



EDIU CARLOS DA SILVA JÚNIOR

**SELÊNIO NA CASTANHA-DO-BRASIL
(*Bertholletia excelsa*) E EM SOLOS DA REGIÃO
AMAZÔNICA BRASILEIRA**

**LAVRAS – MG
2016**

EDIU CARLOS DA SILVA JÚNIOR

**SELÊNIO NA CASTANHA-DO-BRASIL (*Bertholletia excelsa*) E EM
SOLOS DA REGIÃO AMAZÔNICA BRASILEIRA**

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

Orientador

PhD. Luiz Roberto Guimarães Guilherme
Departamento de Ciência do Solo
UFLA – Universidade Federal de Lavras

Coorientador

PhD. André Rodrigues dos Reis
Engenharia de Biosistemas
UNESP – Universidade Estadual Paulista

**LAVRAS – MG
2016**

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

Silva Júnior, Ediu Carlos da.

Selênio na castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa*) e em solos
da região Amazônica Brasileira / Ediu Carlos da Silva Júnior. –
Lavras : UFLA, 2016.

82 p. : il.

Dissertação (mestrado acadêmico)–Universidade Federal de
Lavras, 2016.

Orientador(a): Luiz Roberto Guimarães Guilherme.
Bibliografia.

1. selênio. 2. castanha-do-brasil. 3. Floresta Amazônica. 4.
nutrição. 5. biodisponibilidade. I. Universidade Federal de Lavras.
II. Título.

EDIU CARLOS DA SILVA JÚNIOR

**SELÊNIO NA CASTANHA-DO-BRASIL (*Bertholletia excelsa*) E EM
SOLOS DA REGIÃO AMAZÔNICA BRASILEIRA**

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

APROVADA em 12 de Abril de 2016

Dr. Guilherme Lopes

UFLA

Dr.^a Lúcia Helena de Oliveira Wadt

EMBRAPA RONDÔNIA

PhD. Luiz Roberto Guimarães Guilherme

Orientador

PhD. André Rodrigues dos Reis

Coorientador

**LAVRAS – MG
2016**

A Deus e Jesus, o autor e consumidor da minha fé.

A meu pai Ediu Carlos da Silva.

A minha mãe Maria da Conceição P. de S. Silva.

A meus irmãos Javã, Eider, Anne e Jane.

A meus mentores.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter iluminado meus caminhos, por ter me dado coragem, sabedoria e fé para chegar até aqui e principalmente por ter me sustentado com sua poderosa mão.

A meus pais Ediu Silva e Conceição pelos conselhos, por sempre terem apoiado meus estudos até aqui, pela educação que recebi, dando-me condições de prosseguir com meus sonhos, mesmo estando longe de casa.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA), juntamente com o Departamento de Ciência do Solo, pela oportunidade de estudo, pelos ensinamentos e grande experiência que obtive nesses dois anos.

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) em nome dos pesquisadores: Lúcia Helena (RO), Kátia Emídio e Roberval (AM), Karine Dias (RR) e Marcelino (AP) pela colaboração nas coletas das amostras de castanha e solo na região Amazônica.

À fazenda Aruanã (Itacoatira – AM) em nome do proprietário Sérgio Vergueiro pela disponibilização do cultivo de castanheira, instalações da propriedade e ajudantes da fazenda para colaboração nas coletas de amostras, pelo apoio e recepção durante as coletas no Amazonas.

À FAPEMIG, CAPES e CNPq, pelos recursos destinados à pesquisa e manutenção dos equipamentos laboratoriais. À FAPEMIG, pela concessão da bolsa de mestrado.

A meu orientador, professor Luiz Roberto Guimarães Guilherme pelos ensinamentos, competência, dedicação, amizade e incentivo ao sucesso na minha carreira, além do grande exemplo profissional.

A meu coorientador, professor André Rodrigues dos Reis pelos ensinamentos, correção dos trabalhos, paciência, incentivo à carreira científica e empenho à pesquisa, assim como a amizade durante o mestrado.

Aos professores do DCS, que se dedicaram em repassar seus conhecimentos, contribuindo significativamente para minha formação profissional.

Aos Técnicos de Laboratório Geila, João e Carlos (Geoquímica e Pedologia Ambiental), Lívia e Roberto (Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas) e ao Pezão pela ajuda prestada durante as análises tanto de solo como de material vegetal, principalmente nas etapas de digestão e leitura dos extratos no EAA.

Aos membros da banca Professor Guilherme Lopes e à Pesquisadora Lúcia Helena de Oliveira Wadt por se disponibilizarem e contribuírem para a finalização do meu trabalho.

Aos meus estagiários João Paulo, Rodolfo, Alice e demais estagiários e bolsistas do DCS por participarem do trabalho.

A meus colegas: Josimar, Anderson, Mateus, André Baldansi, Fábio e Giovana pelo companheirismo e colaboração nas disciplinas e pesquisa e aos amigos Gabriel Martins, Guilherme Dinali, Cristiano, Geslin, Douglas e Marla pelos conselhos, experiências repassadas e convivência.

MUITO OBRIGADO!!!

RESUMO

A castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa*) é caracterizada como um dos produtos não madeireiros mais importantes da região Amazônica, visto que é um alimento bastante apreciado pelas comunidades locais e ainda utilizado para exportação. A amêndoa da castanha-do-brasil é reconhecida no mundo inteiro como o alimento mais rico em selênio (Se), sendo crescente o desenvolvimento de pesquisas que cada vez mais comprovam seus efeitos benéficos na saúde humana. O Se é um elemento-traço que apresenta propriedades essenciais ou tóxicas dependendo da faixa de concentração no alimento ingerido. No mundo inteiro, há situações tanto de deficiência, como de toxidez de Se nos solos, refletindo no teor do elemento presente nos alimentos que são ingeridos. Nas regiões onde os teores nos solos são baixos, alternativas para melhorar a nutrição da população são requeridas como, por exemplo, via biofortificação agronômica, ou mesmo a utilização de fontes naturais para o incremento de Se na alimentação, como é o caso da castanha-do-brasil. O presente estudo buscou conhecer melhor e caracterizar os teores de Se na castanha-do-brasil. Amostras foram coletadas em seu ambiente natural de produção e em cultivos estabelecidos em diferentes regiões da bacia Amazônica, objetivando ainda realizar correlação entre os teores de Se presentes na castanha e no solo onde essas plantas estão inseridas. Foram coletadas amostras de frutos nos estados do Acre (15 plantas), Mato Grosso (13 plantas), Roraima (15 plantas), Amapá (15 plantas) e Amazonas (17 plantas) e amostras de solo nas camadas de 0-20 cm, 20-40 cm e 40-60 cm com o objetivo de analisar os teores totais de Se tanto no material vegetal como no solo. Os resultados mostraram que a concentração total de Se no solo variou de $< 65,76$ a $737,76 \mu\text{g kg}^{-1}$ (média de $278,28 \mu\text{g kg}^{-1}$), sendo que 75% das amostras de solo tiveram valores menores que $361,08 \mu\text{g kg}^{-1}$. O teor total de Se obtido nas amostras de castanha-do-brasil nos permitiu dividir as amostras em três grupos distintos: 1) Plantas que apresentam baixas concentrações (Acre e Mato Grosso) com teores médios de $7,54 \text{ mg kg}^{-1}$ e $6,79 \text{ mg kg}^{-1}$ respectivamente; 2) Plantas com concentrações intermediárias (Roraima) com teor médio de $18,86 \text{ mg kg}^{-1}$ e 3) Plantas com altas concentrações (Amapá e Amazonas) com teores médios de $59,35 \text{ mg kg}^{-1}$ e $86,33 \text{ mg kg}^{-1}$ respectivamente. Os modelos de regressão e a análise de componentes principais (PCA) mostraram que o teor total de Se no solo não é o principal fator determinante no teor de Se nas amêndoas de castanha-do-brasil e, portanto, pouco preditivo desses valores. Por outro lado, o pH demonstrou ser um importante fator associado com a disponibilidade de Se no solo para as plantas, especialmente na camada de 0-20 cm.

Palavras-chave: selênio, *Bertholletia excelsa*, castanha, Floresta Amazônica, nutrição, biodisponibilidade.

ABSTRACT

Brazil nuts (*Bertholletia excelsa*) is characterized as one of the most important non-timber products from the Amazon region, since it is a food greatly appreciated by local communities and used for exportation. The Brazilian nuts are recognized worldwide as the richest food source of selenium (Se), increasing with the development of research that increasingly is proving its beneficial effects on human health. Selenium is a trace element that presents essential or toxic properties depending on the concentration range in ingested food. Worldwide, there are situations of both deficiency and toxicity of Se in soils, reflecting the element content in the foods we eat. In regions where the soil Se content is low, alternatives to improve nutrition of the population are required, for example via agronomic biofortification, or even by using natural sources for Se improvement in food, as in the case of Brazil nuts. This study aimed to better understand and characterize the Se levels in Brazil nuts. Samples were collected in their natural environment of production and crops established in different regions of the Amazon basin, yet, aiming perform correlation between the levels of Se present in nuts and soil where these plants are located. Fruit samples were collected in the states of Acre (15 plants), Mato Grosso (13 plants), Roraima (15 plants), Amapá (15 plants) and Amazon (17 plants) and soil samples at 0-20 cm, 20-40 cm and 40-60 cm layers, in order to analyze the total Se content in both plant material and soil. The results showed that the total concentration in soil ranged from < 65.76 to $737.76 \mu\text{g kg}^{-1}$ (average of $278.28 \mu\text{g kg}^{-1}$), and 75% of the soil samples were lower than $361.08 \mu\text{g kg}^{-1}$. The total Se content obtained in Brazil nut samples allowed us to divide the samples into three groups: 1) Plants that have low concentrations (Acre and Mato Grosso) with average of 7.54 mg kg^{-1} and 6.79 mg kg^{-1} respectively; 2) plants with intermediate concentrations (Roraima) with an average content of 18.86 mg kg^{-1} and 3) plants with high concentrations (Amapá and Amazonas) with average levels of 59.35 mg kg^{-1} and 86.33 mg kg^{-1} respectively. The regression models and principal component analysis (PCA) showed that the total soil Se content is not the main factor determining the Se content in Brazil nuts and, therefore little predictive of these values. On the other hand, the pH has demonstrated its importance association with the Se availability in the soil for the plants, especially in the 0-20 cm layer.

Keywords: Selenium, *Bertholletia excelsa*, nuts, Amazon rainforest, nutrition, bioavailability.

SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE	10
1 INTRODUÇÃO	10
2 REFERENCIAL TEÓRICO	12
2.1 Selênio no solo.....	12
2.2 Castanha-do-brasil: características da espécie	17
2.3 Selênio na castanha-do-brasil	20
2.4 Selênio na nutrição humana.....	24
3 CONSIDERAÇÕES FINAIS	29
REFERÊNCIAS	30
SEGUNDA PARTE – ARTIGO: NATURAL VARIATION OF SELENIUM IN BRAZIL NUTS AND SOILS FROM THE AMAZON REGION	40
ABSTRACT	41
INTRODUCTION	42
MATERIAL AND METHODS	44
RESULTS AND DISCUSSION	52
CONCLUSIONS	75
REFERENCES	76

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO

Desde a sua descoberta em 1817 pelo químico Sueco Jons Jacob Berzelius, o selênio (Se) era um elemento que atraía pouca atenção e estudo por químicos. Como as suas concentrações na maioria dos materiais geológicos são muito baixas, era difícil estudar a sua distribuição na superfície da Terra. Foi a descoberta da toxicidade de Se no ambiente que atraiu a atenção em relação à geoquímica do elemento, e aproximadamente na mesma época, em 1930, usos industriais para o Se começaram a se desenvolver (invenção da fotocopiadora e retificadores) (JOHNSON; FORDYCE; RAYMAN, 2010).

Selênio é um dos elementos que desempenha um importante papel na saúde animal e humana, sendo essencial também para outros organismos incluindo bactérias e algas. No ambiente, entretanto, há preocupações com relação à toxicidade e deficiência. Desde 1983, tem sido dinâmico o crescimento de estudos sobre a ciclagem de Se e a importância na saúde humana e animal (KABATA-PENDIAS; MUKHERJEE, 2007).

Embora a geologia subjacente seja o principal fator de controle da concentração de Se em solos, a mobilidade e a absorção de selênio pelas plantas e animais, conhecidos como disponibilidade, são determinadas por um número de parâmetros bio-físico-químicos. Estes incluem as condições de pH e potencial redox predominantes, a forma química ou especiação de Se, textura do solo, mineralogia, teor de matéria orgânica e a presença de íons competitivos (FORDYCE, 2013).

Tem sido demonstrado que a ingestão de Se e o seu *status* em uma determinada população (nível de Se no sangue) podem estar estreitamente relacionados com a concentração, distribuição na fase sólida do solo e especiação no ambiente local, o que é, em grande parte, determinado pelas características geoquímicas. O conhecimento de tais fatores pode sugerir

riscos para a saúde e ser relevante para um país ou região, podendo ajudar a prever quais locais podem ser caracterizados por deficiência ou toxicidade no solo. Em uma escala global, é estimado que 0,5 a 1 bilhão de pessoas seja diretamente afetada pela deficiência de Se no organismo. Em geral, áreas de baixo teor natural de Se no solo são mais disseminadas e extensivas que áreas com níveis excessivos de Se (HAUG et al., 2007; JOHNSON; FORDYCE; RAYMAN, 2010; WINKEL et al., 2012).

No Brasil, as informações sobre os valores de Se no solo são escassos, e particularmente na região Amazônica, determinações analíticas de Se no solo são praticamente inexistentes, salvo alguns trabalhos utilizando coletas em pontos localizados em áreas de produção agrícola. Devido às preocupações quanto à deficiência de Se, segundo Combs Júnior (2001), há uma necessidade de busca por mais informações com relação ao *status* de Se nos solos em escala nacional a fim de compreender os principais fatores que influenciam suas concentrações. O estudo de teores totais de Se, tanto no solo como em produtos vegetais que são consumidos, vem se tornando fundamental, somando-se ainda ao fato de que cerca de metade da população mundial sofre com desnutrição de Fe, Zn e Se (ZHAO et al., 2009).

A castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa* Bonpl., Lecythidaceae) é uma espécie amplamente distribuída em florestas não inundadas (terra firme) na Amazônia Brasileira, Guianas, Colômbia, Venezuela, Peru e Bolívia. A espécie é encontrada em áreas que apresentam precipitação média anual entre 1400 e 2800 mm, temperatura anual média entre 24°C e 27°C e umidade relativa de 79% a 86% (DINIZ; BASTOS, 1974). As amêndoas da castanha-do-brasil são consumidas no mundo inteiro, sendo conhecidas como o alimento mais rico em Se, tendo já sido reportados na literatura valores de até 512 mg Se kg⁻¹ (CHANG et al., 1995; DUMONT et al., 2006).

É conhecido na literatura que há uma grande variabilidade no teor de Se nas amêndoas de castanha-do-brasil dependendo do local em que foram cultivadas, havendo até mesmo variações entre amêndoas provenientes de

um mesmo local, sendo provavelmente o reflexo das quantidades de Se nos solos regionais e ainda da capacidade de cada genótipo em acumular este elemento nas amêndoas. Tais variações são relatadas nos estudos realizados por Chang et al. (1995), Dumont et al. (2006), Parekh et al. (2008) e Secor e Lisk (1989). Porém, não há um estudo caracterizando melhor esses teores em populações de castanha-do-brasil em diferentes estados da região Amazônica. Até agora, os níveis de Se na castanha-do-brasil juntamente com os respectivos teores nos solos adjacentes não têm sido relacionados e estudados com detalhes buscando conhecer os possíveis fatores que determinam a maior ou menor acumulação deste elemento nas amêndoas.

Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivos: 1) Avaliar o teor de Se em amêndoas de castanha-do-brasil provenientes de diferentes regiões da bacia Amazônica; 2) Determinar os teores de Se nos solos e observar o comportamento do Se com relação às variações regionais e locais; e 3) Determinar se há uma relação entre o teor total de Se presente nas amêndoas e as concentrações de Se nos solos correspondentes aos locais onde as plantas se desenvolvem.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Selênio no solo

A média dos teores totais de Se nos solos do mundo é estimada em torno de $0,44 \text{ mg kg}^{-1}$. Os teores naturais de vários grupos de solos variam de $0,05$ a $1,50 \text{ mg kg}^{-1}$, sendo que os teores mais baixos são encontrados em solos Podzólicos e os mais elevados em Organossolos (KABATA-PENDIAS, 2011). A quantificação dos teores de Se em solos tem recebido muita atenção, principalmente em países onde o papel do Se na saúde humana e animal tem sido reconhecido e onde há geralmente problemas com toxicidade ou deficiência do elemento. A maior parte dos solos de zona climática temperada úmida, e derivados de rochas sedimentares contêm níveis de Se que não são suficientes para produzir alimento e forragem com

teores adequados à nutrição humana e animal, necessitando de aplicação de fertilizantes (KABATA-PENDIAS, 2011).

O estudo da distribuição de Se em solos é de extremo interesse devido à estreita faixa entre os níveis de deficiência e toxidez. O Se no solo existe em várias formas inorgânicas: como selênio elementar (Se^0), seleneto (Se^{2-}), selenito (SeO_3^{2-}), selenato (SeO_4^{2-}) e em formas orgânicas, como, por exemplo, a selenometionina. Em solos cultivados, as formas SeO_3^{2-} e SeO_4^{2-} predominam (KOPSELL; KOPSELL, 2007). Para estas formas aniônicas inorgânicas (selenito e selenato), a adsorção em óxidos e hidróxidos e nas arestas quebradas dos argilominerais corresponde ao principal mecanismo que controla a distribuição do elemento na solução do solo. Para a maior parte do Se orgânico, a mineralização é requerida para o Se tornar-se disponível. Em relação à disponibilidade de Se, ambos os processos predominantes e fatores controladores diferem entre os tipos de solos em que as formas inorgânicas ou orgânicas dominam (SUPRIATIN; WENG; COMANS, 2015).

A biodisponibilidade de Se para as plantas e animais no solo ocorre em função da geologia, pH do solo, condições redox, quantidade de matéria orgânica, espécies de íons competidores, tais como o sulfato e fosfato, atividade microbiana, textura do solo, compactação e mineralogia, temperatura do solo, nível de precipitação durante a estação de cultivo, irrigação etc. Por isso, casos em que ocorrem alto teor de matéria orgânica no solo, elevados teores de oxihidróxidos de Fe e de argila (todos podem adsorver ou ligar Se ao solo) podem inibir a absorção de Se pelas plantas e animais. Até mesmo em solos que contêm concentrações totais adequadas, pode haver deficiência de Se em animais se o elemento não estiver em uma forma prontamente disponível (FORDYCE, 2007; FORDYCE et al., 2010).

Baseando-se na interação entre estes fatores e as formas químicas de Se em um solo, a dinâmica do elemento está submetida a transformações reguladas principalmente por processos de oxidação-redução (KOPSELL; KOPSELL, 2007; JEZEK et al., 2012). A dependência das formas de Se com

relação ao pH e potencial redox é demonstrado através do diagrama de pH-Eh (Figura 1).

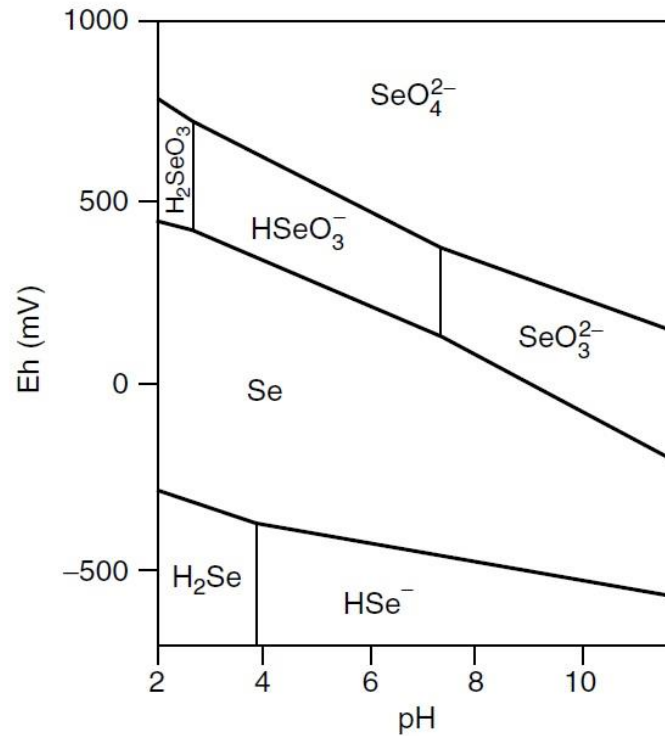


Figura 1 Distribuição de Se no solo dependendo do pH e potencial redox (Eh). Fonte: adaptado de Kopsell e Kopsell (2007)

A mobilidade de Se no solo e sua disponibilidade para as plantas são controladas pela sorção, desorção, precipitação, dissolução, formação de complexos orgânicos, inorgânicos e metilação de compostos voláteis. Selenito e selenato diferem em seu comportamento no solo, já que o selenato é móvel no solo, enquanto o selenito é eficientemente retido na superfície dos óxidos, e assim, menos disponível para as plantas (ALFTHAN et al., 2014).

Grande parte do Se ingerido por animais e humanos é proveniente do solo onde são cultivados as plantas e legumes que absorvem este elemento. No geral, os teores de Se disponíveis em solos são altamente variáveis.

Como exemplo, existem áreas notavelmente pobres em Se que incluem partes da China, Sibéria, África Central, o leste da Europa e Nova Zelândia. No entanto, embora grandes regiões ainda não tenham um mapeamento específico para os teores de Se, é notável que a maioria da população mundial apresente ingestão insuficiente de Se para sustentar o pleno funcionamento das selenoenzimas no organismo (LYONS et al., 2004).

A maioria das doenças humanas relacionadas ao Se são resultantes de concentrações altas ou baixas do elemento em solos, alimento e água potável. Geralmente, o teor e forma química do Se no solo determina a concentração do elemento em grãos, vegetais e cursos d'água. Portanto, estudar a concentração do elemento em solos e seu comportamento pode melhorar a compreensão e a avaliação da ciclagem, fluxo e balanço no ecossistema e sua influência na saúde (LI et al., 2008).

No Brasil, os estudos com Se no solo são relativamente recentes, necessitando ainda de informações referentes aos teores totais naturais principalmente em solos agrícolas. Um exemplo de estudo buscando metodologia para determinação de Se total no solo, Carvalho (2011) obteve teores naturais de Se ou “background” em solos do Cerrado, observando variação nos teores de Se de 32 a 82 $\mu\text{g kg}^{-1}$ no horizonte superficial e de < 22 a 63 $\mu\text{g kg}^{-1}$ no horizonte subsuperficial. Em um trabalho mais recente, Gabos, Alleoni e Abreu (2014) encontraram valores de Se em solos do estado de São Paulo na camada superficial e subsuperficial (porção mais elevada do horizonte B) de 58 amostras de solo, variando de < 0,08 a 1,61 mg kg^{-1} com uma média de 0,19 mg kg^{-1} . Os autores relataram ainda que as concentrações de Se nas amostras coletadas na camada superficial (~0-20 cm) estavam positivamente correlacionadas com a CTC, assim como o teor de argila, matéria orgânica e teor de óxidos no solo. Na camada subsuperficial apenas o pH e teor de óxido de alumínio apresentaram correlação com as concentrações de Se.

Embora haja ainda poucos trabalhos mostrando teores de Se em solos Brasileiros, que incluam principalmente dados da região Amazônica,

há evidências de que estes teores sejam deficientes em algumas regiões onde esses valores já foram estudados conforme mostra a tabela 1.

Tabela 1 Concentração de Se em solos Brasileiros

Região/Cidade	Concentração de Se ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	Referências
Região do Cerrado	10-80	Carvalho (2011)
Matão	2,3-15	Faria (2009)
São Paulo	89-1612	Gabos et al.(2014)
Piracicaba	90-206	Faria (2009)
Paraná	370	Shaltout et al. (2011)
Goiás	215	Shaltout et al. (2011)
Mato Grosso do Sul	113	Shaltout et al. (2011)
Pará	419	Shaltout et al. (2011)
Rio Grande do Sul	248	Shaltout et al. (2011)
Santa Catarina	262	Shaltout et al. (2011)
Ceará	599	Shaltout et al. (2011)
Amazonas	604	Shaltout et al. (2011)

Fonte: Do autor (2016)

Em áreas onde a disponibilidade de Se nos solos é baixa, uma boa alternativa é a biofortificação agronômica, para que haja melhora na qualidade nutricional dos alimentos (WHITE; BROADLEY, 2009). E é isso que vem sendo realizado pelas pesquisas atuais, visando à melhoria na nutrição mineral de plantas em solos e ambientes onde a baixa disponibilidade de Se acaba refletindo em deficiência na nutrição e saúde humana. A ingestão de alimentos oriundos de plantas cultivadas em solos enriquecidos com Se foi assumida como sendo importante, além de ser uma prática eficaz para diminuir a deficiência de Se na população (COMBS JÚNIOR, 2001).

A biofortificação com Se em cultivos alimentares tem sido praticada

em algumas regiões deficientes em Se, consistindo na adição de Se inorgânico por meio de fertilizantes em solos. A prática já é bem estabelecida em países como a Finlândia (ARO; ALFTHAN; VARO, 1995) e no Reino Unido (LYONS, 2010), além de pesquisas estarem sendo conduzidas no sentido de melhorar o status de Se da população com o uso da biofortificação também em países como a Austrália (LYONS et al., 2005b), e mais recentemente no Brasil (BOLDRIN et al., 2012, 2013; RAMOS et al., 2010).

Os teores de Se nos produtos agrícolas alimentares apresentam grande dependência da disponibilidade e mobilidade deste elemento no solo e, além disso, da regulação em função da espécie vegetal e genótipo. Embora devido ao escasso número de estudos realizados, haja grande necessidade de pesquisas que avaliem o efeito da variação genotípica e fisiologia da planta na acumulação de Se em produtos vegetais (biofortificação genética). (KOPSELL; KOPSELL, 2007; LYONS et al., 2005a). Dessa maneira, é de fundamental importância entender como o selênio se comporta no solo, visando avaliar sua posterior transferência para a planta, seus tecidos e órgãos que serão utilizados na alimentação humana e animal.

2.2 Castanha-do-brasil: características da espécie

A castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa* Bonpl., Lecythidaceae) é uma das árvores-símbolo da Amazônia, devido a sua importância social, ecológica e econômica para a região. Milhares de famílias de extrativistas e produtores rurais utilizam a semente da castanha como importante fonte de renda e alimento. É popularmente conhecida como castanha-do-pará ou castanha-do-brasil e, mais recentemente, castanha-da-amazônia (WADT; KAINER, 2012).

A castanha-do-brasil é uma espécie amplamente distribuída em florestas não inundadas (terra firme) na Amazônia Brasileira, Guianas, Colômbia, Venezuela, Peru e Bolívia em uma região englobando uma significativa área no norte da América do Sul conforme ilustrado na figura 2 (KAINER et al., 1999). A espécie é encontrada em áreas que apresentam

precipitação média anual entre 1400 e 2800 mm, temperatura anual média entre 24°C e 27°C e umidade relativa de 79% a 86%. A planta ocorre naturalmente em clima quente e úmido, onde predominam os tipos climáticos Aw, Am e Af, de acordo com a classificação de Köppen, mas se concentra especialmente em locais com Aw e Am (CLEMENT, 2000; DINIZ; BASTOS, 1974).

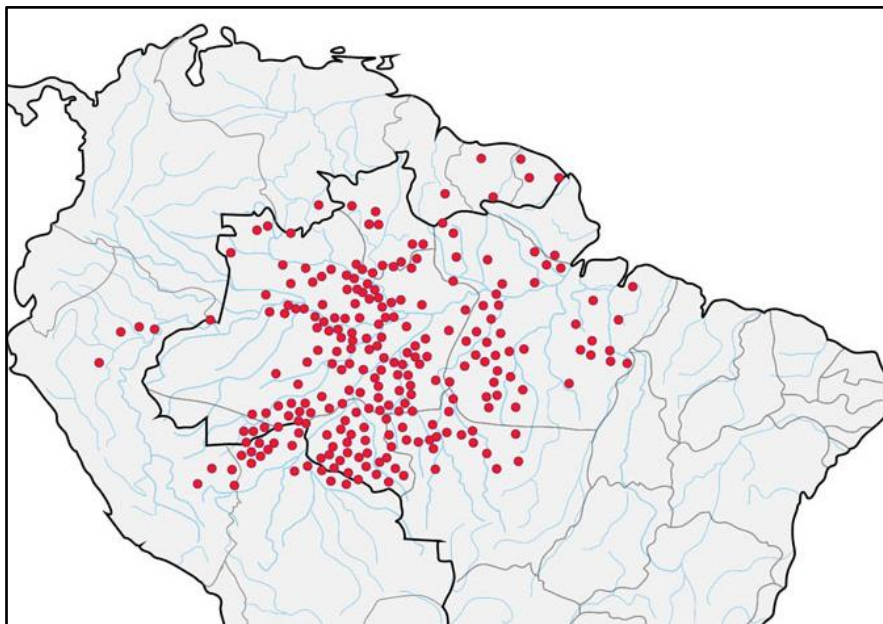


Figura 2 Locais de maior ocorrência da castanha-do-brasil na região Amazônica. Adaptado de Kainer et al. (1999)

A espécie é amplamente distribuída pela bacia Amazônica e bem adaptada a Latossolos e Argissolos pobres em nutrientes, que cobrem uma vasta área na região (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, 1986). Na floresta Amazônica, a castanha-do-brasil pode alcançar uma altura de 60 m e 3 m de diâmetro. A espécie é de importância econômica por causa de suas amêndoas comestíveis que são coletadas principalmente de árvores nativas (SCOLES; GRIBEL, 2011). Os seus frutos, que são conhecidos como ouriços, podem pesar de 0,5 a 2,5 kg,

contendo de 10-25 amêndoas, apresentando elevado teor de vitaminas e proteínas (MORI; PRANCE, 1990).

A planta é encontrada comumente em agrupamentos conhecidos como “castanhais”, em planaltos (terra firme) da floresta Amazônica. Segundo Mori e Prance (1990), esses castanhais constituem agregados de 50 a 100 indivíduos, com 9 a 26 árvores adultas por hectare, sendo cada castanhal separado um do outro por distâncias de até 1 km. Já o estudo de Peres e Baidier (1997) no sudeste da Amazônia, mostrou que a densidade de plantas com DAP (diâmetro à altura do peito) ≥ 10 cm foi em média 1,3 indivíduos ha^{-1} , embora alguns castanhais que eles descreveram como pomares, tivessem densidades de 5,1 árvores ha^{-1} . No Estado do Acre, Wadt et al. (2005) mostraram que, dentro dos castanhais observados no estado, não se verifica a formação de agregados, conforme descrito por Mori e Prance (1990), e sim uma distribuição quase aleatória das árvores, com distância média entre elas de 34,3 m (com mínimo de 1 m e máximo de 233 m). Resultados da rede de pesquisa Kamukaia, coordenada pela Embrapa, têm mostrado que há castanhais nos estados do Amapá e Roraima com densidade ainda maior que 10 castanheiras ha^{-1} , e conjuntos muito superiores a 100 árvores (WADT; KAINER, 2012).

Estudos relatam que as intervenções humanas estão entre os fatores que explicam a distribuição espacial da castanha-do-brasil, sendo que extrativistas consistentemente descrevem maiores níveis de regeneração da castanha-do-brasil em “capoeira” (florestas de variadas idades resultantes da tradicional mudança de ciclo de cultivo) que em florestas não perturbadas (WADT et al., 2005).

Outros relatos sugerem que a atual distribuição das populações de castanha-do-brasil em toda a Amazônia consideradas até então como sendo “nativas” seria o resultado de influências antropogênicas históricas que levaram à criação de “pomares” pelos índios pré-colombianos, que teriam atuado como “dispersadores das sementes” neste período. A ecologia de dispersão da castanha-do-brasil torna-a altamente responsiva e talvez

altamente dependente de perturbações antropogênicas para o estabelecimento e expansão de seus pomares, pelo menos dadas as condições ecológicas do período Pós-Pleistoceno. Observações de campo e uma revisão de exemplos etnográficos sugerem como tratamentos culturais específicos podem ter facilitado a expansão das populações de castanha-do-brasil desde os antigos até os tempos recentes. Fenótipos observados em certas populações de castanha-do-brasil sugerem um grau de seleção e uma domesticação incipiente (MORI; PRANCE, 1990; SCOLES; GRIBEL, 2011; SHEPARD; RAMIREZ, 2011; SUJII et al., 2015).

A abertura dos portos da Amazônia ao comércio exterior, em 1866, permitiu a expansão da produção e a comercialização da castanha-do-brasil no exterior. A partir dessa época, a coleta de castanha passou a ser uma importante atividade econômica na Amazônia, especialmente nas regiões de Manaus e Belém. Ainda nos dias de hoje, praticamente toda a produção de castanha-do-brasil vem do extrativismo (WADT; KAINER, 2012).

As sementes são muito apreciadas no exterior, onde são conhecidas como *Brazilian nuts* ou *Brazil nuts*, sendo que entre os principais consumidores da castanha-do-brasil estão os EUA e a Europa, para onde as castanhas são exportadas. Logo, toda essa prática de comercialização dentro do nosso país passa a ser uma grande fonte de renda para os povos que vivem e dependem desta planta em toda Amazônia (SOUZA et al., 2008).

2.3 Selênio na castanha-do-brasil

A absorção de Se pelas plantas e seu valor total presente em tecidos vegetais são influenciados por diversos fatores, incluindo o teor de Se no solo, a sua forma química, a reação do solo, potencial redox (Eh), mineralogia, fertilizantes minerais e precipitação pluviométrica. Outro fator que participa da captação total de Se é a atmosfera, que está em equilíbrio com seu ciclo. E dessa maneira, sabe-se que, em termos de disponibilidade, a forma de Se presente no solo é mais importante que a quantidade total a ser absorvida pelas plantas (JEŽEK et al., 2012).

Para algumas plantas superiores, o Se é conhecido por ser um nutriente benéfico, porém ainda não tem sido demonstrada sua essencialidade para todas as culturas, havendo discussões acerca de suas funções no metabolismo das plantas e controvérsias a respeito de sua essencialidade (LYONS et al., 2009; TERRY et al., 2000).

As raízes das plantas podem absorver Se como selenato (SeO_4^{2-}), selenito (SeO_3^{2-}) ou na forma de compostos orgânicos, como selenocisteína (SeCys) e selenometionina (SeMet), mas são incapazes de absorver Se elementar ou selenidos metálicos (WHITE; BROADLEY, 2009).

Quanto à sua absorção, o Se é quimicamente semelhante ao enxofre (S), e como resultado, as plantas superiores e outros organismos prontamente absorvem e metabolizam Se utilizando os mesmos transportadores de S e através dos mesmos sítios de absorção (PILON-SMITS; QUINN, 2010).

A semelhança química compartilhada pelo selenato e sulfato permite que o selenato seja absorvido pela planta através dos mesmos transportadores de sulfato, embora a afinidade que os transportadores de sulfato têm para o selenato pareça variar entre as espécies de plantas. Já para a absorção de selenito pela planta, há suposições de que ela ocorra através dos mesmos transportadores de fosfato (LI; MCGRATH; ZHAO, 2008b; ZHU et al., 2009). Com base em algumas análises, foi levantada a hipótese de que o metabolismo essencial de Se é uma característica primitiva que foi perdida no decorrer da evolução das plantas superiores e em outros grupos que não exigiam Se. Não se pode excluir, no entanto, o fato de que algumas plantas podem fixar o Se, convertendo um aminoácido como a serina em selenocisteína, e da mesma forma, produzir selenoproteínas em rotas diferentes (PILON-SMITS; QUINN, 2010).

As espécies do grupo das Angiospermas têm sido divididas em três tipos ecológicos de acordo com sua habilidade de acumular Se em seus tecidos. Esses tipos são designados como espécies não acumuladoras, Se indicadoras e Se acumuladoras. A maior parte das Angiospermas são espécies não acumuladoras contendo menos que 25 mg kg^{-1} de Se na matéria

seca. Essas espécies não toleram concentrações de Se no tecido $> 100 \text{ mg kg}^{-1}$ em massa seca, o que levaria à toxidez pelo elemento, e não podem, portanto, colonizar solos seleníferos. Em contraste, as espécies Se indicadoras são aptas a tolerar concentrações de Se no tecido próximos a 1000 mg kg^{-1} de massa seca, e colonizar ambos solos seleníferos e não seleníferos. A distribuição de espécies acumuladoras de Se é geralmente restrita a solos seleníferos, onde as concentrações de Se nos seus tecidos podem exceder 1000 mg kg^{-1} de Se na matéria seca. Essas espécies incluem vários membros das famílias *Asteraceae*, *Brassicaceae* e *Fabaceae*, que acomodam amplas concentrações de Se em seus tricomas foliares e células epidérmicas. Nesse sentido, as espécies são definidas como “hiperacumuladoras de Se” caso suas folhas apresentem concentrações $> 1000 \text{ mg kg}^{-1}$ de Se em massa seca, quando amostradas em seu ambiente natural (EL MEHDAWI; PASCHKE; PILON-SMITS, 2015; RODRIGUEZ; RIVERO; BALLESTA, 2005; TERRY et al., 2000; WHITE, 2015; WHITE et al., 2004; WHITE et al., 2007).

A castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa*) é um dos produtos alimentícios que apresenta maior teor de Se. Um exemplo de comparação dos teores de Se na castanha com demais alimentos foi o trabalho realizado por Barclay, Macpherson e Dixon (1995) onde foi feita uma avaliação de teores médios de Se em diversos alimentos consumidos no Reino Unido. Estes autores analisaram 700 amostras de 100 tipos diferentes de alimentos, e encontraram a maior concentração de Se em castanha-do-brasil, com um teor máximo de $2,54 \text{ mg kg}^{-1}$.

Uma série de trabalhos de pesquisa tem sido feita determinando os teores totais de Se na castanha-do-brasil, sendo reportados valores que se mostram surpreendentemente diferentes entre si. Como exemplo, o trabalho realizado por Dumont et al. (2006) que observaram teores médios entre 5,1 e $49,9 \text{ mg Se kg}^{-1}$ para amêndoas sem casca e com casca respectivamente. As amêndoas sem cascas eram vendidas em pacotes de 250 g e foram obtidas em um mercado local na Bélgica, sendo provenientes da Bolívia. Já as

amêndoas com casca foram compradas em um supermercado nos Estados Unidos, em pacotes contendo 450 g, e eram originadas do Brasil.

Pacheco e Scussel (2007) encontraram teores variando entre 8,5 mg Se kg⁻¹ e 69,7 mg Se kg⁻¹, sendo que os valores mais altos foram obtidos na região Leste da Amazônia (Pará, Amapá e Norte do Maranhão) e as amêndoas com teores mais baixos foram oriundas da região Oeste da Amazônia (Acre, Rondônia, Roraima e a parte Leste do Amazonas, após Manaus).

Tošić et al. (2014) obtiveram um teor médio de Se de 0,763 mg kg⁻¹, analisando amêndoas provenientes de um mercado na cidade de Niš, na Sérvia. Martins et al. (2012) encontraram uma concentração média de 22,7 mg kg⁻¹, em um lote de 30 amostras para exportação, proveniente da colheita de 2009, na cidade de Manaus, Amazonas. Já Silva, Mataveli e Arruda (2013) obtiveram um teor médio de 54,8 mg kg⁻¹, em amostras adquiridas em um mercado local em Campinas, estado de São Paulo.

Com a crescente importância do consumo das amêndoas da castanha-do-brasil tanto no Brasil como no exterior, há uma preocupação com a quantidade que pode ser ingerida por pessoa, com relação à concentração de Se existente na amêndoa. É conhecido que o Se desempenha diversas funções benéficas no organismo humano, sendo importante na nutrição e prevenção de doenças, mas sabe-se que há um limite de ingestão diária, acima do qual pode ser tóxico ao organismo humano (RAYMAN, 2012; COMINETTI et al., 2012).

Thomson et al. (2008) avaliando a eficiência da castanha-do-brasil em aumentar o status de Se no organismo em comparação a selenometionina observaram que o consumo de 2 amêndoas diariamente foi tão efetivo no aumento do status de Se e atividade da Glutathione Peroxidase (GPx) quanto a ingestão de 100 µg de Se na forma de selenometionina, ratificando que a ingestão deste alimento rico em Se na dieta poderia evitar a necessidade de utilização de fortificação a partir de suplementos para aumentar o status de Se no organismo.

Outros autores relataram ampla variação nos teores de Se na castanha-do-Brasil. Chang et al. (1995) avaliaram o teor total de Se de amêndoas individuais obtidas de duas regiões no Brasil correspondendo a Acre-Rondônia e Manaus-Belém, e observaram as respectivas concentrações médias obtidas de 162 amêndoas de cada local em ppm (mg kg^{-1}) e peso fresco nas seguintes faixas: 0,03 a 31,7 na região Acre-Rondônia; e 1,25 a 512 na região Manaus-Belém. Segundo os autores, o maior teor total de Se observado na região central de Manaus a Belém pode ser um reflexo de uma maior disponibilidade de Se nestes solos, há também a hipótese de que as variedades de castanha-do-brasil nesta região absorvam mais eficientemente o Se do solo, ou ainda ambos os fatores tenham influência neste maior teor observado.

Dessa maneira, os teores de Se na castanha-do-Brasil são muito variáveis dependendo da planta e do solo onde foi cultivada. Por isso, sugere-se monitorar a concentração de Se nas amêndoas e em seus produtos derivados, para efeito de recomendação de consumo, assim como para rotulagem nutricional (FREITAS et al., 2008).

2.4 Selênio na nutrição humana

O Se é um nutriente essencial que desempenha papel fundamental na biologia humana. Isto tem se tornado cada vez mais óbvio à medida que novas pesquisas vêm mostrando seu papel inquestionável em áreas importantes da saúde. Como um constituinte de 25 selenoproteínas, ele desempenha papéis fundamentais no sistema imunológico, reduzindo infecções virais, sendo essencial para a fertilidade e reprodução, atua no metabolismo do hormônio da tireóide, na proteção contra doenças cardiovasculares, além de possíveis estresses oxidativos ou condições inflamatórias no organismo humano (RAYMAN, 2012).

O Se desempenha um papel antioxidante porque é o principal constituinte de enzimas antioxidantes que são expressas em vários tecidos, incluindo o cérebro. Assim, este mineral tem um papel importante por

oferecer proteção contra danos celulares induzidos por EROs (espécies reativas de oxigênio) e os mecanismos propostos invocam principalmente as funções da glutathione peroxidase e da selenoproteína P (CHEN; BERRY, 2003).

A fonte básica de Se na nutrição humana é o alimento, o qual pode conter variadas quantidades e formas químicas, dependendo do seu tipo e origem. Alimentos, bem como sistemas biológicos, podem conter formas inorgânicas (selenito – SeO_3^{2-} , selenato – SeO_4^{2-}) e orgânicas de Se (Se-aminoácidos, formas metiladas e Se-proteínas) (PEDRERO; MADRID, 2009). Cereais, nozes, carnes e frutos do mar são as principais fontes de Se dietético; no entanto, para as fontes que são cultivadas, o seu teor mineral pode variar de acordo com o solo no qual elas crescem, as concentrações na água disponível, e a utilização de fertilizantes contendo Se (FLORES-MATEO et al., 2006). Segundo Rayman (2008), a forma dominante de Se em alimentos afeta a sua aceitabilidade pelo corpo, ou seja, seu aproveitamento e sua disponibilidade para proteossíntese e produção de compostos Se-metilados.

As funções do Se no organismo remetem à atividade e concentração de selenoproteínas específicas tais como a glutathione peroxidase e selenoproteína P (SePP), que são conhecidas por reduzir o estresse oxidativo, inflamação e danos no DNA, implicando no risco de desenvolvimento de câncer. É fundamental conhecer a concentração de Se presente em alimentos ingeridos, que será incorporado nestas proteínas com a finalidade de otimização da atividade das mesmas e com isso refletindo no nível de Se no plasma sanguíneo (RAYMAN, 2009).

A ingestão diária recomendada de Se para homens adultos é de 70 μg por dia e para mulheres adultas de 60 μg por dia (KIPP et al., 2015). As ingestões recomendadas para outras categorias de idade estão listadas na tabela 2. Esta recomendação é baseada na quantidade necessária para que ocorra a saturação da selenoproteína P (SePP) no plasma, e os valores foram derivados pelas sociedades de nutrição da Alemanha, Áustria e Suíça,

formulando os chamados “valores de referência para ingestão do nutriente” (KIPP et al., 2015), enquanto que o valor do Limite Superior Tolerável de Ingestão (UL) de $400 \mu\text{g dia}^{-1}$ é um valor fixado devido ao risco de selenose apresentado por indivíduos que ingeriram níveis superiores ao estabelecido (FOOD AND NUTRITION BOARD OF THE INSTITUTE OF MEDICINE, 2000).

Tabela 2 Ingestão diária recomendada de Se por categorias de idade e sexo

Idade	Selênio ($\mu\text{g} / \text{dia}$)	
	Masculino	Feminino
Infantes		
0 a 4 meses	10	10
4 a 12 meses	15	15
Crianças e Adolescentes		
1 a 4 anos	15	15
4 a 7 anos	20	20
7 a 10 anos	30	30
10 a 13 anos	45	45
13 a 15 anos	60	60
15 a 19 anos	70	60
Adultos		
19 a 25 anos	70	60
25 a 51 anos	70	60
51 a 65 anos	70	60
65 anos ou mais velho	70	60
Mulher grávida		60
Mulher lactante		75

Fonte: adaptado de Kipp et al. (2015)

Em contraste com muitos outros micronutrientes, a ingestão de Se varia grandemente em todo o mundo, desde deficiente a concentrações

tóxicas que provocam perda de cabelo e unhas, desordens no sistema nervoso e pele, má saúde dentária, e paralisia. A ingestão dietética de Se varia de 7 μg a 4990 $\mu\text{g dia}^{-1}$, com valores médios entre 40 μg e 93 $\mu\text{g dia}^{-1}$ (em mulheres) na Europa, a 134 μg por dia (nos homens) nos EUA (JOHNSON; FORDYCE; RAYMAN, 2010; RAYMAN, 2005, 2008). Apesar de ser considerado como um elemento essencial, o Se pode ser tóxico para os seres humanos e animais, dependendo do seu nível de consumo. O seu efeito benéfico ocorre em um pequeno intervalo, sendo de 55-400 $\mu\text{g dia}^{-1}$, e abaixo dessa faixa o Se não pode desempenhar a sua função essencial no organismo e acima dela, torna-se tóxico (KHANAL; KNIGHT, 2010; MAIHARA et al., 2004).

De acordo com Combs (2001), foi relatada uma variação muito grande na ingestão de Se entre países de diversos continentes. O autor constatou resultados de ingestão de 7 a 11 μg de Se pessoa⁻¹ dia⁻¹, em regiões da China, onde as doenças estavam associadas à deficiência de Se, e valores tão altos quanto 750 a 4990 μg de Se pessoa⁻¹ dia⁻¹ em outra região distinta da China, onde foi identificado selenose. O autor, em sua revisão, relatou ainda que os produtos de laticínio e ovos contribuem pouco para o aporte de Se, mas podem ser fontes significativas nos países em que seu consumo é alto, comparado a outros alimentos que apresentam menor teor como as frutas e hortaliças que apresentam geralmente baixos teores de Se e contribuem com menos de 8% no aporte de Se na dieta.

Uma adequada ingestão de Se é importante, independentemente da idade. Estudos mais recentes têm mostrado que a deficiência de Se pode contribuir para o declínio cognitivo em pessoas idosas, além de haver uma associação com o estresse oxidativo observado em pacientes com Alzheimer e diabetes tipo 2 (CARDOSO et al., 2010; RAYMAN, 2012). Estima-se que 15% da população mundial sejam deficientes em Se e a principal razão é a baixa ingestão desse nutriente (WHITE; BROADLEY, 2005). Sua baixa ingestão está ligada a doenças cardiomiopáticas (ex. Doença de Keshan) e desordens degenerativas osteoarticulares (ex. Doença de Kashin-Beck)

sendo que no geral, tais doenças são relatadas em áreas onde as concentrações deste elemento no solo são baixas como na China, Tibete e Sibéria (RAYMAN, 2012; ZENG, 2009). Em muitos países da Europa, Ásia e parte da África, a ingestão de Se dos alimentos não chega a alcançar a ingestão diária recomendada, levando ao comprometimento da saúde da população (FINLEY, 2007).

A concentração proteica é um fator que também determina o conteúdo de Se nos alimentos. A selenometionina é predominante em alimentos vegetais, como os cereais. As frutas cítricas e vegetais folhosos por possuírem baixas concentrações proteicas possuem menores teores de Se. Em alimentos de origem animal, como carnes, vísceras, peixes e frutos do mar, há predominância de selenocisteína (ALAEJOS; ROMERO; ROMERO, 2000; NAVARRO-ALARCÓN; LÓPEZ-MARTÍNEZ, 2000). Assim, a quantidade de Se ingerida numa dieta é também determinada em função dos hábitos alimentares e poder aquisitivo da população (FERREIRA; GOMES; ROBERTO, 2002).

A absorção de fontes orgânicas de Se dos alimentos é geralmente elevada (70-95%), entretanto ela pode variar de acordo com a digestibilidade das várias selenoproteínas presentes em um alimento em particular, e o padrão de compostos de Se neste alimento. Geralmente, um organismo pode muito bem utilizar o Se da selenometionina e selenocisteína, presente na maioria dos alimentos vegetais. A disponibilidade de Se a partir de produtos de origem animal é intermediária e, em alguns casos, baixa. Carnes bovinas e peixes são fontes ricas em Se, principalmente na forma de selenocisteína. Por outro lado, vegetais e frutas representam uma fonte de menor grau de Se, ocorrendo principalmente na forma mais aceitável que é a selenometionina (COMBS, 2001).

Grande parte da população mundial vive em regiões onde o solo apresenta um desbalanço mineral, o que pode caracterizar uma falta frequente de nutrientes essenciais como ferro, zinco, cálcio, magnésio, cobre, iodo e o Se na alimentação (MARTINEZ, 2013). O enriquecimento de solos

visando ao incremento de Se nos alimentos com este nutriente, principalmente de vegetais e seus derivados, vem sendo o foco de trabalhos mais recentes. Hoje é necessário permitir que a população tenha acesso a uma dieta diversificada de alimentos aliados a características nutritivas melhoradas dos mesmos, principalmente a partir do processo denominado biofortificação. Atualmente no Brasil alguns estudos vêm sendo realizados com arroz, alface, brócolis, rabanete, entre outras culturas, tanto com aplicação de Se via solo como via adubação foliar (BOLDRIN et al., 2012; FERNANDES, 2011; RAMOS et al., 2011).

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A caracterização dos teores totais de Se no solo e nas amêndoas da castanha-do-brasil na região Amazônica vem se tornando fundamental, à medida que cresce a importância do uso das amêndoas na alimentação não somente das comunidades locais, como também para outros países, onde o seu valor nutricional e seu atual reconhecimento como fonte rica em Se lhes atribui um status como uma alternativa para a suplementação da dieta, agregando valor à sua produção e comércio.

O teor total de Se acumulado pela castanha-do-brasil deve apresentar certa relação com os teores presentes no solo, em outras palavras, os resultados das pesquisas relatados na literatura nos levam a buscar conhecer quais outros atributos do solo ou fatores intrínsecos da planta levam a uma maior acumulação de Se nas amêndoas, o que remete a tópicos interessantes para futuras pesquisas como é o caso da regulação genética da planta com relação à acumulação de Se.

REFERÊNCIAS

ALAEJOS, M. S.; ROMERO, F. J. D.; ROMERO, C. D. Selenium and cancer: some nutritional aspects. **Nutrition**, San Diego, v. 16, n. 5, p. 376–383, May 2000.

ALFTHAN, G. et al. Effects of nationwide addition of selenium to fertilizers on foods, and animal and human health in Finland: from deficiency to optimal selenium status of the population. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, Stuttgart, v. 31, n. 1, p. 1–6, May 2014.

ARO, A.; ALFTHAN, G.; VARO, P. Effects of supplementation of fertilizers on human selenium status in Finland. **The Analyst**, Cambridge, v. 120, n. 3, p. 841–843, Mar. 1995.

BARCLAY, M. N. I.; MACPHERSON, A.; DIXON, J. Selenium content of a range of UK foods. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v. 8, n. 4, p. 307–318, Dec. 1995.

BOLDRIN, P. F. et al. Selenato e selenito na produção e biofortificação agrônômica com selênio em arroz. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 47, n. 16, p. 831–837, jun. 2012.

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

CARDOSO, B. R. et al. Nutritional status of selenium in Alzheimer's disease patients. **The British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 103, n. 6, p. 803–806, Mar. 2010.

CARVALHO, G. S. **Selênio e mercúrio em solos sob Cerrado**. 2011. 93 p. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2011.

CHANG, J. C. et al. Selenium content of Brasil nuts from two geographic locations in Brasil. **Chemosphere**, Oxford, v. 30, n. 4, p. 801–802, Oct. 1995.

CHEN, J.; BERRY, M. J. Selenium and selenoproteins in the brain and brain diseases. **Journal of Neurochemistry**, Hoboken, v. 86, n. 1, p. 1–12, Feb. 2003.

CLEMENT, C. R. Domestication of Amazonian fruit-crop: past, present and future. In: VIEIRA, I. C. C. et al. (Ed.). **Diversidade biológica e cultural da Amazônia**. Belém: Museu Paraense Emílio Goeldi, 2000. p. 347-367.

COMBS JÚNIOR, G. F. Selenium in global food systems. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 85, n. 5, p. 517–547, Oct. 2001.

COMINETTI, C. et al. Brazilian nut consumption improves selenium status and glutathione peroxidase activity and reduces atherogenic risk in obese women. **Nutrition Research**, Cambridge, v. 32, n. 6, p. 403–407, June 2012.

DINIZ, T. D. de A. S.; BASTOS, T. X. Contribuição ao clima típico da castanha-do-brasil. **Boletim Técnico do IPEAN**, Belém, n. 64, p. 59-71, 1974.

DUMONT, E. et al. Speciation of Se in *Bertholletia excelsa* (Brazil nut): a hard nut to crack? **Food Chemistry**, Easton, v. 95, n. 4, p. 684–692, Apr. 2006.

EL MEHDAWI, A. F.; PASCHKE, M. W.; PILON-SMITS, E. A. H. *Symphyotrichum ericoides* populations from seleniferous and nonseleniferous soil display striking variation in selenium accumulation. **New Phytologist**, Hoboken, v. 206, n. 1, p. 231–242, Oct. 2015.

FARIA, L. de A. **Levantamento sobre selênio em solos e plantas do Estado de São Paulo e sua aplicação em plantas forrageiras**. 2009. 75 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade de São Paulo, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Pirassununga, 2009.

FERNANDES, K. F. M. **Biofortificação do arroz, do brócolis e do rabanete com selênio e predição de sua disponibilidade no solo**. 2011. 49 p. Dissertação (Mestrado em Agricultura tropical e subtropical) - Instituto

Agronômico de Campinas, Campinas, 2011.

FERREIRA, K. S.; GOMES, J. C.; ROBERTO, C. Concentrações de selênio em alimentos consumidos no Brasil. **Revista Panamericana de Salude Publica**, Washington, v. 11, n. 3, p. 172–177, Jan. 2002.

FINLEY, J. W. Increased intakes of selenium-enriched foods may benefit human health. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 87, n. 9, p. 1620–1629, Nov. 2007.

FLORES-MATEO, G. et al. Selenium and coronary heart disease: a meta-analysis. **American Journal of Clinical Nutrition**, Rockville, v. 84, n. 2, p. 762–773, May 2006.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Food and fruit-bearing forest species**. 3. ed. Rome: FAO, 1986. 308 p.

FOOD AND NUTRITION BOARD OF THE INSTITUTE OF MEDICINE. **Dietary reference intakes for vitamin C, vitamin E, selenium and carotenoids**. Washington: National Academy Press, 2000. 529 p.

FORDYCE, F. M. et al. An initial study to assess the use of geological parent materials to predict the Se concentration in overlying soils and in five staple foodstuffs produced on them in Scotland. **The Science of the Total Environment**, Cambridge, v. 408, n. 22, p. 5295–305, Aug. 2010.

FORDYCE, F. M. **Selenium deficiency and toxicity in the environment: essentials of medical geology**. Netherlands: Springer, 2013. 812 p.

FORDYCE, F. M. Selenium geochemistry and health. **Ambio: a journal of the human environment**, Netherlands, v. 36, n. 1, p. 94–97, Feb. 2007.

FREITAS, S. C. de. et al. Meta-análise do teor de selênio em castanha-do-brasil. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 11, n. 1, p. 54–62, Mar. 2008.

GABOS, M. B.; ALLEONI, L. R. F.; ABREU, C. A. Background levels of selenium in some selected Brazilian tropical soils. **Journal of Geochemical Exploration**, Cambridge, v. 145, n. 1, p. 35–39, Oct. 2014.

HAUG, A. et al. How to use the world's scarce selenium resources efficiently to increase the selenium concentration in food. **Microbial Ecology in Health and Disease**, Stockholm, v. 19, n. 4, p. 209–228, Aug. 2007.

JEŽEK, P. et al. Selenium: an important antioxidant in crops biofortification. In: EL-MISSIRY, M. M. **Biochemistry, genetics and molecular biology**. New York: CRC Press, 2012. p. 343-368.

JOHNSON, C. C.; FORDYCE, F. M.; RAYMAN, M. P. Factors controlling the distribution of selenium in the environment and their impact on health and nutrition. In: SYMPOSIUM ON 'GEOGRAPHICAL AND GEOLOGICAL INFLUENCES ON NUTRITION', 69., 2010, Guildford. **Proceedings...** Guildford: BGS, 2010. p. 119-132.

KABATA-PENDIAS, A. **Trace elements in soils and plants**. Boca Raton: CRC Press, 2011. 505 p.

KABATA-PENDIAS, A.; MUKHERJEE, A. B. **Trace elements from soil to human**. Berlin: Springer-Verlag, 2007. 550 p.

KAINER, K. A. et al. Moist storage of Brazil nut seeds for improved germination and nursery management. **Forest Ecology and Management**, Cambridge, v. 116, n. 1-3, p. 207–217, July 1999.

KHANAL, D. R.; KNIGHT, A. P. Selenium: its role in livestock health and productivity. **The Journal of Agriculture and Environment**, Kathmandu, v. 11, n. 1, p. 101–106, Jun. 2010.

KIPP, A.P.; STROHM, D.; BRIGELIUS-FLOHÉ, R.; SCHOMBURG, L.; BECHTHOLD, A.; LESCHIK-BONNET, E.; HESEKER, H. Revised reference values for selenium intake. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, Stuttgart, v. 32, n. 1, p. 195–199, July 2015.

KOPSELL, D. A.; KOPSELL, D. E. Selenium. In: BARKER, A. V.; PILBEAM, D. J. (Ed.). **Handbook of plant nutrition**. Boca Raton: CRC Press, 2007. p. 515–550.

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

LI, Y. et al. Environmental behaviors of selenium in soil of typical selenosis area, China. **Journal of Environmental Sciences**, Cambridge, v. 20, n. 7, p. 859–64, Dec. 2008.

LYONS, G. et al. Selenium concentration in wheat grain: Is there sufficient genotypic variation to use in breeding? **Plant and Soil**, The Hague, v. 269, n. 1/2, p. 369–380, June 2005a.

LYONS, G. H. et al. Selenium in Australia: selenium status and biofortification of wheat for better health. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, Stuttgart, v. 19, n. 1, p. 75–82, Jan. 2005b.

LYONS, G. H. et al. Selenium increases seed production in Brassica. **Plant and Soil**, The Hague, v. 318, n. 1/2, p. 73–80, Nov. 2009.

LYONS, G. H. et al. Trends in selenium status of South Australians. **The Medical Journal of Australia**, Sydney, v. 180, n. 8, p. 383–386, Apr. 2004.

LYONS, G. Selenium in cereals: improving the efficiency of agronomic biofortification in the UK. **Plant and Soil**, The Hague, v. 332, n. 1/2, p. 1–4, Jan. 2010.

LYONS, G.; STANGOULIS, J.; GRAHAM, R. High-selenium wheat: biofortification for better health. **Nutrition Research Reviews**, Cambridge, v. 16, n. 1, p. 45–60, June 2003.

MAIHARA, V. A. et al. Daily dietary selenium intake of selected Brazilian

population groups. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, Netherlands, v. 259, n. 3, p. 465–468, July 2004.

MARTINEZ, R. A. S. **Biofortificação agrônômica da soja com selênio**. 2013. 114 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2013.

MARTINS, M. et al. Brazil nuts: determination of natural elements and aflatoxin. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 42, n. 1, p. 157–164, mar. 2012.

MORI, S. A.; PRANCE, G. T. Taxonomy, ecology, and economy botany of Brazil nut (*Bertholletia excelsa* Humb. e Bonpl.: Lecythidaceae). **Advances in Economic Botany**, Devon, v. 8, n. 1, p. 130–150, Feb. 1990.

NAVARRO-ALARCÓN, M.; LÓPEZ-MARTÍNEZ, M. C. Essentiality of selenium in the human body: relationship with different diseases. **Science of the Total Environment**, Cambridge, v. 249, n. 1/3, p. 347–371, Apr. 2000.

PACHECO, A. M.; SCUSSEL, V. M. Selenium and aflatoxin levels in raw Brazil nuts from the amazon basin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 55, n. 26, p. 11087–11092, Dec. 2007.

PAREKH, P. P. et al. Concentrations of selenium, barium, and radium in Brazil nuts. **Journal of Food Composition and Analysis**, Washington, v. 21, n. 4, p. 332–335, Dec. 2008.

PEDRERO, Z.; MADRID, Y. Novel approaches for selenium speciation in foodstuffs and biological specimens: a review. **Analytica Chimica Acta**, Cambridge, v. 634, n. 2, p. 135–152, Dec. 2009.

PERES, C. A.; BAIDER, C. Seed dispersal, spatial distribution, and population structure of brazil nut trees (*Bertholletia excelsa*) in southeastern Amazonia. **Journal of Tropical Ecology**, Cambridge, v. 13, n. 1, p. 595–616, June 1997.

PILON-SMITS, E. A. H. et al. Physiological functions of beneficial elements. **Current Opinion in Plant Biology**, Cambridge, v. 12, n. 3, p.

267–274, May 2009.

PILON-SMITS, E. A. H.; QUINN, C. F. Selenium metabolism in plants. **Cell Biology of Metals and Nutrients**, Berlin, v. 17, n. 1, p. 225–241, Feb. 2010.

RAMOS, S. J. et al. Selenium accumulation in lettuce germplasm. **Planta**, Berlin, v. 233, n. 4, p. 649–660, Dec. 2011.

RAMOS, S. J. et al. Selenium biofortification and antioxidant activity in lettuce plants fed with selenate and selenite. **Plant, Soil and Environment**, Slezská, v. 2010, n. 12, p. 584–588, May 2010.

RAYMAN, M. P. Food-chain selenium and human health: emphasis on intake. **The British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 100, n. 2, p. 254–268, Mar. 2008.

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

RAYMAN, M. P. Selenium in cancer prevention: a review of the evidence and mechanism of action. **Proceedings of the Nutrition Society**, Cambridge, v. 64, n. 4, p. 527–542, Nov. 2005.

RAYMAN, M. P. Selenoproteins and human health: Insights from epidemiological data. **Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects**, Cambridge, v. 1790, n. 11, p. 1533–1540, Mar. 2009.

RODRIGUEZ, M. J.; RIVERO, V.; BALLESTA, R. Selenium distribution in topsoils and plants of a semi-arid Mediterranean environment. **Environmental Geochemistry and Health**, Netherlands, v. 27, n. 5/6, p. 513–519, June 2005.

SCOLES, R.; GRIBEL, R. Population structure of Brazil nut (*Bertholletia excelsa*, Lecythydaceae) stands in two areas with different occupation histories in the Brazilian Amazon. **Human Ecology**, Philadelphia, v. 39, n. 1, p. 455–464, June 2011.

SECOR, C. L.; LISK, D. J. Variation in the selenium content of individual Brazil nuts. **Journal of Food Safety**, Malden, v. 9, n. 1, p. 279–281, Apr. 1989.

SHALTOU, A. A. et al. Method development and optimization for the determination of selenium in bean and soil samples using hydride generation electrothermal atomic absorption spectrometry. **Talanta**, Cambridge, v. 85, n. 1, p. 1350–1356, June 2011.

SHEPARD, G. H. J.; RAMIREZ, H. E. R. “Made in Brazil”: human dispersal of the Brazil Nut (*Bertholletia excelsa*, Lecythidaceae) in ancient Amazonia. **Economic Botany**, Devon, v. 65, n. 1, p. 44–65, Feb. 2011.

SILVA, E. G. da; MATAVELI, L. R. V.; ARRUDA, M. A. Z. Speciation analysis of selenium in plankton, Brazil nut and human urine samples by HPLC-ICP-MS. **Talanta**, Cambridge, v. 110, n. 15, p. 53–57, Feb. 2013.

SOUZA, C. R. de et al. **Castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa* Humb. & Bonpl.) documentos (Embrapa Amazônia Ocidental)** Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2008. 22 p. (Documentos, 60).

SUJIL, P. S. et al. Genetic structure of *Bertholletia excelsa* populations from the Amazon at different spatial scales. **Conservation Genetics**, Netherlands, v. 16, n. 4, p. 955–964, Aug. 2015.

SUPRIATIN, S.; WENG, L.; COMANS, R. N. J. Selenium speciation and extractability in Dutch agricultural soils. **Science of the Total Environment**, Cambridge, v. 532, n. 1, p. 368–382, June 2015.

TERRY, N. et al. Selenium in Higher plants. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Davis, v. 51, n. 1, p. 401–432, June 2000.

THOMSON, C. D. et al. Brazil nuts: an effective way to improve selenium status. **The American Journal of Clinical Nutrition**, Rockville, v. 87, n. 2, p. 379–384, Sept. 2008.

TOŠIĆ, S. B. et al. Elemental composition of edible nuts: fast optimization and validation procedure of an ICP-OES method. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 95, n. 11, p. 2271-2278, Nov. 2014.

WADT, L. H. de O. et al. Population structure and nut yield of a *Bertholletia excelsa* stand in Southwestern Amazonia. **Forest Ecology and Management**, Cambridge, v. 211, n. 3, p. 371–384, Jun. 2005.

WADT, L. H. de O.; KAINER, K. A. Domestication and breeding of the Brazil nut tree. In: BORÉM, A. et al. (Ed.). **Domestication and breeding: Amazonian species**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2012. p. 297–317.

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

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

WHITE, P. J. Selenium accumulation by plants. **Annals of Botany**, Oxford, v. 117, n. 2, p. 217–235, Dec. 2015.

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**, London, v. 182, n. 1, p. 49–84, Jan. 2009.

WHITE, P. J.; BROADLEY, M. R. Biofortifying crops with essential mineral elements. **Trends in Plant Science**, Cambridge, v. 10, n. 12, p. 586–593, Nov. 2005.

WINKEL, L. H. E. et al. Environmental selenium research: From microscopic processes to global understanding. **Environmental Science and Technology**, Washington, v. 46, n. 2, p. 571–579, Jan. 2012.

ZENG, H. Selenium as an essential micronutrient: roles in cell cycle and apoptosis. **Molecules**, Sydney, v. 14, n. 3, p. 1263–1278, Mar. 2009.

ZHAO, F. J. et al. Variation in mineral micronutrient concentrations in grain of wheat lines of diverse origin. **Journal of Cereal Science**, London, v. 49, n. 2, p. 290–295, Mar. 2009.

ZHU, Y.-G. et al. Selenium in higher plants: understanding mechanisms for biofortification and phytoremediation. **Trends in Plant Science**, Cambridge, v. 14, n. 8, p. 436–442, Aug. 2009.

SEGUNDA PARTE - ARTIGO**NATURAL VARIATION OF SELENIUM IN BRAZIL NUTS AND SOILS FROM THE AMAZON REGION**

(Artigo previamente submetido para a revista Journal of Agricultural and Food Chemistry – Versão preliminar)

Ediu Carlos da Silva Júnior,¹ Lúcia Helena de Oliveira Wadt,² Kátia Emídio da Silva,³ Roberval Monteiro Bezerra de Lima,³ Karine Dias Batista,⁴ Marcelino Carneiro Guedes,⁵ Geila Santos Carvalho,¹ Teotonio Soares de Carvalho,¹ André Rodrigues dos Reis,⁶ Guilherme Lopes,¹ and Luiz Roberto Guimarães Guilherme¹.

¹Departamento de Ciência do Solo, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras, MG, 37200-000, Brazil.

²Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa Rondônia), Brazil.

³Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa Amazônia Ocidental), Brazil.

⁴Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa Roraima), Brazil.

⁵Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa Amapá), Brazil.

⁶Engenharia de Biosistemas, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Tupã, SP, Brazil.

ABSTRACT

The Brazil nut tree (*Bertholletia excelsa*) is native of the Amazon rainforest. Brazil nuts are consumed worldwide and are known as the richest food source of selenium (Se). Yet, the reasoning for such Se contents is not well established. We evaluated genotypic variation on Se contents of Brazil nuts grown in different areas of the Brazilian Amazon, as well as soil Se contents in order to investigate if soil-Se is a major factor driving Se contents in nuts. Soil Se content ($\mu\text{g kg}^{-1}$) varied from < 65.8 to 1372.8 (average 283.0), whereas Se in nuts (mg kg^{-1}) ranged from < 0.55 to 362.29 (average 37.89). Regression models and principal component analysis suggested that total soil Se concentration by itself is not the main factor controlling Se concentration in Brazil nuts. However, by combining soil total Se concentration with other soil variables which may control Se availability in the soil, such as soil pH, we found a strong relationship between soil chemical properties and Se content in the nuts. These results indicate that Se availability, rather than its total content, is the major factor controlling Se accumulation in Brazil nuts. Our results have important implications on human nutrition because, depending on its origin, a single Brazil nut could provide from 12% (in the Acre state) up to 352% (in the Amazonas state) of the daily Se requirement for an adult man ($70 \mu\text{g}$).

KEYWORDS: selenium, *Bertholletia excelsa*, genotypic variation, Amazon rainforest, nutrition, bioavailability.

1 INTRODUCTION

The Brazil nut tree (*Bertholletia excelsa*) is native to South America and grows in upland and well-drained areas throughout the Brazilian Amazon rainforest, as well as in adjacent areas of Bolivia, Peru, Colombia, Venezuela, and Guyana (SHEPARD; RAMIREZ, 2011). It is considered a non-timber product of great economic importance for the entire Amazon region, and it is an important source of income for traditional communities. Brazil nut trees are commonly found in some regions in stands known as "castanhal", which are aggregations composed by 50 to 100 individuals, with 9-26 adult trees per hectare (MORI; PRANCE, 1990; SCOLES; GRIBEL, 2011). However there is evidence that in the southwestern region of the Amazon, studies report that plants are distributed more randomly (ZUIDEMA; BOOT, 2002; WADT; KAINER, 2005).

Brazil nuts are consumed worldwide and are considered the richest known food source of selenium (Se), with Se concentrations up to 512 mg Se kg⁻¹ being reported in the literature (CHANG et al., 1995; DUMONT et al., 2006). Based on its average chemical composition, one Brazil nut (~5 g) contains 0.75 g of protein, 0.45 g of carbohydrates, and 3.53 g of lipids, for a total of 36.7 kcal and 290.5 µg of Se (STOCKLER-PINTO et al., 2015a).

Selenium is an essential nutrient for human and animals and shows a fundamental importance to human biology. This has become increasingly obvious as new surveys have shown its undoubted role in human health (RAYMAN, 2012). As a constituent of 25 selenoproteins, it plays key roles in the immune system, reduce viral infections, and it is essential for fertility and reproduction, acting in the metabolism of thyroid hormone, protecting against cardiovascular disease, and possible oxidative stress or inflammatory conditions in human body as well (RAYMAN, 2012).

The importance of Brazil nuts as a Se source in human health has been shown in several studies that emphasized its role as an anti-inflammatory and antioxidant agent in HD (Hemodialysis) patients,

improving glutathione peroxidase (GPx) activity and thyroid hormone profile (STOCKLER-PINTO et al., 2014; STOCKLER-PINTO et al., 2015b).

Also, the use of partially defatted Brazil nuts flour ($200 \mu\text{g Se day}^{-1}$) contributed to the reduction of total cholesterol in blood serum and non-HDL cholesterol levels in patients with dyslipidemia and hypertension, without changing the thyroid hormone concentration (CARVALHO et al., 2015). Likewise, obese people who implement daily consumption of Brazil nuts can improve both Se status and lipid profile, especially high-density lipoprotein cholesterol levels, thereby reducing cardiovascular disease risks (COMINETTI et al., 2012).

Additionally, the intake of the selenoprotein glutathione peroxidase (GPx) and selenoprotein P (SePP) has shown potential in reducing Mild Cognitive Impairment (MCI) and Alzheimer's disease (AD) in response to Brazil nuts dietary supplementation (CARDOSO et al., 2015; CARDOSO et al., 2016). The higher increase of Se in whole blood after Brazil nut consumption suggests that Se from this nut may be more bioavailable than other forms of Se supplementation (STOCKLER-PINTO et al., 2015b).

The current daily recommendation for Se has been established as $70 \mu\text{g day}^{-1}$ for adult men and $60 \mu\text{g day}^{-1}$ for adult women, while the suggested upper safe limit of Se intake is set at $400 \mu\text{g day}^{-1}$. The upper limit is defined as the highest level of daily nutrient intake that is likely to not put at risk of adverse health effects to almost all individuals in the general population (KIPP et al., 2015; INSTITUTE OF MEDICINE, 2000).

On the other hand, at very low levels of Se intake (where the usual intake for adults is $< 20 \mu\text{g Se day}^{-1}$) clinical deficiency disorders have been reported, including Keshan disease (cardiomyopathy), and the Kashin-Beck disease (osteoarthropathy) (CHILIMBA et al., 2011). An acceptable threshold for Se toxicity must be $850\text{-}900 \mu\text{g day}^{-1}$, and excessive Se intake could result in adverse health problems, including symptoms such as loss of

hair and nails, skin lesions, disorders of the nervous system and even paralysis and death (BAJAJ et al., 2011; LEMIRE et al., 2012).

There is a wide variability on Se content in Brazil nuts. This variation is probably due to available Se in soils and also related to the capacity of plants to accumulate Se in nuts. These variations have been reported in previous studies, yet the authors did not investigate their causes (CHANG et al., 1995; DUMONT et al., 2006; PAREKH et al., 2008; LEMIRE et al., 2012).

This study aimed to evaluate the Se content in Brazil nuts harvested in different areas of the Brazilian Amazon region. In order to investigate whether or not soil-Se is a major factor driving Se contents in the nuts, i.e., if there is a direct relation of soil-Se with Se accumulation in nuts, we evaluated not only different trees growing in different Amazon regions, but also clones cultivated within a farm, comparing Se contents in nuts collected in different trees/clones with their respective soil Se concentrations. With that, we hope not only to provide improved information on the role of Brazil nuts as a source of dietary Se to humans, but also to better understand the mechanisms underlying the natural variation of Se in Brazil nuts from different Amazon regions.

2 MATERIAL AND METHODS

2.1 Sampling sites and characterization of the study area

Soil and fruits samples of Brazil nuts were collected in different areas from 5 sites belonging to the Amazon Biome inside the states of Acre, Mato Grosso, Amazonas, Roraima and Amapá.

In the states of Acre, Roraima and Amapá we collected samples from 15 Brazil nut trees in each site. In the state of Mato Grosso we collected samples of 13 Brazil nut trees and in the state of Amazonas we collected samples of 17 Brazil nut trees. All the samples were collected in native Amazon rainforest, except in the state of Amazonas, where samples were

collected from a Brazil nut plantation.

In the state of Amazonas, the samples were collected in the Aruanã Farm in the municipality of Itacoatiara, whose plantation was established in 1983, this plantation presents plants originated from clones obtained from Embrapa Amazônia Oriental and were previously submitted to grafting to reduce the period in which the plants become able to produce. In addition, they had technical support, i.e. they were subjected to thinning, cleaning the planting area and all the necessary management practices until they reach the age of production, as well as the maintenance of these plants during the harvest, which differs from the conditions found for other native plants from the Amazon rainforest. From the 17 samples collected, a total of 12 plants were from a group of clones, being 3 plants originated from each of the 4 clones catalogued by the Aruanã Farm: Aruanã, 606, Manoel Pedro and Santa Fé. The clones Santa Fé, Manoel Pedro and 606 are originated from the municipality of Alenquer, state of Pará and they are available in the germplasm bank of Embrapa Amazônia Oriental, Belém-PA. There is no information about the origin of the clone Aruanã. Thus, for the samples obtained from the clones, we analyzed the data and performed a mean comparison test to understand the eventual differences in behavior with respect to the Se accumulation in Brazil nuts from each clone evaluated.

All the material was collected during the same season of harvest in 2014 and 2015, from January to February, except for Brazil nut samples from Roraima, where fruits are produced between March and July. Information concerning geographic coordinates, sampling points and climatic conditions is provided in Figure 1 and Table 1.

Soil and samples were collected under the canopy of each Brazil nut tree at the depths of 0-20, 20-40, and 40-60 cm in a distance of 3 m from the Brazil nut trunk. The soil samples were collected in 4 points and mixed to compose a single sample for each depth. In addition to the soil samples taken in the surrounding of the plants, we also sampled soil in a reference area (control) outside the influence of the tree, to evaluate the effect of eventual

influence of the plants in the analytical results for soil. These control samples were collected at 5 points, within the same topography and drainage conditions in a native forest area, and pooled in order to form a composite sample of each layer (0-20, 20-40, and 40-60) (Figure 3).

Brazil nuts were harvested in the same plants selected at each site under the canopy, where we collected 10 fruits per tree. The method for sampling is represented schematically according to the figure 2. These fruits were opened and the nuts were mixed in a plastic bag, from which we have taken randomly 50 nuts to be sent to the laboratory for chemical analysis of Se.

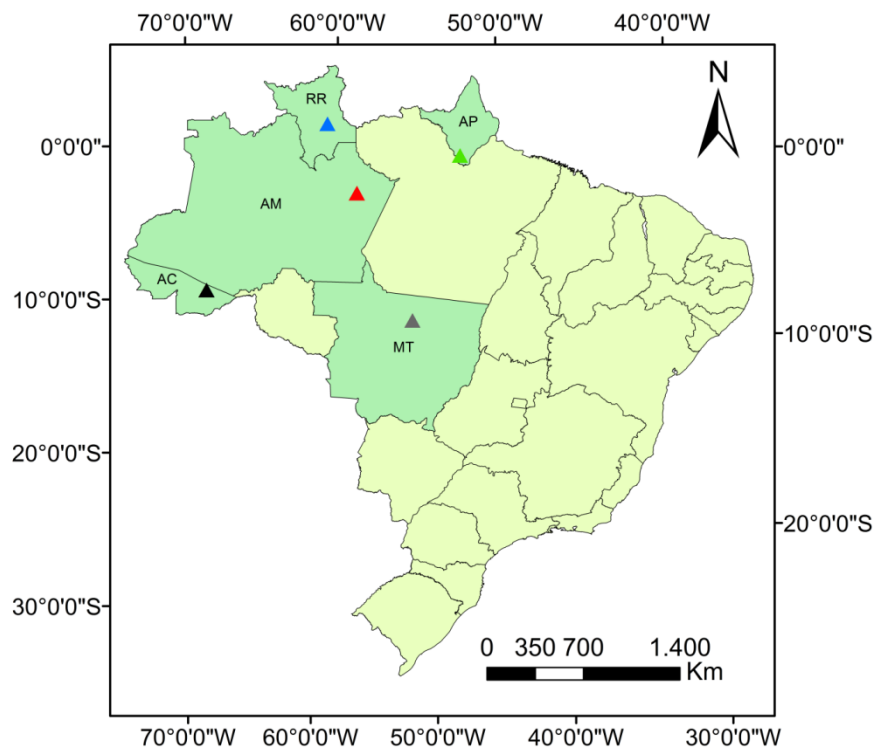


Figure 1 Location of sampling areas in 5 different regions of the Amazon rainforest: AC (state of Acre), MT (state of Mato Grosso), AM (state of Amazonas), AP (state of Amapá), and RR (state of Roraima)

Table 1 Detailed information of the sampling sites of Brazil nuts and soil samples collection in the Amazon region

Municipality/State	Geographic Coordinates		Altitude (m)	Climate: Köppen class.
Sena	9°25'54.59"S	68°35'42.98"W	232	Am
Madureira/AC				
Itaúba/MT	11°06'00.32"S	55°02'06.78"W	387	Am
Itacoatiara/AM	3°01'05.59"S	58°49'55.60"W	92	Af
Laranjal do Jari/AP	0°33'50.61"S	52°18'23.43"W	135	Am
Caracaraí/RR	1°28'10.09"N	60°44'16.96"W	107	Am



Figure 2 Scheme for sampling the reference composition sample (Control).

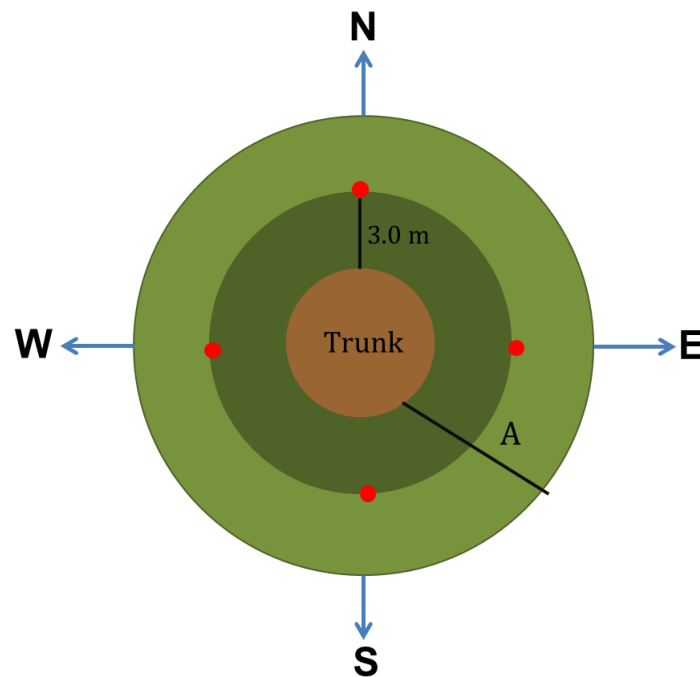


Figure 3 Sampling scheme: soil samples were collected in the 4 red points at the 0-20, 20-40 and 40-60 cm depth in a distance of 3 m from the trunk. Brazil nut samples were collected under the canopy (A)

2.2 Soil samples characterization

Soil samples were taken to the Soil Science Department of the Federal University of Lavras in the state of Minas Gerais, and then were grinded, sieved and dried at room temperature. Immediately after preparation, the dried samples were taken to carry out the routine chemical and physical (particle size) analysis. The pH values were determined potentiometrically in water (H_2O) and KCl (1 M) in the ratio 1:2.5 soil/solution. The exchangeable cations (Ca, Mg and Al^{3+}) were obtained by KCl extractor 1 mol/L. S (sulphur) was extracted by monocalcium phosphate with acetic acid. The elements P, Na, K and micronutrients (Fe, Zn, Mn and Cu) available were obtained by Mehlich 1. Potential acidity ($\text{H} + \text{Al}$) was estimated indirectly through SMP pH. Exchangeable aluminum (Al^{3+}) was determined by titration with ammonium hydroxide (0.025 M NaOH). The phosphorus (P) was determined colorimetrically, potassium (K) by flame

emission photometry and sulfur (S) by turbidimetry. Ca and Mg as well as micronutrients (Zn, Fe, Mn and Cu) were determined by atomic absorption spectrometry (AAS) (RAIJ; QUAGGIO, 1983).

With the results of the chemical analyzes were calculated sum of bases (SB), the cation exchange capacity at pH 7 (T), effective cation exchange capacity (t), the Base saturations (V) and aluminum saturation (m). The particle size analysis (clay, silt and sand) was done by “Bouyoucos” method, based on settling velocity of different particles of the soil, according to the methodology described by Embrapa (EMBRAPA, 1997).

2.3 Selenium determination in Brazil nuts

The nuts collected were dried at 60°C until constant weight (about 72 hours). Initial and final weights were recorded for all samples. After peeling, the average weight of 3 nuts was calculated in order to obtain the individual Se content of nuts and subsequently they were ground with an electric hand mill. After grinding, 0.5 g of each sample was taken in triplicate for digestion, using an adaptation of the methodology described by Malavolta et al. (1997) used for extraction of macronutrients and micronutrients in plants. Digestion was performed using 6 mL of a mixture (2:1 v/v) composed by nitric acid (HNO₃) ≥ 65% and perchloric acid (HClO₄) 69.72%. The extract was allowed to stand overnight at room temperature and the digestion was performed next morning, taking an average period of time between 12 and 16 h. In order to digest the samples, we used metal digestion blocks, with an initial temperature of 50°C, which was gradually increased by 50°C each 30 min until completing 2 h of digestion (final temperature of 200°C). Following the digestion process, the extract was kept for 15 minutes at room temperature to cool down, and then 10 mL of deionized water were added to each extract. The final volume was then poured into 30-mL vials, following storage at 5°C until analysis.

A sample of standard reference material – SRM (White Clover - BCR 402, Institute for Reference Materials and Measurements (IRMM),

Geel, Belgium), with known and certified Se content (6.70 mg kg^{-1}) was included in each digestion batch for quality control purposes, along with a blank sample that was used to calculate the limits of detection and quantification. The mean recovery for Se in the SRM (White Clover) was 97.53% ($n = 7$, $SE = 6.27$), which revealed a reliable analytical data accuracy for Se analysis in Brazil nuts.

2.4 Selenium determination in soils

Total soil Se concentration was extracted with *aqua regia* using approximately 5 g of soil ($< 2 \text{ mm}$), which was previously homogenized and grinded with a mortar and agate pestle and passed through a 100-mesh nylon sieve ($< 150 \text{ }\mu\text{m}$) to perform the 3051A digestion method described by the United States Environmental Protection Agency – USEPA (1998). For the sample digestion procedure, we weighed approximately 500 mg of soil sample in triplicate, which was later digested with 5 mL of *aqua regia* (a mixture composed by $\text{HNO}_3 \geq 65\%$ and $\text{HCl } 37\%$ (1:3 v/v) in PTFE Teflon® tubes (CEM Corporation, Matthews, NC, USA). The extract was allowed to stand overnight at room temperature and digestion was performed in the next morning. For that, the vials were hermetically sealed and taken to a microwave (CEM brand, model Mars-5), with a temperature set at 175°C and at a controlled pressure of 0.76 MPa for 25 minutes. After digestion, extracts were cooled down at room temperature and then filtered on a filter paper. Then, the final volume of the extract was supplemented with additional 5 mL of deionized water at the time of filtration. After filtration, the extracts were transferred into smaller vials (30 mL) following storage at 5°C until analysis.

Each digestion batch included a SRM from the National Institute of Standards and Technology (NIST 2711a; Montana Soil II), which contains 2 mg Se kg^{-1} . We also used a blank sample in each batch for quality control purposes and for calculating limits of detection and quantification. The average recovery for Se in the standard reference material was 75.32% ($n =$

37, SE = 2.08), showing a reliable analytical accuracy of data for Se analysis in the soil samples.

2.5 Analytical determination of selenium

An AAnalyst™ 800 Atomic Absorption Spectrometer (Perkin Elmer) equipped with Zeeman background correction and EDL lamp for Se was used for the GFAAS (Atomic Absorption Spectrometry with electrothermal atomization using graphite furnace) measurements of selenium in the digested Brazil nuts and soil samples. A standard stock solution containing 1000 mg Se kg⁻¹ (Fluka, Germany) was used to prepare the calibration curve for Se determination via GFAAS. Data for total Se concentration in Brazil nuts and soils were reported on a dry weight basis (DW) and expressed in mg kg⁻¹ for Se in Brazil nuts and µg kg⁻¹ for Se in soil samples.

2.6 Calculation of detection and quantification Limits

The detection and quantification limits (LOD and LOQ) were established using 10 blank extracts following the overall procedure. The values were calculated with three and ten times the standard deviation (LOD and LOQ, respectively) of the 10 individually prepared blank solutions for soil and Brazil nut samples (KHAN et al., 2013). For Brazil nuts analysis the LOD (µg of Se kg⁻¹ of extract) was 3.67 (LOQ of 12.23 µg kg⁻¹), whereas for soil analysis the LOD (µg of Se kg⁻¹ of extract) was 2.05 (LOQ of 6.84 µg kg⁻¹). The LODs of the analytical methods used for Brazil nuts and soil samples (µg Se kg⁻¹ sample DW) were 550.17 and 65.76, respectively.

2.7 Statistical analysis

The data obtained for clones from Aruanã farm (Aruanã, Manoel Pedro, 606 and Santa Fé) were subjected to analysis of variance, with the quantitative means submitted to the Scott-Knott test ($p \leq 0.05$). The relationship between Soil Se concentrations and Brazil nuts Se concentrations was determined using linear regression analysis. We also

used a principal components analysis (PCA) as a multivariate exploratory technique to detect the most strongly correlated variables. The PCA included total Se concentration in soil and in Brazil nuts, some physical and chemical attributes. Total Se concentration values in Brazil nuts have been log (base 10) transformed to be more normally distributed and then performed the PCA analysis. All analyses were performed using the statistical software R (R Core Team, 2015).

3 RESULTS AND DISCUSSION

3.1 Total Se concentration of Brazil nuts

The ability of Brazil nuts to accumulate Se is well recognized in several studies in the literature, which reported some of the highest Se levels ever known on any other food used for human consumption (CHANG et al., 1995; MARTINS et al., 2012; THOMSON et al., 2008).

Selenium contents in nuts from Sena Madureira (state of Acre) are mostly below 10 mg kg^{-1} , and a sensible variation among Se contents analyzed was observed. Selenium concentrations in nuts ranged between < 0.55 and 69.85 mg kg^{-1} . The average and median values (mg kg^{-1}) were 7.54 and 2.98, respectively. The values of the 1st and 3rd quartiles were 1.33 and 4.57 mg kg^{-1} respectively (Figure 4).

Similarly to what happened in state of Acre, nut samples collected in Itaúba (state of Mato Grosso) showed total Se concentrations well below values observed for other collection sites evaluated in this study. The minimum and maximum values observed in this set of samples were 0.62 and 43.72 mg kg^{-1} respectively. The average concentration among the samples from Mato Grosso was even lower than those observed in samples from Acre, i.e. only 6.79 mg kg^{-1} . The median value for this location was only 2.08 mg kg^{-1} , a value close to that obtained in Acre. The indicative values of the 1st and 3rd quartiles were 1.71 and 4.19 mg kg^{-1} respectively, indicating that the sample set from this location has a similar behavior to that

observed in Acre (Figure 4).

Nut samples harvested in Caracaraí (state of Roraima) showed greater variability among the levels of Se in nuts than that observed in the states of Acre and Mato Grosso, with concentrations ranging from 1.27 to 73.76 mg kg⁻¹ (Figure 4). Samples from Roraima showed an overall average of total Se concentration of 18.86 mg kg⁻¹ and the median was 10.34 mg kg⁻¹. Although the maximum value obtained was 73.76 mg kg⁻¹ in this sample set, the 1st and 3rd quartiles were 6.53 and 28.55 mg kg⁻¹, respectively (Figure 4).

With such values, Brazil nuts from Roraima, evaluated in the present study conditions, showed intermediate Se concentrations, when comparing the concentrations observed in all 5 states, i.e., the samples for which we have observed the lowest Se concentrations had average levels (mg kg⁻¹) of 7.54 (Acre) and 6.79 (Mato Grosso), whereas samples with high concentrations showed average levels (mg kg⁻¹) of 59.35 (Amapá) and 86.33 (Amazonas).

Samples collected in the municipality of Laranjal do Jari (state of Amapá) had Se concentrations similarly comparable to those obtained in plants from the state of Amazonas, with Se levels in Brazil nuts ranging from 11.10 to 139.84 mg kg⁻¹. Despite having considerably high concentrations in nuts, the average content for this site was only 59.35 mg kg⁻¹ and the median was 50.93 mg kg⁻¹, which was below the values obtained for nuts harvested in plants grown in the state of Amazonas. In this sampling site, we have noticed that the average Se concentration was higher than the values observed for samples from states of Acre, Mato Grosso, and Roraima, with a wide variation among Se concentrations, since the values of 1st and 3rd quartiles were 38.63 and 79.48 mg kg⁻¹ respectively (Figure 4).

A recent survey performed in Macapá city (state of Amapá) assessed the Se status in children from preschool, receiving a diet rich in Brazil nuts. The group consisted of 41 children from a public school who received 15 to 30 g of Brazil nuts 3 days a week, and was compared with another group from Belém city (state of Pará) with 41 children who did not receive the diet.

The results showed that children in Macapá had excessive Se intake, unlike those from Belém (155.30 and 44.40 $\mu\text{g day}^{-1}$ in Macapá and Belém, respectively) (MARTENS et al., 2015). The authors also stated that the intake was potentially toxic in Macapá, in those days in which Brazil nuts were added to the meal, however no clinical sign of selenose was observed. Interestingly, the diet not only of children but of the general population of the region is already rich in Se from other sources, so it is always necessary to monitor the Se status of the population, so that one can predict changes in the diet.

Regarding the Se concentrations evaluated in samples collected in the state of Amazonas, a minimum value of 4.02 mg kg^{-1} and a maximum value of 362.29 mg kg^{-1} were observed for a set of 17 samples. The mean and median values were 86.33 and 71.02 mg kg^{-1} , respectively. The values of the 1st and 3rd quartiles were 50.15 and 97.79 mg kg^{-1} , respectively (Figure 3). Thus, Brazil nuts with the highest Se levels were obtained in the state of Amazonas, where we could also notice that 4 plants among the 17, presented total Se concentration in the nuts higher than 100 mg kg^{-1} .

According to the results obtained for analysis of total Se concentration, we observed a wide variation in Brazil nuts from different regions and among plants from the same site (Figure 4). When comparing the average Se concentration in samples from Acre with those obtained in Amazonas, a difference of approximately 21-fold more Se for nuts collected in Amazonas is observed.

Our results corroborate data from a previous study conducted with Brazil nut samples collected from a given region of Acre and Rondônia (southern Amazon), whose Se contents varied from 0.03 to 31.7 mg kg^{-1} (fresh weight), as well as in a region located between Manaus-Belém (northern Amazon), whose Se contents ranged between 1.25 and 512.0 mg kg^{-1} (fresh weight) (CHANG et al., 1995). Thus, it seems that there is a well-defined distinction between Brazil nut populations in the Amazon rainforest growing in the northern and southern sites. There is also a

difference in relation to environmental and genetic factors that presumably lead to greater Se accumulation in these populations of plants located in the north (CHANG et al., 1995). Another study evaluating Se concentrations in Brazil nuts in South America reported values ranging from 5.1 mg kg⁻¹ in nuts from Bolivia to 49.9 mg kg⁻¹ in nuts from Brazil. In this study, the authors reported that the decisive factor influencing the Se concentration in nuts was simply the place and presumably the soil where these nuts were obtained (PAREKH et al., 2008).

This variation on Se concentration of Brazil nuts is well documented in the literature. There are reports showing a wide variation even in nuts individually, as an example of a research that analyzed 72 almonds obtained in a local market in USA. This set of samples showed an average Se content of 2.28 mg kg⁻¹ in a batch of 24 nuts obtained in bulk shelled, an average content of 4.44 mg kg⁻¹ in a batch of 24 nuts packed shelled, and an average content of 37.3 mg kg⁻¹ in a batch of 24 samples packed unshelled. Se content variation in this work was from 0.2 to 253 mg Se kg⁻¹ (SECOR; LISK, 1989). The authors also reported that with the maturity of the plant, the extension of the root system and also the position of the nuts in the canopy can be determining factors in relation to the vascular system of the plant and thus its efficiency in accumulating Se in different parts of the plant (SECOR; LISK, 1989).

Also, a study conducted in UK with Brazil nuts obtained in a local market reported Se values ranging from 2.3 to 53 mg kg⁻¹. Another study analyzed a batch of nut samples from Belém (state of Pará, Brazil) and observed average values for Se of 33.2 mg kg⁻¹ and a variation ranging from 24.1 to 40.5 mg kg⁻¹, suggesting that even for the analysis of homogenized samples in a single batch, the variation is still significant. Both authors did not mention in their work, sampling and analysis procedures for total Se concentration (THORN et al., 1979; FREITAS et al., 2004).

There is a lack of information regarding Se concentrations in other structures and tissues of the Brazil nut tree, but it is known in recent studies

with other species of similar behavior in terms of Se accumulation that these levels tend to be higher in young leaves of plants and generally increase to a maximum level during the seedling growth, followed by a decline before flowering, when Se is translocated from the leaves to the reproductive organs. Such explanations suggest that Se distribution in Brazil nut trees follows this rule and that Se is mostly concentrated on their reproductive organs, i.e., the edible nuts (CAPPA et al., 2014; HARRIS et al., 2014).

Regarding the ability to accumulate Se in their tissues, previous studies reporting Se concentrations specifically in Brazil nuts suggest that the plant can be classified as a Se-indicator, as within the group of angiosperms the plant can tolerate Se concentrations higher than 10-100 mg kg⁻¹ in their tissues in a dry weight basis, which would make it able to grow in seleniferous and non-seleniferous soils hypothetically (MORENO RODRIGUEZ et al., 2005; WHITE et al., 2004).

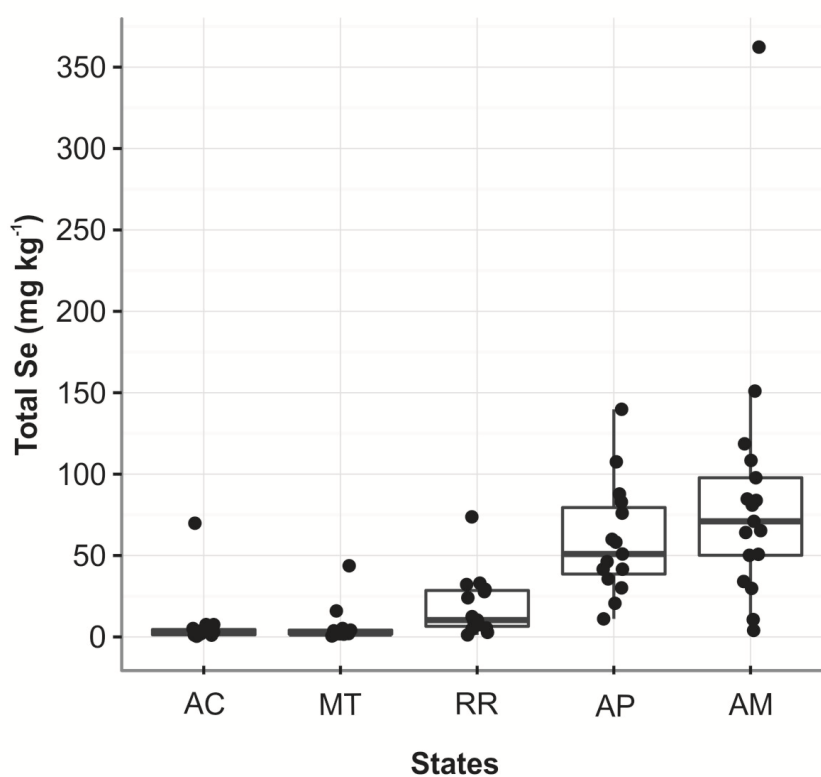


Figure 4 Total Se concentration of Brazil nuts from 5 different states in the Amazon Region: AC (state of Acre), MT (state of Mato Grosso), AM (state of Amazonas), AP (state of Amapá), and RR (state of Roraima). The central distribution line represents the median, the rectangles are bounded by 1st and 3rd quartiles and, the dots represent each observation

3.2 Total soil Se concentration

In the set of samples from the 5 states evaluated in 3 different depths (0-20, 20-40, and 40-60 cm), total soil Se content ($\mu\text{g kg}^{-1}$) ranged from < 65.76 to 737.76 (average 278.28). Only three samples ($\sim 1\%$ of the total) had total Se content lower than the detection limit ($65.76 \mu\text{g kg}^{-1}$) and 75% of the soil samples showed values lower than $361.08 \mu\text{g kg}^{-1}$.

The mean values observed in this study for soil samples from the Amazon region were slightly higher than those observed in a study recently performed in the state of São Paulo, which reported average Se concentrations of 0.093 mg kg^{-1} for superficial layers and 0.127 mg kg^{-1} for subsurface soil material representative of agricultural areas (GABOS et al., 2014).

Figure 5 illustrates the total Se concentrations of soil samples from Acre, Mato Grosso, Roraima, Amapá, and Amazonas. It is noteworthy that in a significant number of points collected in Acre (AC) Se concentration increased from the surface layer (0-20 cm) to the deeper soil layers. In fact, the deepest layer (40-60 cm) showed an average Se content 1.4-fold higher than the surface layer. This result differs significantly from those obtained in a recent study conducted in India, where researchers analyzed and mapped soils contaminated with Se, noticing that the surface layers (with an approximate depth range of 0-20 cm) showed higher levels of Se – 1.5 to 6-fold more Se – than deeper soil layers (reaching below 160 cm in the deepest layers) (DHILLON; DHILLON, 2014).

In surface layers (0-20 cm), where we could expect a higher Se concentration due to the higher organic matter content, we observed Se concentrations ($\mu\text{g kg}^{-1}$) ranging from < 65.76 to 389.74 (average 183.56).

In the middle layer (20-40 cm) we observed an increase in the Se concentration for most of the soils analyzed, with a minimum of 126.65 and a maximum of 408.12 $\mu\text{g kg}^{-1}$ (average 242.15). Finally, in the deepest layer (40-60 cm), the average Se concentration was higher than in the two upper layers, with concentrations ranging from 183.52 to 371.91 $\mu\text{g kg}^{-1}$ and an average value of 266.13 $\mu\text{g kg}^{-1}$.

For soil samples from the state of Mato Grosso, the average concentrations were lower than those observed in state of Acre, and therefore also lower than the values observed in the other sites. The distribution of total Se contents among the layers was similar to that observed in Acre, with increasing average content ($\mu\text{g kg}^{-1}$) from the surface layer to the deepest layer, as follows: 0-20 cm (173.66); < 20-40 cm (211.40); < 40-60 cm (230.05). In the topsoil (0-20 cm), total Se concentrations ranged from < 65.76 to 302.43 $\mu\text{g kg}^{-1}$. For the 20-40 cm layer, concentrations varied between 68.01 and 310.07 $\mu\text{g kg}^{-1}$ and in the 40-60 cm layer, these values oscillated between < 65.76 and 342.13 $\mu\text{g kg}^{-1}$ (Figure 5).

Soil samples from Roraima showed a high variability between and within the layers analyzed, with total Se concentrations ranging from 101.01 $\mu\text{g kg}^{-1}$ to 307.13 $\mu\text{g kg}^{-1}$ in the topsoil (0-20 cm). Total Se concentrations ranged from 86.19 $\mu\text{g kg}^{-1}$ to 452.85 $\mu\text{g kg}^{-1}$ in the 20-40 cm layer and from 70.13 to 477.58 $\mu\text{g kg}^{-1}$, for the 40-60 cm layer. Similarly to what was observed for the soil samples collected in the states of Acre and Mato Grosso, the average Se concentration ($\mu\text{g kg}^{-1}$) in soil layers followed an increasing trend from the surface layer to the deepest ones: 0-20 cm (187.93); < 20-40 cm (209.11); < 40-60 cm (226.29) (Figure 5).

Soil samples collected in Amapá had higher Se concentrations than those from Acre, Mato Grosso, and Roraima, but much lower Se concentrations than those observed in the state of Amazonas. The average values ($\mu\text{g Se kg}^{-1}$) declined from the surface layer to the deepest ones, a condition similar to that observed in the soils samples from the state of Amazonas, as follows: 0-20 cm (306.52); > 20-40 cm (272.58); > 40-60 cm

(265.10). The minimum and maximum values for the topsoil layer (0-20 cm) were 196.85 and 737.76 $\mu\text{g kg}^{-1}$, respectively. For the 20-40 cm layer, the values ranged from 212.25 to 403.79 $\mu\text{g kg}^{-1}$. For the deepest layer (40-60 cm) these values ranged between 195.77 and 394.36 $\mu\text{g kg}^{-1}$ (Figure 5).

As expected from the highest Se contents found for Brazil nuts in the state of Amazonas (Figure 3), the average soil Se concentration reported in this area were the highest. Unlike the behavior observed for samples from Acre and Mato Grosso, in Amazonas there was a clear trend of decreasing Se concentrations from the surface (0-20 cm) to the deepest soil layer (40-60 cm). A great variation in Se levels was observed in the topsoil (0-20 cm), with values ranging from 322.29 to 1372.76 $\mu\text{g kg}^{-1}$. In the 20-40 cm layer, soil Se varied from 215.69 to 551.386 $\mu\text{g kg}^{-1}$. For the 40-60 cm layer, total concentrations varied between 205.43 and 494.33 $\mu\text{g kg}^{-1}$. Likewise, the average total Se concentration ($\mu\text{g kg}^{-1}$) followed a decreasing trend: 0-20 cm (530.33); > 20-40 cm (433.30); > 40-60 cm (402.76) (Figure 5).

Data from previous studies have shown that Brazil nuts have a relatively high Se concentration and that this would lead to a relatively high level of Se ingested by the population from local communities through the typical diet (LEMIRE et al., 2010). From that information, we could expect high Se concentrations in selected soils collected in the areas evaluated in our study. However, what can be suggested from Se data of the soil samples analyzed in those sites is that such concentrations are situated, in majority, within a normal range, as the observed total contents are mostly $< 0.5 \text{ mg kg}^{-1}$ in the three layers (soil depths) analyzed (Figure 5). For the purpose of classifying soils with respect to their total Se levels, we could use the following categories: $< 0.5 \text{ mg Se kg}^{-1}$ is considered “normal”; from $> 0.5 \text{ mg kg}^{-1}$ to 2.0 mg kg^{-1} “moderately toxic” and $> 2.0 \text{ mg kg}^{-1}$ as “highly toxic” (DHILLON; DHILLON, 2014).

For comparison, a study describing a new methodology for Se determination in soil samples using HG-AAS found a value of $604 \pm 15 \mu\text{g Se kg}^{-1}$ in the surface layer (0-20 cm) of an agricultural soil from the state of

Amazonas. Using the same methodology and analyzing the same layer, the authors obtained data for total Se in other Brazilian states located in different regions. The average values in $\mu\text{g kg}^{-1} \pm \text{standard deviation}$ were as follows: Mato Grosso do Sul (113 ± 6.5); Pará (419 ± 18); Rio Grande do Sul (248 ± 11); Santa Catarina (262 ± 20); Minas Gerais (1692 ± 21); Ceará (599 ± 24); Goiás (215 ± 21) and Paraná (370 ± 12) (SHALTOUT et al., 2011).

The fact that Se contents found in some soils of Acre, Mato Grosso, and Roraima increased with soil depth is noteworthy and is a condition typically found with oxidic soils, as reported in a study performed in the state of São Paulo (GABOS et al., 2014). Under such circumstances, Se tends to be stored in the subsurface due to the attraction of selenate and selenite (anions) to positive charges of Fe/Al oxides that predominate in these soil layers. Such conditions are not found in Amazonas and Amapá, because soils from those regions are typically kaolinitic, i.e., have little or no positive charges.

Figure 6 shows soils from the reference area (control). Samples from the states of Acre and Mato Grosso had similar behavior with the points collected above the Brazil nut trees, which increased the total Se concentration from the surface (0-20 cm) to the deepest layer (40-60 cm). In the state of Roraima, the higher Se concentration was observed at 20-40 cm ($604 \mu\text{g kg}^{-1}$) which was even higher than all the samples collected above Brazil nut trees in this site. In the state of Amapá, the soil Se concentration was very similar among the layers evaluated. For samples collected in the state of Amazonas, the reference soils showed higher value for the 40-60 cm layer ($424 \mu\text{g kg}^{-1}$), and we could observe a different behavior compared to the other sites, since the lowest Se concentration was observed in the 20-40 cm layer. Comparing total soil Se concentration among the states evaluated, Amazonas presented the highest values, which was in accordance with the results showed in the points evaluated above the Brazil nut trees in these sites.

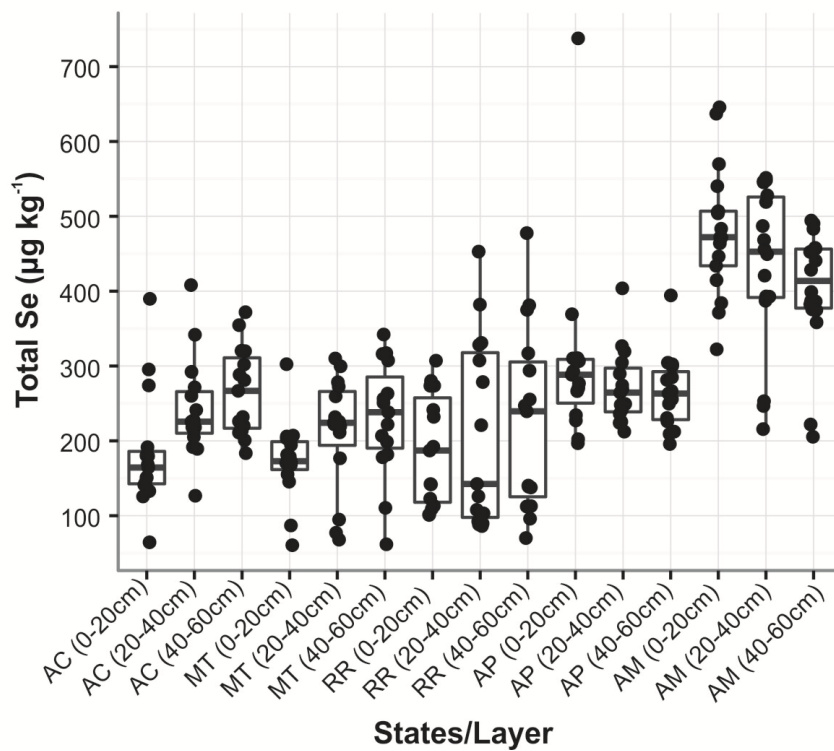


Figure 5 Total soil Se concentration in samples collected at different sites in different states of the Amazon region (AC: Acre; MT: Mato Grosso; RR: Roraima; AP: Amapá and AM: Amazonas, evaluated at different soil depths (layers). The central distribution line represents the median, the rectangles are bounded by 1st and 3rd quartiles and the dots represent each observation

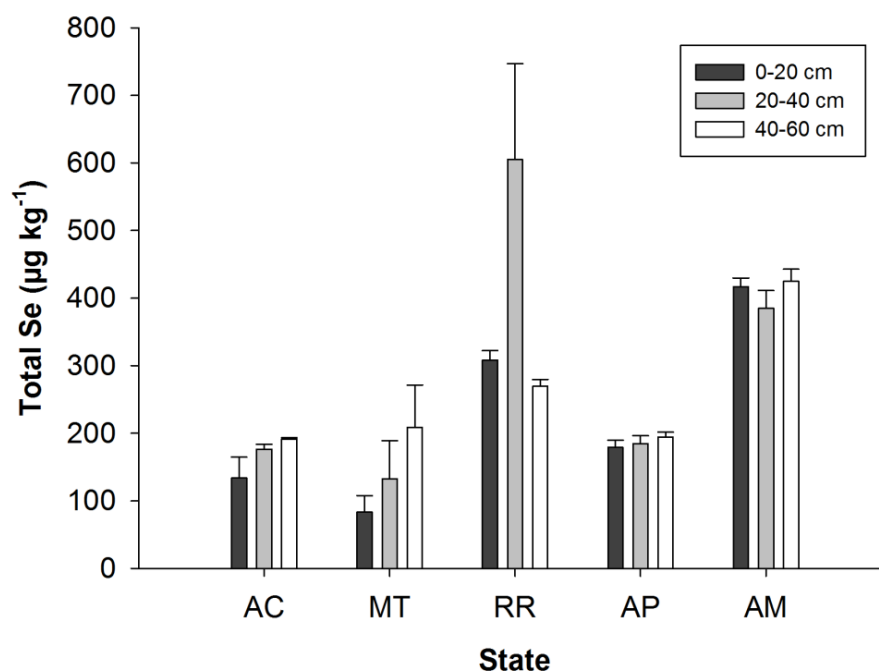


Figure 6 Total soil Se concentration in samples collected from the reference (control) area at different sites in the Amazon region (AC: Acre; MT: Mato Grosso; RR: Roraima; AP: Amapá and AM: Amazonas, evaluated at different soil layers. Error bars indicate the standard error of the mean (SEM) (n = 3)

3.3 Capacity of Brazil nuts clones grown at Aruanã farm to accumulate Se in the nuts

Figure 7 illustrates only groups of samples from cultivated clones and catalogued by the Aruanã farm. There were no differences among total Se concentrations in nuts evaluated in this group of clones. The ability to accumulate Se is presumably similar in each of the clones studied, though soil Se content can vary among the points collected, which will surely influence the amount of Se absorbed by the plants. Considering the environmental differences among each plant evaluated, which were not controlled in this site, to obtain meaningful results would require a better experimental condition to actually prove the clones' efficiency to uptake Se.

Differently from the present study, considerable variation in shoot Se concentration has been observed among angiosperms species growing in the

same environment, however, little of this variation is attributed to systematic differences between angiosperms orders and it is thought to reflect species-specific adaptations (WHITE et al., 2004; WHITE et al., 2007).

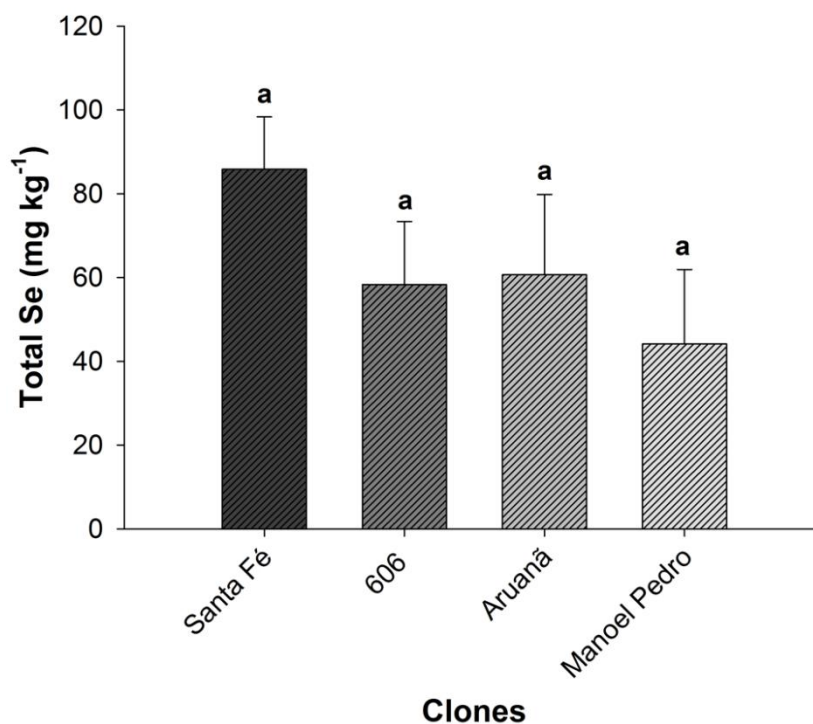


Figure 7 Total Se concentration of Brazil nuts from different clones grown in the Aruanã Farm, Itacoatiara (state of Amazonas). Error bars indicate the standard error of the mean (SEM) (n = 3). Means followed by the same letter do not differ statistically by the Scott-Knott test at 5% probability

3.4 Natural variation on Se concentration in Brazil nuts

Figure 8 shows the average weight and the values for individual levels of Se in Brazil nuts in each studied area. The nuts with higher weight were observed in Roraima, which on average was 3.43 g per almond, and also presented almonds weighing more than 4.50 g. The samples with lower average weight were obtained in Mato Grosso, i.e. ~2.14 g in each almond.

Figure 9 shows that the average weight had no significant influence on the individual Se content in the almonds, since the results showed that almonds with the highest total Se concentration (Roraima, Amapá and Amazonas) also represent the areas with the highest individual levels of Se.

The observed values for the individual levels of Se (μg per nut) is represented on average for each state as follows (Figure 9): Acre (8.62) < Mato Grosso (13.74) < Roraima (60.68) < Amapá (165.46) < Amazonas (246.61). With these values and the average weight, we can calculate the estimated dietary intake obtained by eating a single nut from the states of Amapá and Amazonas, which all exceed the recommended dietary allowance for an adult per day (60 and 70 μg for men and women respectively) (KIPP et al., 2015).

Taking as a benchmark the Se recommended daily dose of 70 μg day⁻¹ (for men) for example, it is possible to compare the average values obtained for the individual levels of Se in the Brazil nuts from the different states, and predict how much Se is provided on average (percentage) by eating a single nut from the states of Acre (12%), Mato Grosso (20%), Roraima (87%), Amapá (236%) and Amazonas (352%).

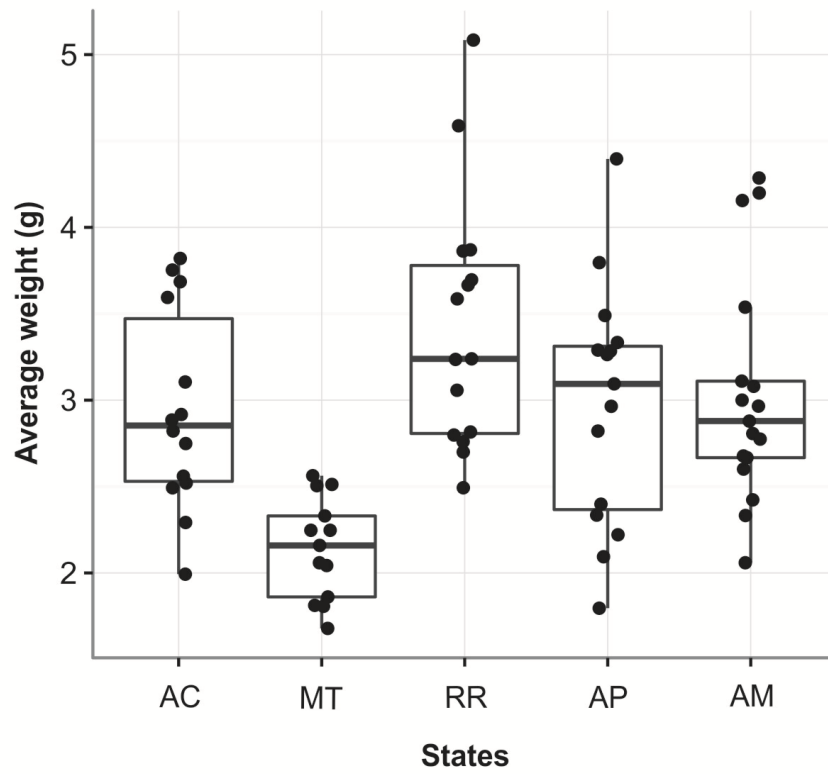


Figure 8 Average weight of individual Brazil nuts from different locations in the Amazon region (AC: Acre; MT: Mato Grosso; RR: Roraima; AP: Amapá and AM: Amazonas). The central distribution line represents the median, the rectangles are bounded by 1st and 3rd quartiles and the dots represent each observation

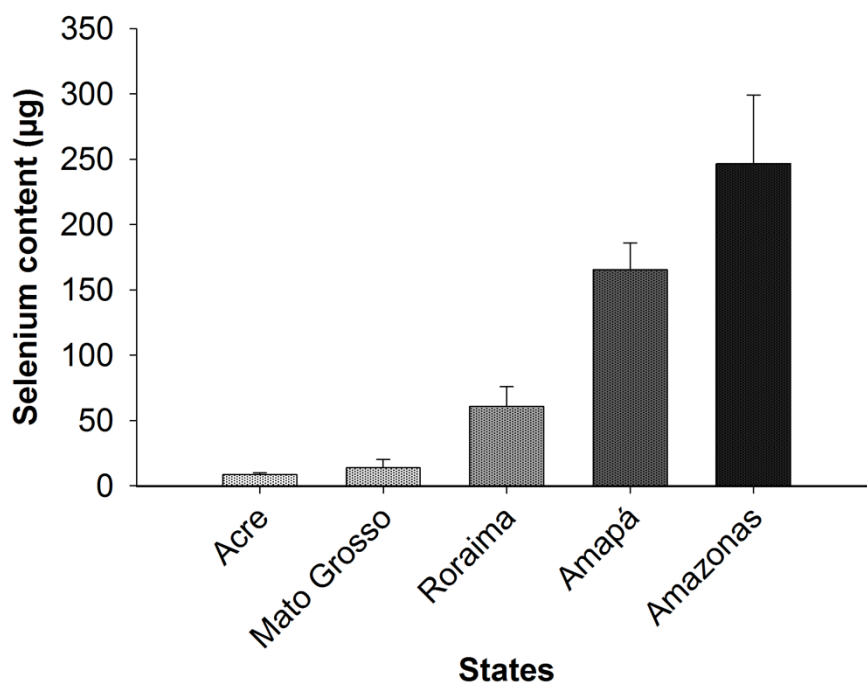


Figure 9 Se content of individual Brazil nuts from different locations in the Amazon region. The error bars indicate the standard error of the mean (SEM). Values were obtained by multiplying the average weight of nuts (g) \times total Se concentration ($\mu\text{g g}^{-1}$)

The high Se content showed by Brazil nuts sampled in most areas of this study call the attention for the use of Brazil nuts as a food source of Se. In the diet it can represent an effective way to increase the Se status for people who have deficiency of this element. Besides being a rich source of Se, its consumption has advantages over the use of supplements and fortified foods, because it is sustainable, has lower cost and offers lower risk of poisoning.

The overall recommendation would be only one nut a day in the diet to meet the nutritional needs, being effective to increase the Se status and lead to an improvement of glutathione peroxidase (GPx) activity (CARDOSO et al., 2015b). Yet, Brazil nut recommendations should be made with caution, since barium and radium contents also present in the nuts, are

uncertain and may be toxic depending on the amount ingested (THOMSON et al., 2008).

Regarding the risk of toxicity involving Se in Brazil nuts, additional comments should be made considering the Se levels observed in this study. For logical reasons it is unlikely that eating Brazil nuts moderately can lead to the emergence of symptoms of selenosis. Although the consumption of nuts by local communities can be considered high during the period in which Brazil nuts are produced (November to March), we should consider that during most part of the year, consumption is reduced, since the remaining nuts consumed cease right after the period of production, which would lead the population to seek other additives to their food. In addition to this fact, the long-term storage of nuts should lead to the loss of their sensory properties, which would lead to deterioration and loss of quality, making a practice rarely used by small producers, who prefer to sell their products immediately after harvesting the Brazil nuts.

Moreover, Se toxicity in humans has been rarely observed in the region, since the consumption of Brazil nuts does not remain for a long-term, with cases of intoxication being reported only in areas of the world where intake levels of Se are highly elevated. Symptoms of toxicity observed in humans include increased fragility of nails or hair, skin rashes, irritability, nausea or vomiting. These side effects were observed in about 10% of Chinese people consuming $> 1000 \mu\text{g Se day}^{-1}$ (CHUNHIENG et al., 2004).

Genetic structure of the Brazil nuts population was studied in five regions of the Amazon, and its results highlight the genetic differences between populations. Some researchers studied populations in the states of Acre, Amazonas, Roraima, Pará, and Amapá observing that the group of plants located in the state of Acre was significantly distant genetically from others, and groups located in the states of Amazonas and Pará were closely related. They emphasized the fact that populations from Acre differ strongly from other regions, and it would probably be due to the long distance from other populations as well as different climatic conditions observed in the

south of the Amazon region (SUJII et al., 2015). These observations support the results of the present study, which showed Brazil nuts produced in Acre along with Mato Grosso – both located in southern Amazon region – having total Se content lower than the other Brazil nut populations located in northern Amazon.

In theory those populations in the Amazon basin have recently been subdivided by human activities, which suggests the hypothesis made by some authors who consider the role of pre-Columbian Indians important in the distribution of Brazil nuts trees throughout the Amazon. It is possible that the time of divergence for the differentiation among nearby populations have been insufficient, since their results suggest that the local differentiation process is still ongoing and may include demographic and adaptation processes in these populations (CLEMENT et al., 2010; SHEPARD; RAMIREZ, 2011; SUJII et al., 2015).

As noted by the set of information evaluated in this study, the variability among Se levels of Brazil nuts suggests a reasonable genetic variation among those populations in the studied sites. The differences in the nuts shape, size, weight, and quantity of nuts inside each fruit and even the format of these fruits were outstanding at the time of the surveys carried out in those areas. The same descriptions were mentioned in a recent research that observed morphological and phenological differences in Brazil nuts from different regions of the Amazon basin (WADT et al., 2005; VIEIRA et al., 2008; SUJII et al., 2015).

3.5 Regression models and Principal Component Analysis (PCA)

Figure 10 illustrates regression models between Se concentrations in Brazil nuts and total soil Se content in the layers 0-20 cm, 20-40 cm and 40-60 cm. Considering the soil layers individually, the association between Se concentration in soil and nuts was weak ($R^2= 28.3$) in the surface layer (0-20 cm). In the 20-40 cm ($R^2= 19$) and 40-60 cm ($R^2= 9.2$) layers, these values were even lower. However, it is important to mention that in the surface

layer (0-20 cm) the regression data shows that expressive part of this variation in the Se concentration in Brazil nuts is explained by the total soil Se concentration. These results suggest that total soil Se concentration is not the main factor influencing Se concentrations in Brazil nuts and has little predictive power in determining Se concentration in Brazil nuts.

Overall there is a positive linear correlation between Se in plant tissues and the Se content in soil, and can even be assumed that all plants grown in seleniferous soils or Se contaminated should contain much more Se than those grown in soils with low Se content. But the complex impact and influence of a multitude of factors that affect the Se uptake in plants can significantly change the relationship of Se in the soil-plant-atmosphere system (KABATA-PENDIAS, 2011).

In loamy soils from Belgian agricultural soils, weak correlations were found between soil Se concentration and selenium concentration in wheat and potato. On the other hand, the uptake of Se increased with increasing pH (DE TEMMERMAN et al., 2014). Such results differ from those reported in a study performed in agricultural soils from China, where Se concentrations in corn tissues were significantly correlated with organic matter-bound Se in upland soil (WANG et al., 2012). Another study performed in China, assessing Se pollution in agricultural soils, found positive correlation between total soil Se content and rice grain selenium content ($r = 0.915$, $p < 0.001$) (HUANG et al., 2009).

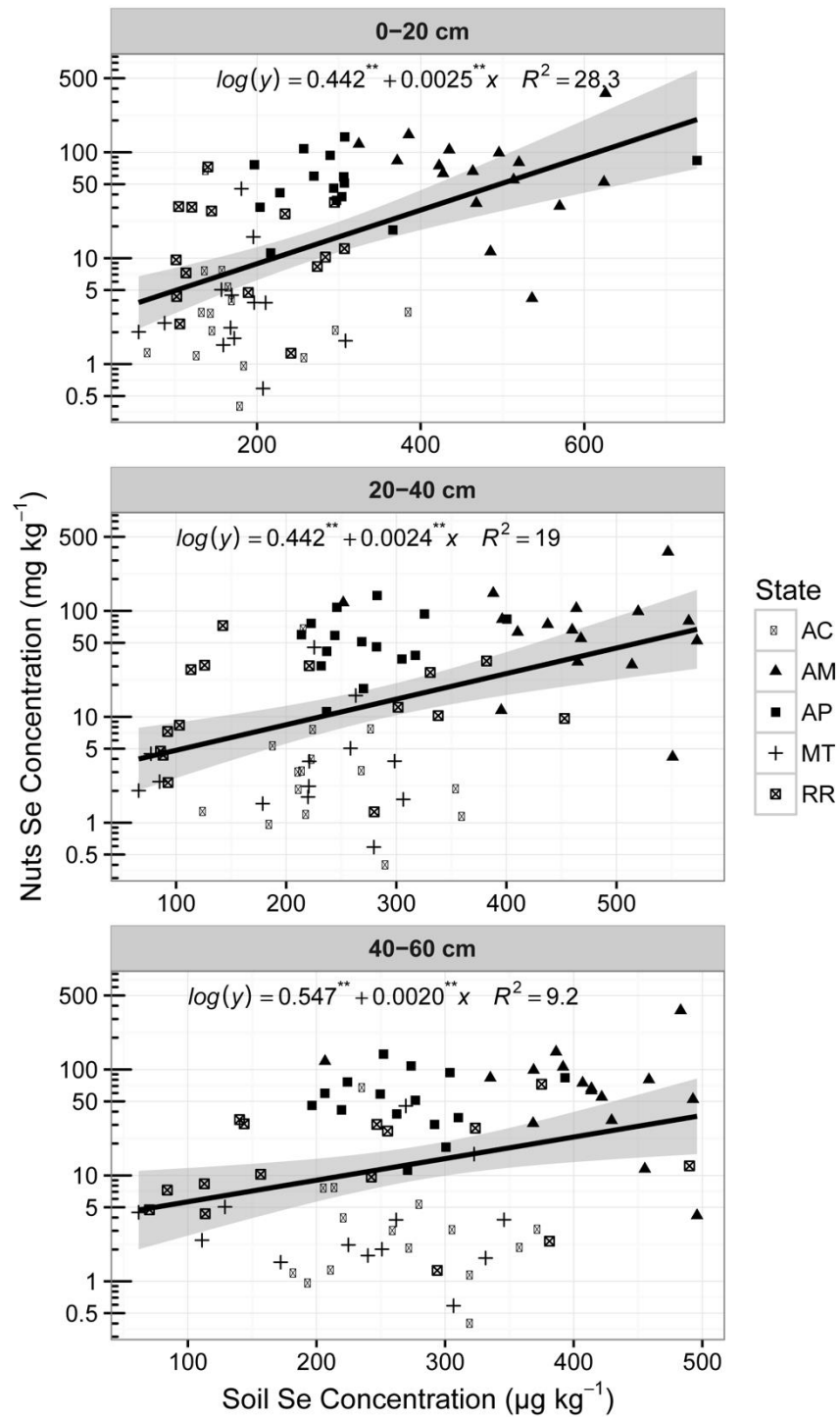


Figure 10 Relationship between Se concentration in Brazil nuts and Soil Se concentration from different states of the Amazon region (AC: Acre;

MT: Mato Grosso; RR: Roraima; AP: Amapá and AM: Amazonas, in different soil layers (0-20 cm, 20-40 cm and 40-60cm). Number of observation (n) is 15 for AC, 17 for AM, 13 for MT, 15 for RR and 15 for AP

Figure 11 shows the principal component analysis (PCA) on soil physical/chemical variables and on the Se content in the nuts. The first component of PCA is associated mainly with the soil reaction, and other parameters directly related to the soil pH. The second component of PCA is associated with the S (sulphur) and Se contents, as well as particle size fractions of the soil. Both components are equally important and represent similar fractions of the total variation (36% and 32% respectively for PCA 1 and PCA 2).

Se available in the soil is the main factor determining to the total Se content in Brazil nuts in this study, and not the total Se concentration as we could notice in the regression models (Figure 10). In this case, soil pH is an important factor associated with the Se available in the soil because of its influence in the sorption and retention of Se in these soils evaluated. The pH-dependence of selenate and selenite adsorption on Fe and Al oxides may partly explain its influence because of the high amounts of positive charges in these soils with a significant occurrence of oxidic soils in the region.

Explaining the pH influence in the Se available in the soil, we can observe the figure 12, showing soil-Se and soil pH in the 0-20 cm layer. This graphic confirms the higher influence from the attributes of the soil in the surface layer (especially pH) in the Se accumulated in the Brazil nuts than the deeper layers (20-40 cm and 40-60 cm).

Amapá (AP) is the site with highest pH (Figure 12), with values close to the neutrality and indeed unusual among the results showed in other sites in the present work and compared to the most Brazilians weathered soils. We observed that the total soil Se concentration was not proportionally high in this site compared to the total Se in the nuts that showed values as high as those found in the state of Amazonas (Figure 4), so these results

found in the total Se accumulated by the Brazil nuts can only be explained by the availability of Se in the soil.

Attributes like Al^{3+} , Fe and K available, the values t, T, potential acidity and percentage of silt had lower influence in the total Se concentration in Brazil nuts. Overall, the distribution pattern of the elements in soil obtained by PCA analysis confirmed that besides the soil pH influencing the amount of positive charges in the soil and increasing the Se available in soil with pH, other factors including clay percentage and S available in the soil are also associated with the Se concentration in Brazil nuts.

Chilimba et al. (2011) found that maize grain Se concentration was up to 10-fold higher in crops grown on soils with naturally high pH (> 6.5) and across all sites evaluated, under these conditions, there was evidence of a correlation between grain Se concentration and soil pH. According to the authors, under these less acidic soils, Se becomes considerably more available to plants due to the greater solubility of Se (IV) species and oxidation to Se (VI).

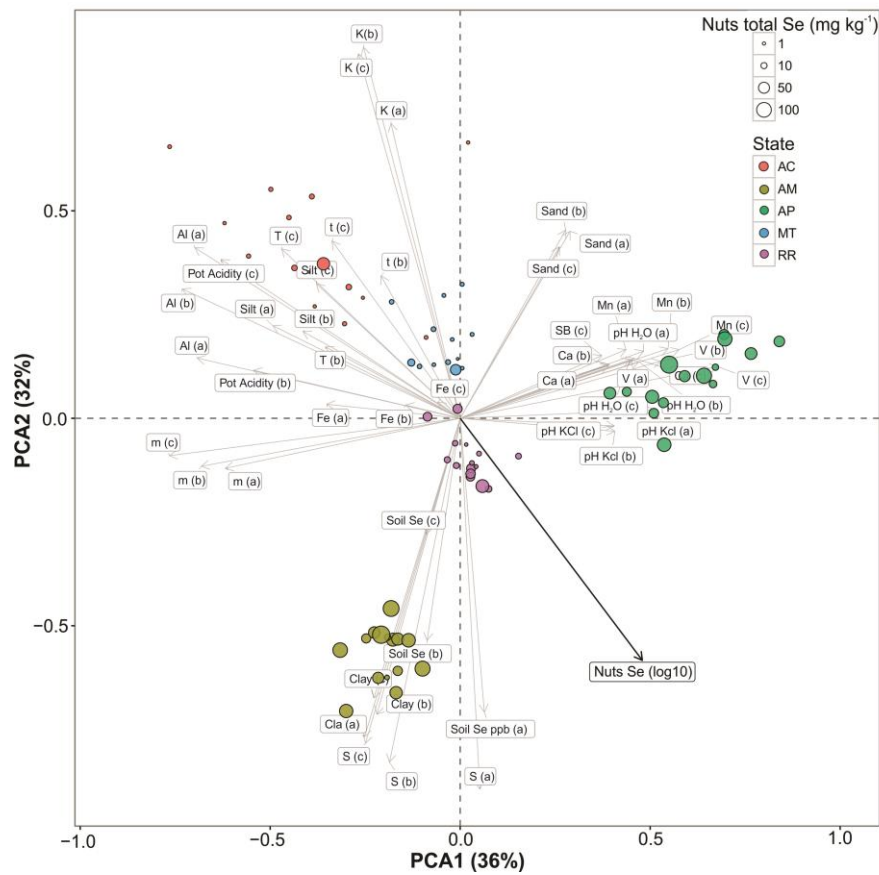


Figure 11 Principal Component Analysis (PCA) for chemical and physical soil attributes and total Se concentrations in soil and in Brazil nuts in 5 states of the Amazon region: (AC: Acre; MT: Mato Grosso; RR: Roraima; AP: Amapá and AM: Amazonas). Physical attributes: clay, silt and sand in percentage. Chemical attributes: Al^{3+} and Ca ($\text{cmol}_c \text{kg}^{-1}$); K, Mn, Fe and S (mg kg^{-1}) available in the soil and pH (H_2O), pH (KCl), and the indexes V (base saturation in percentage), Pot. Acidity ($\text{H} + \text{Al}$) ($\text{cmol}_c \text{kg}^{-1}$), t (effective cation exchange capacity in $\text{cmol}_c \text{kg}^{-1}$), T (total cation exchange capacity in $\text{cmol}_c \text{kg}^{-1}$) and m (aluminum saturation in percentage). The letters (a), (b) and (c) express the attributes mentioned in the 0-20 cm, 20-40 cm and 40-60 cm soil layers respectively

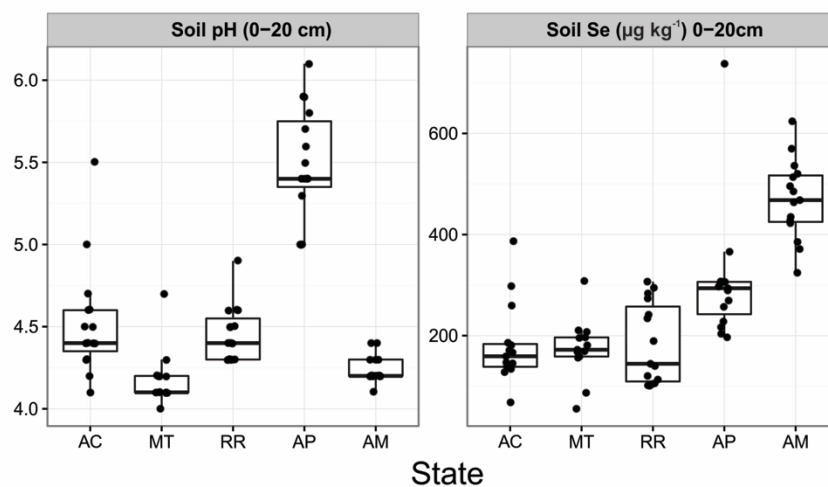


Figure 12 Soil pH and total soil Se concentration in the 0-20 cm layer from 5 states of the Amazon region: (AC: Acre; MT: Mato Grosso; RR: Roraima; AP: Amapá and AM: Amazonas)

In this context we should consider that several others factors including not only physicochemical attributes of the soils, but also factors related to the plant itself and its ability to accumulate Se will have influence on the Se uptake and translocation to the edible nuts.

Variations among total soil Se concentration and total Se in Brazil nuts are really wide throughout the Amazon region due to their high differences in the soil attributes. More information about the environmental and intrinsic factors associated with the plant is needed. The correlation between levels of Se in soil and Brazil nuts needs further investigation, because beyond soil Se concentrations, there are several other factors contributing to Se availability in soils, and the best way to determine this attribute is extracting Se available in the soil, which requires methodologies with better precision, and try to improve the efficiency of Se analytical determination, since these values will surely be very low, and even lower than the limits of detection for GF-AAS analyses.

4 CONCLUSIONS

Total selenium concentrations in Brazil nuts from the sites evaluated in this study are influenced by both soil Se available as well as genotypic ability of each plant inside each population to accumulate Se, considering the different sites with their own environmental particularities.

Se available in the soil and its absorption by the Brazil nut trees is influenced by the soil pH mainly in the 0-20 cm soil layer. Chemical attributes that affect the balance of charges explains the higher or lower Se retention in the soil and thus its availability to the plants.

Funding Sources

The authors and E.C.S.J are grateful to CNPq, CAPES and FAPEMIG from Brazilian government for financial support to the research project and especially FAPEMIG for granting the scholarship.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank the institutions Federal University of Lavras, São Paulo State University (UNESP-Tupã) and EMBRAPA for assistance during samples collections of soil and Brazil nuts, and the great help given by the laboratory technicians from the Soil Science Department/UFLA involved in Se analytical determinations.

REFERENCES

- BAJAJ, M.; EICHE, E.; NEUMANN, T.; WINTER, J.; GALLERT, C. Hazardous concentrations of selenium in soil and groundwater in North-West India. **Journal of Hazardous Materials**, v. 189, n. 3, p. 640–646, 2011.
- CAPPA, J. J.; CAPPA, P. J.; EL MEHDAWI, A. F.; MCALEER, J. M.; SIMMONS, M. P. PILON-SMITS, E. A. H. Characterization of selenium and sulfur accumulation across the genus *Stanleya* (Brassicaceae): A field survey and common-garden experiment. **American Journal of Botany**, v.101, n. 5, p. 830–839, 2014.
- CARDOSO, B. R.; BUSSE, A. L.; HARE, D. J.; COMINETTI, C.; HORST, M. A.; MCCOLL, G.; MAGALDI, R. M.; JACOB-FILHO, W.; COZZOLINO, S. M. F. Pro198Leu polymorphism affects the selenium status and GPx activity in response to Brazil nut intake. **Food & Function**, v. 7, n. 2, p. 825–833, 2015.
- CARDOSO, B. R.; APOLINÁRIO, D.; BANDEIRA, V. S.; BUSSE, A. L.; MAGALDI, R. M.; JACOB-FILHO, W.; COZZOLINO, S. M. F. Effects of Brazil nut consumption on selenium status and cognitive performance in older adults with mild cognitive impairment: a randomized controlled pilot trial. **European Journal of Nutrition**, v. 55, n. 1, p. 107–116, 2016.
- CARVALHO, R. F.; HUGUENIN, G. V. B.; LUIZ, R. R.; MOREIRA, A. S. B.; OLIVEIRA, G. M. M.; ROSA, G. Intake of partially defatted Brazil nut flour reduces serum cholesterol in hypercholesterolemic patients - a randomized controlled trial. **Nutrition journal**, v. 14, n. 1, p. 1-9, 2015.
- CHANG, J. C. GUTENMANN, W. H.; REID, C. M.; LISK, D. J. Selenium content of Brazil nuts from two geographic locations in Brazil. **Chemosphere**, v. 30, n. 4, p. 801–802, 1995.
- CHILIMBA, A. D. C.; YOUNG, S. D.; BLACK, C. R.; ROGERSON, K. B. ANDER, E. L.; WATTS, M. J.; LAMMEL, J.; BROADLEY, M. R. Maize grain and soil surveys reveal suboptimal dietary selenium intake is widespread in Malawi. **Scientific reports**, v. 1, n. 72, p. 1-9, 2011.

CHUNHIENG, T.; PÉTRITIS, K.; ELFAKIR, C.; BROCHIER, J.; GOLI, T.; MONTET, D. Study of selenium distribution in the protein fractions of the Brazil nut, *Bertholletia excelsa*. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 52, n. 13, p. 4318–4322, 2004.

CLEMENT, C. R.; CRISTO-ARAÚJO, M. DE.; D'EECKENBRUGGE, G. C.; PEREIRA, A. A.; PICANÇO-RODRIGUES, D. Origin and domestication of native Amazonian crops. **Diversity**, v. 2, n. 1, p. 72–106, 2010.

COMINETTI, C.; DE BORTOLI, M. C.; GARRIDO, A. B.; COZZOLINO, S. M. F. Brazilian nut consumption improves selenium status and glutathione peroxidase activity and reduces atherogenic risk in obese women. **Nutrition research**, v. 32, n. 6, p. 403–407, 2012.

DE TEMMERMAN, L.; WAEGENEERS, N.; THIRY, C.; DU LAING, G.; TACK, F.; RUTTENS, A. Selenium content of Belgian cultivated soils and its uptake by field crops and vegetables. **The Science of the total environment**, v. 468-469, n. 1, p. 77–82, 2014.

DHILLON, K. S.; DHILLON, S. K. Development and mapping of seleniferous soils in northwestern India. **Chemosphere**, v. 99, n. 1, p. 56–63, 2014.

DUMONT, E.; DE PAUW, L.; VANHAECKE, F.; CORNELIS, R. Speciation of Se in *Bertholletia excelsa* (Brazil nut): A hard nut to crack? **Food Chemistry**, v. 95, n. 4, p. 684–692, 2006.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. **Manual de métodos de análise de solo**, 2.ed. Rio de Janeiro, 1997. 212p.

FREITAS, S. C.; ANTONIASSI, R.; FELBERG, I.; SANTOS, N. S. Selênio em castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa*). **Comunicado Técnico**, 71, 2004. Available in: <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CTAA-2009-09/7699/1/ct71-2004.pdf> (accessed: Mar 13, 2016).

GABOS, M. B.; ALLEONI, L. R. F.; ABREU, C. A. Background levels of

selenium in some selected Brazilian tropical soils. **Journal of Geochemical Exploration**, v. 145, n. 1, p. 35–39, 2014.

HARRIS, J.; SCHNEBERG, K. A.; PILON-SMITS, E. A. H. Sulfur-selenium-molybdenum interactions distinguish selenium hyperaccumulator *Stanleya pinnata* from non-hyperaccumulator *Brassica juncea* (Brassicaceae). **Planta**, v. 239, n. 2, p. 479–491, 2014.

HUANG, S.; HUA, M.; FENG, J.; ZHONG, X.; JIN, Y.; ZHU, B.; LU, H. Assessment of selenium pollution in agricultural soils in the Xuzhou District, Northwest Jiangsu, China. **Journal of Environmental Sciences**, v. 21, n. 4, p. 481–487, 2009.

FOOD AND NUTRITION BOARD OF THE INSTITUTE OF MEDICINE. **Dietary reference intakes for vitamin C, vitamin E, selenium and carotenoids**. Washington: National Academy Press, 2000. 529 p.

KABATA-PENDIAS, A. **Trace elements in soils and plants**. Boca Raton: CRC Press, 2011. 505 p.

KHAN, N.; JEONG, I. S.; HWANG, I. M.; KIM, J. S.; CHOI, S. H.; NHO, E. Y.; CHOI, J. Y.; KWAK, B. M.; AHN, J. H.; YOON, T.; KIM, K. S. Method validation for simultaneous determination of chromium, molybdenum and selenium in infant formulas by ICP-OES and ICP-MS. **Food Chemistry**, v. 141, n. 4, p. 3566–3570, 2013.

KIPP, A.P.; STROHM, D.; BRIGELIUS-FLOHÉ, R.; SCHOMBURG, L.; BECHTHOLD, A.; LESCHIK-BONNET, E.; HESEKER, H. Revised reference values for selenium intake. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 32, n. 1, p. 195–199, 2015.

LEMIRE, M.; FILLION, M.; BARBOSA, F.; GUIMARÃES, J. R. D.; MERGLER, D. Elevated levels of selenium in the typical diet of Amazonian riverside populations. **Science of the Total Environment**, v. 408, n. 19, p. 4076–4084, 2010.

LEMIRE, M.; PHILIBERT, A.; FILLION, M.; PASSOS, C. J. S.; GUIMARÃES, J. R. D.; BARBOSA JR, F.; MERGLER, D. No evidence of

selenosis from a selenium-rich diet in the Brazilian Amazon. **Environment International**, v. 40, n. 1, p. 128–136, 2012.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2. ed. Piracicaba: POTAFOS, 1997. 319 p.

MARTENS, I. B.G.; CARDOSO, B. R.; HARE, D. J.; NIEDZWIECKI, M. M.; LAJOLO, F. M.; MARTENS, A.; COZZOLINO, S. M. F. Selenium status in preschool children receiving a Brazil nut-enriched diet. **Nutrition**, v. 31, n. 11-12, p. 1339–1343, 2015.

MARTINS, M. et al. Brazil nuts: determination of natural elements and aflatoxin. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 42, n. 1, p. 157–164, mar. 2012.

MORENO RODRIGUEZ, M. J.; CALA RIVERO, V.; JIMÉNEZ BALLESTA, R. Selenium distribution in topsoils and plants of a semi-arid Mediterranean environment. **Environmental Geochemistry and Health**, v. 27, n. 5-6, p. 513–519, 2005.

MORI, S. A.; PRANCE, G. T. Taxonomy, ecology, and economy botany of Brazil nut (*Bertholletia excelsa* Humb. e Bonpl.: Lecythidaceae). **Advances in Economic Botany**, v. 8, n. 1, p. 130–150, 1990.

PAREKH, P. P.; KHAN, A. R.; TORRES, M. A.; KITTO, M. E. Concentrations of selenium, barium, and radium in Brazil nuts. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 21, n. 4, p. 332–335, 2008.

RAIJ, B. V.; QUAGGIO, J.A. **Métodos de análise de solo para fins de fertilidade**, Campinas, Instituto Agrônômico, 1983. 31p. (Boletim técnico, 81).

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

R Core Team (2015). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.

Available in: <https://www.R-project.org> (accessed: Mar 13, 2016).

SECOR, C. L.; LISK, D. J. Variation in the selenium content of individual Brazil nuts. **Journal of food safety**, v. 9, n. 4, p. 279–281, 1989.

SCOLES, R.; GRIBEL, R. Population structure of Brazil Nut (*Bertholletia excelsa*, Lecythidaceae) stands in two areas with different occupation histories in the Brazilian Amazon. **Human Ecology**, v. 39, n. 4, p. 455–464, 2011.

SHALTOUT, A. A.; CASTILHO, I. N. B.; WELZ, B.; CARASEK, E.; MARTENS, I. B. G.; MARTENS, A.; COZZOLINO, S. M. F. Method development and optimization for the determination of selenium in bean and soil samples using hydride generation electrothermal atomic absorption spectrometry. **Talanta**, v.85, n. 3, p. 1350–1356, 2011.

SHEPARD, G. H. J.; RAMIREZ, H. E. R. “Made in Brazil”: human dispersal of the Brazil Nut (*Bertholletia excelsa*, Lecythidaceae) in ancient Amazonia. **Economic Botany**, Devon, v. 65, n. 1, p. 44–65, 2011.

STOCKLER-PINTO, M. B.; MAFRA, D.; MORAES, C.; LOBO, J.; BOAVENTURA, G. T.; FARAGE, N. E.; SILVA, W. S.; COZZOLINO, S. F. MALM, O. Brazil nut (*Bertholletia excelsa*, H.B.K.) improves oxidative stress and inflammation biomarkers in hemodialysis patients. **Biological Trace Element Research**, v.158, n. 1, p.105–112, 2014.

STOCKLER-PINTO, M. B.; MALM, O.; MORAES, C.; FARAGE, N. E.; SILVA, W. S.; COZZOLINO, S. M. F.; MAFRA, D. A Follow-up Study of the Chronic Kidney Disease patients treated with Brazil nut: focus on inflammation and oxidative stress. **Biological Trace Element Research**, v. 163, n. 1-2, p. 67–72, 2015.

STOCKLER-PINTO, M. B.; CARRERO, J. J.; WEIDE, L. C. C.; COZZOLINO, S. M. F.; MAFRA, D. Effect of selenium supplementation via Brazil Nut (*Bertholletia Excelsa*, Hbk) on thyroid hormones levels in hemodialysis patients: a pilot study. **Nutricion hospitalaria**, v. 32, n. 4, p. 1808–1812, 2015.

SUJII, P. S.; MARTINS, K.; WADT, L. H. O.; AZEVEDO, V. C. R.; SOLFERINI, V. N. Genetic structure of *Bertholletia excelsa* populations from the Amazon at different spatial scales. **Conservation Genetics**, v. 16, n. 4, p. 955-964, 2015.

THOMSON, C. D.; CHISHOLM, A.; MCLACHLAN, S. K.; CAMPBELL, J. M. Brazil nuts: an effective way to improve selenium status. **The American journal of clinical nutrition**, v. 87, n. 2, p. 379–384, 2008.

THORN, J.; ROBERTSON, J.; BUSS, D. H. Trace nutrients. Selenium in British food. **The British journal of nutrition**, v. 39, n. 2, p. 391–396, 1978.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. Test methods for evaluation of solid waste, physical and chemical methods: microwave assisted acid digest of sediments, sludges, soils and oils, SW-846. Washington, 1998. 98 p.

VIEIRA, A. H.; BENTES-GAMA, M. M.; DE OLIVEIRA, A. C.; ROCHA, R. B.; LOCATELLI, M. Comportamento Fenológico da Castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa* Bonpl.) em Porto Velho, Rondônia. In: **Anais do 18º Seminário do Projeto Kamukaia**, p. 53–57, 2008.

WADT, L. H. O.; KAINER, KAREN A.; GOMES-SILVA, D. A. P. Population structure and nut yield of a *Bertholletia excelsa* stand in Southwestern Amazonia. **Forest Ecology and Management**, v. 211, n. 3, p. 371–384, 2005.

WANG, S.; LIANG, D.; WANG, D.; WEI, W.; FU, D.; Z.-Q. LIN. Selenium fractionation and speciation in agriculture soils and accumulation in corn (*Zea mays* L.) under field conditions in Shaanxi Province, China. **Science of the Total Environment**, v. 15, n. 427-428, p. 159–164, 2012.

WHITE, P. J.; BOWEN, H. C.; PARMAGURU, P.; FRITZ, M.; SPRACKLEN, W. P.; SPIBY, R. E.; MEACHAM, M. C.; MEAD, A.; HARRIMAN, M.; TRUEMAN, L. J.; SMITH, B. M.; THOMAS, B.; BROADLEY, M. R. Interactions between selenium and sulphur nutrition in *Arabidopsis thaliana*. **Journal of Experimental Botany**, v. 55, n. 404, p. 1927–1937, 2004.

WHITE, P. J.; BOWEN, H. C.; MARSHALL, B.; BROADLEY, M. R.
Extraordinarily high leaf selenium to sulfur ratios define “Se-accumulator”
plants. **Annals of Botany**, v. 100, n. 1, p. 111–118, 2007.

ZUIDEMA, P. A.; BOOT, R. G. A. Demography of the Brazil nut tree
(*Bertholletia excelsa*) in the Bolivian Amazon: Impact of seed extraction on
recruitment and population dynamics. **Journal of tropical Ecology**, v. 18, n.
1, p. 1–31, 2002.