético das plantas aumentando os índices de clorofila a e b, taxa fotossintética, condutância estomática e eficiência do uso da água. Além disso, aumentou as defesas contra o estresse oxidativo devido ao aumento na atividade da SOD e catalase, diminuindo as concentrações de H_2O_2 e peroxidação lipídica (MDA). Além de tudo, confere aumento na massa de grãos e produção de grãos ricos em enxofre, manganês e zinco. Esses resultados reforçam o papel positivo do Se através da diminuição dos efeitos danosos causados as plantas sob severa restrição hídrica. Ademais, caracteriza o trigo como uma espécie indicada para programas de biofortificação agrônômica.

Palavras-chave: Selenato de sódio. Elemento benéfico. Nutrição mineral. Fome oculta. Déficit hídrico. Metabolismo antioxidante. Estresse oxidativo.

ABSTRACT

Selenium (Se) is an essential element for humans and animals, which require a very low amount of the element for adequate nutrition (intake of $70 \mu\text{g day}^{-1}$ for an adult human). However, malnutrition, including the deficiency of this element, has brought public health problems in poor regions around the world, in order to solve this problem agronomic biofortification has aroused interest, as this practice provides the plants with elements that will be incorporated into organic compounds and ingested by humans, increasing food security and reducing malnutrition. Due to the increased activity of enzymes in the antioxidant system of plants, Se has been used to reduce the deleterious effects caused by environmental stresses, especially water stress, a problem that limits agricultural production. Thus, this study aimed to evaluate both the effect of Se application via soil on the efficiency of Se accumulation by wheat, as well as on the resistance of the crop to water stress imposed in the phenological phase of flowering and grain filling. The experiment was carried out in a greenhouse at the Federal University of Lavras - MG, in the form of an experimental design in randomized blocks, in a 5x3 factorial scheme, with four replications. The first factor refers to the different doses of Se (0; 0.25; 0.50; 1.0 and 2.0 mg dm^{-3}) in the form of sodium selenate (Na_2SeO_4) and the second factor refers to the phenological phase of the crop in which water stress was applied. Thus, water stress was induced in the phenological phase of flowering, grain filling and a control treatment in which there was no water restriction. The application of Se via soil, in the form of Na_2SeO_4 , increases the concentration of this element in wheat grains. This effect also happens for the concentrations of sulfur and nitrogen in the shoot. However, the dose of 0.25 mg dm^{-3} of Se associated with water stress in the flowering phase increases tillering, promotes gains in biomass, grain mass and productivity, in addition to increasing nitrogen (N) metabolism. Decreases oxidative stress due to higher superoxide dismutase (SOD) activity and lower concentration of hydrogen peroxide (H_2O_2). On the other hand, the dose of 1.0 mg dm^{-3} of Se promotes greater plant protection when stress is induced in the grain filling phase. Since Se preserved the photosynthetic apparatus of plants increasing the chlorophyll a and b indexes, photosynthetic rate, stomatal conductance and water use efficiency. In addition, it increased defenses against oxidative stress due to increased SOD and catalase activity, decreasing H_2O_2 concentrations and lipid peroxidation (MDA). In addition, it confers an increase in grain mass and production of grains rich in sulfur, manganese and zinc. These results reinforce the positive role of Se by reducing the harmful effects caused to plants under severe water restriction. Furthermore, it characterizes wheat as a species suitable for agronomic biofortification programs.

Keywords: Sodium selenate. Beneficial element. Mineral nutrition. Hidden hunger. Water deficit. Oxidative stress. Antioxidant metabolism.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
1	OBJETIVOS	12
2.1	Geral	12
2.2	Específicos	12
3	REVISÃO DE LITERATURA	13
3.1	Produção de trigo no Cerrado mineiro	13
3.2	Selênio e sua relação com seres humanos e plantas	14
3.3	Biofortificação agrônômica	18
3.4	Selênio e o estresse hídrico	19
4	METODOLOGIA	21
4.1	Desenho Experimental	21
4.2	Instalação do experimento	21
4.3	Aplicação do estresse hídrico	22
4.4	Análises biométricas das plantas	24
4.5	Trocas gasosas	24
4.6	Análises bioquímicas	25
4.6.1	Enzimas do sistema antioxidante	25
4.6.2	Determinação dos teores de proteínas totais	25
4.6.3	Determinação dos teores de aminoácidos livres totais	25
4.6.4	Açúcares redutores	26
4.6.5	Peróxido de hidrogênio e peroxidação lipídica	26
4.6.6	Índice de clorofila foliar	27
4.7	Análise do estado nutricional da planta	27
4.8	Análises Estatísticas	28
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
5.2	Variáveis fitotécnicas, produção e produtividade agrônômica	29
5.3	Pigmentos e ecofisiologia das plantas	33
5.4	Bioquímica e metabolismo antioxidante	38
5.5	Status nutricional da planta	43
5.5.1	Concentração de Se	43
5.5.2	Concentração de nitrogênio e enxofre	45
5.5.3	Concentração de micronutrientes	48
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	52
7	CONCLUSÕES	53
	REFERÊNCIAS	54
	APÊNDICE	68

1 INTRODUÇÃO

O selênio (Se) é considerado elemento essencial para os seres humanos e animais (OLIVEIRA et al., 2018). É um dos componentes das selenoproteínas ou selenoenzimas que atuam no sistema antioxidante, sendo capaz de reduzir os níveis de peróxidos dos organismos (RAYMAN, 2012). Além disso, sua baixa concentração no corpo humano está associada a problemas cardiovasculares, disfunções da glândula tireoide, aumento na incidência de diferentes tipos de cânceres, dentre outros problemas (RAYMAN, 2012; JONES et al., 2017).

Embora o Se seja essencial aos humanos, deficiência por esse elemento acomete centenas de milhões de pessoas no mundo, tendo destaque em diversas regiões brasileiras (OLIVEIRA et al., 2018). Solos de várias partes do mundo a concentração média de Se é de $330 \mu\text{g kg}^{-1}$ (KABATA-PENDIAS, 2011). No entanto, solos brasileiros apresentam concentrações inferiores à média mundial. Em solos da região amazônica brasileira foi relatado concentrações de $290 \mu\text{g kg}^{-1}$ de Se (SILVA JUNIOR et al., 2017), enquanto que em solos do Cerrado uma variação de 22 a $72 \mu\text{g kg}^{-1}$ (CARVALHO et al., 2019). Em vista desse problema, causado pelas baixas concentrações de Se nos solos, medidas alternativas devem ser realizadas para aumentar a ingestão de Se pela população. Nos últimos anos, tem aumentado a preocupação com a qualidade nutricional dos alimentos, bem como com a capacidade dos mesmos em fornecer os nutrientes essenciais, como o Se. Dessa forma, a biofortificação agrônômica das culturas fornece uma via eficaz para aumentar as concentrações de Se em produtos agrícolas comestíveis. Essa estratégia é possível devido a aplicação de fontes contendo Se via solo, por meio de fertilizantes enriquecidos com este elemento, além de aplicações via foliar (GALIC et al., 2021).

A biofortificação com Se tem trazido efeitos positivos aos seres humanos. Esses efeitos são notórios em países que utilizam o Se na adubação das culturas, proporcionando diminuição de doenças relacionadas à deficiência deste elemento. Na Finlândia, país que desde 1994 utiliza o selenato de sódio em seus fertilizantes multinutrientes (ALFTHAN et al., 2015; ASPILA, 2005), essa estratégia causou reflexos na concentração plasmática de Se aumentando em 70% (ALFTHAN et al., 2015). Pesquisas reportaram que a utilização desse plano por parte do governo finlandês tem tido resultados positivos sobre a população, através da diminuição nos índices de doenças imunológicas, doenças cardiovasculares e cânceres na população.

Nesse contexto, o trigo, por ser uma cultura básica à alimentação humana, tem despertado interesse para sua biofortificação com Se, pois existe viabilidade de utilização do

mesmo nos programas de biofortificação. O trigo é uma planta C3 e tem sua produção majoritariamente no período da estação de inverno, fato que se deve às exigências climáticas da cultura. Entretanto, o período de menores temperaturas no estado de Minas Gerais coincide com um período de baixa pluviometria. Embora existam cultivares tolerantes ao déficit hídrico, é importante que a disponibilidade de água seja adequada e bem distribuída durante todo o ciclo da cultura. Em condições de déficit hídrico, as plantas sofrem efeitos deletérios que causam reflexos na redução da atividade da água em seus tecidos, desorganização e redução do volume das membranas e redução da pressão hidrostática no interior das células (CARVALHO et al., 2011; SANTOS et al., 2012).

Vários fatores de origem biótica e abiótica, a exemplo o estresse hídrico, desencadeiam o estresse oxidativo. Esse estresse consiste numa alta produção a nível intracelular de espécies reativas de oxigênio (ERO), na forma de superóxido ($O_2^{\cdot-}$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e formas que são ainda mais danosas às células, como os radicais hidroxilas ($\cdot OH$) (DAT et al., 2000; WANG et al., 2004). Em resposta à grande quantidade de ERO as plantas ativam o sistema antioxidante não enzimático e enzimático.

O Se através da regulação de antioxidantes pode minimizar os efeitos danosos das ERO, podendo controlar a produção e até mesmo a extinção. A regulação das ERO pelo Se é caracterizada como um mecanismo crucial no enfrentamento do estresse hídrico (FENG et al., 2013). No entanto, o mecanismo de ativação do sistema antioxidante pelo Se com relação ao estresse hídrico ainda não foi totalmente elucidado. Sabe-se que o Se induz uma maior atividade de enzimas envolvidas no sistema antioxidante, a exemplo da dismutase do superóxido (SOD), catalase (CAT) e inúmeras peroxidases (POXs) (SIEPRAWSKA et al., 2015).

A relação do Se sob o estresse hídrico vegetal ainda é pouco estudada. Em condições de déficit hídrico com a utilização de Se e zeólita, Zahedi et al. (2011) observaram um aumento no número de sementes e a produtividade de três cultivares de canola. Isso foi possível por meio da ação do Se frente as condições de estresse ambiental (AISSA et al., 2008). Sob severa restrição hídrica na fase de floração, plantas de feijão sob aplicação de Se em baixas concentrações (0,25 e 0,5 mg kg⁻¹), resultou no aumento da atividade de enzimas do sistema antioxidante. Além disso, reduziu a concentração de peróxido de hidrogênio, protegendo as plantas do estresse oxidativo (RAVELLO et al., 2021).

Dessa forma, estudos com objetivo de mitigar os efeitos deletérios promovidos pelo estresse hídrico são de extrema importância, uma vez que as condições climáticas nem sempre são as ideais. A utilização de Se além de proporcionar benefícios frente ao estresse hídrico,

aumenta sua concentração na parte consumível das plantas, compondo a biofortificação agronômica tão importante para a população mundial.

1 OBJETIVOS

2.1 Geral

Avaliar o efeito da aplicação de Se na biofortificação agronômica do trigo (*Triticum aestivum* L.) e na mitigação do déficit hídrico imposto na fase fenológica de floração e de enchimento de grãos.

2.2 Específicos

- Avaliar diferentes doses de aplicação de Se para a biofortificação agronômica do trigo;
- Determinar o estado nutricional das plantas: concentração de macronutrientes (N e S), micronutrientes (Cu, Fe, Mn e Zn) e concentração de selênio nos tecidos vegetais;
- Avaliar as plantas fitotecnicamente: quantificação da biomassa, número de perfilhos e produção por vaso;
- Analisar as plantas em nível bioquímico: atividade de enzimas do sistema antioxidante no tecido foliar, nível de peróxido de hidrogênio presente na parte aérea, peroxidação lipídica, conteúdo de aminoácidos livres totais e teores de proteínas totais;
- Analisar a planta em nível ecofisiológico: trocas gasosas;
- Conhecer os efeitos da aplicação de Se no metabolismo e no sistema antioxidante das plantas de trigo sob déficit hídrico;
- Identificar os mecanismos de tolerância ao estresse hídrico em plantas de trigo sob efeito da aplicação de selenato de sódio.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Produção de trigo no Cerrado mineiro

O trigo (*Triticum aestivum* L.) é uma planta de ciclo anual, cultivada durante a estação do inverno (SANTOS et al., 2012). Devido a fatores culturais e bioclimáticos a produção de trigo no Brasil por muito tempo se restringiu a região Sul do país (GUTKOSKI et al., 2007). No entanto, com o surgimento de novas variedades, técnicas de manejo e a utilização de sistemas de irrigação, houve uma expansão da cultura, especialmente para os cerrados do Brasil central (BOSCHINI et al., 2011).

No Brasil, a produção de trigo está dividida em quatro regiões edafoclimáticas distintas, são as denominadas Regiões Homogêneas de Adaptação de Cultivares de Trigo (RHACT). A região 1, fria e úmida, compreende parte dos estados do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul; a região 2, moderadamente quente e úmida, inclui parte dos estados de São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul; a região 3, moderadamente quente e seca, engloba parte dos estados do Mato Grosso do Sul, São Paulo e Paraná; já a região 4, quente e seca (Cerrado e Mata Atlântica), limita-se aos estados de Minas Gerais e Goiás, parte dos estados da Bahia, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, São Paulo e o Distrito Federal (EMBRAPA, 2018).

A inserção da cultura do trigo no estado de Minas Gerais remonta ao século 19. Neste período foi introduzida no estado a cultura do trigo na região de Montes Claros, a cultivar recebeu o nome de Montes Claros e foi semeada no mês de dezembro (BAYMA, 1960). Os primeiros trabalhos de pesquisa com a cultura do trigo no Cerrado brasileiro iniciaram na década de 1920, em Araxá – MG (GRIEDER, 1929). Somente no final da década de 1970 o trigo de sequeiro começou a se estabelecer nas cidades de Ibiá, Rio Parnaíba e São Gotardo (FERNANDES, 1983), passando por sucessivos declínios entre as décadas de 1990 e 2000.

Com o aumento de áreas para produção com a cultura da soja a partir de 2010, a inserção de cultivares precoces e com elevado potencial produtivo, a cultura passou a ser colhida mais cedo e isso ocasionou no aumento de áreas de safrinhas. Desta forma, o cultivo de trigo de sequeiro na região do Cerrado passou a ter maior oportunidade de inserção (EMBRAPA, 2018).

O Brasil tornou-se na última safra (2021/22) o maior produtor de grãos do mundo, fato que se deve a aumentos na produção de feijão, milho e trigo. Atualmente a área plantada de trigo no Brasil é de 2.739,3 mil ha⁻¹, a produtividade nacional é de 2.876 kg ha⁻¹, aumento de

2,6% quando comparada a safra anterior, a produção também sofreu um aumento de 2,6%, chegando a 7.879,2 mil t⁻¹ (CONAB, 2022).

A região Sudeste brasileira é a segunda maior produtora de trigo do país, estando atrás, somente, da região Sul. Segundo dados da Conab (2022), o estado de Minas Gerais destinou na safra de 2022, 73,2 mil ha⁻¹ para produção de trigo, alcançando uma produtividade de 2.414 kg ha⁻¹ e uma produção de 176,7 mil t⁻¹, representando menos de 5% da produção nacional.

A produção de trigo no Cerrado mineiro tem crescido de forma acelerada desde o início do século XXI. Fatores geográficos, agronômicos e climáticos, intrínsecos de algumas regiões do estado, favorecem a produção tritícola mineira (COELHO et al., 2011). Dentre essas condições, destacam-se a possibilidade da produção de trigo em sistema irrigado (BRASIL, 2019a), como também em sistema de sequeiro (BRASIL, 2019b), além do incentivo em pesquisas por parte de instituições públicas e privadas, a fim de atender a demanda da indústria.

A produção de trigo em sucessão à soja e/ou em rotação com o milho safrinha provoca efeitos benéficos no sistema de produção. Melhora o manejo de plantas invasoras às culturas de soja e milho, aumentando a eficiência do vazio sanitário da soja e milho, diminuindo o custo geral nos sistemas safra-safrinha (EMBRAPA, 2018). De forma complementar, o trigo de sequeiro na região do Cerrado proporciona cobertura ao solo, componente importante ao sistema de plantio direto, aumentando a retenção de água, diminuição da temperatura do solo, aeração do solo e ciclagem de nutrientes (RIBEIRO JUNIOR et al., 2007; PIRES et al., 2011).

3.2 Selênio e sua relação com seres humanos e plantas

O elemento químico selênio (Se) foi descoberto em 1817, em Estocolmo, pelo professor de química Jöns Jacob Berzelius. O químico, ao estudar a produção de ácido sulfúrico em câmara de chumbo observou um líquido avermelhado, dando o nome de selênio, que deriva do grego selene, que quer dizer lua, por analogia a um outro elemento químico, telúrio, que significa terra (BARBOSA, 2018). O Se teve seu reconhecimento em 1957, como elemento essencial ao metabolismo de células de animais (SCHWARZ; FOLTZ, 1957). Por mais de um século, esse elemento permaneceu no anonimato ou reconhecido como uma toxina (SANTI et al., 2013).

O Se é encontrado na natureza em quatro estados de oxidação (6+, 4+, 0, 2-). Na forma orgânica, selenocisteína (SeCys) e selenometionina (SeMet) (BODNAR et al., 2012; WU et al., 2015), formas inorgânicas, elementar (Se⁰), seleneto (Se²⁻), selenito (Se₃²⁻) ou selenato (Se₄²⁻)

(FISHBEIN, 1991). Sendo o selenato e o selenito de sódio as fontes de Se mais estudadas nos programas de biofortificação agronômica, embora apresentem consideráveis diferenças na absorção, translocação e metabolismo na planta (LONGCHAMP et al., 2015). Através da calcinação de minério sulfetados, o Se pode ser encontrado nas cinzas na forma de dióxido de Se (FISHBEIN, 1991).

O Se é um elemento que tem sua essencialidade comprovada para seres humanos e animais. Jones et al. (2017) destacam que entre 1 e 1,5 bilhões de pessoas sofrem deficiência deste elemento ao redor do mundo. Visando o aumento de ingestão desse micronutriente, foram criados programas que tem como objetivo a manutenção adequada de Se para os seres humanos. Em virtude disso, houve diminuição do índice de mortalidade, principalmente, em função de doenças do coração, câncer e deficiência de vitamina E (JONES et al., 2017). O Se também é constituinte de uma enzima chave da tireoide, estando uma nutrição adequada com Se diretamente ligada a redução do hipertireoidismo (RAYMAN, 2002).

A ingestão recomendada de Se para seres humanos adultos são, $70 \mu\text{g pessoa}^{-1} \text{ dia}^{-1}$, conforme Tabela 1 (KIPP et al., 2015). Assim, este elemento é conhecido pela sua dupla função, em concentrações pequenas atua de forma essencial, melhorando o metabolismo de animais e seres humanos e atuando em enzimas antioxidantes (REIS et al., 2017) e em altas doses desempenha efeito tóxico para humanos e animais, atuando na destruição de células e aumentando o estresse oxidativo (SCHIAVON; PILON-SMITS, 2017).

Tabela 1 - Recomendação de ingestão de Se por seres humanos em diferentes faixas etárias.

Faixa etária	Recomendação	
Recém-nascidos e crianças	Se $\mu\text{g dia}^{-1}$	
0 – 4 meses	10	
4 – 12 meses	15	
1 – 4 anos	15	
4 – 7 anos	20	
7 – 10 anos	30	
10 – 13 anos	45	
Adolescentes	Meninos	Meninas
13 – 15 anos	60	60
15 – 19 anos	70	60
Adultos	Homens	Mulheres
19 – 25 anos	70	60
25 – 51 anos	70	60
51 – 65 anos	70	60
>65 anos	70	60
Gestantes	60	
Lactantes	75	

Fonte: Adaptado de Kipp et al. (2015).

Os estudos que envolvem o Se não conseguiram provar sua essencialidade às plantas, mas efeitos benéficos ao ciclo produtivo de culturas de importância agrícola têm sido verificados, além de seu efeito no crescimento das plantas e tolerância das mesmas à estresses ambientais (AISSA et al., 2008; MALAGOLI et al., 2015; RAVELLO, et al., 2021). O Se pode promover à célula vegetal, efeito similar aos animais e seres humanos com relação às enzimas

do sistema antioxidante, aumentando a atividade da peroxidase da glutatona (GSH-Px), importante no sistema enzimático contra radicais livres (SAIDI; NAWEL; DJEBALI, 2014; NOCTOR et al., 2012).

Estudos apontam efeitos benéficos que o Se tem promovido ao desenvolvimento vegetal. Este elemento atua no complexo antioxidante reduzindo os efeitos deletérios causados pelo estresse biótico e abiótico, auxilia nas atividades fotossintéticas e no aproveitamento dos nutrientes, assim, provocando melhoria na qualidade dos produtos agrícolas (WHITE, 2016).

No solo o Se na forma de selenato tem comportamento semelhante ao sulfato, enquanto o selenito se assemelha ao fosfato (WIJNJA; SCHULTHESS, 2000). Em razão da semelhança química entre o sulfato (SO_4^{2-}) e o selenato (SeO_4^{2-}), estas formas químicas são absorvidas nas raízes pelos mesmos sítios de absorção (SORS et al., 2005), enquanto no selenito (SeO_3^{2-}) o mecanismo de absorção se dá através de transportadores de fosfato e aquaporinas (SONG et al., 2017).

O metabolismo do Se tem relação muito semelhante ao sistema metabólico do enxofre. Isso acontece, pois, o Se na forma de selenato tem propriedades químicas muito semelhantes às do sulfato, assim, é absorvido pelas plantas via canal de absorção de sulfato (DUMONT et al., 2006). Dessa forma, os dois elementos competem pelos mesmos processos metabólicos que tem relação direta ao desenvolvimento vegetal (SORS et al., 2005).

As plantas podem absorver diversos elementos não essenciais ao seu ciclo de vida, entre eles pode ser incluído o Se. Outro aspecto é que algumas espécies absorvem e acumulam esses elementos sem que lhe causem efeitos fitotóxicos. Quanto ao acúmulo de Se na matéria seca, as plantas são classificadas como não acumuladoras, acumuladoras e hiperacumuladoras de Se, conforme pode-se notar na Tabela 2 (BARILLAS et al., 2011).

Tabela 2 - Classificação das plantas quanto ao acúmulo de Se na matéria seca.

Classificação	mg de Se Kg ⁻¹ de matéria seca
Não acumuladoras	<100
Acumuladoras	100 a 1000
Hiperacumuladoras	>1000

Fonte: adaptado de Barillas et al. (2011).

Plantas do gênero *Stanleya* e *Astrágalus* são consideradas hiperacumuladoras, podendo acumular entre 1000 e 1015 ppm (0,1000 – 0,1015% de Se) (PILON-SMITS et al., 2009). Mesmo aquelas consideradas não acumuladoras, como alface (XUE et al., 2001), azevém

(HARTIKAINEN et al., 2000) e batata (TURAKAINEN et al., 2004), em nível de fornecimento adequado de suplementação o Se é capaz de aumentar a taxa de crescimento.

3.3 Biofortificação agrônômica

Como meio de enfrentamento à deficiência nutricional, em função do conteúdo insuficiente de nutrientes essenciais aos seres humanos e animais nas partes comestíveis de vegetais, a biofortificação tem ganhado espaço como alternativa para solução deste problema. Essa técnica consiste na elevação a níveis adequados de minerais e vitaminas, objetivando a complementação adequada da nutrição animal e humana (NASCIMENTO, 2018). Assim, essa estratégia busca melhorar a utilização de fertilizantes, aumentando a solubilização e mobilidade de nutrientes, tanto no solo quanto na planta (WHITE; BROADLEY, 2009). Para que, dessa forma, estes possam se acumular nos tecidos vegetais dos órgãos consumidos por animais e humanos. Assim, no caso do trigo a parte comestível da planta pelos seres humanos será os grãos.

Considerada uma técnica de baixo custo, sustentável e de alta eficiência, a biofortificação pode ser amplamente utilizada, inclusive, em países subdesenvolvidos que apresentam disponibilidade financeira limitada e sistema de saúde precário. Nesses casos, a biofortificação pode ser usada como forma de diminuir os efeitos causados pela deficiência nutricional (ÁVILA et al., 2014).

O estudo da biofortificação agrônômica é relativamente recente, especialmente, pelo fato de que poucas culturas são estudadas. Trigo e arroz têm recebido maior atenção em virtude de serem culturas amplamente produzidas e consumidas em regiões mais pobres de países asiáticos (HUSSAIN et al., 2012).

O Brasil tem ganhado destaque nos estudos de biofortificação. Segundo Nutti (2011), o país gera pesquisas de biofortificação em oito culturas básicas: abóbora, arroz, batata-doce, feijão comum (*Phaseolus*), feijão caupi (*Vigna*), mandioca, milho e trigo, aspecto que diferencia o Brasil dos demais países que tem foco na pesquisa de alimentos biofortificados. Essas pesquisas podem trazer reflexos na nutrição das pessoas, especialmente, nas camadas mais carentes da sociedade, contemplando culturas de produção em escala e de alta aceitação do consumidor. A diversidade de alimentos biofortificados contribui para uma nutrição diversificada e adequada, atendendo os limites de ingestão diária do nutriente essencial aos humanos.

Trabalho realizado por Lara et al. (2019) com a cultura do trigo, aplicando selenato de sódio via foliar em campo aberto, concluiu que a aplicação de 21 g de Se ha⁻¹ aumentou a taxa fotossintética, influenciando no metabolismo de carboidratos e o metabolismo antioxidante pelo aumento da atividade do ascorbato. Ainda segundo os autores, a suplementação na fase vegetativa e de enchimento de grãos, proporciona maiores rendimentos à cultura e benefícios fisiológicos, proporcionando um maior acúmulo de Se nos grãos de trigo.

Estratégias para biofortificação agrônômica com Se na cultura do arroz, tem apresentado resultados positivos. Assim, Lessa et al. (2020) constaram uma melhora na qualidade de grãos de arroz relacionada aos teores de Se, tendo esses autores observado também resultados positivos em relação à atividade de enzimas do sistema antioxidante e o acúmulo do Se no endosperma de grãos de arroz, comprovando a efetividade da biofortificação agrônômica em três estratégias de suplementação de Se para cultura: MAP enriquecido com Se e fornecido via solo; e aplicação de selenato ou selenito de sódio via foliar na fase reprodutiva.

Com a intenção de aumentar o teor de nutrientes nas partes comestíveis dos vegetais, raízes, folhas e grãos, a biofortificação têm se tornado objeto de estudo. Porém, a maior concentração das pesquisas está concentrada nos grãos devido a estes serem consumidos diariamente e constituírem ingredientes básicos à alimentação humana, como também animal na forma de ração (FAO, 2013).

3.4 Selênio e o estresse hídrico

A água é um fator determinante ao desenvolvimento vegetal, fundamental à integridade funcional celular das espécies. A célula vegetal fisiologicamente ativa depende de 80 a 95% de teor de água para seu pleno desenvolvimento (MARENCO; LOPES, 2005).

As plantas desenvolvem mecanismos para tolerar à seca, os quais atuam sob situações de estresse em que o teor de água no tecido vegetal é insuficiente ao seu pleno desenvolvimento. Desta forma, Santos e Carlesso (1991), propuseram três tipos de mecanismos desenvolvidos pelos vegetais para enfrentamento de teor reduzido de água: evitar, tolerar e escapar. O primeiro refere-se à capacidade de as plantas, sob estresse hídrico, fecharem seus estômatos para evitar a perda de água, aprofundarem seu sistema radicular a fim de explorar um maior volume de solo, diminuírem o tamanho celular e aumentar consideravelmente a espessura da parede das células e a cerosidade de suas cutículas; o segundo mecanismo denominado pela capacidade de “tolerar”, o qual está intimamente relacionado ao fato de que as plantas, sob condições de restrições hídricas desenvolvem habilidades em manter equilíbrio satisfatório de suas funções

fisiológicas; e por fim, quando em condições de estresse a planta antecipa o seu ciclo, mecanismo o qual os autores atribuem a habilidade de “escapar” do ambiente estressante.

Notadamente, há um consenso sobre os efeitos positivos que o Se tem desempenhado sobre as plantas. Embora existam na literatura diversos trabalhos que retratam os efeitos benéficos do Se, alguns autores o classificam de diferentes maneiras. Malavolta (2006) o classificou como essencial; essencial às plantas hiperacumuladoras (SHRIFT, 1969); metaloide (POMMERENIG et al., 2015) e micronutriente (PANDEY; GUPTA, 2015). Assim, nos diferentes estudos, foi possível identificar efeito benéfico deste elemento, tanto em condições ótimas, quanto em situação de estresse, no entanto, sem que esse seja realmente encaixado em consenso na classificação de essencialidade às plantas até o presente momento

O Se pode desempenhar alterações fisiológicas e/ou bioquímicas, situações que podem incrementar ganhos no desenvolvimento e produtivo em situações não estressantes (BOLDRIN et al., 2013) e sob situação de estresse ao vegetal (MOULICK et al., 2016).

Poucos são os trabalhos na literatura que envolvem o efeito benéfico do Se e o estresse hídrico sobre as plantas. Nawaz et al. (2013), ao estudarem a utilização de *priming* com Se em plantas de trigo, relataram efeito positivo na germinação e desenvolvimento das plântulas sob estresse hídrico. Ao estudarem a cultura do azevém, Cartes et al. (2005) observaram que o Se promove uma proteção contra o efeito oxidativo ocorrido nas plantas, devido ao aumento da atividade da enzima peroxidase da glutathione. A alocação de carbono pode ser governada pelo Se em plantas da espécie *Arabidopsis thaliana* (RIBEIRO et al., 2016), o que pode favorecer o desenvolvimento das plantas.

Embora poucos, há estudos que apontam efeito positivo da utilização do Se sob condições de estresse hídrico em culturas de importância agrícola. Kuznetsov et al. (2003), observaram efeito positivo do Se em plantas de trigo sob regime hídrico deficitário, o mesmo aconteceu na cultura do milho (Nawaz et al., 2016), trevo (WANG et al., 2011) e batata (GERM et al., 2007).

No Brasil, estudo recente conduzido por Ravello et al. (2021) comprova a influência do Se nas características fisiológicas da cultura do feijão comum sob déficit hídrico. Os autores concluíram que a aplicação de Se em baixas concentrações (0,25 e 0,5 mg kg⁻¹) na cultura do feijão comum promoveu uma maior atividade de enzimas do sistema antioxidante, ocasionando uma diminuição do peróxido de hidrogênio, protegendo as plantas do déficit hídrico. Por outro lado, concentrações mais altas de Se (1,0 e 2,0 mg Kg⁻¹) promoveram um efeito negativo sob as plantas, diminuindo a produção de biomassa.

Em situação de estresse, as plantas buscam mecanismos para superação dos efeitos deletérios causados pelo estresse hídrico. O Se tem contribuído de forma positiva e satisfatória, através da atividade de enzimas do sistema antioxidante vegetal. Assim, há relatos do Se atuando na supressão do estresse hídrico em plantas por meio de variáveis fisiológicas (HAJIBOLAND et al., 2014) como efeito positivo no sistema antioxidante vegetal (HABIBI, 2013) e acúmulo de osmólitos (NAWAZ et al., 2016).

4 METODOLOGIA

4.1 Desenho Experimental

O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados (DBC), em esquema fatorial 5x3 com 4 repetições, perfazendo 60 unidades experimentais. O primeiro fator refere-se às cinco doses de Se (0; 0,25; 0,50; 1,0 e 2,0 mg dm⁻³), as quais foram aplicadas no solo, na forma de selenato de sódio (Na₂SeO₄). O segundo fator trata-se da ausência ou presença de estresse hídrico que foi imposto em duas fases distintas. Esse déficit hídrico foi induzido nas fases fenológicas: de floração (código 5.0 da escala decimal de Zadoks et al., 1974), quando 80% das plantas apresentaram as primeiras espiguetas da inflorescência visível (46 dias após a emergência) e de enchimento de grãos (código 7.0 da escala decimal de Zadoks et al., 1974), quando pelo menos 80% das plantas apresentaram antese completa (59 dias após a emergência).

4.2 Instalação do experimento

O experimento foi conduzido na Universidade Federal de Lavras (UFLA), em casa de vegetação do Departamento de Ciência do Solo (DCS). As plantas foram cultivadas em vasos de 5 dm³ onde foram semeadas quatro sementes de trigo por vaso, cultivar ORS Senna. Após a germinação, foi desbastada uma planta e as demais foram conduzidas até o final do ciclo da cultura.

O solo utilizado no experimento (Latosolo Vermelho-Amarelo Distrófico) foi coletado em área nativa localizada dentro do campus da UFLA, no município de Lavras - MG (latitude: 21°17'18" S; longitude: 44°50'11" W) na profundidade de 0,00-0,20 m. Posteriormente, o solo coletado foi analisado seguindo a metodologia proposta por Teixeira et al. (2017) e os resultados podem ser visualizados na Tabela 1. De posse da análise de solo, cálculos foram realizados para se determinar a necessidade de calagem para correção da acidez do solo. A

calagem foi realizada baseando-se no método da saturação por bases (QUAGGIO, 1983) visando elevar essa saturação para 60% (SANTI et al., 2014). Assim, o calcário foi aplicado em dose correspondente a 8 toneladas por hectare (20 g vaso⁻¹) afim de corrigir a acidez. O calcário foi adicionado ao solo e homogeneizado e incubado por um período de 30 dias para que acontecesse a reação total.

Tabela 3 - Propriedades físicas e químicas do solo (0,0-0,20 m) utilizado no experimento.

Propriedades do solo	Unidade	Valor
pH (H ₂ O)	-	4,60
MO	g kg ⁻¹	32,7
P (Mehlich-I)	mg dm ⁻³	1,18
Fe	mg dm ⁻³	171,29
K	mg dm ⁻³	61,90
Ca ²⁺	cmol _c dm ⁻³	0,45
Mg ²⁺	cmol _c dm ⁻³	0,28
Al ³⁺	cmol _c dm ⁻³	1,18
H+Al	cmol _c dm ⁻³	11,62
P - rem	mg L ⁻¹	18,34
Se	mg kg ⁻¹	0,27
Areia	g kg ⁻¹	280
Silte	g kg ⁻¹	110
Argila	g kg ⁻¹	610

O solo foi fertilizado conforme recomendação de adubação para vaso proposta por Malavolta (1981). Dessa forma, foi adicionado aos vasos as seguintes quantidades de nutrientes (em mg dm⁻³): 300 de nitrogênio, 200 de fósforo, 150 de potássio, 50 de enxofre, 0,5 de boro, 1,5 de cobre, 0,1 de molibdênio e 5 de zinco.

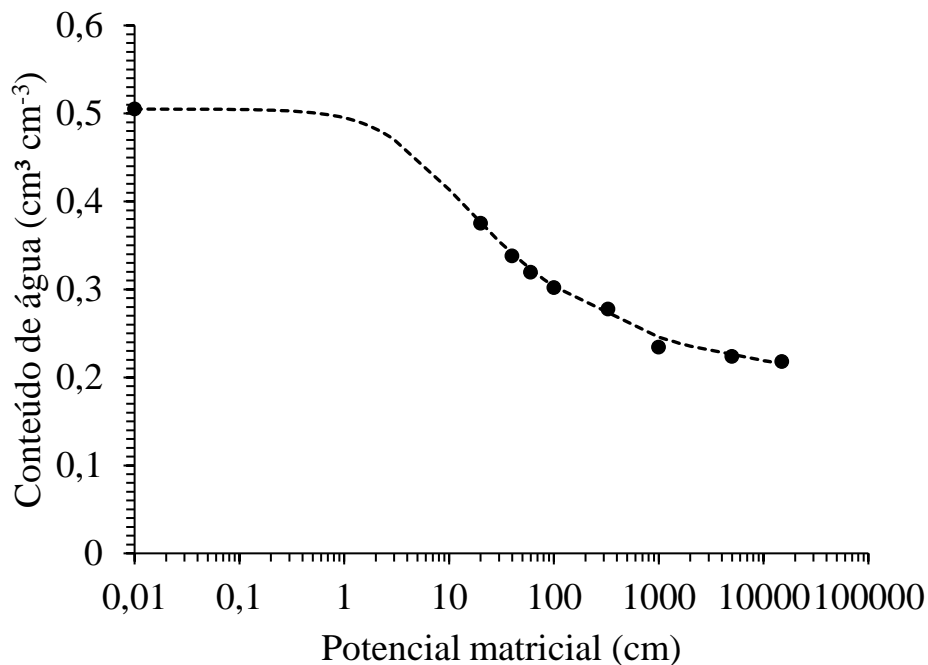
4.3 Aplicação do estresse hídrico

Para o estudo do fator presença ou não de estresse hídrico, o déficit de água foi imposto nas épocas específicas avaliadas no presente estudo. Quando as plantas atingiram a fase fenológica de floração e de enchimento de grãos, a irrigação foi suspensa para aplicação do estresse hídrico induzido nos tratamentos pertinentes. O tratamento controle recebeu irrigação

diariamente durante toda condução do experimento a fim de manter a umidade do solo na capacidade de campo.

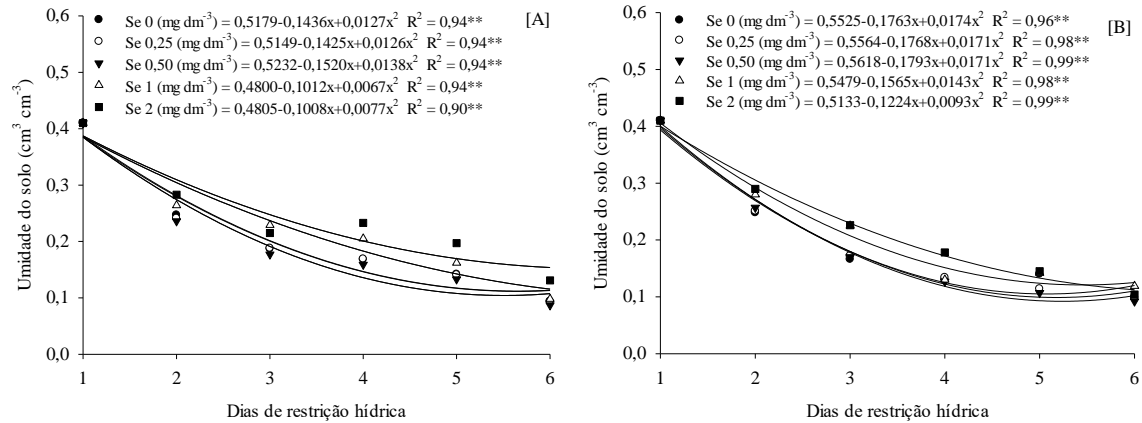
Para padronização do momento das análises ecofisiológicas e bioquímicas, foi utilizada a metodologia proposta por Sinclair e Ludlow (1986), que consiste na fração de água transpirável do solo (FATS). Para isso, foi obtida a massa do conjunto (vaso + solo) e depois os vasos foram irrigados até atingirem saturação. Em seguida, a água foi drenada e após 24 horas foi pesado novamente a massa do conjunto e determinado o conteúdo de água no solo. De forma complementar, foi determinado em laboratório a curva de retenção de água (Figura 1) do solo utilizado no experimento, assim, determinando a capacidade.

Figura 1 - Curva de retenção de água do solo (Latosolo Vermelho-amarelo distrófico) utilizado no experimento, Lavras – MG, 2022.



Durante a condução do experimento, os vasos foram pesados diariamente e a quantidade de água evapotranspirada foi devidamente repostada. Na aplicação do estresse hídrico induzido (fase fenológica de floração e de enchimento de grãos), os vasos foram pesados diariamente para acompanhar a perda de água por evapotranspiração (Figura 2), e passados 6 dias de restrição hídrica, foram realizadas as análises com analisador infravermelho de troca gasosa (IRGA), determinação do índice de clorofila a, b e total e coletado o material vegetal para análises bioquímicas. Posteriormente, foi reestabelecida a irrigação.

Figura 2 - Perda de água do solo ao longo dos dias de restrição hídrica. [A] fase fenológica de floração e [B] fase fenológica de enchimento de grãos.



4.4 Análises biométricas das plantas

Ao final do experimento foram analisadas as seguintes variáveis: altura das plantas, massa seca da parte aérea (folhas + caule) e massa seca das raízes. Para determinação da altura das plantas (AP), foi utilizada uma régua milimétrica colocada próximo ao colo da planta e tomada sua altura em centímetros. Para obtenção das massas secas da parte aérea (MSPA) e das raízes (MSR), secaram-se os materiais vegetais em estufa de circulação forçada a 65°C e, quando atingiram massa constante, foram pesados em balança analítica de precisão. Foram determinados, também, os números de perfilhos por planta, para isso, no momento em que a planta iniciou o estágio de enchimento de grãos foi realizada a contagem do número de perfilhos por planta.

4.5 Trocas gasosas

As análises foram realizadas no dia em que se completou 6 dias de restrição hídrica, conforme descrito anteriormente. Para tanto, foi utilizado um analisador de trocas gasosas por infravermelho (IRGA, modelo LICOR 6400, Li-COR Biosciences, Lincoln, NE, USA). Os dados foram coletados entre às 8 e 10 horas, onde foram avaliadas as seguintes variáveis: taxa fotossintética (A - $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), condutância estomática (g_s - $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), transpiração (E - $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). A partir dos resultados de taxa fotossintética e transpiração, foi determinada a estimativas de eficiência do uso de água [$\text{EUA} = A / E$ ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$)]. O CO_2 atmosférico no interior da câmara foliar foi mantido em $400 \mu\text{mol}$

CO₂ e irradiância de 1500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. O tempo mínimo pré-estabelecido para estabilização das leituras foi de 120 segundos.

4.6 Análises bioquímicas

4.6.1 Enzimas do sistema antioxidante

Para a avaliação enzimática da dismutase do superóxido (SOD) e catalase (CAT), foram coletados 0,2 g de material fresco, que passaram pelo processo de moagem em nitrogênio líquido com posterior adição de 1,5 mL de uma solução tamponada (0,1 mol L⁻¹ de fosfato de potássio pH (7,8), 0,1 mol L⁻¹ EDTA (pH 7,0), 0,5 mol L⁻¹, DTT, PMSF 0,1 mol L⁻¹, 1 mmol L⁻¹ de ácido ascórbico, e 22 mg de PVPP) (LANA et al., 2019). Logo após isso, a suspensão foi centrifugada a 13.000 g por 10 min a 4°C e o sobrenadante foi coletado para análise em espectrofotômetro (Epoch-BioTek-Elisa), segundo as metodologias de Giannopolitis e Ries (1977) e Havir e Mchale (1987) para SOD e CAT, respectivamente.

4.6.2 Determinação dos teores de proteínas totais

Os teores de proteínas totais foram determinados através da utilização do sobrenadante da extração enzimática, seguindo metodologia adaptada de Lana et al. (2019). Foram utilizados 6 μL do sobrenadante, os quais foram colocados em microplaca. As microplacas receberam previamente 294 μL da solução de Bradford (diluição 1:5 do reagente). Foram realizadas as leituras em leitor de microplacas de absorvância em comprimento de onda de 595 nm e os resultados foram obtidos a partir de uma curva de calibração, sendo expressos em mg g^{-1} .

4.6.3 Determinação dos teores de aminoácidos livres totais

Para a determinação dos teores de aminoácidos livres totais, foi realizada uma extração seguindo a metodologia proposta por Zanandrea et al. (2010). Essa extração consistiu na homogeneização de 0,2 g de matéria seca em 5 mL de tampão fosfato de potássio (0,1 M, pH 7,00), seguido de banho-maria por 30 minutos a 40°C. Posteriormente, as amostras foram centrifugadas a 10.000 g por 20 minutos em temperatura ambiente. Para determinação foi produzido um meio reacional que continha (A) tampão de citrato de sódio (0,2 M e pH 5,00); (B) Ninhidrina 5% em Metil Celosolve (etileno glicol monometil éter); (C) KCN 2% em Metil

Celosolve (2 mL de KCN 0,01 M em 100 mL de Metil Celosove) e etanol 60% (v/v). Nos microtubos foram adicionados 1 mL do extrato; (A) 0,5 mL; (B) 0,2 mL; (C) 1 mL; e 1 mL de água destilada, posteriormente os tubos foram levados ao banho-maria por 20 minutos a 100°C. Após o resfriamento em temperatura ambiente foi adicionado 1,3 mL de etanol e realizada a quantificação partir da coleta de 350 µL do meio reacional, acondicionado em microplacas e realizada a leitura a 570 nm (YEMM; COCKING, 1955). O conteúdo de aminoácidos totais foi expresso em µmol g⁻¹ de MS (massa seca).

4.6.4 Açúcares redutores

Para extração dos açúcares redutores, foi realizada uma extração seguindo a metodologia de Zanandrea et al. (2010). A quantificação foi realizada utilizando a metodologia do Ácido Dinitrosalicílico (DNS) (MILLER, 1959), a qual consiste na preparação do reagente DNS. Para isso, foram utilizados 50 mL de hidróxido de sódio (NaOH) 2 N, adicionado 2,5 g de DNS e 125 mL de água destilada. Posteriormente, o material foi agitado até à dissolução. Feito isso, adicionou-se 75 g de tartarato duplo de sódio e potássio (Sal de Rochelle) e completado o volume com água destilada para 250 mL. Uma alíquota de 0,4 mL do extrato foi adicionada ao microtubo, 0,35 mL de água destilada e 0,5 mL do reagente DNS. Posteriormente os microtubos foram ao banho-maria por 5 minutos a 100°C e deixado esfriar em temperatura ambiente. Coletado 350 µL do meio reacional e adicionado em microplacas para posterior leitura a 540 nm.

4.6.5 Peróxido de hidrogênio e peroxidação lipídica

Na avaliação de peróxido de hidrogênio e peroxidação lipídica, 0,2 g de material fresco foi coletado e macerado em nitrogênio líquido, homogeneizado em 1500 µL de ácido tricloroacético e centrifugado a 12.000 g por 15 minutos a 4 °C. O conteúdo de H₂O₂ foi determinado através da coleta do sobrenadante e em seguida realizada a leitura em absorbância a 390 nm, em meio de fosfato de potássio 10 mM (pH 7,0), 45 µL do extrato do material vegetal e iodeto de potássio 1M (VELIKOVA et al., 2000).

A quantificação da peroxidação lipídica foi realizada seguindo a metodologia de Buege e Aust (1978). Para isso, 125 µL do sobrenadante da extração foi coletado e pipetado em um microtubo de 1500 µL, que continha 250 µL do seguinte meio de reação: ácido tiobarbitúrico

(TBA) 0,5% e ácido tricloroacético (TCA) 10%. Posteriormente, os microtubos foram levados a banho-maria a 95°C por 30 minutos e, após isso, a reação foi cessada em recipiente contendo gelo. Em seguida 350 µL do meio reacional foi coletado e pipetado em microplacas e realizada a leitura em espectrômetro a 535 e a 600 nm. A quantificação de malondealdeído (MDA) foi quantificada de acordo com a seguinte equação:

$$[\text{MDA}] = (A_{535} - A_{600}) / (\xi \cdot b)$$

Em que: ξ (coeficiente de extinção molar = $1,56 \times 10^{-5} \text{ cm}^{-1}$) e b: (comprimento ótico = 1). A peroxidação lipídica foi expressa em nmol (MDA) g⁻¹ de matéria fresca.

4.6.6 Índice de clorofila foliar

Foram determinados os índices de clorofila a, clorofila b e o índice de clorofila total (a+b). Para isso, foi utilizado o medidor eletrônico de clorofila (clorofiLOG). A determinação dos índices de clorofila e o índice de clorofila total foi realizada no momento inerente ao último dia de aplicação do estresse hídrico para cada fase fenológica distinta (fase inicial reprodutiva e de enchimento de grãos). Foram realizadas três leituras/folha em três folhas de cada planta. A partir desses resultados, foi realizado o cálculo da média do índice de clorofila a e b por planta.

4.7 Análise do estado nutricional da planta

Foram determinadas as concentrações de Se na parte aérea e grãos, macronutrientes (N e S) e micronutrientes (Cu, Fe, Mn e Zn) na parte aérea e grãos, respectivamente. Para isso, antes da determinação, os materiais foram submetidos a digestão ácida utilizado o protocolo 3051A da United States Environmental Protection Agency - USEPA (USEPA, 2007). O protocolo consiste na digestão em ácido concentrado (HNO₃), em forno de micro-ondas, com controle de pressão e temperatura.

Foram coletados o material vegetal, folhas e grãos, secos em estufa de circulação forçada de ar. O material foi triturado em moinho do tipo willey. Para digestão foram utilizados 0,5 g do material vegetal e adicionado 5 mL de ácido nítrico (HNO₃) destilado.

A determinação das concentrações de macronutriente (S) e micronutrientes (Cu, Fe, Mn e Zn) no extrato foi realizada em espectrometria de emissão de plasma acoplado indutivo (ICP – OES) (Spectro, modelo Blue, Alemanha) com correção de fundo. A concentração de

nitrogênio foi determinada a partir da digestão de 0,1 g do material vegetal em 5 mL de ácido sulfúrico (H₂SO₄), posteriormente realizada destilação das amostras pelo método Kjeldhal (Malavolta et al., 1997).

A avaliação das concentrações de Se nas soluções digeridas foram realizadas em espectrometria de massa com plasma acoplado indutivamente (ICP-MS). Para garantir a confiabilidade dos resultados, foi utilizado um material de referência certificado do Institute for Reference Materials and Measurements (White Clover - BCR 402, IRMM, Geel, Bélgica), bem como adicionou-se uma amostra em branco para cada bateria de análises. A recuperação encontrada para o teor certificado de Se foi de 99,00% ± 1% (n = 8).

Em posse das concentrações de Se nos diferentes tecidos vegetais foi determinada a taxa de recuperação de Se pelos grãos. Para isso, foi realizado cálculo da diferença no acúmulo de Se nos tratamentos em que receberam as diferentes doses, pelo acúmulo no tratamento sem adição de Se e dividido pela concentração de Se aplicado no tratamento, conforme equação a seguir (adaptado de LESSA et al., 2019).

$$TRSe = \frac{\{[Se]tratamento - [Se]controle\} \times 100}{[Se]aplicado}$$

Onde: TRSe (%) = taxa de recuperação de Se; [Se]tratamento (mg dm⁻³) = concentração de Se nos grãos nas doses de Se aplicada no tratamento; [Se]controle (mg dm⁻³) = concentração de Se nos grãos no tratamento sem adição de Se; e [Se]aplicado (mg dm⁻³) = concentração de Se aplicada em cada tratamento.

4.8 Análises Estatísticas

Os dados foram submetidos a análise de variância, sendo as médias submetidas ao teste de Tukey (p < 0,05) e os modelos de regressão foram realizados usando o software Sisvar, versão 5.6 (FERREIRA, 2011). Os gráficos foram realizados utilizando o software Sigma Plot, versão 14.0 (Systat Software Chicago, IL, EUA). O resumo do quadro da análise de variância esta apresentado em apêndice (Tabela 4).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.2 Variáveis fitotécnicas, produção e produtividade agrônômica

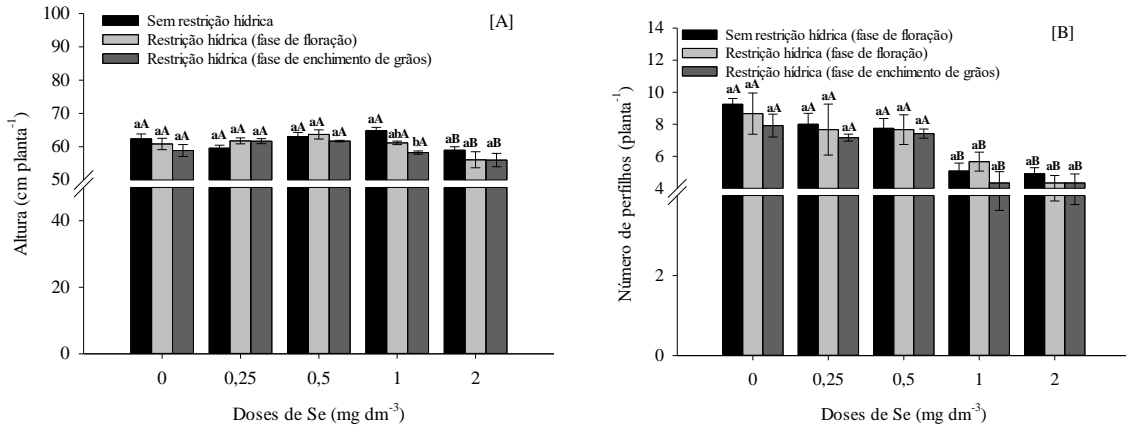
As variáveis fitotécnicas de altura das plantas e número de perfilhos tiveram interação significativa entre os fatores dose de Se e restrição hídrica nas diferentes fases fenológicas (Fig. 3). Não houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre as doses 0,0; 0,25; 0,50 e 1 mg dm⁻³ de Se para a variável altura de plantas (Fig. 3A), o mesmo aconteceu para as doses 0,0; 0,25 e 0,50 mg dm⁻³ de Se para o número de perfilhos (Fig. 3B).

A água está diretamente relacionada com os processos bioquímicos da planta. Assim, quantidades insuficientes de água podem desencadear uma diminuição na altura da planta, capacidade de perfilhamento e conseqüentemente uma diminuição em sua biomassa. A escassez hídrica compromete a turgescência da planta, os processos mitóticos (JALEEL et al., 2009) e o crescimento e alongamento celular (SHAO et al., 2008). Dessa forma, o déficit hídrico é considerado um dos principais fatores limitantes aos sistemas de produção.

Maioras alturas das plantas sob restrição hídrica foram observadas através da dose de 0,50 mg dm⁻³ de Se. De forma semelhante, a suplementação com Se também promoveu aumento na altura de plantas de arroz sob estresse hídrico (ANDRADE et al., 2018). Os autores justificaram este reflexo positivo pela diminuição da peroxidação lipídica, extinção de ERO e menor formação de H₂O₂ nas células das plantas de arroz.

Nos primeiros 15 dias após a emergência a cultura do trigo já inicia a fase de perfilhamento (CASTRO; KLUGE, 1999). O estresse hídrico foi induzido após essa fase, porém plantas submetidas as doses de 1,0 e 2,0 mg dm⁻³ apresentaram menor número de perfilhos. Isso pode ter ocorrido devido ao efeito pró-oxidante do Se na fase de plântula (Fig. 5). Feng et al., (2013) destacam que o Se em concentrações mais altas pode atuar como pró-oxidante e causar danos às plantas. Em contrapartida, menores concentrações de Se em associação ao estresse hídrico induzido na fase fenológica de floração e enchimento de grãos, promoveu maior perfilhamento das plantas de trigo (Fig. 3B). Esse fato reforça o papel do Se na proteção das plantas sob déficit hídrico, resultando em maior acúmulo de biomassa (Fig. 3A).

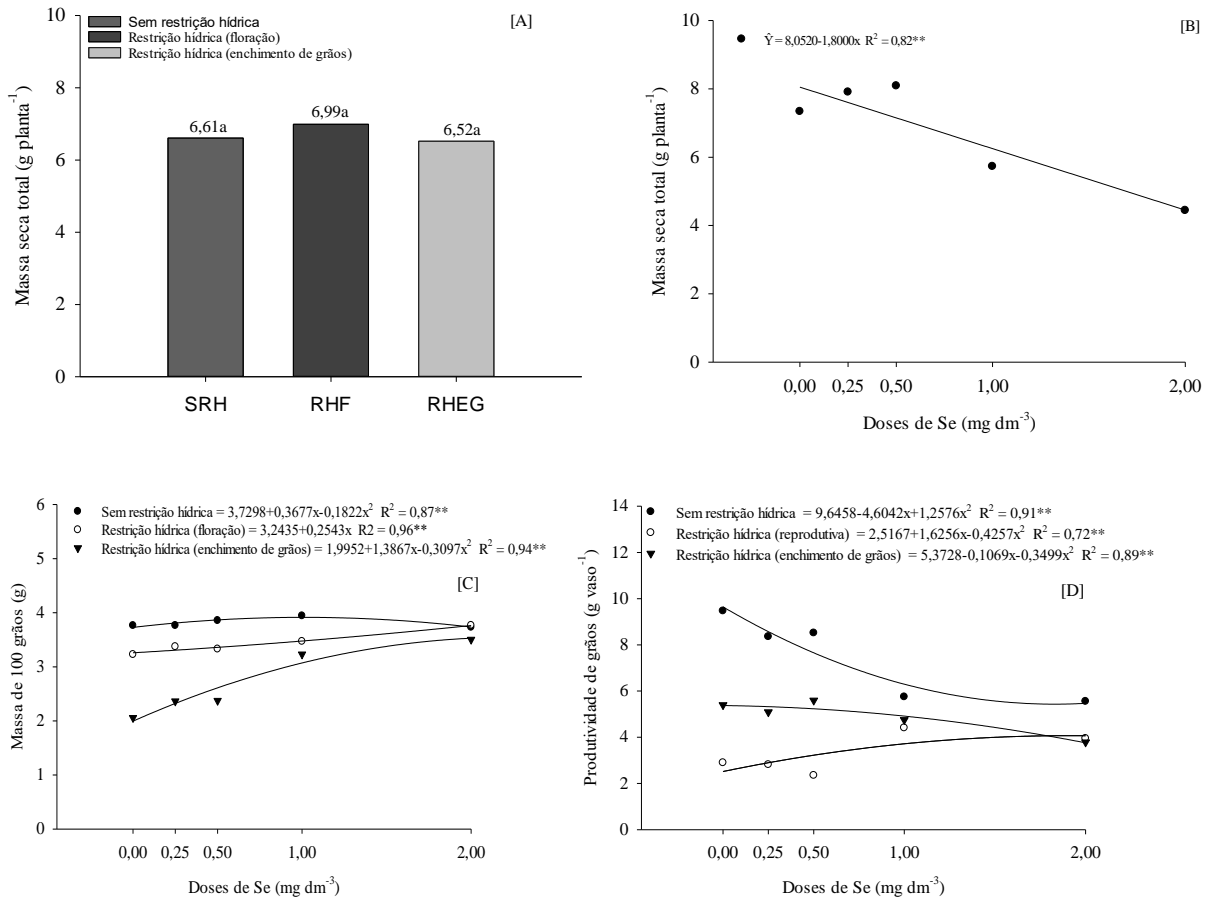
Figura 3 - Efeito de doses crescentes de Se sob a altura das plantas [A] e o número de perfilhos [B] em plantas de trigo cv. ORS Senna, sem restrição hídrica, restrição hídrica na fase fenológica de floração e de enchimento de grãos, Lavras – MG, 2022.



Legenda: Médias seguidas da mesma letra minúscula dentro das doses e maiúsculas entre as doses não diferem estatisticamente ao nível de 5% ($p < 0,05$) de probabilidade pelo teste Tukey. A barra de erro representa o erro padrão das médias ($n = 4$).

Houve interação significativa para as variáveis massa de 100 grãos e produtividade de grãos, no entanto o efeito foi isolado para massa seca total das plantas (Fig. 4). A imposição do déficit hídrico não influenciou de forma significativa massa seca das plantas (Fig. 4A). No entanto, o aumento das doses de Se influenciou de forma negativa esta variável (Fig. 4B). A aplicação de doses crescentes de Se promoveu incremento na massa de 100 grãos sob estresse hídrico nas duas fases fenológicas (Fig. 4C). A produtividade de grãos sofreu decréscimo conforme aumentou as doses de Se no tratamento sem restrição hídrica. Efeito semelhante foi observado para o tratamento com restrição hídrica na fase fenológica de enchimento de grãos. No entanto, para o estresse hídrico na fase fenológica de floração, houve um incremento de 152 % com o aumento da dose de 0 mg dm⁻³ de Se para 1 mg dm⁻³ de Se (Fig. 4D).

Figura 4 - Efeito do déficit hídrico [A] e de doses crescentes de Se sob a massa seca total das plantas [B], massa de 100 grãos [B] e produtividade de grãos [C] em plantas de trigo cv. BRS Senna, sem restrição hídrica, restrição hídrica na fase fenológica de floração e de enchimento de grãos, Lavras – MG, 2022.



O aumento na concentração de Se entre as doses 1 e 2 mg dm⁻³ diminuiu drasticamente o acúmulo de biomassa pelas plantas, mesmo sem estresse hídrico. Esse efeito está diretamente relacionado aos sintomas visuais de toxicidade (clorose no limbo foliar) observados nos primeiros dias após a emergência das plantas, quando se utilizou 2 mg dm⁻³ de Se (Fig. 5). Esse efeito de toxicidade também foi relatado em estudos conduzido por Gouveia et al. (2020) com genótipos de arroz.

Figura 5 - Toxicidade de Se em plantas de trigo cv. ORS Senna, Lavras – MG, 2022.



Apesar das altas concentrações de Se (1 e 2 mg dm^{-3}) terem promovido aumento da taxa fotossintética e na EUA (Fig. 7A e D), isso não refletiu em aumento de biomassa (Fig. 4A), bem como na altura e número de perfilhos (Fig. 3A e B). Em trabalho realizado por Ravello et al. (2020) foi reportado que concentrações de 1 e 2 mg kg^{-1} de Se quando aplicados na cultura do feijoeiro sob restrição hídrica, provocaram diminuição da biomassa. Por outro lado, os autores observaram que a suplementação de $0,25 \text{ mg kg}^{-1}$ de Se aumentou a biomassa do feijoeiro. Neste estudo, torna-se evidente que as menores concentrações de Se ($0,25$ e $0,50 \text{ mg dm}^{-3}$), associadas ao estresse hídrico na floração, promoveram maior incremento em biomassa, fortalecendo a ideia do papel do Se como atenuante de estresses ambientais quando utilizado em doses adequadas.

A massa de 100 grãos apresentou incremento com o aumento das doses de Se, associado ao estresse hídrico (Fig. 4C). Esses resultados foram semelhantes aos encontrados em estudo realizado por Nawaz et al. (2015) ao conduzirem plantas de trigo sob estresse hídrico e adição exógena de Se. Os autores atribuíram esse ganho em produção aos efeitos do Se sob as relações hídricas, como a maior atividade de osmoprotetores e atividade antioxidante.

A produtividade de grãos foi afetada significativamente pelo estresse hídrico, sendo que as maiores perdas foram observadas quando o estresse foi empregado na fase fenológica

floração. Um dos maiores problemas enfrentados na cultura de cereais perante o estresse é o abortamento induzido dos grãos, ou seja, esterilidade (JI et al., 2010). A má formação dos grãos, em plantas de trigo sob seca, está diretamente relacionada a um aumento de cruzamento (BINGHAM, 1966), resultando em maior esterilidade do grão de pólen. A escassez de água induz uma interrupção no desenvolvimento do grão de pólen (SAINI; ASPINALL, 1984). O conhecimento sobre esses aspectos faz com que a fase fenológica de floração seja a mais sensível da cultura ao estresse hídrico. No entanto, é conhecido que a suplementação de Se tem a capacidade de incrementar a produção, assim como foi observado na cultura da batata (YASSEN et al., 2011), soja (WANG et al., 2013), arroz (DJANAGUIRAMAN et al., 2005) e trigo (LI; GAO, 2009; NAWAZ et al., 2015).

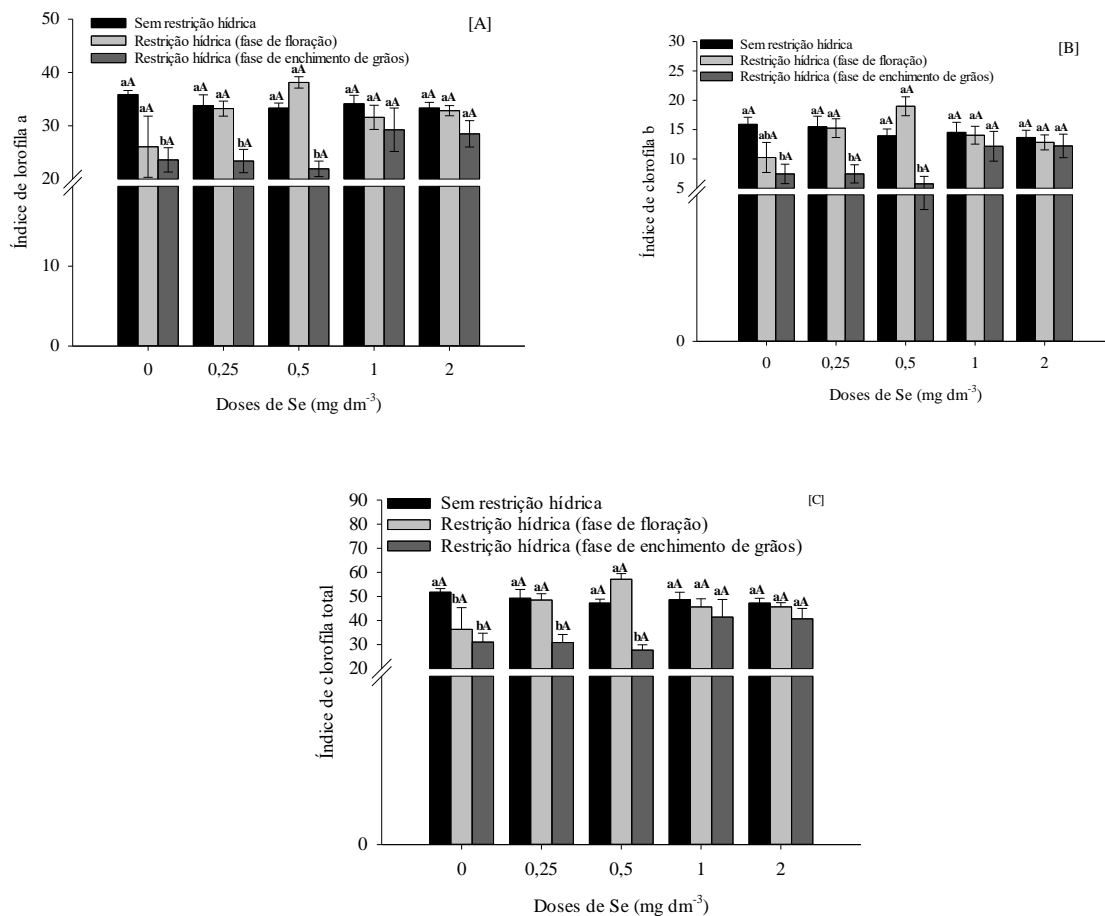
5.3 Pigmentos e ecofisiologia das plantas

Não foi observado efeito significativo das doses de Se para as variáveis índice de clorofila a, b e total, mas houve interação significativa entre as doses de Se e a imposição do estresse hídrico (Fig. 6). Quando analisado o efeito da supressão da irrigação, na fase de enchimento de grãos, houve decréscimo nestas variáveis nas doses 0; 0,25 e 0,50 mg dm⁻³ (Fig. 6A, B e C). Rady et al. (2015) atribuíram esse efeito à desorganização da membrana dos tilacoides, bem como, a uma maior degradação da clorofila devido a ativação da enzima clorofilase. O estresse hídrico diminuiu de forma significativa a concentração de clorofila nas plantas, o que pode ser atribuído a danos causados no complexo do fotossistema I e fotossistema II (SHANGGUAN et al., 2000). Além disso, reduções nos índices de clorofila na cultura do trigo provoca clorose sob as folhas das plantas, levando a uma redução acentuada na taxa fotossintética (YANG et al., 2003).

O estresse hídrico na fase de enchimento de grãos causou a remobilização de assimilados pré-armazenados o que também está associado a senescência da planta. Estudo realizado por Yang et al. (2003) demonstrou que, quando o estresse hídrico é induzido na fase de enchimento de grãos, há um aumento na senescência das plantas de trigo e uma maior remobilização de carbono pré-armazenado no caule e folhas para os grãos. A remobilização de assimilados para o enchimento de grãos coincide com a senescência de plantas monocotiledôneas (ORI et al., 1999). De forma complementar, Sinclair e Dewit (1975) concluíram que a depleção de nutrientes nos tecidos vegetais para os grãos desencadeia a senescência da planta. Dessa forma, o conteúdo diminuto da clorofila, associado ao estresse hídrico na cultura do trigo, está intimamente relacionado a remobilização de nutrientes e

realocação de carbono para o enchimento dos grãos (Fig. 6A, B e C). Tal efeito não foi observado quando o estresse foi induzido na fase reprodutiva, demonstrando que neste momento ainda não havia iniciado a realocação de carbono e assimilados para o enchimento dos grãos.

Figura 6 - Efeito de doses crescentes de Se no índice de clorofila a [A], índice de clorofila b [B] e índice de clorofila total [C] em plantas de trigo cv. ORS Senna, sem restrição hídrica, com restrição hídrica na fase fenológica de floração e de enchimento de grãos, Lavras – MG, 2022.



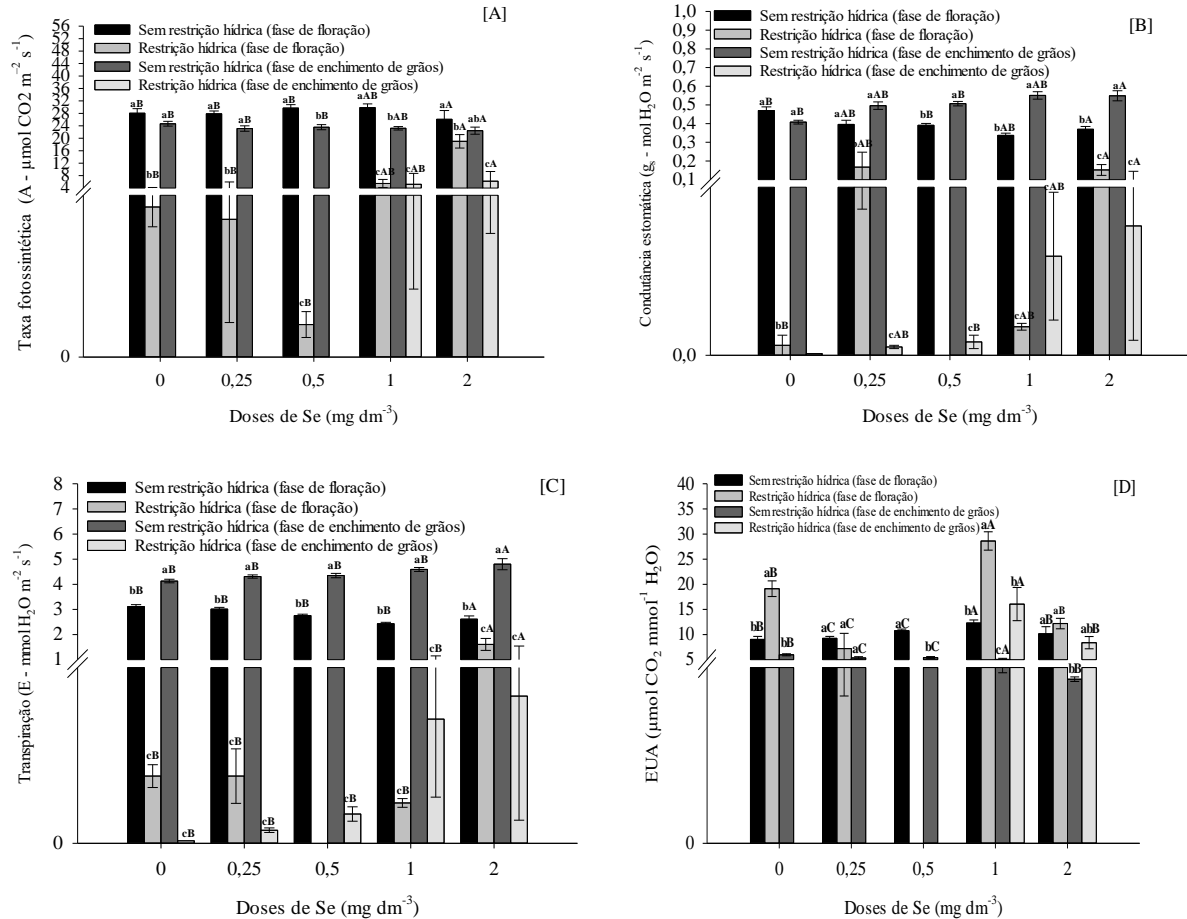
Legenda: Médias seguidas da mesma letra minúscula dentro das doses e maiúsculas entre as doses não diferem estatisticamente ao nível de 5% ($p < 0,05$) de probabilidade pelo teste Tukey. A barra de erro representa o erro padrão das médias ($n = 4$).

Houve interação significativa entre as doses de Se e restrição hídrica na fase de floração e enchimento de grãos ($p < 0,05$), sendo observada nas variáveis taxa fotossintética, condutância estomática e transpiração (Fig. 7). A aplicação de Se em condições ótimas de cultivo não afetou sobremaneira a taxa fotossintética em ambas as fases fenológicas. A taxa fotossintética teve um incremento de 512 % e 600 % quando foi aplicado a dose de 2 mg dm⁻³ sob restrição hídrica na fase de floração e de enchimento de grãos, respectivamente, isso quando comparado a dose de

0 mg dm⁻³. As plantas que receberam as doses de 0,0; 0,25; e 0,50 mg dm⁻³ de Se sob efeito do estresse hídrico na fase de enchimento de grãos não apresentaram atividade fotossintética (Fig. 7A). A diminuição da taxa fotossintética sob estresse hídrico, quando comparado as condições ótimas, está diretamente relacionada a degradação da clorofila (Fig. 6), fechamento estomático, supressão e fragmentação da RuBisCO (rubilose-1,5-bisfosfato carboxilase oxigenase) (HAJDUCH et al., 2001). Isso promove redução da taxa fotoquímica do fotossistema II (PIETERS; EL SOUKI, 2005), ocasionado por uma possível perda líquida dos centros de reação (CORNIC, 1994).

Na dose de 2 mg dm⁻³ de Se foi observado maior incremento na condutância estomática, quando induzido o estresse hídrico em ambas as fases fenológicas da cultura (Fig. 7B). Em condições ótimas a condutância estomática apresentou aumento significativo na fase de enchimento de grãos (Fig 7B). Essa mesma tendência foi observada para a taxa de transpiração das plantas conforme a figura 7C. Em estudo realizado por Djanaguiraman et al. (2010) o qual aplicou selenato de sódio (75 mg L⁻¹) via foliar na cultura do sorgo, observou-se aumento significativo na taxa fotossintética, na transpiração e na condutância estomática.

Figura 7 - Efeito de doses crescentes de Se na taxa fotossintética [A], condutância estomática [B], transpiração [C], e eficiência do uso da água [D] em plantas de trigo cv. ORS Senna, sem restrição hídrica, com restrição hídrica na fase fenológica de floração e de enchimento de grãos, Lavras – MG, 2022.



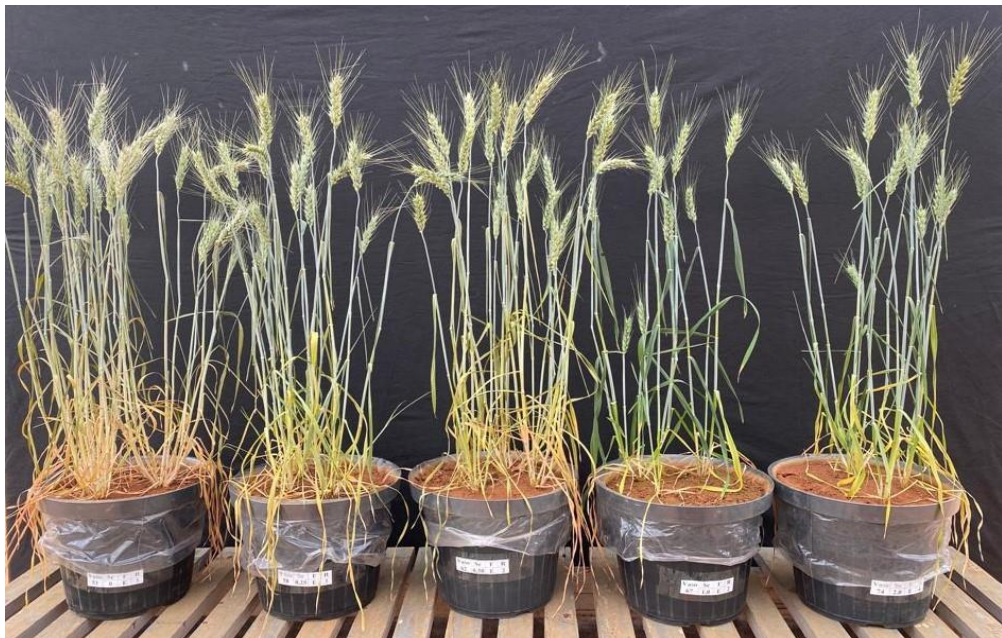
Legenda: Médias seguidas da mesma letra minúscula dentro das doses e maiúsculas entre as doses não diferem estatisticamente ao nível de 5% ($p < 0,05$) de probabilidade pelo teste Tukey. A barra de erro representa o erro padrão das médias ($n = 4$).

É conhecido o efeito positivo do Se na preservação do aparato fotossintético, isso pode ser observado nas figuras 8 e 9. A aplicação de Se nas doses de 1 e 2 mg dm^{-3} sob restrição hídrica, em ambas fases fenológicas, fez com que as plantas permanecessem com as folhas fotossinteticamente ativas. O Se atua minimizando os danos causados nas estruturas dos cloroplastos e aos centros de reação do fotossistema II sob plantas conduzidas em estresse hídrico (GERM et al., 200).

Figura 8 - Plantas de trigo no sexto dia de imposição de estresse hídrico na fase fenológica de floração em função de doses crescentes de Se (0,0; 0,25; 0,50; 1,0 e 2,0 mg dm⁻³).



Figura 9 - Plantas de trigo no sexto dia de imposição de estresse hídrico na fase fenológica de enchimento de grãos em função de doses crescentes de Se (0,0; 0,25; 0,50; 1,0 e 2,0 mg dm⁻³).



Embora as plantas de trigo tenham sofrido um severo estresse pela escassez de água, tanto na fase de floração, quanto no enchimento de grãos, após o reestabelecimento da irrigação as plantas recuperaram o turgor celular, alcançando a fase final do seu ciclo produtivo. Feng et

al. (2013) sugerem que essa capacidade da planta em restaurar seu aparato fotossintético está diretamente relacionado a capacidade do Se em reduzir os níveis de espécies reativas de oxigênio (ERO). Além disso, promove a reativação da atividade antioxidante e restauração dos cloroplastos danificados.

Em relação a eficiência do uso da água (EUA) não houve diferença significativa entre as doses de Se (Fig 7D). No entanto, entre as fases fenológicas sob efeito do estresse hídrico houve diferença significativa. Dentre as doses aplicadas uma que merece destaque é a de 1 mg dm^{-3} que promoveu incremento na EUA de 232 % e 317 % sob restrição hídrica na fase de floração e de enchimento de grãos, respectivamente, quando comparado a dose de 0 mg dm^{-3} .

A maior EUA pelas plantas na dose de $1,0 \text{ mg dm}^{-3}$ de Se sob estresse hídrico, na fase fenológica de floração e enchimento de grãos, é possível devido a uma adequação da taxa fotossintética com a transpiração. Dessa forma, é evidente que a aplicação de Se na cultura do trigo, nas diferentes fases fenológicas sob restrição hídrica aumenta a retenção de água pelas plantas e mantém a taxa de transpiração. Kuznetsov et al. (2003) ao estudarem a aplicação de Se associado ao estresse hídrico na cultura do trigo sugerem que o efeito do Se na proteção das plantas sob estresse hídrico tem relação com a absorção ativa de água do solo pelas raízes e não da perda de água pelas plantas através transpiração, o que corrobora com os resultados encontrados no presente estudo. Em estudo realizado por Nawaz et al. (2016) na cultura do milho sob estresse hídrico e suplementadas com Se foi observado que a maior EUA foi relacionada com o acúmulo de moléculas osmoticamente ativas. Isso foi semelhante ao observado por Andrade et al. (2018) na cultura do arroz na dose de 2 mg kg^{-1} de Se sob restrição hídrica.

5.4 Bioquímica e metabolismo antioxidante

Houve efeito significativo entre as doses de Se e o déficit hídrico para os conteúdos de proteínas totais e aminoácidos livres totais. Não foi observado efeito significativo entre o fator dose de Se e restrição hídrica para açúcares redutores (Fig. 10). Maiores concentrações de proteína na matéria fresca foram encontradas quando se utilizou as doses de 0 e $0,25 \text{ mg dm}^{-3}$ de Se. Entretanto, houve diferença significativa dentro destas doses para restrição hídrica somente quando o estresse foi empregado na fase fenológica de enchimento de grãos (Fig. 10B). A concentração de açúcares redutores foi maior quando se utilizou a dose de $0,25 \text{ mg dm}^{-3}$ de Se, não diferindo estatisticamente na dose de $0,50 \text{ mg dm}^{-3}$. Assim, houve incremento de 243 % e 197 % na concentração de açúcares redutores para o tratamento com restrição hídrica na

floração e no enchimento de grãos, respectivamente, comparativamente ao tratamento sem restrição hídrica na dose de 0 mg dm^{-3} de Se (Fig. 10C).

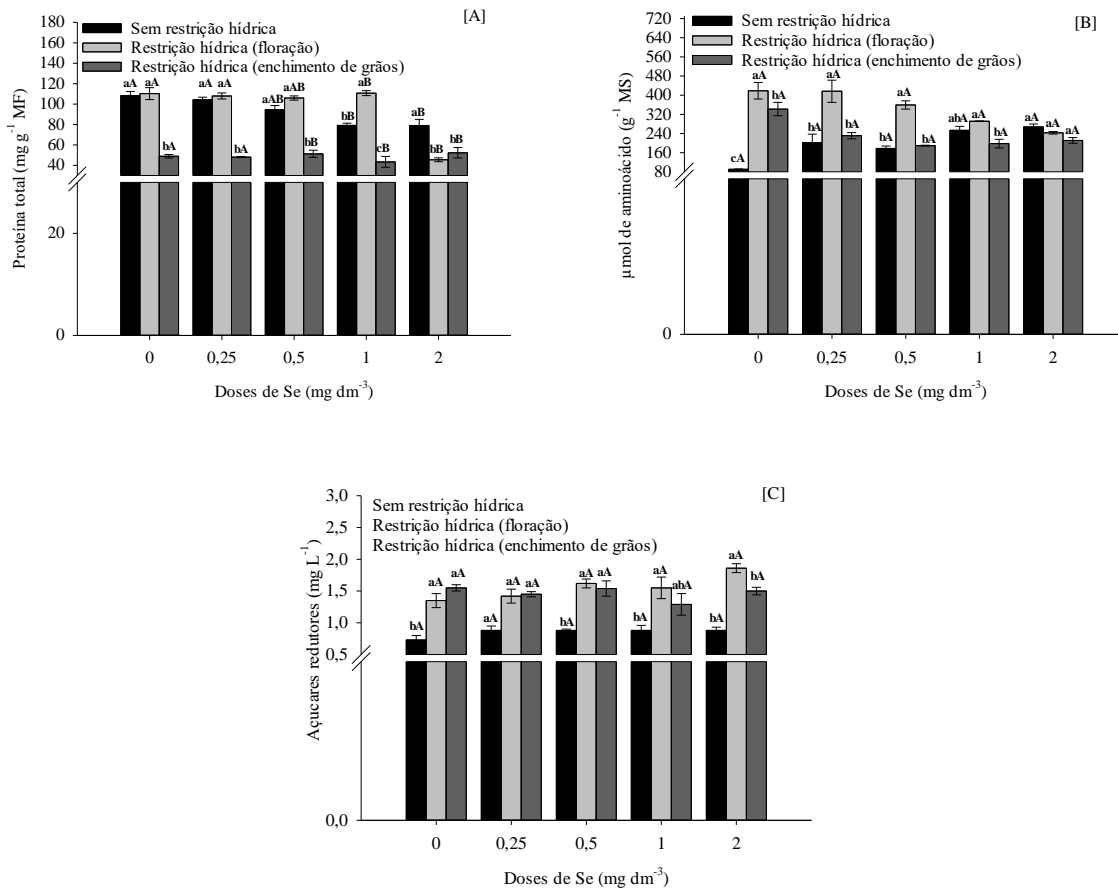
A utilização de $0,25 \text{ mg dm}^{-3}$ de Se associada ao estresse hídrico na fase fenológica de floração e enchimento de grãos resultou em aumento dos teores de aminoácidos livres totais, proteínas totais e açúcares redutores. Nawaz et al. (2015) encontraram resultados semelhantes, uma vez que os autores observaram incrementos de 33 % e 118 % nos açúcares solúveis totais e aminoácidos livres em plantas de trigo sob estresse hídrico, respectivamente. Isso indica que o Se contribuiu para a decomposição do amido, influenciando a atividade da enzima amilase.

É sabido que a biossíntese e acúmulo de aminoácidos é desencadeado por estresses ambientais, entre eles o estresse hídrico (HSU; KAO, 2003). A biossíntese resulta na quebra de proteínas estruturais em aminoácidos componentes, podendo-se inferir que estes aminoácidos participam do ajuste osmótico em ambiente sob estresse hídrico (GOOD; ZAPLACHINSKI, 1994; NAWAZ et al., 2013).

O maior acúmulo de aminoácidos e proteínas do presente estudo está associado a uma maior taxa de assimilação de nitrogênio (N). Isso acontece devido a maior atividade de enzimas relacionadas as rotas de absorção de N, a exemplo da redutase do nitrato (DJANAGUIRAMAN et al., 2004), glutamina sintetase (HAJIBOLAND et al., 2014) e da glutamato sintetase (HAJIBOLAND; KEIVANFAR, 2011). Em concentrações iguais de N, uma maior atividade dessas enzimas pode indicar que a suplementação com Se estimula a produção de compostos nitrogenados (LARA, 2016).

A concentração de açúcares redutores teve sua concentração aumentada quando as plantas foram suplementadas na dose de $0,25 \text{ mg dm}^{-3}$ de Se, associado ao estresse hídrico em ambas as fases fenológicas. Estes carboidratos são utilizados pelos vegetais como substrato no processo respiratório (JANG; SHEEN, 1994). Malik et al. (2011) ao estudarem o metabolismo de carboidratos em plantas de feijoeiro associado ao Se, observaram aumento na atividade da enzima invertase, a qual catalisa a hidrólise da sacarose em frutose e glicose (KULSHRESTHA et al., 2013). Dessa forma, a maior atividade da invertase em relação a amilase sugere uma maior contribuição da sacarose na produção de açúcares redutores.

Figura 10 - Efeito de doses crescentes de Se sob a concentração de aminoácidos livres totais [A], proteínas totais [B] e açúcares redutores [C] em plantas de trigo cv. ORS Senna, sem restrição hídrica, restrição hídrica na fase fenológica de floração e de enchimento de grãos, Lavras – MG, 2022.



Legenda: Médias seguidas da mesma letra minúscula dentro das doses e maiúsculas entre as doses não diferem estatisticamente ao nível de 5% ($p < 0,05$) de probabilidade pelo teste Tukey. A barra de erro representa o erro padrão das médias ($n = 4$).

A interação entre as doses de Se e restrição hídrica foi significativa ($p < 0,05$) para a atividade da dismutase do superóxido (SOD) e catalase (CAT), não havendo diferença significativa para as concentrações de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e malonaldeído (MDA) (Fig. 11). No tratamento sem restrição hídrica, a maior atividade da SOD ocorreu quando se aplicou $0,25 \text{ mg dm}^{-3}$ de Se. No entanto, sob restrição hídrica, a maior atividade dessa enzima se deu quando aplicou 1 mg dm^{-3} de Se. Nessa situação houve incremento na atividade na ordem de 143 % quando o estresse foi aplicado na fase fenológica de floração, comparativamente ao tratamento sem restrição hídrica e sem Se. Por outro lado, para o tratamento em que o estresse foi empregado na fase de enchimento de grãos, a maior atividade da SOD ocorreu quando aplicou $0,25 \text{ mg dm}^{-3}$ de Se, aumentando em 165 % a atividade desta em relação ao tratamento sem restrição hídrica e dose de 0 mg dm^{-3} (Fig. 11A). A CAT teve sua maior atividade após a

aplicação de 2 mg dm^{-3} de Se em associação ao estresse hídrico na fase de floração, tendo sua atividade aumentada em 1.354 % em relação ao tratamento sem restrição hídrica e ausência de Se. Efeito semelhante ocorreu quando se aplicou $0,5 \text{ mg dm}^{-3}$ de Se associado ao estresse hídrico na fase de enchimento de grãos, aumentando a atividade da CAT em 1.142 % quando comparado ao tratamento sem restrição hídrica e aplicação de 0 mg dm^{-3} de Se (Fig. 11B).

O Se ($0,25 \text{ mg dm}^{-3}$) associado imposição do estresse hídrico aumentou a atividade da SOD. Isso é devido a produção de ERO pela planta o que sinaliza a necessidade de ativação do sistema de defesa ao estresse (MITTLER, 2002). A imposição de estresse severo, como o deste estudo aumenta a produção de ERO consequentemente uma maior atividade da SOD é necessária.

Uma maior atividade da SOD devido a aplicação de Se desencadeia a conversão dos radicais superóxidos produzido nos cloroplastos e na cadeia mitocondrial de transporte de elétrons em H_2O_2 conferindo, assim, uma maior proteção ao funcionamento destes (ELKELISH et al., 2019), através da prevenção da formação de radicais hidroxila (OH^\cdot) (ALYEMENI et al., 2018). Vários autores já relataram efeito positivo do Se na maior atividade da SOD em plantas sob estresse, por exemplo, em mudas de trigo (YAO et al., 2010), sorgo (DJANAGUIRAMAN et al., 2010), arroz (ANDRADE et al., 2018), feijão (MALIK et al., 2012; RAVELLO et al., 2020), samambaia chinesa (FENG; WEI, 2012) e batata (SEPPÄNEN et al., 2003).

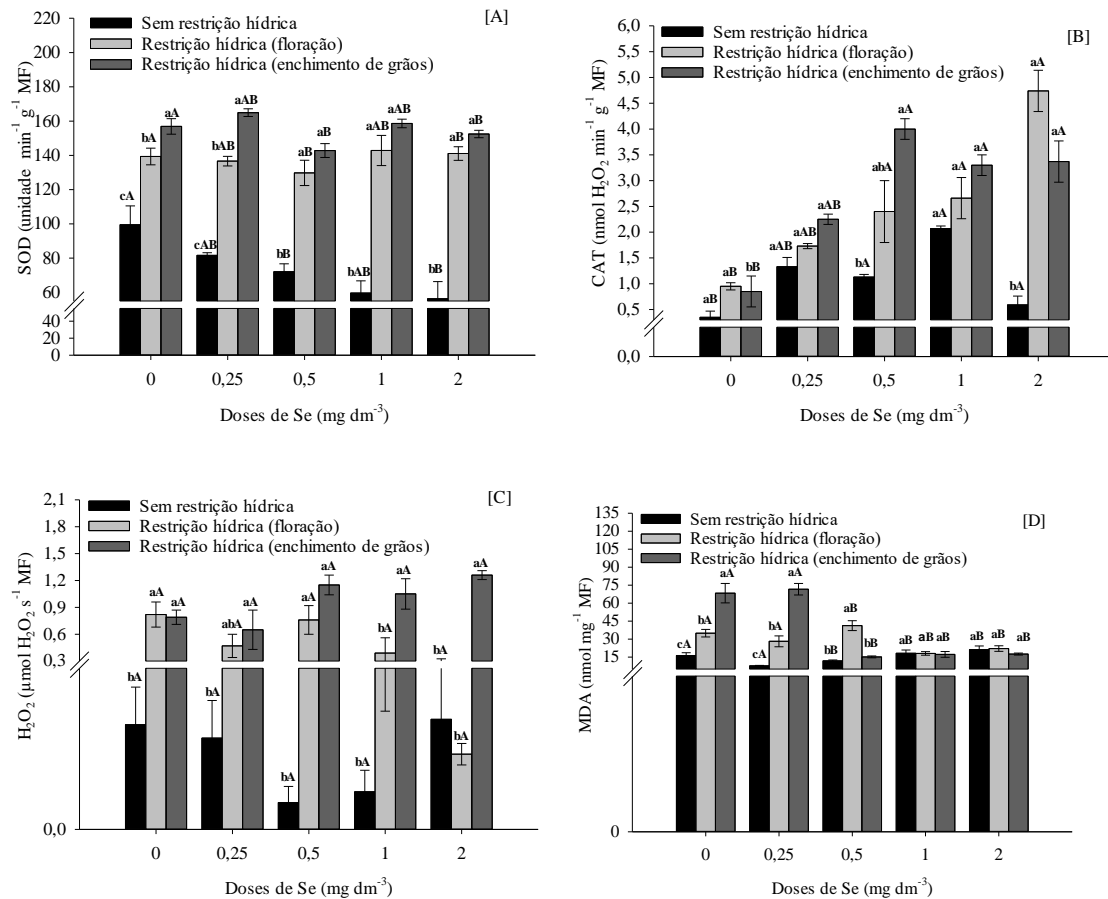
A maior atividade da enzima CAT nas doses de $0,50$; 1 e 2 mg dm^{-3} de Se associado ao estresse hídrico, tem relação com uma maior concentração de H_2O_2 (Fig. 11C). O H_2O_2 e o ânion superóxido são menos tóxicos e mais estáveis em relação a outras ERO na planta (FENG et al., 2013). O Se apresenta o potencial de desencadear uma maior atividade da CAT sob estresses ambientais (MALIK et al., 2012), reduzindo as concentrações de H_2O_2 , transformando-o em água e oxigênio (KIBINZA et al., 2011).

O efeito positivo do Se na atividade da CAT pode indicar uma adaptação ecológica das plantas (YAO et al., 2009), devido a concentração excessiva de ERO (H_2O_2) em condições limitadas de água (HASANUZZAMAN; FUJITA, 2011). Nawaz et al. (2015) observaram que aplicação de Se aumentou a atividade da CAT em plantas de trigo sob estresse hídrico. Esse efeito também foi relatado por Ravello et al. (2020) para cultura do feijão.

Em plantas sob condições ideais de cultivo, a concentração de H_2O_2 nos cloroplastos é em torno de $0,5 \mu\text{M}$. Por outro lado, o estresse desencadeia uma alta produção desta ERO, aumentando para 5 a $15 \mu\text{M}$ (MILLER, 2002). As concentrações de H_2O_2 nas plantas sob aplicação de Se e submetidas ao estresse hídrico induzido apresentaram menor concentração desta ERO do que o proposto por MILLER (2002) (Fig. 11C). Isso indica que a aplicação de

Se faz com que as plantas mesmo em condições deletérias concentrem menos H_2O_2 , o que corrobora com a maior atividade da CAT.

Figura 11 - Efeito de doses crescentes de Se sob a atividade da dismutase do superóxido [A], catalase [B], teores de peróxido de hidrogênio [C] e malonaldeído [D] em plantas de trigo cv. ORS Senna, sem restrição hídrica, restrição hídrica na fase fenológica de floração e de enchimento de grãos, Lavras – MG, 2022.



Legenda: Médias seguidas da mesma letra minúscula dentro das doses e maiúsculas entre as doses não diferem estatisticamente ao nível de 5% ($p < 0,05$) de probabilidade pelo teste Tukey. A barra de erro representa o erro padrão das médias ($n = 4$).

A peroxidação lipídica através do MDA foi drasticamente diminuída quando foram aplicadas as doses de Se (1 e 2 mg dm⁻³) nas plantas sob estresse hídrico nas diferentes fases fenológicas do trigo. Isso ocorre pois os compostos de Se eliminam a peroxidação lipídica mediada por radicais livres (XUE et al., 1993). Semelhante ao presente estudo Hasanuzzaman e Fujita (2011) observaram uma diminuição de MDA em plântulas de colza quando utilizaram Se sob estresse hídrico. Através da produção do ânion superóxido em plantas sob estresse hídrico, ocorre aumento da produção de H_2O_2 que pode desencadear a produção de ERO mais danosas às plantas, como o radical hidroxila ($OH\cdot$). A incorporação de radicais livres a membrana das células vegetais provoca um grave dano oxidativo, diminuindo a fluidez da

membrana plasmática, danificação das proteínas de membrana, canais iônicos e enzimas (GARG; MANCHANDA, 2009).

5.5 Status nutricional da planta

5.5.1 Concentração de Se

As concentrações de Se nos diferentes tecidos vegetais, parte aérea e grãos, aumentaram com o aumento das doses de Se aplicadas no solo. A concentração de Se na parte aérea apresentou efeito significativo da interação entre o fator dose e a restrição hídrica. Porém, essa interação não foi significativa para os teores de Se nos grãos (Fig. 12). A taxa de recuperação de Se pelos grãos foi significativa entre os fatores obtendo-se ajuste quadrático (Fig. 12D). No tratamento sem restrição hídrica a maior taxa de recuperação de Se pelos grãos estimada pelo modelo foi de 43,8 % obtido na dose de $1,28 \text{ mg dm}^{-3}$ de Se. Quando foi induzido o estresse hídrico sob as plantas na fase de enchimento grãos a maior taxa de recuperação foi de 31,7 % ($1,26 \text{ mg dm}^{-3}$ de Se), enquanto que na fase de floração a recuperação máxima foi de 23 % ($1,38 \text{ mg dm}^{-3}$ de Se), conforme a figura 12D.

As duas formas de absorção de Se pelas raízes das plantas são: (I) formas inorgânicas, selenato e selenito; (II) formas orgânicas como selenometionina e selenocisteína. O selenato é absorvido pelas raízes por meio de transportadores de sulfato, sendo que as espécies vegetais podem apresentar diferentes seletividades entre sulfato e selenato (TERRY et al., 2000; SORS et al., 2005). A translocação do Se em plantas suplementadas com selenato ocorre rapidamente do xilema do sistema radicular para os tecidos da parte aérea (BOLDRIN et al., 2016). Embora não seja considerado uma planta acumuladora de Se (WHITE; BROADLEY, 2009), o trigo tem uma tolerância relativamente alta quando comparada a outras espécies não acumuladoras (GOVASMAR et al., 2008; FENG et al., 2009). Guerrero et al., 2014 observaram que plântulas de trigo conduzidas em sistema hidropônico com selenato acumularam grandes quantidades de Se. O tratamento com $100 \mu\text{M L}^{-1}$ de Se fez com que a matéria seca dos brotos de trigo acumulassem em média $680 \mu\text{g g}^{-1}$. Esses resultados foram semelhantes quando foi utilizado $20 \mu\text{M L}^{-1}$ de Se em diferentes linhagens de trigo, sendo que o acúmulo constatado foi de 400 a $600 \mu\text{g g}^{-1}$ (BOLDRIN et al., 2016).

Os resultados encontrados no presente trabalho demonstram uma alta eficiência da cultivar ORS Senna em acumular Se. Por meio da figura 12A é possível verificar que as doses crescentes de Se na forma de selenato de sódio associado ao estresse hídrico, promoveram

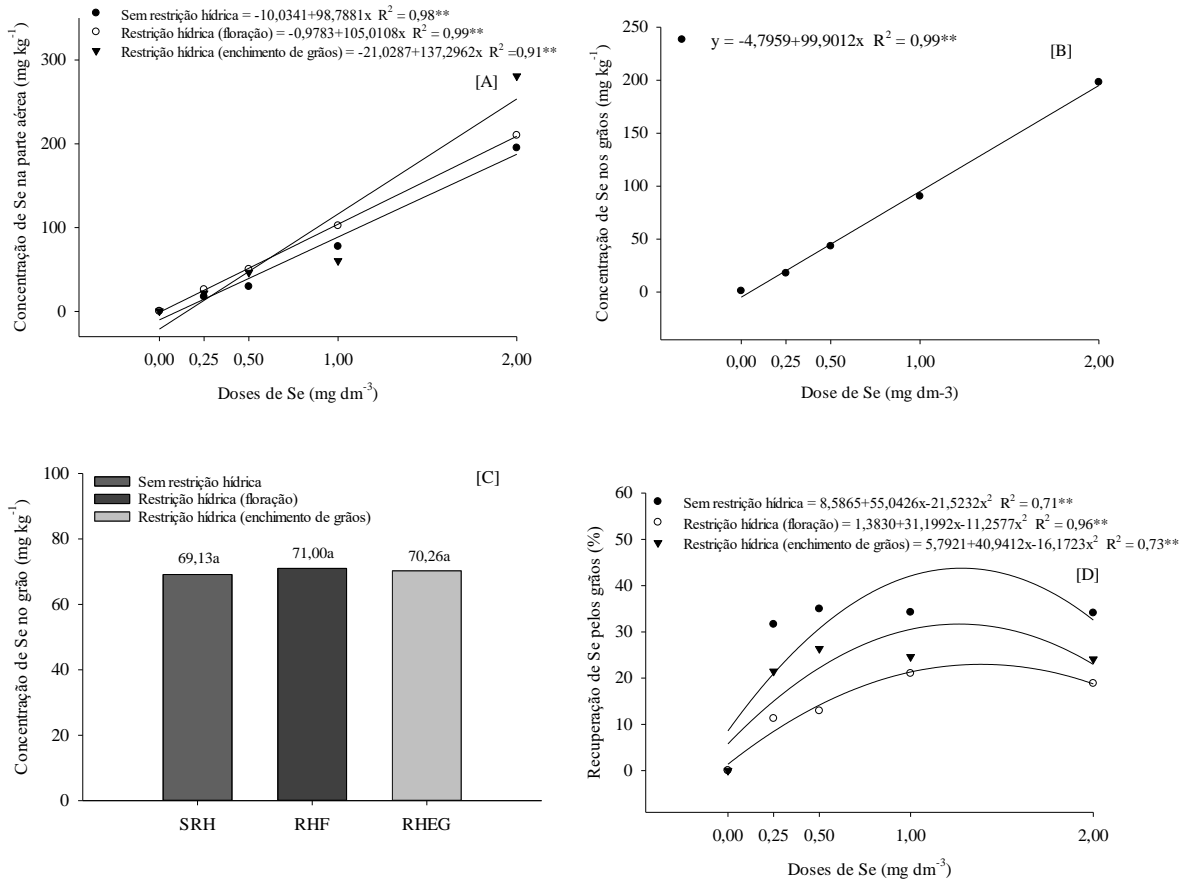
aumento significativo da concentração de Se na parte aérea das plantas. Embora tenha aumentado de forma linear, a concentração de Se nos grãos não resultou em efeito significativo entre as doses e a imposição do estresse hídrico. De forma semelhante Boldrin et al. (2016), observaram aumento linear na concentração de Se na parte aérea em plântulas de trigo.

A maior capacidade das plantas de trigo em translocar e armazenar o selenato na parte aérea está relacionada a dois mecanismos complementares. Inicialmente esse é acumulado no vacúolo das células como uma forma de proteger as plantas da toxicidade. Posteriormente, o Se pode ser eliminado através de compostos voláteis (GUERRERO et al., 2014). Além disso, a compartimentalização do Se no vacúolo diminui sua mobilização e incorporação na cadeia proteica.

Em estudo realizado por Carey et al. (2012), foi observado o acúmulo de altas concentrações de Se nas folhas e nos grãos de arroz. Na cultura do milho associado ao estresse hídrico, BOCCHINI et al. (2018) destacam que a capacidade de acumular altas concentrações de Se em seus tecidos está relacionada a capacidade destas de desviar o Se do acúmulo de selenocisteína (SeCys) e selenometionina (SeMet) para selênio metilselenocisteína (SeMetSeCys).

Nos tecidos vegetais, a SeCys tóxica pode ser metilada para gerar selênio metilselenocisteína (SeMetSeCys), que é um aminoácido livre não tóxico, através da SeCys metiltransferase (SMT) (PILON-SMITS; QUINN, 2010). O aminoácido SeMetSeCys não é incorporado em proteínas e pode ser acumulado com segurança em altas concentrações nos tecidos vegetais (BOCCHINI et al., 2018). Quando o Se é acumulado na forma SeMetSeCys é diminuído o seu efeito tóxico sob as plantas. Esse mecanismo é identificado em espécies hiperacumuladoras de Se. A forma de SeMetSeCys quando acumulado nas plantas de trigo por meio de programas de biofortificação apresenta maior potencial, pois esta confere maior propriedade anticarcinogênicas aos consumidores (WANG et al., 2013).

Figura 12 - Efeito de doses crescentes de Se sob a concentração de Se parte aérea [A], grãos [B] e [C] e taxa de recuperação de Se pelos grãos [D] em plantas de trigo cv. BRS Senna, sem restrição hídrica, restrição hídrica na fase fenológica de floração e de enchimento de grãos, Lavras – MG, 2022.



O ajuste quadrático das taxas de recuperação de Se demonstra que nas maiores doses há uma diminuição na recuperação de Se pelos grãos. Esse efeito também foi observado em trabalho realizado por Lessa et al. (2019) com a cultura do trigo. A maior taxa de recuperação de Se em grãos de feijão foram observados na dose de 1 mg kg⁻¹ de Se sob a imposição do estresse hídrico (RAVELLO et al., 2020), sendo que esse resultado está de acordo com os encontrados no presente estudo.

5.5.2 Concentração de nitrogênio e enxofre

A concentração de nitrogênio (N) e enxofre (S) na parte aérea de plantas de trigo e nos grãos foram significativas ($p < 0,01$) para a interação entre as doses de Se e a restrição hídrica em ambas as fases fenológicas (Fig. 13). Com o aumento das doses de Se a concentração de N na parte aérea das plantas decresceu de forma linear, quando associada a restrição hídrica. Efeito

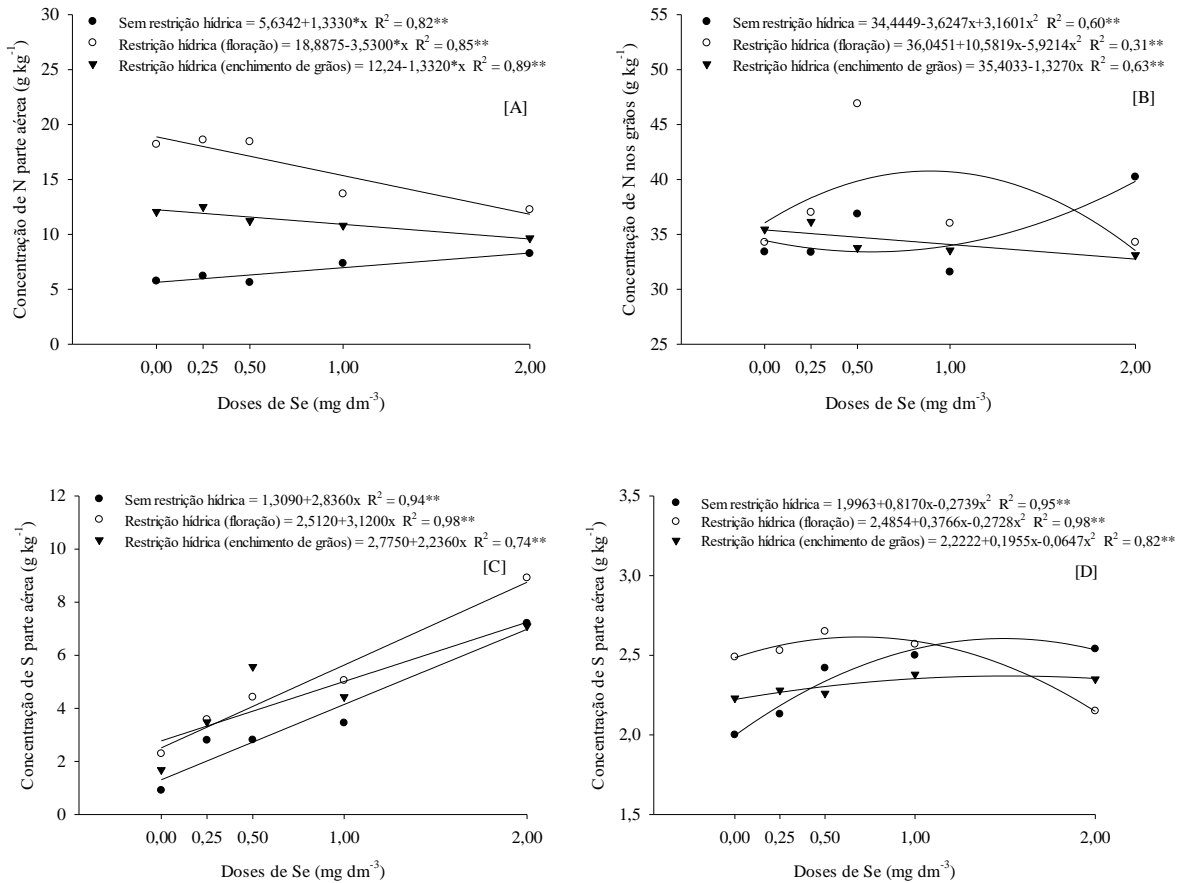
inverso foi observado no tratamento sem estresse hídrico (Fig. 13A). A concentração de S na parte aérea das plantas aumentou linearmente conforme aumentou as doses de Se, seguindo um modelo de regressão linear crescente para ambos os tratamentos (sem restrição hídrica e com restrição hídrica) (Fig. 13C). Para os grãos independente do tratamento houve ajuste quadrático (Fig. 13D).

A imposição do estresse hídrico na fase fenológica de floração e enchimento de grãos promoveu maior concentração de N nas plantas, quando se compara com o tratamento sem restrição hídrica. Acredita-se que a regulação e redistribuição de alguns elementos essenciais, como N e S pelo Se esteja associado a reativação do sistema antioxidante, para diminuir ERO e melhorar a tolerância a estresses abióticos (FENG et al., 2013). Mesmo assim, os efeitos da regulação de elementos essenciais pelo Se em plantas estressadas ainda não foram totalmente elucidados.

As formas inorgânicas de Se (selenato e selenito) apresentam a capacidade de potencializar o metabolismo do N (RIOS et al., 2010). Lara (2016) em experimento a nível de campo observou um maior teor de N-total para cultura do trigo associado as doses de 21 e 38 g ha⁻¹ de Se. Em plantas de trigo, a regulação do metabolismo do N está associado ao aumento na atividade da enzima redutase do nitrato (HAJIBOLAND; SADEGHZADE, 2014). Dessa forma, o Se influencia positivamente o metabolismo de aminoácidos nas plantas, permitindo maior absorção e assimilação do N (GUERRERO et al., 2014).

A concentração de N nos grãos de trigo foi superior às encontradas nas folhas (Fig. 13A e B). A maior concentração associado ao estresse hídrico por meio do modelo de regressão foi obtido na dose de 0,90 mg dm⁻³ de Se na fase de floração. Essa maior concentração de N observada tem relação com a mobilidade do nutriente nos tecidos vegetais e sua capacidade de redistribuição. Há um consenso de que a maior parte do N acumulado nas raízes e parte aérea, seja a principal fonte de N para os grãos antes da fase de antese (GAJU et al., 2014), sendo que de 50 a 95% do N armazenado é redistribuído para o enchimento de grãos (PALTA; FILLERY, 1995; KICHEY et al., 2007). Desta forma, é possível afirmar que a maior concentração de N nos grãos pode estar associada a uma maior concentração deste nutriente na parte aérea do trigo devido a aplicação de 0,50 mg dm⁻³ de Se associado ao estresse hídrico na fase fenológica de floração. Com esses resultados fica evidente que o Se atua no metabolismo do N aumentando sua redistribuição para os grãos. Quando o estresse foi induzido na fase de enchimento de grãos foi observado decréscimo na concentração de N nos grãos.

Figura 13 - Efeito de doses crescentes de Se sob a concentração de nitrogênio na parte aérea [A] e nos grãos [B], enxofre na parte aérea [C] e nos grãos [D] em plantas de trigo cv. BRS Senna, sem restrição hídrica, restrição hídrica na fase fenológica de floração e de enchimento de grãos, Lavras – MG, 2022.



As plantas de trigo quando receberam estresse hídrico induzido na fase de floração e enchimento de grãos tiveram maiores incrementos na concentração de S na parte aérea, quando comparado ao tratamento sem restrição hídrica. A maior concentração de S nos grãos foi observada na dose de 0,50 mg dm⁻³ de Se associado ao estresse hídrico na fase de floração. Por meio do modelo de regressão, a dose ideal estimada para promover maior incremento de S nos grãos foi de 0,70 mg dm⁻³ de Se. O selenato quando é absorvido pelas espécies vegetais é transportado para os cloroplastos e é processado pelas vias de assimilação do S (HAWKESFORD, 2005). O selenato forma adenosina-5-fosfoselenato (APSe) através de sua ativação pela ATP sulfurilase (PILON-SMITS et al., 2010). Assim, as concentrações de S encontradas nos grãos neste estudo podem ter sido potencializadas pelo Se, resultando em maior desenvolvimento e enchimento dos grãos.

O aumento na concentração de S associado ao estresse hídrico deve estar relacionado as interações sinérgicas entre os íons selenato e sulfato. Isso é devido a sua semelhança química,

além da utilização dos mesmos transportadores de membrana e vias de assimilação (PILON-SMITS, 2015; WHITE, 2016). Andrade et al. (2018) observaram uma maior concentração de S em plantas de arroz associada a uma dose de 1 mg kg^{-1} de Se sob restrição hídrica, esse efeito segundo os autores está relacionado a uma maior síntese de glutatona para reduzir ERO.

5.5.3 Concentração de micronutrientes

As concentrações de micronutrientes na parte aérea e nos grãos apresentaram efeito significativo entre as doses de Se e a imposição do estresse hídrico (Fig. 14). As concentrações de cobre (Cu), ferro (Fe), manganês (Mn) e zinco (Zn) na parte aérea foram superiores quando associado ao estresse hídrico (Fig. 14A, C, E e G). Esse efeito pode estar relacionado ao papel desses nutrientes na atividade de enzimas associadas a proteção das plantas contra o estresse hídrico. Por exemplo, a enzima dismutase do superóxido utiliza Cu, Fe, Mn e Zn como cofatores. A peroxidase, catalase e enzimas envolvidas na biossíntese de clorofila utilizam o Fe (FENG et al., 2013).

No entanto, a concentração desses nutrientes nos grãos não seguiu a mesma tendência de concentração na parte aérea das plantas. As menores concentrações de Se ($0,25$ e $0,50 \text{ mg dm}^{-3}$) associadas à imposição do estresse hídrico na fase fenológica de floração aumentaram as concentrações de Cu, Fe, Mn e Zn (Fig. 14B, D, F e H), quando comparado ao tratamento sem restrição hídrica. Quando o estresse hídrico foi induzido na fase fenológica de enchimento de grãos e aplicando-se a dose de $0,25 \text{ mg dm}^{-3}$ de Se houve uma maior concentração de Mn e Zn (Fig. 14F e H).

A aplicação de doses crescentes de Se associado ao estresse hídrico, em ambas as fases fenológicas, resultou em decréscimo na concentração de Cu nas plantas. Porém, naquelas não submetidas ao estresse hídrico a concentração de Cu apresentou comportamento linear crescente (Fig. 14A). Em estudo realizado na cultura do arroz por Andrade et al. (2018) foi observado que a aplicação de Se, independentemente do regime hídrico, fez com que a concentração de Cu aumentasse de forma linear. Arvy et al. (1995) também relataram um aumento na concentração de Cu na biomassa de *Catharanthus roseus* (L.) quando foi aplicado Se.

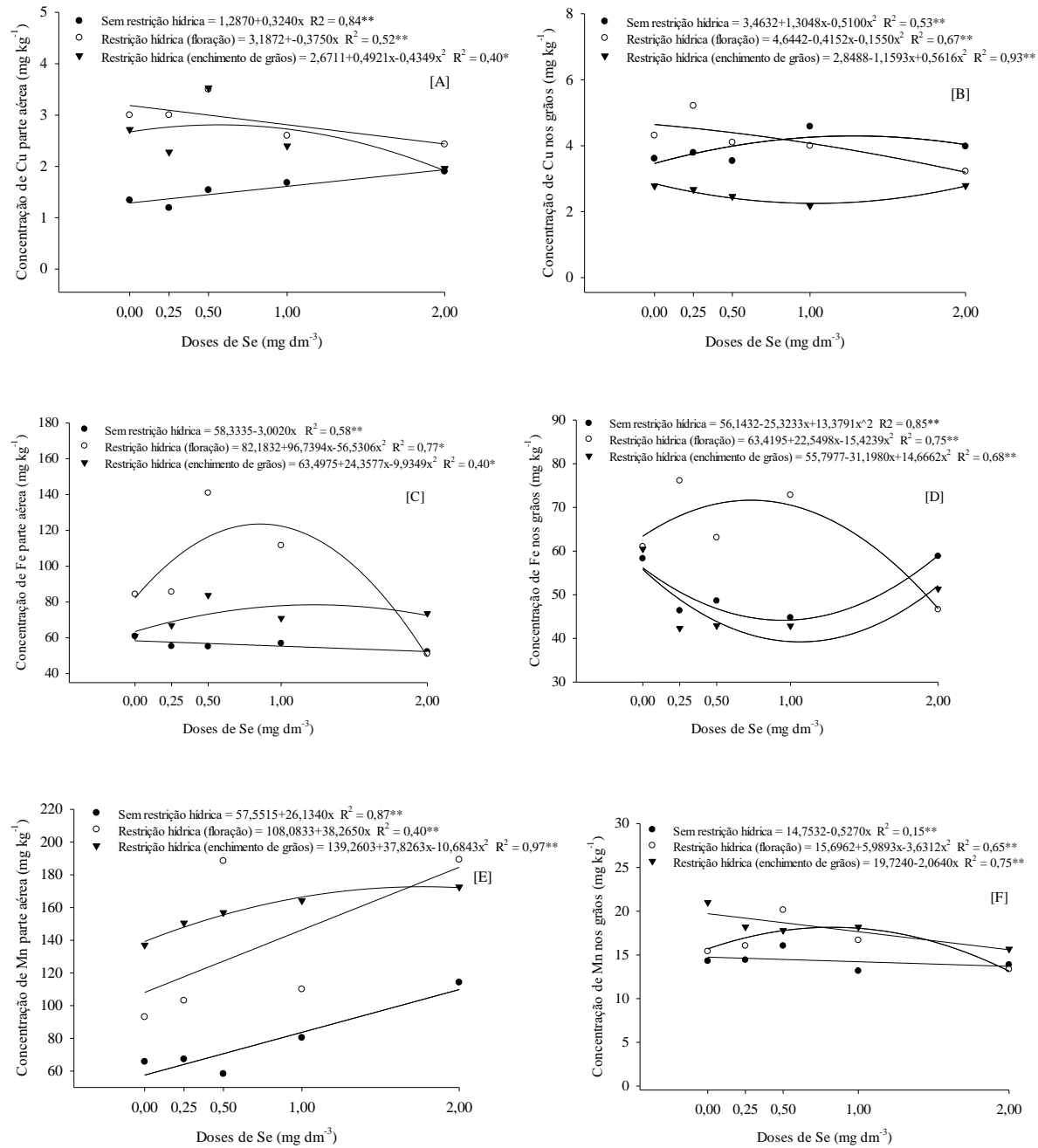
O Cu é exigido em baixas concentrações pelas plantas e apesar de apresentar baixa mobilidade, pode ser translocado dos órgãos vegetativos para os grãos. Esse efeito foi pronunciado na associação da dose de $0,25 \text{ mg dm}^{-3}$ de Se e estresse hídrico na fase de floração.

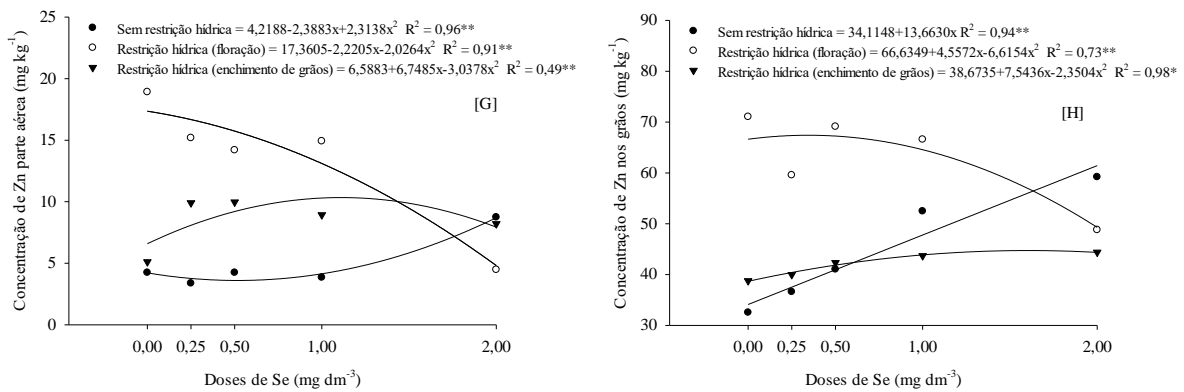
Boldrin et al. (2013) observaram maior concentração de Cu em grãos de arroz através do fornecimento de Se, os autores sugerem ainda um possível efeito sinérgico entre Se e Cu.

A concentração de Fe teve um aumento na parte aérea de plantas de trigo devido a aplicação de Se em associação com a restrição hídrica na fase fenológica de floração e enchimento de grãos. Esse efeito está relacionado com a função do Fe na biossíntese de clorofila, sendo que o comportamento quadrático observado na figura 14C pode ter relação com os índices de clorofila constatados por meio da figura 6 na fase de floração. Como o Fe está envolvido em processos metabólicos da planta, pode ter ocorrido interação positiva entre baixas doses de Se e concentração de Fe na parte aérea das plantas. Em plantas de arroz esse efeito do Se sob o acúmulo de Fe na parte aérea já foi relatado (FENG et al., 2018; BOLDRIN et al., 2013).

A maior concentração de Fe nos grãos foi observada na dose de $0,25 \text{ mg dm}^{-3}$ de Se sob restrição hídrica na fase de floração. Entretanto, a dose ideal estimada pelo modelo de regressão foi de $0,73 \text{ mg dm}^{-3}$. A aplicação de selenato via foliar aumentou as concentrações de Fe em grãos de arroz (BOLDRIN et al., 2013). No entanto, esse efeito significativo não foi observado em plantas de arroz sob restrição hídrica (ANDRADE et al., 2018).

Figura 14 - Efeito de doses crescentes de Se sob a concentração de cobre na parte aérea [A] e nos grãos [B], ferro na parte aérea [C] e nos grãos [D], manganês na parte aérea [E] e nos grãos [F] e zinco na parte aérea [G] e nos grãos [H] em plantas de trigo cv. BRS Senna, sem restrição hídrica, restrição hídrica na fase fenológica de floração e de enchimento de grãos, Lavras – MG, 2022.





Em estudo realizado por Tobiasz et al. (2014) foi observado teores decrescentes de Mn em doses mais altas de Se em plantas de trigo. De forma semelhante, em plantas de alface, foi observada uma redução de 36 % na concentração de Mn sob doses crescentes de Se (KLEIBER et al., 2018). Em contrapartida, no presente estudo foi observado incremento na concentração de Mn, quando associado doses crescentes de Se e estresse hídrico, em ambas as fases fenológicas. Esse incremento no teor de Mn pode ter sido decorrente da sua importância como cofator da enzima SOD, sendo que isso é corroborado pela alta atividade dessa enzima em condições de estresse hídrico (Fig. 11A).

A maior concentração de Mn nos grãos, utilizando-se o modelo de regressão, foi alcançada na dose de $0,8 \text{ mg dm}^{-3}$ quando associado ao estresse hídrico na fase de floração. Já para a fase de enchimento de grãos sob estresse hídrico o comportamento observado foi linear decrescente. Em plantas de arroz com uma dose intermediária de Se ($0,75 \text{ mg kg}^{-1}$) na forma de selenato aplicado via solo, foi observado uma concentração de Mn de 8 mg kg^{-1} nos grãos (BOLDRIN et al., 2018). No presente estudo a maior concentração de Mn observada foi de 18 mg kg^{-1} .

A concentração de Zn na parte aérea e nos grãos decresceu significativamente com a imposição do estresse hídrico na fase de floração (Fig. 14G e H). As plantas sob condições ideais de cultivo apresentaram menor concentração de Zn na parte aérea quando comparada as plantas submetidas ao estresse hídrico, em ambas as fases fenológicas, exceto na dose de 2 mg dm^{-3} de Se. A concentração de Zn nos grãos sob doses crescentes de Se, sem imposição do estresse hídrico, aumentou linearmente. Já foi relatado uma maior concentração de Zn na parte aérea e grãos de trigo associado a estresse ambientais (WU et al., 2020).

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com o presente trabalho foi possível identificar os efeitos da aplicação de selênio frente ao estresse hídrico na cultura do trigo. Observou-se que as doses de Se via solo, na forma de selenato de sódio, concentra Se de forma crescente nos grãos de trigo. Esse efeito é interessante, pois é essa a parte consumível da planta. Entretanto, sob condições de estresse, as doses de 0,25 e 0,50 mg dm⁻³ são as mais adequadas por permitir tanto a sustentação da produção quanto o acúmulo de Se nos grãos na fase fenológica de floração. No entanto, maiores doses de Se (1 e 2 mg dm⁻³) são capazes de manter uma maior atividade fotossintética, condutância estomática, transpiração e eficiência no uso da água em plantas trigo quando o estresse é induzido na fase fenológica de enchimento de grãos.

A aplicação Se, não somente para fins de biofortificação, mas também no estudo de seu efeito sob o estresse hídrico é importante. Pois devido as mudanças climáticas o regime hídrico e a distribuição das chuvas tem sido afetado de forma direta. Desta forma, o emprego da biofortificação agrônômica do trigo com Se pode ser viável para mitigar o estresse hídrico que tem acontecido de forma constante nas safras de trigo.

Ficou evidente que a suplementação de Se via solo promove o enriquecimento dos grãos com este elemento. A partir desses resultados justifica-se a utilização da espécie para fins de biofortificação agrônômica. Isso é estimulante, pois essa técnica não envolve o emprego de tecnologias aprimoradas e de alto custo ao produtor. Além disso, a utilização do trigo em programas de biofortificação é viável, e se justifica através da utilização de produtos proveniente da cultura por todas as camadas sociais. Portanto, caracterizando uma estratégia no combate a desnutrição mineral em humanos através da produção de grãos ricos nutricionalmente.

Como este estudo foi conduzido em casa de vegetação, é recomendado experimento em campo para melhor definir a dose ideal de Se na mitigação do estresse hídrico em plantas de trigo, bem como, a concentração adequada de Se em grãos de trigo para o consumo humano.

7 CONCLUSÕES

O trigo (*Triticum aestivum* L.) é cultura indicada para biofortificação agronômica, pois concentra Se de forma crescente em sua parte consumível.

Ficou evidente neste estudo que aplicação de Se via solo protege as plantas de trigo cv. ORS Senna dos efeitos deletérios do estresse hídrico nas duas fases fenológicas da cultura.

A aplicação da dose de $0,25 \text{ mg dm}^{-3}$ de Se associado ao estresse hídrico na fase fenológica de floração aumenta a taxa de perfilhamento e promove ganhos em biomassa, massa de grãos e produtividade. Aumenta o metabolismo do nitrogênio através do maior acúmulo de N na parte aérea e grãos, além da maior concentração de aminoácidos livres totais e proteínas. Além disso, a aplicação de Se ($0,25 \text{ mg dm}^{-3}$) aumenta a atividade da dismutase do superóxido e diminui as concentrações de peróxido de hidrogênio, conferindo uma proteção das plantas ao estresse hídrico através da diminuição do estresse oxidativo.

No entanto, quando o estresse hídrico é induzido na fase fenológica de enchimento de grãos a dose de 1 mg dm^{-3} de Se promove maiores benefícios a cultura do trigo frente ao estresse. Uma vez que o Se proporcionou efeitos positivos na preservação do aparato fotossintético através do aumento dos índices de clorofila a, b e total, maior atividade fotossintética, condutância estomática e eficiência no uso da água. Esse efeito positivo do Se também foi perceptível sob o estresse oxidativo, em que o Se aumentou a atividade da dismutase do superóxido e catalase, diminuindo o peróxido de hidrogênio e a peroxidação lipídica. Ademais, sob efeito desta dose de Se há um aumento na massa de grãos e produção de grãos mais ricos nutricionalmente, pois há uma maior concentração de enxofre, manganês e zinco.

REFERÊNCIAS

- AISSA, N.; MALAGOLI, M.; RADHOUANE, L. An approach to alleviate the impact of drought stress with selenium amendment. **Iranian Journal of Science and Technology**. Transaction A, Science 42, p. 283–288, 2018.
- ALFTHAN, G.; EUROLA, M.; EKHOLM, P.; VENÄLÄINEN, E. R.; ROOT, T.; KORKALAINEN, K.; HARTIKAIENEN, H.; HIETANIEMI, V.; ASPILA, P.; SELENIUM WORKING GROUP. 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**, 31, p. 142-147, 2015.
- ALYEMENI, M. N.; AHANGER, M. A.; WIJAYA, L.; ALAM, P.; BHARDWAJ, R.; AHMAD, P. Selenium mitigates cadmium-induced oxidative stress in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plants by modulating chlorophyll fluorescence, osmolyte accumulation, and antioxidant system. **Protoplasma**, 255 (2), p. 459-469, 2018.
- ANDRADE, F. R.; DA SILVA, G. N.; GUIMARÃES, K. C.; BARRETO, H. B. F.; DE SOUZA, K. R. D.; GUILHERME, L. R. G.; FAQUIN, V.; DOS REIS, A. R. Selenium protects rice plants from water deficit stress. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 164, p. 562-570, 2018.
- ARVY, M. P.; THIERSAULT, M.; DOIREAU, P. Relationships between selenium, micronutrients, carbohydrates, and alkaloid accumulation in *Catharanthus roseus* cells. **J. Plant Nutr.**, 18, p. 1535-1546, 1995.
- ASADA, K. Production and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts and their functions. **Plant Physiology**, 141 (2), p. 391-396, 2006.
- ASPILA, P. History of selenium supplemented fertilization in Finland. **Proceedings Twenty Years of Selenium Fertilization/Merja Eurola** (ed.), 2005.
- ÁVILA, F. W.; YANG, Y.; FAQUIN, V.; RAMOS, S. J.; GUILHERME, L. R. G.; THANNHAUSER, T.W.; LI, L. Impact of selenium supply on Se-methylselenocysteine and glucosinolate accumulation in selenium biofortified Brassica sprouts. **Food Chemistry**, v. 165, p. 578-586, 2014.
- BARILLAS, J. R. V.; QUINN, C.F.; PILON-SMITS, E. A. Selenium accumulation in plants phytotechnological applications and ecological implications. **International of Journal Phytoremediation**, v.13, p. 166-178, 2011.
- BATES, L. S.; WALDREN, R. P.; TEARE, I. D. Rapid determination of free proline for water-stress studies. **Plant and Soil**, 39: p. 205-207, 1973.
- BAYMA, C. **Trigo**. Rio de Janeiro: Serviço de Informação Agrícola, v. 1, 1960.
- BINGAHAM, J. Varietal response in wheat to water supply in the field, and male sterility caused by a period of drought in a glasshouse experimente. **Annal of Applied Biology**, 57, p. 365-377, 1966.

BOCCHINI, M.; D'AMATO, R.; CIANCALEONI, S.; FONTANELLA, M. C.; PALMERINI, C. A.; BEONE, G. M.; ONOFRI, A.; NEGRI, V.; MARCONI, G.; ALBERTINI, E.; BUSINELLI, D. Soil selenium (Se) biofortification changes the physiological, biochemical and epigenetic responses to water stress in *Zea mays* L. by inducing a higher drought tolerance. **Frontiers in plant science**, 9, p. 389, 2018.

BODNAR, M.; KONIECZKA, P.; NAMIESNIK, J. The properties, functions, and use of selenium compounds in living organisms. **Journal of Environmental Science and Health, Part C**, v. 30, n. 3, p. 225-252, 2012.

BOLDRIN, P. F.; DE FIGUEIREDO, M. A.; YANG, Y.; LUO, H.; GIRI, S.; HART, J. J.; FAQUIN, V.; GUILHERME, L. R. G.; THANNHAUSER, T. W.; LI, L. Selenium promotes sulfur accumulation and plant growth in wheat (*Triticum aestivum*). **Physiologia Plantarum**, 158(1), p. 80-91, 2016.

BOSCHINI, A. P. M.; SILVA, C. L.; OLIVEIRA, C. A.; OLIVEIRA JÚNIOR, M. P. DE; MIRANDA, M. Z.; FAGIOLI, M. Aspectos quantitativos e qualitativos do grão de trigo influenciados por nitrogênio e lâminas de água. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.15, p. 450-457, 2011.

BRASIL. Portaria nº 370, de 19 de dezembro de 2019. Aprova o Zoneamento Agrícola de Risco Climático para a cultura de trigo de sequeiro no Estado de Minas Gerais, ano-safra 2019/2020. Diário Oficial da União, **Poder Executivo**, Brasília, DF, nº 248, 24 dez. 2019b. Seção 1, p.16.

BRASIL. Portaria nº 380, de 19 de dezembro de 2019. Aprova o Zoneamento Agrícola de Risco Climático para a cultura de trigo irrigado no Estado de Minas Gerais, ano-safra 2019/2020. Diário Oficial da União, **Poder Executivo**, Brasília, DF, nº 248, 24 dez. 2019a. Seção 1, p. 90.

BREUSEGEM, V. F.; DAT, J. F. Reactive oxygen species in plant cell death. **Plant Physiol**, 141, p. 384–390, 2006.

BUEGE, J. A.; AUST, S. D. Microsomal lipid peroxidation. **Methods in Enzymology, Oxford**, v. 52, p. 302-310, 1978.

CAIRO, P. A. R. **Curso básico de relações hídricas de plantas**. UESB, Vitória da Conquista, 1995.

CAO, X. D.; MA, L. Q.; TU, C. Antioxidative responses to arsenic in the arsenic-hyperaccumulator Chinese brake fern (*Pteris vittata* L.). **Environmental Pollution**, 128 (3), p. 317-325, 2004.

CAREY, A. M.; SCHECKEL, K. G.; LOMBI, E.; NEWVILLE, M.; CHOI, Y.; NORTON, G. J.; PRICE, A. H.; MEHARG, A. A. (2012). Grain accumulation of selenium species in rice (*Oryza sativa* L.). **Environmental science & technology**, 46(10), p. 5557-5564, 2012.

CARTES, P.; GIANFREDA, L.; MORA, M. L. Uptake of Selenium and its antioxidant activity in ryegrass when applied as selenite and selenite forms. **Plant Soil**, 276: p. 359- 367, 2005.

CARVALHO, F. E. L.; LOBOL, A. K. M.; BONIFÁCIO, A.; MARTINS, M. O.; LIMA NETO, M. C.; SILVEIRA, J. A. G. Aclimatação ao estresse salino em plantas de arroz induzida pelo pré-tratamento com H₂O₂. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.15, p. 416-423, 2011.

CARVALHO, G. S.; OLIVEIRA, J. R.; CURI, N.; SCHULZE, D. G.; MARQUES, J. J. Selenium and mercury in Brazilian Cerrado soils and their relationships with physical and chemical soil characteristics. **Chemosphere**, 218, p. 412-415, 2019.

CASTRO, P. R. C.; KLUGE, R. A. Ecofisiologia de cultivos anuais: trigo, milho, soja, arroz e mandioca. **São Paulo: Nobel**, p. 128, 1999.

COELHO, M. A. D. O.; CONDÉ, A. B. T.; SOUZA, M. A. D.; FRONZA, V.; YAMANAKA, C. H. Expansão e cultivo da cultura do trigo em Minas Gerais. **Informe Agropecuário**, v. 32, n. 260, p. 38-47, 2011.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra de grãos, safra 2021/22**. v.9, n.6, p. 1-87, 2022.

CORNIC, G. Drought stress and high light effects on leaf photosynthesis
N.R. Baker, J.R. Boyer (Eds.), *Photoinhibition on Photosynthesis from Molecular Mechanisms to the Field*, **Bios Scientific Publishers**, Oxford, UK, p. 297-313, 1994.

DAT, J.; VANDENABEELE, S.; VRANOVÁ, E.; VAN MONTAGU, M.; INZÉ, D.; VAN BREUSEGEM, F. Dual action of the active oxygen species during plant stress responses. **Cell. Mol. Life Sci**, 57, p. 779–795, 2000.

DJANAGUIRAMAN, M. P.V.V. PRASAD, M. Selenium protects sorghum leaves from oxidative damage under high temperature stress by enhancing antioxidant defense system. **Plant Physiology and Biochemistry**, 48, p. 999-1007, 2010.

DJANAGUIRAMAN, M.; DEVI, D. D.; SHANKER, A. K.; SHEEBA, J. A.; BANGARUSAMY, U. Impact of selenium spray on monocarpic senescence of soybean (*Glycine Max L.*). **Journal of Food Agriculture and Environment**, 2, p. 44-47, 2004.

DUMONT, E.; VANHAECKE, F.; CORNELIS, R. Selenium speciation from food source to metabolites: a critical review. **Analytical Bioanalytical Chemistry**, v. 385, p. 1304–1323, 2006.

DUMONT, E.; VANHAECKE, FrankF.; CORNELIS, Rita. Especificação de selênio de fonte alimentar para metabólitos: uma revisão crítica. **Química analítica e bioanalítica**, v. 385, n. 7, p. 1304-1323, 2006.

EBBOLE, D. J. Magnaporthe as a model for understanding host-pathogen interactions. **Annu. Rev. Phytopathol.** 45, p. 437–456, 2007.

ELEMENT, C. A. S. Method 3051A microwave assisted acid digestion of sediments, sludges, soils, and oils. **Z. Für Anal. Chem**, v. 111, p. 362-366, 2007.

ELKELISH, A. A.; SOLIMAN, M. H.; ALHAITHLOUL, H. A.; EL-ESAWI, M. A. Selenium protects wheat seedlings against salt stress-mediated oxidative damage by up-

regulating antioxidants and osmolytes metabolism. **Plant Physiology and Biochemistry**, 137, p. 144-153, 2019.

EMBRAPA - Empresa brasileira de agropecuária. Época adequada de semeadura do trigo pode reduzir perdas de produtividade do trigo. **EMBRAPA trigo**, Passo Fundo – RS, 2018.

FAO. **Faostatdatabase gateway**. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>>. Acesso em: 05 fev. 2021.

FENG, R. W.; WEI, C. Y. Antioxidative mechanisms on selenium accumulation in *Pteris vittata* L., a potential selenium phytoremediation plant. **Plant, Soil and Environment**, 58 (3), p. 105-110, 2012.

FENG, R.; WEI, C.; TU, S. The roles of selenium in protecting plants against abiotic stresses. **Environmental and experimental botany**, v. 87, p. 58-68, 2013.

FERNANDES, D. P. L. Aspectos econômicos e estatísticos do trigo no Brasil. **Informe Agropecuário**, v. 9, n. 97, p. 3-9, 1983.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e agrotecnologia**, v. 35, p. 1039-1042, 2011.

FILEK, M.; KESKINEN, R.; HARTIKAINEN, H.; SZAREJKO, I.; JANIÁK, A.; MISZALSKI, Z.; GOLDA, A. The protective role of selenium in rape seedlings subjected to cadmium stress. **J. Plant Physiol**, 165, p. 833–844, 2008.

FIGUEIREDO, S. L.; RODRIGUES, J. D. Perfilamento do trigo em função da aplicação de regulador vegetal. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 7, p. 750-755, 2012.

GAJU, O.; ALLARD, V.; MARTRE, P.; LE; GOUIS, J.; MOREAU, D.; BOGARD, M.; HUBBART, S.; FOULKES, M. J. Nitrogen partitioning and remobilization in relation to leaf senescence, grain yield and grain nitrogen concentration in wheat cultivars. **Field Crops Research**, 155, 213-223, 2014.

GALIĆ, L.; VINKOVIĆ, T.; RAVNJAK, B.; LONČARIĆ, Z. Agronomic biofortification of significant cereal crops with selenium—A review. **Agronomy**, 11(5), p. 1015, 2021.

GALIĆ, L.; VINKOVIĆ, T.; RAVNJAK, B.; LONČARIĆ, Z. Agronomic Biofortification of Significant Cereal Crops with Selenium - A Review. **Agronomy**, 11, 1015, 2021.

GARG, N.; MANCHANDA, G. ROS generation in plants: boon or bane? **Plant Biosys**, 143, p.81–96, 2009.

GERM, M.; KREFT, I.; STIBILJ, V.; URBANC-BERCIC, O. Combined effects of selenium and drought on photosynthesis and mitochondrial respiration in potato. **Plant Physiol Biochem**, 45, p. 162-167, 2007.

GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxide dismutases: I. Occurrence in higher plants. **Plant physiology**, v. 59, n. 2, p. 309-314, 1977.

GIBON, Y.; BLAESING, O. E.; HANNEMANN, J.; CARILLO, P.; HO, M.; PALACIOS, N.; CROSS, J.; SELBIG, J.; STITT, M. A. Robot-Based Platform to Measure Multiple

Enzyme Activities in Arabidopsis Using a Set of Cycling Assays: Comparison of Changes of Enzyme Activities and Transcript Levels during Diurnal Cycles and in Prolonged Darkness. **The Plant Cell** 16, p. 3304–3325, 2004.

GOOD, A. G.; ZAPLACHINSKI, S. T. The effects of drought stress on free amino acid accumulation and protein synthesis in *Brassica napus*. **Physiol. Plant.**, 90, p. 9-14, 1994.

GOUVEIA, G. C. C.; GALINDO, F. S.; LANZA, M. G. D. B.; SILVA, A. C. R.; DE BRITO MATEUS, M. P.; DA SILVA, M. S.; TAVANTI, R. F. R.; LAVRES, J.; DOS REIS, A. R. Selenium toxicity stress-induced phenotypical, biochemical and physiological responses in rice plants: Characterization of symptoms and plant metabolic adjustment. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 202, 110916, 2020.

GOVASMAR, E.; SINGH, B. R.; MACLEOD, J. A.; GRIMMETT, M. G. Selenium concentration in spring wheat and leaching water as influenced by application times of selenium and nitrogen. **Journal of plant nutrition**, 31(2), 193-203, 2008.

GRIEDER, A. A cultura do trigo em Minas. **Boletim de Agricultura, Zootecnia e Veterinária**, v. 2, n. 7/8, p. 18-45, jul./ago. 1929.

GUERRERO, B.; LLUGANY, M.; PALACIOS, O.; VALIENTE, M. Dual effects of different selenium species on wheat. **Plant Physiology and Biochemistry**, 83, p. 300-307, 2014.

GUTKOSKI, L. C.; KLEIN, B.; PAGNUSSATT, F. A.; PEDÓ, I. Características tecnológicas de genótipos de trigo (*Triticum aestivum* L.) cultivados no cerrado. **Ciência e Agrotecnologia**, v.31, p.786-792, 2007.

HABIBI, G. Effect of drought stress and selenium spray in gonpho to synthesis and antioxidant activity of spring barley. **Acta Agric Slov**, 101, p. 31-39, 2013.

HAJDUCH, M. R.; RAKWAL, G. K.; AGRAWAL, M.; YONEKURA, A. P. High-resolution two-dimensional electrophoresis separation of proteins from metal-stressed rice (*Oryza sativa* L.) leaves: drastic reductions/fragmentation of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase and induction of stress-related proteins. **Electrophoresis**, 22, p. 824-831, 2021.

HAJIBOLAND, R.; KEIVANFAR, N. Selenium supplementation stimulates vegetative and reproductive growth in canola (*Brassica napus* L.) plants. **Acta Agriculturae Slovenica**, 99, n. 1, p. 13-19, 2011.

HAJIBOLAND, R.; SADEGHZADE, N. Effect of selenium on CO₂ and NO₃ – assimilation under low and adequate nitrogen supply in wheat (*Triticum aestivum* L.). **Photosynthetica, Prague**, v. 4, n. 4, p. 501-510, 2014.

HAJIBOLAND, R.; SADEGHZADEH, N.; SADEGHZADEH, B. Effect of Se application on photosynthesis, osmolytes and water relations in two durum wheat (*Triticum durum* L.) genotypes under drought stress. **Acta Agric Slov**, 103 p. 167-179, 2014.

HARTIKAINEN, H.; XUE T.; PIIRONEN, V. Selenium as an antioxidant and pro-oxidant in ryegrass. **Plant Soil**, 225:193–200, 2000.

- HARTIKAINEN, H.; XUE, T.; PIIRONEN, V. Selenium as an anti-oxidant and pro-oxidant in ryegrass. **Plant and soil**, v. 225, n. 1, p. 193-200, 2000.
- HASANUZZAMAN, M.; FUJITA, M. Selenium pretreatment upregulates the antioxidant defense and methylglyoxal detoxification system and confers enhanced tolerance to drought stress in rapeseed seedlings. **Biological Trace Element Research**, v. 143, n. 3, p. 1758-1776, 2011.
- HASANUZZAMAN, M.; HOSSAIN, M. A.; FUJITA, M. Selenium in higher plants: Physiological role, antioxidant metabolism and abiotic stress tolerance. **J Plant Sci**, 5, p. 354–375, 2010.
- HAVIR, E. A.; MCHALE, N. A. Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. **Plant physiology**, v. 84, n. 2, p. 450-455, 1987.
- HAWKESFORD, M. J. Sulphur. **In**: BROADLEY, M. R.; WHITE, P. J. (Ed.). *Plant Nutritional Genomics*. Oxford: Blackwell, p. 87-111, 2005.
- HAWRYLAK-NOWAK, B. Beneficial effects of exogenous selenium in cucumber seedlings subjected to salt stress. **Biol Trace Elem Res**, 132, p. 259–269, 2009.
- HAWRYLAK-NOWAK, B.; MATRASZEK, R.; SZYMAŃSKA, M. Selenium modifies the effect of short-term chilling stress on cucumber plants. **Biol Trace Elem Res**, 138, p.307–315, 2010.
- HSU, Y. T.; KAO, C.H. Changes in protein and amino acid contents in two cultivars of rice seedlings with different apparent tolerance to cadmium. **Plant Growth Regul.**, 40, p. 147-155, 2003.
- HUSSAIN, S.; MUHAMMAD, A. M.; ZED, R.; TARIQ, A. Biofortification and estimated human bioavailability of zinc in wheat grains as influenced by methods of zinc application. **Science Business**, v. 361, p. 279-290, 2012.
- JALEEL, C.A.; MANIVANNAN, P.; WAHID, A.; FAROOQ, M.; AL-JUBURI, H. J.; SOMASUNDARAM, R.; PANNEERSELVAM R. Drought stress in plants: a review on morphological characteristics and pigments composition. **Int. J. Agric. Biol.**, 11, p. 100-105, 2009.
- JANG J. C.; SHEEN J. Sugar sensing in higher plants. **Plant Cell**, 6, p. 1665–1679, 1994.
- JONES, G. D.; DROZ, B.; GREVE, P.; GOTTSCHALK, P.; POFFET, D.; MCGRATH, S. P.; SENEVIRATNE, S. I.; SMITH, P.; WINKEL, L. H. Selenium deficiency risk predicted to increase under future climate change. **Proc National Academy of Sciences**, v. 11, p. 2848-2853, 2017.
- KABATA-PENDIAS, A. *Trace Elements in Soils and Plants* (fourth ed.). **CRC Press Taylor & Francis Group**, Londres, 2011.
- KIBINZA, S.; BAZIN, J.; BAILLY, C.; FARRANT, J. M.; CORBINEAU, F.; EL-MAAROUF-BOUTEAU, H. Catalase is a key enzyme in seed recovery from ageing during priming. **Plant science**, 181(3), p. 309-315, 2011.

KICHEY, T.; HIREL, B.; HEUMEZ, E.; DUBOIS, F.; GOUIS, J. L. In winter wheat (*Triticum aestivum* L.), post-anthesis nitrogen uptake and remobilisation to the grain correlate with agronomic traits and nitrogen physiological markers **Field Crop. Res.**, 102, p. 22-32, 2007.

KIPP, A. P.; STROHM, D.; BRIGELIUS-FLOHÉ, R.; SCHOMBURG, L.; BECHTHOLD, A.; LESCHIK-BONNET, E.; HESEKER, H. Revised reference values for selenium intake. **Journal Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 32, p. 195-199, 2015.

KLEIBER, T.; KRZESIŃSKI, W.; PRZYGOCKA-CYNA, K.; SPIŻEWSKI, T. Alleviation effect of selenium on manganese stress of plants. **Ecological Chemistry and Engineering**, 25(1), p. 143, 2018.

KULSHRESTHA, S.; TYAGI, P.; SINDHI, V.; YADAVILLI, K. S. Invertase and its applications—a brief review. **Journal of pharmacy research**, 7(9), p. 792-797, 2010.

KUZNETSOV, V. V.; KHOLODOVA, V. P.; YAGODIN, B. Selenium regulates the water status of plants exposed to drought. **Dokl Biol Sci**, 390: p. 266-268, 2003.

LARA, T. S.; LESSA, J. H. L.; SOUZA, K. R. D.; CORGUINHA, A. P. B.; MARTINS, F. A. D.; LOPES, G.; GUILHERME, L. R. G. Selenium biofortification of wheat grain via foliar application and its effect on plant metabolism. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 81, p. 10-18, 2019.

LESSA, J. H. L.; RAYMUNDO, J. F.; CORGUINHA, A. P. B.; MARTINS, F. A. D.; ARAUJO, A. M.; SANTIAGO, F. E. M.; LOPES, G. Strategies for applying selenium for biofortification of rice in tropical soils and their effect on element accumulation and distribution in grains. **Journal of Cereal Science**, 96, p. 103-125, 2020.

LONGCHAMP, M.; CASTREC-ROUELLE, M.; BIRON, P.; BARIAC, T. Variations in the accumulation, localization and rate of metabolization of selenium in mature *Zea mays* plants supplied with selenite or selenate. **Food Chemistry**, 182, 128-135, 2015.

LU, S. C. Regulation of hepatic glutathione synthesis: current concepts and controversies. **The FASEB Journal**, 13 (10), p. 1169-1183, 1999.

MALAGOLI, M.; SCHIAVON, M.; DALL'ACQUA, S.; PILON-SMITS, E. a H. Effects of selenium biofortification on crop nutritional quality. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, p. 280, 2015.

MALAVOLTA, E. Manual de nutrição mineral de plantas. São Paulo: **Agronômica Ceres**, p. 396-401, 2006.

MALAVOLTA, E. Manual de química agrícola: adubos e adubação. 3 ed. São Paulo: Ceres, p. 607, 1981.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e perspectivas. 2. ed. Piracicaba: **POTAFOS**, 1997.

MALIK, J. A.; KUMAR, S.; THAKUR, P.; SHARMA, S.; KAUR, N.; KAUR, R., D. PATHANIA, N. K. K.; SINGH, A. S.; NAYYAR, H. Promotion of growth in mungbean

(*Phaseolus aureus* Roxb.) by selenium is associated with stimulation of carbohydrate metabolism. **Biological Trace Element Research**, 143(1), p. 530-539, 2011.

MALIK, J. A.; GOEL, S.; KAUR, N.; SHARMA, S.; SINGH, I.; NAYYAR H. Selenium antagonises the toxic effects of arsenic on mungbean (*Phaseolus aureus* Roxb.) plants by restricting its uptake and enhancing the antioxidative and detoxification mechanisms **Environmental and Experimental Botany**, 77, p. 242-248, 2012.

MARENCO, R. A.; LOPES, N. F. **Fisiologia vegetal: fotossíntese, respiração, relações hídricas e nutrição mineral**. Viçosa, MG: UFV, p. 451, 2005.

MASLE, J. Competição entre perfilhos em trigo de inverno: consequências para o crescimento e desenvolvimento da cultura. **In: Crescimento e modelagem do trigo**. Springer, Boston, MA, p. 33-54, 1985.

MIELKE, M. S.; HOFFMANN, A.; ENDRES, L.; FACHINELLO, J. C. Comparison of laboratory and field methods for the estimation of leaf area of wild fruit species. **Scientia Agricola** 52, p. 82-88, 1995.

MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 31, n. 3, p. 426-428, 1959.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science**, 7 (9), p. 405-410, 2002.

MOULICK, D.; GHOSH, D.; SANTRA, S. C. Evaluation of effectiveness of seed priming with selenium in rice during germination under arsenic stress. **Plant Physiol Biochem**, 109, p. 571-578, 2016.

NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant and cell physiology**, v. 22, n. 5, p. 867-880, 1981.

NASCIMENTO, C. S. **Biofortificação agronômica da rúcula com selênio em sistema hidropônico**. Dissertação de mestrado, Universidade Estadual Paulista, 2018.

NAWAZ, F.; ASHRAF, M. Y.; AHMAD, R.; WARAICH, E. A.; SHABBIR, R. N.; HUSSAIN, R. A. Selenium supply methods and time of application influence spring wheat (*Triticum aestivum* L.) yield under water deficit conditions. **J Agric Sci**, 155, p. 643-656, 2016.

NAWAZ, F.; ASHRAF, M. Y.; AHMAD, R.; WARAICH, E. A.; SHABBIR, R. N. Selenium (Se) regulates seedling growth in wheat under drought stress. **Adv Chem**, 2013, p. 1-7, 2013.

NAWAZ, F.; ASHRAF, M. Y.; AHMAD, R.; WARAICH, E. A. Selenium (Se) seed priming induced growth and biochemical changes in wheat under water deficit conditions. **Biol. Trace Elem. Res.**, 151, p. 284-293, 2013.

NAWAZ, M.; NAEEM, M. Y.; ASHRAF, M. N.; TAHIR, B.; ZULFIQAR, M.; SALAHUDDIN, R.N.; SHABBIR, M. Selenium supplementation affects physiological and biochemical processes to improve fodder yield and quality of maize (*Zea mays* L.) under water deficit conditions **Front. Plant Sci.**, 7, p. 1438, 2016.

- NOCTOR, G.; MHAMDI, A.; CHAOUCH, S.; HAN, Y.; NEUKERMANS, J.; MARQUEZ-GARCIA, B.; QUEVAL G.; FOYER, C. H. Glutathione in plants: an integrated overview. **Plant Cell and Environment**, v. 35, p. 454–484, 2012.
- NUTTI, M. R. A história dos Projetos HarvestPlus, AgroSalud e BioFORT no Brasil. **IV reunião de biofortificação**, 2011.
- OLIVEIRA, V. C.; FAQUIN, V.; GUIMARÃES, K. C.; ANDRADE, F. R.; PEREIRA, J.; GUILHERME, L. R. G. Agronomic biofortification of carrot with selenium. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 42, p. 138-147, 2018.
- ORI, N.; JUAREZ, M. T.; JACKSON, D.; YAMAGUCHI, D.; BANOWETS, G. M. Leaf senescence is delayed in tobacco plant expressing the maize homeobox gene *knotted1* under the control of a senescence-activated promoter. **Plant Cell**, 11, p. 1073-1080, 1999.
- PALTA, J. A.; FILLERY, I. R. P. N-application enhances remobilization and reduces losses of pre-anthesis N in wheat grown on a duplex soil. **Aust. J. Agric. Res.**, 46, p. 519-531, 1995.
- PANDEY, C.; GUPTA, M. Selenium and auxin mitigate arsenic stress in rice (*Oryza sativa* L.) by combining the role of stress indicators, modulators and genotoxicity assay. **J Hazard Mater**, 287, p. 384-391, 2015.
- PANDEY, V.; SHUKLA, A. Acclimation and Tolerance Strategies of Rice under Drought Stress. **Rice Sci.** 22(4), p. 147–161, 2015.
- PIETERS, A.; EL-SOUKI J. S. Efeitos da seca durante o enchimento de grãos na atividade de PS II em arroz. **J. Plant Physiol.**, 62, p. 903 – 911, 2015.
- PILON-SMITS, E. A. H.; QUINN, C. F. “Selenium metabolism in plants,”. **Cell Biology of Metals and Nutrients, Plant Cell Monographs**, 17, p. 225–241, 2010.
- PILON-SMITS, E. A. H.; QUINN, C. F.; TAPKEN, W.; MALAGOLI, M.; SCHIAVON, M. Physiological functions of beneficial elements. **Current opinion in plant biology**, v. 12, n. 3, p. 267-274, 2009.
- PIRES, J. L. F.; CUNHA, G. R. Dalmago, G. A.; Pasinato, A.; Santi, A., PEREIRA, P. D. S.; Santi, A. L. Integração de práticas de manejo no sistema de produção de trigo. **Embrapa Trigo-Capítulo em livro científico**, 2011.
- POMMERENIG, B.; DIEHN, T. A.; BIENERT, G. P. Metalloido-porins: Essentiality of Nodulin 26-like intrinsic proteins in metalloid transport. **Plant Science**, v. 238, p. 212-227, 2015.
- POMMERENING, B.; DIEHN, T. A.; BIENERT, G. P. Metalloido-porins: Essentiality of nodulin 26-like intrinsic proteins in metalloid transport. **Plant Sci**, 238, p. 212-227, 2015.
- QUAGGIO, J. A. Critérios para calagem em solos do Estado de São Paulo. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, 1983.

RADY, M. M.; TAHA, R. S.; MAHDI, A. H. A. Proline aumenta o crescimento, produtividade e anatomia de duas variedades de *Lupinus termis* L. cultivadas sob estresse salino. **S. Afr. J. Bot.** 01375, 2015.

RAVELLO, R. A. V.; OLIVEIRA, C.; LESSA, J.; BOAS, L. V. V.; CASTRO, E. M.; GUILHERME, L. R. G.; LOPES, G. Selenium application influenced selenium biofortification and physiological characteristics in bean plants with water deficit. **Crop and Pasture Science**, 2021.

RAYMAN, M. P. The argument for Increasing Selenium Intake. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 61, p. 203-215, 2002.

RAYMAN, M.P. Selenium and human health. **Lancet**, v. 379, p. 1256-1268, 2012.

REIS, A. R. D.; EL-RAMADY, H.; SANTOS, E. F.; GRATÃO, P. L.; SCHOMBURG, L. Overview of selenium deficiency and toxicity worldwide: affected areas, selenium-related health issues, and case studies. In: PILON-SMITS, E. A. H.; WINKEL, L. H. E.; LIN, Z.-Q. (Ed.), **Selenium in Plants: Molecular, Physiological, Ecological and Evolutionary Aspects**. Springer International Publishing, Cham, p. 209-230, 2017.

RIBEIRO JUNIOR, W. Q.; ALBRECHT, J. C.; SILVA, M. S. Viabilidade do cultivo do trigo no Cerrado do Brasil Central. In: **Embrapa Trigo-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: FALEIRO, FG; SOUSA, E. dos S. de (Ed.). Pesquisa, desenvolvimento e inovação para o Cerrado. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2007. p. 55-59., 2010.

RIBEIRO, D. M.; JÚNIOR, D. D. S.; CARDOSO, F. B.; MARTINS, A. O.; SILVA, W. A.; NASCIMENTO, V. L.; ARAÚJO, W. L. Growth inhibition by selenium is associated with changes in primary metabolism and nutrient levels in *Arabidopsis thaliana*. **Plant Cell Environ**, 39, p. 2235-2246, 2016.

RÍOS, J. J.; BLASCO, B.; CERVILLA, L. M.; RUBIO-WILHELMI, M. M.; ROSALES, M. A.; SANCHEZ-RODRIGUEZ, E.; RUIZ, J. M. Nitrogen-use efficiency in relation to different forms and application rates of Se in lettuce plants. **Journal of plant growth regulation**, 29, p. 164-170, 2010.

SAIDI, I.; NAWEL, N.; DJEBALI, W. Role of selenium in preventing manganese toxicity in sunflower (*Helianthus annuus*) seedling. **South African Journal of Botany**, v. 94, p. 88–94, 2014.

SAINI, H. S.; SEDGLEY, M.; ASPINALL, D. Developmental anatomy in wheat of male sterility cause induced by heat stress, water déficit or abscisic acid. **Australian Journal of Plant Physiology**, 11, p. 243-253, 1984.

SAJEDI, N. A.; ARDAKANI, M. R.; MADANI, H.; NADERI, A.; MIRANSARI, M. The effects of selenium and other micronutrients on the antioxidant activities and yield of corn (*Zea mays* L.) under drought stress. **Physiol. Mol. Biol. Plants**, 17, p. 215-222, 2011.

SANTI, A.; FAGANELLO, A.; DENARDIN, J. E.; SILVA JUNIOR, J. P. WIETHOLTER, S. Cultivo de trigo. **EMPRAPA Trigo Sistema de Produção**. Ed. 2, 1809-2985, 2014.

SANTI, C.; TIDEI, C.; SCALERA, C.; PIRRODI, M.; GALLI, F. Selenium containing compounds from poison to drug candidates: a review on the GPx-like activity. **Current Chemical Biology**, v. 7, n. 1, p. 25-36, 2013.

SANTOS, D. D., GUIMARÃES, V. F., KLEIN, J., FIOREZE, S. L.; MACEDO JÚNIOR, E. K. Cultivares de trigo submetidas a déficit hídrico no início do florescimento, em casa de vegetação. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, 16(8), p. 836-842, 2012.

SANTOS, R. F.; CARLESSO, R. Enrolamento e expansão das folhas de milho submetidas a déficit hídrico em diferentes solos. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 3, n. 1, p. 1-6, 1999.

SCHIAVON, M.; PILON-SMITS, E. A. H. Selenium biofortification and phytoremediation phytotechnologies: a review. **Journal of environmental quality**, v. 46, n. 1, p. 10-19, 2017.

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

SCHWARZ, K.; FOLTZ, C. M. Selenium as an integral part of factor 3 against dietary necrotic liver degeneration. **Journal of the American Chemical Society**, v. 79, n. 12, p. 3292-3293, 1957.

SEPPÄNEN, M.; TURAKAINEN, M.; HARTIKAINEN, H. Selenium effects on oxidative stress in potato. **Plant Science**, 165, p. 311-319, 2003.

SHANGGUAN, Z.; SHAO, M.; DYCKMANS, J. Effects of Nitrogen Nutrition and Water Deficit on Net Photosynthetic Rate and Chlorophyll Fluorescence in Winter Wheat. **J. Plant Physiol.** 156: p. 46-51, 2000.

SHAO, H.; CHU, L.; SHAO, M.; JALEEL, C. A.; HONG, M. Higher plant antioxidants and redox signaling under environmental stresses. **Comptes Rendus Biol.**, 331, p. 433-441, 2008.

SHRIFT, A. Aspects of selenium metabolism in higher plants. **Annual Review of Plant Physiology**, 20(1), p. 475-494, 1969.

SIEPRAWSKA, A.; KORNAŚ, A.; FILEK, M. Involvement of selenium in protective mechanisms of plants under environmental stress conditions—Review. **Acta Biol. Crac. Bot.**, 57, p. 9–20, 2015.

SILVA JUNIOR, E. C.; WADT, L. H. O.; SILVA, K. E.; LIMA, R. M. B.; BATISTA, K. D.; GUEDES, M. C.; CARVALHO, G. S.; CARVALHO, T. S.; REIS, A. R.; LOPES, G.; GUILHERME, L. R. G. Natural variation of selenium in Brazil nuts and soils from the Amazon region. **Chemosphere**, 188, p. 650-658, 2017.

SINCLAIR, T. R.; DEWIT, C. T. Photosynthese and nitrogen requerimento for seed production by various crops. **Science**, 189, p. 563-567, 1975.

SONG, B.; ZENG, G.; GONG, J.; LIANG, J.; XU, P.; LIU, Z.; ZHANG, Y.; ZHANG, C.; CHANG, M.; LIU, Y.; YE, S.; YI, H.; REN, X. Evaluation methods for assessing

effectiveness of in situ remediation of soil and sediment contaminated with organic pollutants and heavy metals. **Environment international**, 105, 43-55, 2017.

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, 2005.

SORS, T. G.; ELLIS, D. R.; SALT, D. E. Selenium uptake, translocation, assimilation and metabolic fate in plants. **Photosynthesis research**, 86(3), p. 373-389, 2005.

SORS, Thomas T. G.; ELLIS, Danielle. R.; SALT, David D. Edward. Absorção, translocação, assimilação e destino metabólico de selênio nas plantas. **Pesquisa de fotossíntese**, v. 86, n. 3, p. 373-389, 2005.

TEIXEIRA, P. C.; DONAGEMMA, G. K.; FONTANA, A.; TEIXEIRA, W. G. Manual de métodos de análise de solo. EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **BR: Embrapa Solos**, Brasília, DF, 2017.

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

THOMAS, D. W.; MERIAN, E. Metals and their compounds in the environment. **VCH–Wienheim, E. Merian ed**, p. 789-801, 1991.

THOMPSON, J. E.; LEGGE, R. L.; BARBER, R. F. The role of free radicals in senescence and wounding. **New Phytologist**, 105 (3), p. 317-344, 1987.

TOBIASZ, A.; WALAS, S.; FILEK, M.; MROWIEC, H.; SAMSEL, K.; SIEPRAWKA, A.; HARTIKAINEN, H. Effect of selenium on distribution of macro-and micro-elements to different tissues during wheat ontogeny. **Biologia plantarum**, 58(2), p. 370-374, 2014.

TURAKAINEN, M.; HARTIKAINEN, H.; SEPPÄNEN, M. Effects of selenium supplied on potato grown and concentration of sugar and starch. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 5378-5382, 2004.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY – USEPA. Soil screening guidance: technical background document. Washington DC: EPA, Office of Solid Waste and Emergency Response, p. 168, 1996.

VELIKOVA, V.; YORDANOV, I.; EDREVA, A. Oxidative Stress and Some Antioxidant Systems in Acid Rain-Treated Bean Plants: Protective Role of Exogenous Poly-amines. **Plant Science**, 151, 59-66, 2000.

WANG, C. Q. Water-stress mitigation by selenium in *Trifolium repens* L. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, 174 (2), p. 276-282, 2004.

WANG, C-Q.; XU, H-J.; LIU, T. Effect of selenium on ascorbate-glutathione metabolism during PEG-induced water deficit in *Trifolium repens* L. **J Plant Growth Regul**, 30, p. 436-444, 2011.

WANG, Y. D.; WANG, X.; WONG, Y. S. Generation of selenium-enriched rice with enhanced grain yield, selenium content and bioavailability through fertilisation with selenite. **Food Chem**. 141, p. 2385–2393, 2013.

WHITE, P. J. Selenium accumulation by plants. **Annals of botany**, 117, n. 2, p. 217-235, 2016.

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**, v. 182, n. 1, p. 49-84, 2009.

WIJNJA, H.; SCHULTHESS, C. P. Vibrational spectroscopy study of selenate and sulfate adsorption mechanisms on Fe and Al (hydr) oxide surfaces. **Journal of Colloid and Interface Science**, 229(1), 286-297, 2000.

WU, C.; DUN, Y.; ZHANG, Z.; LI, M.; WU, G. Foliar application of selenium and zinc to alleviate wheat (*Triticum aestivum* L.) cadmium toxicity and uptake from cadmium-contaminated soil. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 190, 110091, 2020.

WU, Z.; BANUELOS, G. S.; LIN, Z. Q.; LIU, Y.; YUAN, L.; YIN, X.; LI, M. Biofortification and phytoremediation of selenium in China. **Frontiers in plant science**, 6, 136, 2015.

XUE, T.; HARTIKAINEN, H.; PIIRONEN, V. Antioxidative and growth-promoting effect of selenium on senescing lettuce. **Plant and soil**, v. 237, n. 1, p. 55-61, 2001.

XUE, T.; HARTIKAINEN, H.; PIIRONEN, V. Antioxidative and growth-promoting effect of selenium on senescing lettuce. **Plant and soil**, v. 237, n. 1, p. 55-61, 2001.

YANG, J. C.; ZHANG, J. H.; WANG, Z. Q.; ZHU, Q. S.; LIU, L. J. Involvement of abscisic acid and cytokinins in the senescence and remobilization of carbon reserves in wheat subjected to water stress during grain filling. **Plant, Cell & Environment**, v. 26, n. 10, p. 1621-1631, 2003.

YAO, X.; CHU, J.; BA, C. Antioxidant responses of wheat seedlings to exogenous selenium supply under enhanced ultraviolet-B. **Biological Trace Element Research**, v. 136, n. 1, p. 96-105, 2010.

YAO, X.; CHU, J.; WANG, G. Effects of selenium on wheat seedlings under drought stress. **Biological Trace Element Research**, v. 130, n. 3, p. 283-290, 2009.

YASSEN, A. A.; SAFIA, M. A.; SAHAR, M. Z. Impact of nitrogen fertilizer and foliar spray of selenium on growth, yield and chemical constituents of potato plants. **Australian Journal of Basic and Applied Sciences**, 5(11), 1296-1303, 2011.

YEMM, E. W.; COCKING, E. C.; RICKETTS, R. E. The determination of amino-acids with ninhydrin. **Analyst**, v. 80, n. 948, p. 209-214, 1955.

ZADOKS, J. C.; CHANG, T. T.; KONZAK, C. F. A decimal code for the growth stages of cereals. **Weed research**, Amsterdam, v. 4, n. 14, p. 415-421, 1974.

ZAHEDI, H.; RAD, A. H. S.; MOGHADAM, H. R. T. Efeitos da aplicação de zeólita e selênio em três cultivares de canola sob estresse hídrico. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, p. 179-185, 2011.

ZANANDREA, I.; ALVES, J. D.; DEUNER, S.; DE FP GOULART, P.; HENRIQUE, P. D. C.; SILVEIRA, N. M. Tolerance of *Sesbania virgata* plants to flooding. **Australian Journal of Botany**, 57(8), p. 661-669, 2010.

ZEIST, A. R.; DE OLIVEIRA, J. R. F.; DE LIMA FILHO, R. B.; DE SOUZA SILVA, M. L.; DE RESENDE, J. T. V. Comparação de métodos de estimativa de área foliar em morangueiro. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, 20(1/2), p. 33-40, 2014.

ZHANG, P.; SPARKS, D. L. Cinética de selenato e adsorção / dessorção de selenito na interface goethita / água. **Ciência e Tecnologia Ambiental**, v. 24, n. 12, p. 1848-1856, 1990.

APÊNDICE

Tabela 4 - Resumo do quadro da análise de variância para altura, perfilho, massa de 100 grãos (M100G), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca total (MST), produtividade por vaso (Prod.), clorofila a (Chl a), clorofila b (Chl b), clorofila total (Chl T), taxa fotossintética (A), condutância estomática (gs), transpiração (E), eficiência do uso da água (EUA), açúcares redutores (AR), proteína total (PT), aminoácidos (Am.), peróxido de hidrogênio (H₂O₂), malondialdeído (MDA), dismutase do superóxido (SOD), catalase (CAT), concentração de selênio na parte aérea (SePa), grãos (SeG), taxa de recuperação de selênio pelos grãos (TRSe), concentração de nitrogênio na parte aérea (NPA) e grãos (NG), concentração de enxofre na parte aérea (SPA) e grãos (SG), concentração de cobre na parte aérea (CuPA) e grãos (CuG), concentração de ferro na parte aérea (FePA) e grãos (FeG), concentração de manganês na parte aérea (MnPA) e grãos (MnG), concentração de zinco na parte aérea (ZnPA) e grãos (ZnG). (continua)

Variáveis	Dose	Fase	D x F	Bloco	Média geral	CV (%)
Altura	0,00**	0,02*	0,14 ^{ns}	0,66 ^{ns}	60,58	4,44
Perfilho	0,00**	0,29 ^{ns}	0,98 ^{ns}	0,79 ^{ns}	6,78	22,93
M100G	0,00**	0,00**	0,00**	0,53 ^{ns}	3,33	9,04
MST	0,00**	0,35 ^{ns}	0,39 ^{ns}	0,30 ^{ns}	6,71	16,18
Prod.	0,00**	0,00**	0,00**	0,37 ^{ns}	5,24	14,53
Chl a	0,48 ^{ns}	0,00**	0,04*	0,53 ^{ns}	30,60	15,81
Chl b	0,50 ^{ns}	0,00**	0,00**	0,56 ^{ns}	12,66	26,29
Chl T	0,49 ^{ns}	0,00**	0,02*	0,54 ^{ns}	43,28	18,69
A	0,00**	0,00**	0,00**	0,18 ^{ns}	21,15	15,11
gs	0,01**	0,00**	0,00**	0,76 ^{ns}	0,24	23,53
E	0,00**	0,00**	0,00**	0,77 ^{ns}	2,01	21,27
EUA	0,00**	0,00**	0,00**	0,52 ^{ns}	8,48	29,84
AR	0,90 ^{ns}	0,00**	0,47 ^{ns}	0,80 ^{ns}	1,27	28,60
PT	0,00 ^{ns}	0,00**	0,00**	0,56 ^{ns}	79,30	9,23
Am.	0,02*	0,00**	0,00**	0,89 ^{ns}	259,46	16,92
SOD	0,00**	0,00**	0,00**	0,13 ^{ns}	122,31	9,40
CAT	0,00**	0,00**	0,00**	0,95 ^{ns}	2,11	45,87
H ₂ O ₂	0,26 ^{ns}	0,00**	0,00**	0,88 ^{ns}	0,54	46,14
MDA	0,00**	0,00**	0,00**	0,32 ^{ns}	27,33	24,86
SePA	0,00**	0,00**	0,00**	0,58 ^{ns}	74,59	20,02
SeG	0,00**	0,88 ^{ns}	0,20 ^{ns}	0,74 ^{ns}	70,13	16,77
TRSe	0,00**	0,00**	0,00**	0,77 ^{ns}	16,77	16,92
NPA	0,00**	0,00**	0,00**	0,36 ^{ns}	9,36	19,16
NG	0,00**	0,00**	0,00**	0,37 ^{ns}	35,46	5,34
SPA	0,00**	0,00**	0,00**	0,06 ^{ns}	4,07	13,44
SG	0,04*	0,01**	0,00**	0,92 ^{ns}	2,36	8,24
CuPA	0,00**	0,00**	0,00**	0,64 ^{ns}	2,29	11,67
CuG	0,01**	0,00**	0,00**	0,89 ^{ns}	3,55	11,63
FePA	0,00**	0,00**	0,00**	0,69 ^{ns}	73,99	27,18
FeG	0,00**	0,00**	0,00**	0,76 ^{ns}	54,23	9,74
MnPA	0,00**	0,00**	0,00**	0,75 ^{ns}	123,66	11,55
MnG	0,00**	0,00**	0,00**	0,77 ^{ns}	16,29	7,53
ZnPA	0,76 ^{ns}	0,00**	0,00**	0,48 ^{ns}	8,88	49,10

ZnG	0,00**	0,00**	0,00**	0,87 ^{ns}	49,74	11,72
-----	--------	--------	--------	--------------------	-------	-------

Legenda: **significativo a 1%, *significativo a 5% e ns não significativo.

(conclusão)