



MARTHA CRISTINA PEREIRA RAMOS

**SELÊNIO NA MICROPROPAGAÇÃO E NA
BIOFORTIFICAÇÃO DE FRUTOS DE BANANEIRA**

**LAVRAS-MG
2021**

MARTHA CRISTINA PEREIRA RAMOS

**SELÊNIO NA MICROPROPAGAÇÃO E NA BIOFORTIFICAÇÃO DE FRUTOS DE
BANANEIRA**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, área de concentração em Produção Vegetal, para a obtenção do título de Doutor.

Profa. Dra. Leila Aparecida Salles Pio
Orientadora

Prof. Dr. José Carlos Moraes Rufini
Coorientador

**LAVRAS-MG
2021**

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

Ramos, Martha Cristina\ ' Pereira.

Selênio na micropropagação e na biofortificação de frutos de
bananeira / Martha Cristina\ ' Pereira Ramos. - 2021.

94 p. : il.

Orientador(a): Leila Aparecida Salles Pio.

Coorientador(a): José Carlos Moraes Rufini.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2021.

Bibliografia.

1. Biofortificação. 2. *Musa* spp. 3. Selenato de sódio. I. Pio,
Leila Aparecida Salles. II. Rufini, José Carlos Moraes. III. Título.

MARTHA CRISTINA PEREIRA RAMOS

**SELÊNIO NA MICROPROPAGAÇÃO E NA BIOFORTIFICAÇÃO DE FRUTOS DE
BANANEIRA**

**SELENIUM IN THE MICROPROPAGATION AND BIOFORTIFICATION OF
BANANA FRUITS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, área de concentração em Produção Vegetal, para a obtenção do título de Doutor.

APROVADA em 26 de Março de 2021.

Dr. Guilherme Lopes	UFLA
Dra. Ana Claudia Costa	UFLA
Dr. José Carlos Moraes Rufini	UFSJ
Dra. Ester Alice Ferreira	EPAMIG

Profa. Dra. Leila Aparecida Salles Pio
Orientadora

Prof. Dr. José Carlos Moraes Rufini
Coorientador

**LAVRAS-MG
2021**

*À minha mãe (Sempre Presente), fonte de amor, exemplo de vida, que me ensinou que estudo
é a única coisa que não pode ser tirada ou roubada de alguém.*

*Mãe, seu cuidado e dedicação foi o que me deu a esperança para seguir e força para
continuar.*

Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por ser a base e fonte de alimento para a alma em todos os momentos.

À Universidade Federal de Lavras, especialmente ao Departamento de Agronomia/Fitotecnia, pela oportunidade.

À CAPES, pelo apoio financeiro. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível superior- Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001. Ao CNPq pelo apoio financeiro à pesquisa. À UFSJ, Campus Sete Lagoas, por disponibilizar sua estrutura física em apoio ao desenvolvimento ao projeto do doutorado.

À Fazenda São Francisco – Agromila, em especial ao proprietário Alexandre, que disponibilizou a área para a condução do experimento.

Aos membros da banca, Dr. Guilherme Lopes, Dra. Ana Cláudia Costa, Dr. José Carlos Moraes Rufini, Dra. Ester Alice Ferreira, que aceitaram o convite para participar da melhoria e enriquecimento do trabalho.

À professora Dra. Leila Aparecida Sales Pio, que me orientou ao longo desse período, pela sua disponibilidade, calma e atenção, e por todos os momentos que me ensinaram a ser uma profissional mais humana. Agradeço também a confiança depositada em mim.

Ao Prof. Dr. José Carlos Moraes Rufini, pela colaboração durante o doutorado, pela orientação ao longo da minha formação.

À minha família, pelo carinho, em especial à minha mãe Laudiene Pereira de Souza (*Sempre Presente*), que com sua partida tem mostrado que a vida ainda pode ser bonita, mesmo quando a dor insiste em ficar, foi e será meu exemplo de vida, me ensinou a sentir o amor incondicional.

Aos meus irmãos Fernanda Antônia, Ana Paula, Luiz Gustavo, Carlos Felipe e Gabrielle Cecília, por acreditarem sempre que eu irei atingir os meus objetivos. À Luciene Souza Mourão, minha tia Lu, pelo carinho constante.

Ao meu amado noivo, Adriano Gonçalves de Campos, por todo o amor, carinho e paciência durante estes anos de doutorado, que me ajudou a provar que a distância não seria um obstáculo e, sim, um elo fortalecedor do nosso amor.

Ao meu padrinho, Pe. Wilson, que em cada mensagem, sabe reconhecer o sentimento do momento e, em cada palavra, sabe acalentar e nos fortalecer, dando incentivo para seguir em frente.

Aos amigos que conquistei durante a trajetória, e sempre digo “Presentes que Lavras me deu” a saber: Mariane Aparecida Rodrigues (Mari), minha companheira de campo, laboratório, parceira e amiga para toda a vida, Renata Amato Moreira (Renatinha), pela amizade. Aos colegas de pomar, Pedro Maranhã Peche (Tatu), Leonardo Pereira da Silva Brito (Leo), e do Laboratório de Cultura de Tecidos, Altino Mendes Junior, Felipe, Ivan, Adalvan, Lilian. E

também, os amigos da UFSJ, Carine Gregório, Priscilla Tavares, Matheus Pena Campos, que foram meus companheiros de vivência.

Aos setores da Universidade Federal de Lavras, de sementes, solos, fisiologia e estatística, onde pude desenvolver parte do meu trabalho e aprender muito com cada profissional que eu encontrei em meu caminho. Em especial, aos professores Julio Silvio de Sousa Bueno Filho e Guilherme Lopes, pela contribuição no enriquecimento do trabalho. Ao colega, Josimar Lessa, que tanto me ensinou e contribuiu para este trabalho.

Aos funcionários da UFLA, que sempre apresentaram disponibilidade em ajudar quando solicitados, em especial à Marli, secretária do programa, pelo auxílio em todas as dúvidas.

A todos aqueles que, direta e/ou indiretamente, contribuíram para esta realização.

Muito obrigada!

“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar. Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota.” (Madre Tereza de Calcutá)

RESUMO

A banana biofortificada com selênio pode melhorar substancialmente a nutrição humana, reduzindo a deficiência de selênio. Neste estudo, foram realizados ensaios de laboratório, visando verificar o provável acúmulo de selênio na micropropagação de bananeiras para a produção de mudas e sua influência no sistema antioxidante das plantas. Foram testadas seis concentrações (0, 10, 20, 30, 40 e 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$) de selênio na forma de selenato de sódio, em plantas cultivadas *in vitro* e aclimatizadas. Concluiu-se que o selênio quando aplicado em menores concentrações no meio de cultura foi a maneira mais indicada para a obtenção de plantas com maiores acúmulos de selênio, sem acarretar prejuízos em variáveis fitotécnicas e ainda gerando maior atividade fotossintetizante. Além disso, foram realizados ensaios de campo para investigar a biofortificação agrônômica de selênio (Se) em bananeiras Prata Anã (Clone Gorotuba) e também para avaliar a influência da aplicação via solo, foliar, inflorescência e nos frutos de bananeira com selênio (como selenato de sódio). As doses utilizadas em cada via foram de 0g/ha, 150g/ha (inteira ou fracionada em vias de 75 ou 50g/ha) e 300g/ha (inteira ou fracionada em vias de 75 ou 100g/ha). Uma fração de 40 das 4802 combinações possíveis deste fatorial foi aleatorizada em blocos incompletos (seis blocos de nove parcelas). As doses de selênio influenciaram positivamente no teor e acúmulo desse elemento nos frutos de bananeira, assim como em parâmetros de qualidade, como firmeza, teor de sólidos solúveis e acidez. Pode-se concluir que é viável o uso da biofortificação de frutos de bananeiras Prata Anã (Clone Gorotuba) em campo, utilizando como fonte principal o selenato de sódio, aplicado diretamente no cacho das plantas.

Palavras-chave: Biofortificação. *Musa* spp. Selenato de sódio.

ABSTRACT

Banana biofortified with selenium can substantially improve human nutrition, reducing selenium deficiency in humans. In this study, laboratory tests were carried out, aiming to improve the micropropagation protocol of banana trees with the addition of selenium for the production of seedlings and its influence on the antioxidant system of plants. Six concentrations (0, 10, 20, 30, 40 and 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$) of selenium in the form of sodium selenate were tested in plants grown *in vitro* and acclimatized. It was concluded that, when applied at lower concentrations in the culture medium, selenium was the most suitable way to obtain plants with greater accumulation, without causing damage to phytotechnical variables and still yielding greater photosynthetic activity. In addition, assays were carried out in the field to investigate the agronomic biofortification of selenium (Se) on 'Prata Anã' banana trees (Clone Gorotuba) and also to evaluate the influence of application via soil, leaf, inflorescence and on selenate banana fruits (such as sodium selenate). Selenium doses positively influenced the content and accumulation of this element in banana fruits, as well as fruit quality parameters, such as firmness, soluble solids and acidity. It can be concluded that it is feasible to use the biofortification of 'Prata Anã' banana fruits (Clone Gorotuba) in the field, using sodium selenate as the main source, applied directly to the plant cluster.

Keywords: Antioxidant system. Banana varieties. Sodium selenate.

SUMÁRIO

	CAPÍTULO 1 INTRODUÇÃO GERAL.....	12
1	INTRODUÇÃO	12
2	REFERENCIAL TEÓRICO	14
2.1	Aspectos gerais da cultura da bananeira	14
2.2	Uso de selênio na agricultura	15
2.3	Biofortificação das culturas com selênio	16
2.4	O cultivo <i>in vitro</i> de bananeira e a adição de selênio.....	18
2.5	Importância do selênio para a saúde humana	19
2.6	Influência do selênio sobre o metabolismo antioxidativo e ação de pigmentos fotossintéticos	21
	REFERÊNCIAS	23
	CAPÍTULO 2 SELÊNIO <i>IN VITRO</i> NA MICROPROPAGAÇÃO DE BANANEIRA.....	29
1	INTRODUÇÃO	31
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	34
2.1	Material vegetal, cultivo <i>in vitro</i> e bioensaio com selênio.	34
2.2	Características avaliadas	34
2.3	Análise estatística	36
3	RESULTADOS.....	37
4	DISCUSSÃO	48
5	CONCLUSÕES	50
	REFERÊNCIAS	51
	CAPITULO 3 BIOFORTIFICAÇÃO DE FRUTOS DE BANANEIRA PRATA- ANÃ CLONE GORUTUBA COM SELÊNIO	55
1	INTRODUÇÃO	57
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	59
2.1	Caracterização da área experimental.....	59
2.2	Delineamento do experimento.....	59
2.3	Avaliações de produção (colheita).....	60
2.4	Determinação de selênio	60
2.5	Avaliações de qualidade (pós-colheita).....	61

2.6	Análises estatísticas	62
3	RESULTADOS	63
3.1	Avaliações de produção (colheita).....	63
3.2	Avaliações de qualidade (pós-colheita).....	69
4	DISCUSSÃO	75
5	CONCLUSÃO	77
	REFERÊNCIAS	78
	APÊNDICES	81

CAPÍTULO 1 INTRODUÇÃO GERAL

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é privilegiado pela biodiversidade de sua flora, onde as condições edafoclimáticas favorecem o cultivo de diversas frutíferas. A bananeira (*Musa* spp.) é uma das frutas mais cultivadas nos países de clima tropical e subtropical. Constitui uma fonte de complementação na alimentação humana, sendo um dos frutos mais consumidos em todo o mundo. A bananicultura destaca-se no cenário econômico devido ao seu grande potencial, sendo a banana, uma fruta que pode ser consumida de várias maneiras, tais como: *in natura*, frita, assada, ou para produção de sobremesas e doces.

Com o aumento da população mundial, é crescente a demanda por alimentos que sejam fonte primária de nutrientes. A baixa ingestão dietética de nutrientes tem sido associada a problemas de saúde humana, pois, aproximadamente um bilhão de pessoas se encontra em quadro de insegurança alimentar por falta de alimentos ou por dietas inadequadas e pobres em nutrientes. Assim, a biofortificação de alimentos pode se tornar uma alternativa eficiente para controlar esse problema.

A biofortificação agrônômica consiste no fornecimento de determinado nutriente pelo manejo da adubação dos solos ou diretamente nas folhas das plantas, tendo como finalidade a absorção e acúmulo do elemento pela cultura, e, assim, como resultado, é obtido o aumento do teor do nutriente. Esse aporte à qualidade nutricional das partes comestíveis da planta oferece benefícios adicionais para a saúde, além das funções nutricionais básicas. Um elemento biofortificador que vem sendo bastante estudado em culturas agrícolas é o selênio.

O elemento selênio é encontrado naturalmente em alimentos com alto valor de mercado, como principal exemplo, a castanha do Pará. Boa parte da população não tem acesso a este produto. Devido as suas propriedades organolépticas e ao baixo custo, a banana é uma fruta consumida em todas as classes sociais, sendo comercializada como alimentos básicos, tornando viável o uso da biofortificação agrônômica como ferramenta para enriquecimento e produção de um alimento funcional, acessível à população como um todo.

Os estudos sobre selênio têm despertado interesse em todo o mundo, pois é um micronutriente essencial para muitos organismos, incluindo humanos e outros animais, devido as suas propriedades antioxidantes, e contribuição para o desenvolvimento equilibrado do

sistema imunológico. Além disso, a carência desse elemento está associada a alguns tipos de câncer e problemas cardiovasculares.

Porém, esse micronutriente ainda não é descrito como sendo um elemento essencial às plantas. Mas existem evidências que o selênio pode ser considerado um elemento benéfico, pois apresenta importante função para o crescimento e desenvolvimento das plantas, além de conferir tolerância à planta.

Diante da relevância da bananicultura para a economia brasileira e dos grandes avanços tecnológicos adquiridos, a biofortificação dos frutos no sistema produtivo desta frutífera pode representar a sua ascensão no mercado mundial e maior rentabilidade econômica. Nesse contexto, o conhecimento do teor de minerais e a capacidade de fornecimento de minerais pelos frutos vêm preencher uma lacuna do programa de biofortificação de frutos de bananeira.

Assim, este estudo objetivou avaliar o efeito da aplicação (via solo, foliar, inflorescência e fruto) de fontes inorgânicas (selenato e selenito) e doses de Se, na qualidade de frutos de bananeiras Prata Anã (clone Gorutuba) cultivadas em campo, e o desenvolvimento de mudas cultivadas *in vitro* com adição de selênio e sua aclimatização. Buscando-se confirmar as hipóteses de que a aplicação de baixas doses de Se aumentam o teor desse elemento nos frutos e melhoram características produtivas da planta e que a fonte inorgânica e o local de aplicação do Se influenciam o sucesso da biofortificação da bananeira.

Outra alternativa para a inserção deste elemento é por meio de uma técnica de produção de mudas de bananeira, a micropropagação. Este método utiliza um meio de cultivo que pode ser enriquecido com diversos fitorreguladores e nutrientes. O selênio pode ser adicionado ao meio de cultura, com intuito de obtenção de benefícios que este elemento pode fornecer. Os vegetais cultivados neste meio são capazes de absorver esse microelemento, e armazenar em sua biomassa, ao longo do seu ciclo produtivo. É esperado que no final do ciclo, quando o fruto chegar à mesa do consumidor, ele estará consumindo um superalimento, enriquecido com esse elemento essencial para seres humanos.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Aspectos gerais da cultura da bananeira

O consumo de frutas tem aumentado devido aos conhecimentos sobre os efeitos nutricionais e terapêuticos na saúde humana, principalmente resultantes de seus conteúdos em fitoquímicos, com propriedades antioxidantes (PEREIRA; MARASCHIN, 2015), representando uma boa fonte de minerais, vitaminas e carboidratos, com um alto potencial como alimentos funcionais e nutracêuticos (AMORIM *et al.*, 2011).

A bananeira (*Musa* spp.) é uma planta monocotiledônea herbácea de grande porte, pertencente à família Musaceae, sua origem se dá a partir do cruzamento das espécies de *Musa acuminata* Colla (AA) x *Musa balbisiana* Colla (BB) (D'HONT *et al.*, 2012), que possui a Ásia como seu centro primário de origem (SILVA *et al.*, 2013).

É uma das fruteiras mais cultivadas nos países de clima tropical e subtropical. Constitui fonte de complementação na alimentação humana (NOMURA *et al.*, 2011) e a fruta de maior consumo *in natura* no Brasil e no mundo. Ressalta-se que todas as unidades da Federação possuem produção de banana com relevância econômica (SOUZA *et al.*, 2010). Devido as suas boas propriedades organolépticas e ao baixo custo, esta fruta é consumida por pessoas em todas as camadas sociais, sendo comercializada em todo o mundo, como alimentos básicos e para fins medicinais, pois são fontes de metabólitos secundários bioativos (PEREIRA; MARASCHIN, 2015).

O Brasil produziu, em média, sete milhões de toneladas de bananas em uma área de aproximadamente 461 mil hectares, destacando-se como o terceiro maior produtor mundial desta fruta. O estado de São Paulo destaca-se como o maior produtor brasileiro da fruta, com uma produção de 1,2 milhões de toneladas (IBGE, 2018).

Existe uma grande variedade de cultivares de bananeiras no Brasil, porém, poucas possuem características agrônômicas desejáveis para exploração comercial visando alta produtividade, tolerância às pragas e doenças, pequeno porte e menor ciclo de produção (RAMOS *et al.*, 2009). As principais cultivares utilizadas no Brasil são: Prata, Prata-Anã, Pacovan, Nanica, Nanicão e Grande Naine (JIMÉNEZ; BRIOSO, 2018). No estado de Minas Gerais, os maiores produtores de banana têm sua área predominantemente cultivada com bananeira 'Prata-Anã' (LIBRELON *et al.*, 2013).

A cultivar 'Prata-Anã' é suscetível a doenças como a Sigatoka-Amarela e o Mal-do-Panamá. Para o controle do Mal-do-Panamá é necessário a erradicação das plantas infestadas e substituição por cultivares resistente (FARIA *et al.*, 2014). Com isso, tem sido usado para a expansão e implantação de novas áreas um variante somaclonal conhecido como 'Prata-Anã' clone Gorutuba (RODRIGUES *et al.*, 2012). Nesse sentido, é importante o uso de técnicas visando a melhoria deste clone, sendo uma excelente alternativa para o cultivo.

2.2 Uso de selênio na agricultura

O selênio (Se) é um elemento químico não metal, possui número atômico 34, massa atômica $78,96 \text{ g mol}^{-1}$, pertence ao grupo 16 ou família dos calcogênios, juntamente com o enxofre (S) e o oxigênio (O) na tabela periódica.

O selênio é considerado essencial para os seres humanos e animais (RAYMAN, 2009) (WHITE; BROWN, 2010), porém, esse elemento ainda não é considerado essencial para as plantas (ZHU *et al.*, 2009), embora seja considerado um elemento benéfico. Há relatos que o Se pode ajudar as plantas a se manterem por mais tempo fisiologicamente ativas, aumentando a produção vegetal (RAMOS *et al.*, 2011). Pode estimular o crescimento, conferir tolerância contra fatores ambientais que induzem o estresse oxidativo e fornecer resistência aos agentes patogênicos e à herbivoria (EL MEHDAWI; PILON-SMITS, 2012; FENG; WEI; TU, 2013; WHITE; BROWN, 2010).

Todas as plantas absorvem selênio da solução do solo. Todavia, essa capacidade pode variar em função da espécie vegetal, estágio de desenvolvimento, forma química e solubilidade do Se, assim como da umidade e fatores que possam influenciar a disponibilidade desse nutriente (RAMOS *et al.*, 2011).

Os teores de Se nos produtos agrícolas alimentares são fortemente dependentes da presença deste elemento no solo e também da regulação em função espécie/genótipo vegetal (LYONS *et al.*, 2005). Em geral, os solos do bioma Cerrado possuem concentrações deficientes de Se (CARVALHO *et al.*, 2019), uma alternativa viável é a suplementação de Se via fertilizantes comerciais nestas áreas onde se verifica baixa disponibilidade de selênio.

As plantas podem absorver o Se na forma de selenato (SeO_4^{-2}) e selenito (SeO_3^{-2}) ou como complexos orgânicos de Se (LI *et al.*, 2008). Na maioria dos solos cultivados, selenato é a forma de Se disponível para plantas (BROADLEY *et al.*, 2007). No solo, o selenito é menos biodisponível do que o selenato porque o primeiro é mais fortemente adsorvido por óxidos de

ferro e/ou hidróxidos (BARROW; WHELAN, 1989). Selenato e o selenito são as formas mais utilizadas em práticas de biofortificação na agricultura (PENG *et al.*, 2016).

Existe uma semelhança física e química entre o selênio e o enxofre, sendo que a maioria das plantas é capaz de substituir o selênio pelo enxofre e vice-versa, partilhando de vias metabólicas em comum e competindo por processos metabólicos responsáveis pelo desenvolvimento e crescimento das plantas (SORS; ELLIS; SALT, 2005).

O selenato é absorvido pelas raízes por transportadores de sulfato, e transportado através da membrana plasmática de células da raiz (HAWKESFORD; WANG, 2007). Em contraste, pouco se sabe sobre o mecanismo envolvendo a absorção de selenito pelas plantas, sugere-se que ele seja absorvido pelas raízes através da difusão passiva (LI *et al.*, 2008).

O selenato e o selenito também diferem quanto à mobilidade no interior da planta. O selenato é entregue ao xilema e transportado para as raízes, onde é assimilado em compostos orgânicos e redistribuído dentro da planta de uma maneira análoga ao enxofre. Já o selenito é rapidamente convertido em selênio orgânico e tende a se acumular nas raízes (BROADLEY *et al.*, 2007; SORS; ELLIS; SALT, 2005; TERRY *et al.*, 2000; WHITE *et al.*, 2007).

No Brasil, ainda são poucos os estudos que fornecem dados sobre a interação planta e selênio (BOLDRIN *et al.*, 2012; BOLDRIN *et al.*, 2013). Esses estudos alertam para a importância de se conhecer os teores e o comportamento de Se no solo e na planta, visando com aumentar os teores desse elemento nos alimentos, reduzindo assim, os riscos de deficiência por selênio no organismo humano e animal.

2.3 Biofortificação das culturas com selênio

O aumento da concentração de selênio nos alimentos vem sendo chamado de ‘biofortificação’, e pode ser atingido de duas formas distintas, ou ainda, em associação de ambas, designadas de: biofortificação genética e a biofortificação agrônômica (PRAUCHNER, 2014).

A biofortificação genética é um processo pelo qual os micronutrientes são introduzidos diretamente no cultivo de alimentos básicos, com o objetivo de aumentar os níveis de micronutrientes específicos combinando técnicas de melhoramento clássico, por cruzamento, fertilização, ou técnicas de transgenia (HIRSCHI, 2009). Já a biofortificação agrônômica, consiste basicamente no aumento da concentração de algum elemento nas culturas agrícolas, por meio da sua introdução na adubação das plantas (GRAHAM *et al.*, 2007), incluindo o uso

de fertilização por micronutrientes, sendo uma alternativa complementar (WHITE; BROADLEY, 2009).

Na maioria dos casos, os alimentos de origem vegetal não apresentam fontes importantes de selênio devido à baixa concentração deste micronutriente nas partes comestíveis das plantas. Uma espécie vegetal que se destaca entre aquelas que acumulam Se em maior quantidade em seus frutos é a castanha do Brasil (*Bertholletia excelsa*), uma árvore de grande porte pertencente à família Lecythidaceae, espécie nativa da região norte do Brasil.

Silva Junior *et al.* (2017) encontraram uma grande variação na concentração de Se em castanhas do Brasil na região amazônica. Sendo que os maiores valores foram observados nos estados do Amapá (50,93 mg.kg⁻¹) e Amazonas (68,15 mg.kg⁻¹) e as amêndoas com os teores mais baixos foram encontradas Acre (2,52 mg.kg⁻¹), Mato Grosso (2,07 mg.kg⁻¹), e no estado de Roraima (9,96 mg.kg⁻¹). Estes autores concluíram que a concentração total de Se no solo, por si só, não explica de forma importante a variabilidade observada na concentração de Se no fruto entre os estados brasileiros. No entanto, ao analisar as propriedades do solo em conjunto, dois gradientes podem influenciar o acúmulo de Se: um relacionado com a acidez do solo e, conseqüentemente, com a adsorção de Se em solos tropicais, e outro relacionado com a concentração total de Se no solo.

Aquino *et al.* (2014), avaliando o teor de minerais e a capacidade de fornecimento de minerais na percentagem de massa seca em 15 cultivares de bananeira, verificaram que o Se não foi detectado nem na polpa e tampouco na casca de frutos verdes e maduros de bananeira. Logo, o desenvolvimento de trabalhos através da aplicação de Se em diferentes concentrações e partes da planta de bananeira (folha, inflorescência, cacho) se torna de suma importância para verificar o comportamento deste elemento e sua distribuição na planta ao longo do ciclo de cultivo.

A concentração de selênio nas plantas está correlacionada com os níveis do elemento presente no solo. A fertilização dos solos com selênio aumenta a concentração deste elemento nos tecidos vegetais. Logo, a escolha de produtos agrícolas cujos produtos são altamente consumidos pela população, possibilita maior sucesso para os programas de biofortificação (OLIVEIRA *et al.*, 2018).

Estudos realizados por Borges *et al.* (2014), demonstram uso potencial de banana na promoção da saúde devido às suas características funcionais. Existe variabilidade no conteúdo de compostos bioativos (compostos fenólicos e carotenoides) dentro do germoplasma da *Musa* spp. e potenciais de uso em programas de obtenção de cultivares biofortificadas com valores

nutricionais que podem contribuir para aumentar da ingestão de nutrientes em populações desfavorecidas.

Estudos demonstraram o sucesso da biofortificação com selênio em alface, arroz, brócolis, trigo, cenoura, morango (BANUELOS *et al.*, 2015; BOLDRIN *et al.*, 2012; LARA *et al.*, 2019; OLIVEIRA *et al.*, 2018; RAMOS *et al.*, 2011; REIS *et al.*, 2018; SANTIAGO *et al.*, 2018).

Já em espécies frutíferas, são escassos os relatos na literatura. Destacam-se os estudos de Babalar *et al.* (2019), que através da aplicação de Se em frutos de macieira obtiveram aumento do teor de Se e nas propriedades nutracêuticas dos frutos. Pêssegos (*Prunus persica*) e peras (*Pyrus communis* L.) foram pulverizadas com solução de selenato (PEZZAROSSA *et al.*, 2012), e uvas de mesa (*Vitis vinifera* L.) foram pulverizadas com selênio orgânico (ZHU *et al.*, 2017).

Neste contexto, será abordado o uso a biofortificação agrônômica para a cultura da bananeira, tendo em vista que esta técnica tem mostrado resultados satisfatórios para outras culturas, e também espécies frutíferas.

2.4 O cultivo *in vitro* de bananeira e a adição de selênio

A bananicultura gera empregos diretos e indiretos, sendo um pilar de movimentação da economia nacional, além de representar importante fonte de renda para pequenos e médios agricultores (SALOMÃO *et al.*, 2016). A principal forma de propagação desta cultura é de forma vegetativa, por meio do desenvolvimento natural de mudas ou pelo fracionamento do rizoma.

Como forma alternativa de propagar a bananeira tem-se a micropropagação, utilizando-se ápices caulinares e meristemas, que possibilitam sua rápida propagação clonal massal (RODRIGUES; COSTA; PASCOAL, 2019). Durante o processo de cultivo *in vitro* são utilizados meios nutritivos que fornecem substâncias essenciais para o crescimento dos tecidos micropropagados (CALDAS *et al.*, 1998), sendo que um dos principais fatores que interferem na propagação *in vitro* é a suplementação do meio de cultivo, podendo ser por meio de uso de reguladores de crescimento vegetal (ROCHA *et al.*, 2017), compostos orgânicos (WISZNIEWSKA *et al.*, 2016), ou adição de elementos como fonte de nutrientes (ASMAR *et al.*, 2013).

Existem alguns registros na literatura com o uso de Se *in vitro*, como demonstrado em pesquisa, que comparou a tolerância e acúmulo de Se em duas cultivares de Cana Gigante (*Arundo donax* L.) em cultivo *in vitro* (DOMOKOS-SZABOLCSY *et al.*, 2014), assim como Souza *et al.* (2019) caracterizou a ação do selênio sobre o aparato fotossintético de bromélias e sua potencial ação atenuante frente ao excesso e escassez de zinco *in vitro*. Porém, estes trabalhos não trataram da biofortificação do Se de fato, sendo realizado em cultivo *in vitro* e sua diluição ao longo do tempo na fase de aclimação das mudas.

Acredita-se que os vegetais cultivados em meio de cultura são capazes de absorver o elemento presente no meio, neste caso, o selênio, e armazená-lo em sua biomassa e ao longo do tempo de cultivo, redistribuí-lo, até chegar às partes comestíveis do fruto. Os relatos disponíveis na literatura referentes ao uso da cultura de tecidos pelo método de micropropagação visando a biofortificação de plantas com Se ainda são escassos.

2.5 Importância do selênio para saúde humana

O selênio é um elemento essencial para seres humanos e animais. Os seres humanos precisam de pelo menos 22 elementos minerais para o seu bem-estar. A deficiência nutricional atinge três bilhões de pessoas em todo o mundo, principalmente nos países em desenvolvimento, sendo um importante problema de saúde pública (ANDRÉ *et al.*, 2018). Os sete elementos minerais que mais apresentam carência nas dietas humanas são: Ferro, Zinco, Cobre, Cálcio, Magnésio, Selênio e Iodo (WHITE; BROADLEY, 2009).

Atualmente a deficiência do Se atinge aproximadamente um bilhão de pessoas no mundo (WHITE; BROADLEY, 2009). No Brasil, existem indícios da baixa concentração de selênio nos principais alimentos consumidos, assim como da baixa ingestão de Se pela população (FERREIRA *et al.*, 2002; MAIHARA *et al.*, 2004), principalmente porque os solos agricultáveis brasileiros têm baixo teor de Se naturalmente (MATOS *et al.*, 2016).

Constituinte de 25 selenoproteínas, o Se desempenha papéis fundamentais no sistema imunológico, pois é o principal constituinte de enzimas antioxidantes. Assim, este mineral tem um papel importante por oferecer proteção contra danos celulares induzidos por espécies reativas de oxigênio (EROs) (RAYMAN, 2012). Em seres humanos, a deficiência de Se está associada ao hipotireoidismo, doenças cardiovasculares, enfraquecimento do sistema imunológico, infertilidade masculina e aumento da incidência de vários tipos de câncer (FORDYCE, 2013; RAYMAN, 2012).

Considerando a atual pandemia do vírus SARS-CoV-2, com ocorrência da doença COVID-19, tem sido comprovada a possível ação do selênio na proteção contra este vírus. Por meio da melhoria da imunidade, e conseqüentemente, minimização dos efeitos da doença no organismo humano (GOIS *et al.*, 2020).

Deficiências de oligoelementos como ferro, selênio, cobre, zinco e vitaminas A, estão associados à disfunção imunológica (KHALED; BENAJIBA, 2020). Além disso, a deficiência de selênio na dieta pode ocasionar na diminuição da resistência a infecções, e no aumento da gravidade dos sintomas (MAGGINI; PIERRE; CALDER, 2018). Logo, uma suplementação com selênio em pacientes afetados pela COVID-19 poderia ser uma intervenção eficaz para o tratamento deste novo vírus, atuando principalmente na defesa antioxidante do hospedeiro e no grau de patogenicidade do vírus (GUILLIN *et al.*, 2019).

Harthill (2011) sugeriu que a combinação de um aumento na taxa viral de mutação com uma diminuição na resposta imune tem sido associada a um aumento da virulência, observado em outros vírus de RNA em modelos de camundongos com deficiência de Se, ocorreu também no surto de SARS-CoV. Estudos demonstram que a suplementação de Se em pacientes com deficiência desse elemento aumentou a resposta imune a infecções virais e diminuiu a virulência de vários vírus, em alguns casos, ao ponto de prevenção completa da doença (GUILLIN *et al.*, 2019; POLANSKY; LORY, 2020)

Durante a infecção viral, os patógenos induzem o estresse oxidativo, gerando espécies reativas de oxigênio e alterando as defesas antioxidantes celulares (MEPLAN; HUGHES, 2020). Com isso, se tem visto o importante papel das selenoproteínas na proteção das células contra os radicais oxidativos prejudiciais (FEDIRKO *et al.*, 2019).

Dessa forma, a ingestão diária de Se é fundamental para manter o funcionamento fisiológico do corpo humano, além de conferir alguns benefícios a saúde humana. As recomendações para ingestão de selênio pela Academia Nacional de Ciência dos Estados Unidos (*National Academy of Science of the United States*) é de 55 µg de Se, por dia, para adultos. Sendo que a quantidade máxima de Se que deve ser ingerida diariamente não deve ultrapassar 400 µg (BOYD, 2011). A faixa limite de segurança da quantidade de selênio a ser ingerida pode ser considerada estreita, tendo em vista que uma alta ingestão desse elemento pode causar riscos a saúde (FAIRWEATHER-TAIT *et al.*, 2011).

2.6 Influência do selênio sobre o metabolismo antioxidativo e ação de pigmentos fotossintéticos

Em todos os tipos de células, as espécies reativas de oxigênio são geradas como um subproduto natural do metabolismo oxidativo na fase normal de vida das plantas. Sendo então necessário haver um equilíbrio para manter a função fisiológica adequada nos sistemas biológicos (DEVASAGAYAM *et al.*, 2004), e diminuir a produção de Espécies Reativas de Oxigênio (ERO) ou aumentar a quantidade de antioxidantes disponíveis que são representados por enzimas protetoras (ANDRADE *et al.*, 2010).

As plantas são como os outros organismos que, quando expostos a condições de tensão, desenvolvem mecanismos para tentar manter o equilíbrio. O sistema antioxidante endógeno das plantas é composto por enzimas. As enzimas do complexo antioxidante incluem a superóxido dismutase (SOD), glutatona peroxidase (GPX), catalase (CAT), peroxidase (POD), além das enzimas do ciclo ascorbato-glutationa incluindo ascorbato peroxidase (APX) (CHOMCHAN *et al.*, 2017).

Várias formas de estresse podem resultar no acúmulo de ERO nas plantas, incluindo frio, seca, luz alta, excesso de água, salinidade e metais pesados. A biofortificação com Se tem efeito principalmente sobre as atividades antioxidantes das plantas, pois, o Se é constituinte como parte essencial de enzimas. Além disso, o Se controla a produção e a eliminação das EROs em plantas, atuando diretamente como antioxidante por meio de moléculas que contêm Se em suas estruturas (FENG.; WEI; TU, 2013).

As propriedades antioxidantes do Se nas plantas têm sido estudadas há vários anos. Porém, sua essencialidade ainda não foi comprovada (ZHU *et al.*, 2009). Alguns autores já comprovaram o efeito benéfico do selênio em relação ao aumento de produtividade das culturas. Por exemplo, alto rendimento foi observado para trigo (LARA *et al.*, 2019) e cenoura (OLIVEIRA *et al.*, 2018), essas respostas podem ser associadas à maior atividade de enzimas no sistema antioxidante (LARA *et al.*, 2019).

Outros estudos têm demonstrado uma relação entre o papel do Se e uma possível tolerância aos efeitos negativos de diversos estresses ambientais, tais como seca (HASANUZZAMAN; HOSSAIN ; FUJITA, 2010), déficit hídrico (NAWAZ *et al.*, 2015) (ANDRADE *et al.*, 2018), e senescência (DJANAGUIRAMAN *et al.*, 2005). Estes autores comprovaram os efeitos benéficos do Se na manutenção da homeostase celular.

As plantas variam substancialmente em sua resposta fisiológica ao Se (TERRY *et al.*, 2000) e, quando se trata dos pigmentos fotossintéticos, níveis mais elevados de Se podem danificar o aparato fotossintético, inibir a fotossíntese e resultar na baixa produção de amido (ŁABANOWSKA *et al.*, 2012; VITOVA *et al.*, 2011; WANG *et al.*, 2012). Porém, em concentrações adequadas, o selênio pode causar aumentos na estrutura e funcionalidade do aparelho fotossintético e proteção do fotossistema II (FSII) (FENG *et al.*, 2015; SOUZA *et al.*, 2019).

Quando as plantas são submetidas a estresse ambiental, seus cloroplastos são danificados, levando à interrupção da fotossíntese. A restauração da fotossíntese em plantas estressadas, após a aplicação de Se, pode estar intimamente relacionada com os níveis reduzidos de ERO, a reativação de antioxidantes, estrutura restaurada dos cloroplastos danificados e aumento da produção de outros metabólitos vitais (FENG; WEI; TU, 2013).

REFERÊNCIAS

- AMORIM, E. P. *et al.* Caracterização de acessos de bananeira com base na concentração de compostos funcionais. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, p. 592-598, 2011.
- ANDRADE, E. *et al.* Consequências da produção das espécies reativas de oxigênio na reprodução e principais mecanismos antioxidantes. **Revista brasileira de reprodução animal**, Belo Horizonte, v. 34, p. 79-85, 2010.
- ANDRADE, F. R. *et al.* Selenium protects rice plants from water deficit stress. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, [S.l.], v. 164, p. 562-570, 2018.
- ANDRÉ, H. P. *et al.* Indicadores de insegurança alimentar e nutricional associados à anemia ferropriva em crianças brasileiras: uma revisão sistemática. **Ciência & Saúde Coletiva**, [S.l.], v. 23, p. 1159-1167, 2018.
- AQUINO, C. F. *et al.* Teores de minerais em polpas e cascas de frutos de cultivares de bananeira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 49, n. 7, p. 546-553, 2014.
- ASMAR, S. A. *et al.* Características morfofisiológicas de bananeiras ‘Grande Naine’ aclimatizadas em resposta a utilização de silício in vitro. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, n. 1, p. 73-82, 2013.
- BABALAR, M. *et al.* Effect of foliar application with sodium selenate on selenium biofortification and fruit quality maintenance of ‘Starking Delicious’ apple during storage. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, [S.l.], v. 99, p. 5149–5156, 2019.
- BANUELOS, G. S. *et al.* Selenium biofortification of broccoli and carrots grown in soil amended with Se-enriched hyperaccumulator *Stanleya pinnata*. **Food Chemistry**, [S.l.], v. 166, p. 603-608, 2015.
- BARROW, N. J.; WHELAN, B. R. Testing a mechanistic model. VIII. The effects of time and temperature of incubation on the sorption and subsequent desorption of selenite and selenate by a soil. **Journal of Soil Science**, [S.l.], v. 40, n. 1, p. 29-37, 1989.
- BOLDRIN, P. F. *et al.* Soil and foliar application of selenium in rice biofortification. **Journal of Food Composition and Analysis**, [S.l.], v. 31, p. 238-244, 2013.
- BOLDRIN, P. F. *et al.* Selenato e selenito na produção e biofortificação agrônômica com selênio em arroz. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 47, n. 6, p. 831-837, 2012.
- BORGES, C. V. *et al.* Characterisation of metabolic profile of banana genotypes, aiming at biofortified *Musa* spp. cultivars. **Food Chemistry**, [S.l.], v. 145, p. 496-504, 2014.
- BOYD, R. Selenium stories. **Nature Chemistry**, v. 3, p. 570, 06/23/online 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nchem.1076>. Acesso em: 23 nov. 2020.

- BROADLEY, M. R. *et al.* Biofortification of UK food crops with selenium. **Proceedings of the Nutrition Society**, [S.l.], v. 65, n. 2, p. 169-181, 2007.
- CALDAS, L. S.; HARIDASAN, P.; FERREIRA, M. E. Meios nutritivos. *In*: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Eds.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA, 1998. p.87-132.
- CARVALHO, G. *et al.* Selenium and mercury in Brazilian Cerrado soils and their relationships with physical and chemical soil characteristics. **Chemosphere**, [S.l.], v. 218, p. 412-415, 2019.
- CHOMCHAN, R.; SIRIPONGVUTIKORN, S.; PUTTARAK, P. Selenium bio-fortification: an alternative to improve phytochemicals and bioactivities of plant foods. **Functional Foods in Health and Disease**, [S.l.], v. 7, n.4, p. 263-279, 2017.
- D'HONT, A. *et al.* The banana (*Musa acuminata*) genome and the evolution of monocotyledonous plants. **Nature**, [S.l.], v. 488, p. 213-2019, 2012.
- DEVASAGAYAM, T. P. A. *et al.* Free Radicals and Antioxidants in Human Health: Current Status and Future Prospects. **The Journal of the Association of Physicians of India**, [S.l.], v. 52, p. 794-804, 2004.
- DJANAGUIRAMAN, M. *et al.* Selenium: an antioxidative protectant in soybean during senescence. **Plant and Soil**, [S.l.], v. 272, n. 1, p. 77-86, 2005.
- DOMOKOS-SZABOLCSY, E. *et al.* In vitro comparative study of two *Arundo donax* L. ecotypes' selenium tolerance. **International Journal of Horticultural Science**, [S.l.], v. 20, p. 119-122, 2014.
- EL MEHDAWI, A. F.; PILON-SMITS, E. A. H. Ecological aspects of plant selenium hyperaccumulation. **Plant Biology**, [S.l.], v. 14, n. 1, p. 1-10, 2012.
- FAIRWEATHER-TAIT, S. *et al.* Selenium in Human Health and Disease. **Antioxidants & redox signaling**, [S.l.], v. 14, p. 1337-1383, 2011.
- FARIA, R. A. N. *et al.* Influência da composição da matriz de encapsulamento de microbrotos de banana (*Musa* sp.) cv. Prata-Anã clone Gorutuba. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 36, n.2, p. 472-478, 2014.
- FENG, R.; WEI, C.; TU, M. The roles of selenium in protecting plants against abiotic stresses. **Environmental and Experimental Botany**, [S.l.], v. 87, p. 58-68, 2013.
- FENG, T. *et al.* Selenium improves photosynthesis and protects photosystem II in pear (*Pyrus bretschneideri*), grape (*Vitis vinifera*), and peach (*Prunus persica*). **Photosynthetica**, [S.l.], v. 53, 2015.
- FEDIRKO, V. *et al.* Association of Selenoprotein and Selenium Pathway Genotypes with Risk of Colorectal Cancer and Interaction with Selenium Status. **Nutrients**, [S.l.], v. 11, p. 935, 2019.

FERREIRA, K. S. *et al.* Concentrações de selênio em alimentos consumidos no Brasil. **Revista Panamericana de Salud Pública**, [S.l.], v. 11, n.3, p. 172-177, 2002.

FORDYCE, F. M. Selenium Deficiency and Toxicity in the Environment. **Essentials of Medical Geology**: Revised Edition, 2013. p. 375-416.

GRAHAM, R. D. *et al.* Nutritious Subsistence Food Systems. **Advances in Agronomy**, [S.l.], v. 92, p. 1-74, 2007.

GOIS, B. *et al.* Suplementação e alimentação adequada no contexto atual da pandemia causada pela COVID-19. **Desafios - Revista Interdisciplinar da Universidade Federal do Tocantins, Tocantis**, v. 7, p. 89-96, n. Supl. 2020.

GUILLIN, O. *et al.* Selenium, Selenoproteins and Viral Infection. **Nutrients**, [S.l.], v. 11, p. 2101, 2019.

HARTHILL, M. Review: Micronutrient Selenium Deficiency Influences Evolution of Some Viral Infectious Diseases. **Biological Trace Element Research**, [S.l.], v. 143, p. 1325-36, 2011.

HASANUZZAMAN, M.; HOSSAIN, M. A.; FUJITA, M. Selenium in Higher Plants: Physiological Role, Antioxidant Metabolism and Abiotic Stress Tolerance. **Journal of Plant Sciences**, [S.l.], v. 5, n.4, p. 354-375, 2010.

HAWKESFORD, M.; WANG, X. Strategies for increasing the selenium content of wheat. **Journal of Cereal Science**, [S.l.], v.46, p. 282-292, 2007.

HIRSCHI, K. D. Nutrient Biofortification of Food Crops. **Annual Review of Nutrition**, [S.l.], v. 29, n. 1, p. 401-421, 2009.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção Agrícola Municipal**. Rio de Janeiro: IBGE, 2018.

JIMÉNEZ, J. L. S.; BRIOSO, P. S. T. Surgery or surgical defoliation in Grand Naine banana in the control of black Sigatoka in the state of Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 40, n.5, p.e144, 2018.

KHALED, M. B.; BENAJIBA, N. The role of nutrition in strengthening immune system against newly emerging viral diseases: case of SARS-CoV-2. **The North African Journal of Food and Nutrition Reseach**, [S.l.], v. 04, p. 240-284, 2020.

LARA, T. S. *et al.* Selenium biofortification of wheat grain via foliar application and its effect on plant metabolism. **Journal of Food Composition and Analysis**, [S.l.], v. 81, p. 10-18, 2019.

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

- LIBRELON, S. S. *et al.* Diversidade genética de clones de bananeira 'Prata-Anã' (AAB) por meio de marcadores SSR. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 35, n.3, p. 809-817, 2013.
- LYONS, G. *et al.* Selenium concentration in wheat grain: Is there sufficient genotypic variation to use in breeding? **Plant and Soil**, [S.l.], v. 269, n. 1, p. 369-380, 2005.
- MAGGINI, S.; PIERRE, A.; CALDER, P. C. Immune Function and Micronutrient Requirements Change over the Life Course. **Nutrients**, [S.l.], v. 10, n. 10, p. 1531, 2018.
- MAIHARA, V. A. *et al.* Daily dietary selenium intake of selected Brazilian population groups. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, [S.l.], v. 259, n. 3, p. 465-468, 2004.
- MATOS, R. *et al.* Correlation between the natural levels of selenium and soil physicochemical characteristics from the Jequitinhonha Valley (MG), Brazil. **Journal of Geochemical Exploration**, [S.l.], v. 172, 2016.
- MÉPLAN, C.; HUGHES, D. The Role of Selenium in Health and Disease: Emerging and Recurring Trends. **Nutrients**, [S.l.], v. 12, p. 1049, 2020.
- NAWAZ, F. *et al.* Effect of selenium foliar spray on physiological and biochemical processes and chemical constituents of wheat under drought stress. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, [S.l.], v. 113, p. 191-200, 2015.
- NOMURA, E. S. *et al.* Aplicação de boro em bananeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 33, n.2, p. 608-617, 2011.
- OLIVEIRA, V. C. D. *et al.* Agronomic biofortification of carrot with selenium. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 42, n. 2, p. 138-147, 2018.
- PENG, Q. *et al.* Influence of Pak choi plant cultivation on Se distribution, speciation and bioavailability in soil. **Plant and Soil**, [S.l.], v. 403, n. 1, p. 331-342, 2016.
- PEREIRA, A.; MARASCHIN, M. Banana (*Musa* spp) from peel to pulp: Ethnopharmacology, source of bioactive compounds and its relevance for human health. **Journal of Ethnopharmacology**, [S.l.], v. 160, p. 149-163, 2015.
- PEZZAROSSA, B. *et al.* Effects of foliar and fruit addition of sodium selenate on selenium accumulation and fruit quality. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, [S.l.], v. 92, p. 781-6, 2012.
- POLANSKY, H.; LORI, G. Coronavirus (COVID-19), First Indication of Efficacy of Gene-Eden-VIR/Novirin in SARS-CoV-2 Infections. **International Journal of Antimicrobial Agents**, [S.l.], p. 105971, 2020.
- PRAUCHNER, C. A. **Importância do selênio para a agropecuária e saúde humana**. Santa Maria: UFSM, 2014. 376 p.

RAMOS, D. P. *et al.* Avaliação de genótipos de bananeira em Botucatu-SP. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 31, n.4, p. 1092-1101, 2009.

RAMOS, S. J. *et al.* Selenato e selenito na produção, nutrição mineral e biofortificação com selênio em cultivares de alface. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 35, p. 1347-1355, 2011.

RAMOS, S. J. *et al.* Selenium accumulation in lettuce germplasm. **Planta**, [S.l.], v. 233, n. 4, p. 649-660, 2011.

RAYMAN, M. P. The argument for increasing selenium intake. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 61, n. 2, p. 203-215, 2009.

RAYMAN, M. P. Selenium and human health. **The Lancet**, [S.l.], v. 379, n. 9822, p. 1256-1268, 2012.

REIS, H. *et al.* Agronomic biofortification of upland rice with selenium and nitrogen and its relation to grain quality. **Journal of Cereal Science**, [S.l.], v. 79, p. 508-515, 2018.

ROCHA, P. S. G. da *et al.* Uso de LEDs na multiplicação in vitro de três cultivares de bananeira. **Revista Colombiana de Ciências Hortícolas**, Colômbia, v. 11, n.2, p. 247-252, 2017.

RODRIGUES, F.; COSTA, F.; PASQUAL, M. Crescimento de bananeiras micropropagadas em função do substrato e adubo de liberação controlada. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, Santa Catarina, v. 18, n.1, p. 146-149, 2019.

RODRIGUES, F. E. *et al.* Genetic variability in clones of 'Prata Anã' bananas based on phenotypic and molecular markers. **Bragantia**, Campinas, v. 71, n.2, p. 182-189, 2012.

SALOMÃO, L. C. C. *et al.* Crescimento e produção da bananeira (*Musa* spp. AAB) 'Prata-Anã', oriunda de rizoma e micropropagada. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 63, n.3, p. 340-347, 2016.

SANTIAGO, F. E. M. *et al.* Influence of sulfur on selenium absorption in strawberry. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 40, e35015, 2018.

SILVA JUNIOR, E. C. *et al.* Natural variation of selenium in Brazil nuts and soils from the Amazon region. **Chemosphere**, [S.l.], v. 188, p. 650-658, 2017.

SILVA, S. D. O. E. *et al.* Melhoramento genético da bananeira: estratégias e tecnologias disponíveis. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 35, n.3, p. 919-931, 2013.

SORS, T. G.; ELLIS, D. R.; SALT, D. E. Selenium uptake, translocation, assimilation and metabolic fate in plants. **Photosynthesis Research**, [S.l.], v. 86, n. 3, p. 373-389, 2005.

SOUZA, A. F. C. *et al.* Selenium improves the transport dynamics and energy conservation of the photosynthetic apparatus of in vitro grown *Billbergia zebrina* (Bromeliaceae). **Photosynthetica**, [S.l.], v. 57, 2019.

SOUZA, O. *et al.* Biodegradação de resíduos lignocelulósicos gerados na bananicultura e sua valorização para a produção de biogás. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 14, n.4, p. 438-443, 2010.

SOUZA, A. F. C. **Efeito do selênio (Se) sobre o aparato fotossintético de *Billbergia zebrina* (Herbet) Lindley (Bromeliaceae) in vitro e sua ação atenuante frente ao estresse por zinco (Zn)**. 2018. 74 f. Dissertação (Mestrado em Biodiversidade tropical) - Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Tropical, Universidade Federal do Espírito Santo, Centro Universitário Norte do Espírito Santo, São Mateus, 2018.

TERRY, N. *et al.* Selenium in higher plants. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, [S.l.], v. 51, n. 1, p. 401-432, 2000.

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**, [S.l.], v. 182, n. 1, p. 49-84, 2009.

WHITE, P. J. *et al.* Selenium and its relationship with sulfur. **Sulfur in Plants An Ecological Perspective**, [S.l.], p. 225-252, 2007.

WHITE, P. J.; BROWN, P. H. Plant nutrition for sustainable development and global health. **Annals of Botany**, [S.l.], v. 105, n. 7, p. 1073-1080, 2010.

WISZNIEWSKA, A. *et al.* Rooting response of *Prunus domestica* L. microshoots in the presence of phytoactive medium supplements. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, [S.l.], v. 125, n. 1, p. 163-176, 2016.

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

ZHU, S. *et al.* Spraying foliar selenium fertilizer on quality of table grape (*Vitis vinifera* L.) from different source varieties. **Scientia Horticulturae**, [S.l.], v. 218, p. 87-94, 2017.

CAPÍTULO 2 SELÊNIO *IN VITRO* NA MICROPROPAGAÇÃO DE BANANEIRA

RESUMO

A bananeira é uma das frutíferas mais consumidas e comercializadas em todo o mundo. A propagação desta espécie é feita de forma tradicional, pelo uso de mudas convencionais ou por meio da micropropagação, que é uma alternativa rápida, livre de patógenos e permite a produção em larga escala. Além disso, ao cultivar plantas em meios de cultura, tem-se a possibilidade de enriquecer esse meio com elementos como o selênio, com intuito de biofortificar as mudas. Desta forma, objetivou-se avaliar o acúmulo de selênio, crescimento e características fisiológicas de mudas micropropagadas de bananeiras Prata Anã (Clone Gorotuba), produzidas com seis concentrações de selênio em plantas cultivadas *in vitro* e aclimatizadas, visando avaliar seu acúmulo e as características fisiológicas em bananeiras Prata Anã (Clone Gorotuba). O experimento foi disposto em DIC, com cinco repetições por tratamento, contendo seis tubos de ensaio por repetição. Foram avaliados no final do período experimental (30 dias), número de folhas, número de raízes, comprimento do broto, comprimento da raiz principal, ao final dos 30 dias, além dessas variáveis também foram avaliados, massa fresca e seca de parte aérea. Também foram avaliados a quantidade de enzimas catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD) e ascorbato peroxidase (APX), bem como a quantidade de pigmentos fotossintéticos e o acúmulo de selênio em cada tratamento. As plantas aclimatizadas, aos 90 dias foram avaliadas: número de folhas, comprimento e diâmetro dos brotos. A concentração intermediária de 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$ foi a mais indicada para a obtenção de plantas com maiores acúmulos de selênio, sem acarretar prejuízos em variáveis fitotécnicas e ainda gerando maior atividade fotossintetizante.

Palavras-chave: Clone Gorotuba. Cultura de tecidos. Enzimas, selenato de sódio.

ABSTRACT

Banana is one of the most consumed and commercialized fruits in the world. The propagation of this species is done in a traditional way, through the use of conventional seedlings or through micropropagation, which is a fast alternative, free of pathogens and allows for large-scale production. In addition, when growing plants in culture media, it is possible to enrich this medium with elements such as selenium, in order to nourish the seedlings. Thus, the objective of this study was to evaluate the effect of selenium (sodium selenate) at six concentrations (0, 10, 20, 30, 40 and 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$) on plants grown *in vitro* and acclimatized, in order to assess the accumulation and physiological characteristics of 'Prata Anã' banana (Clone Gorotuba). The experiment was arranged in CRD, with five replications per treatment, containing six tubes per replication. At the end of the experimental period (30 days), number of leaves, number of roots, shoot length and length of the main root were evaluated. In addition to these variables, fresh and dry shoot matter were also evaluated. The amount of enzymes catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD) and ascorbate peroxidase (APX) was also evaluated, as well as the amount of photosynthetic pigments and the accumulation of selenium in each treatment. Regarding the acclimatized plants, at 90 days, the following parameters were evaluated: number of leaves, shoot length and diameter. The intermediate concentration of 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$ was the most suitable for obtaining plants with greater accumulation of selenium, without causing losses in phytotechnical variables and still yielding greater photosynthetic activity.

Keywords: Clone Gorotuba. Tissue culture. Enzymes.

1 INTRODUÇÃO

A cultura da banana (*Musa spp.*) tem um importante papel socioeconômico, a fruta é a segunda mais consumida no mundo por todas as classes sociais. O Brasil é o quarto maior produtor mundial, com uma produção anual de aproximadamente 6,9 milhões de toneladas em uma área de 478 mil hectares (FAO, 2017). A banana é uma fruta de elevado valor nutricional e boa fonte energética, dispondo de alto teor de carboidratos – amido e açúcares. Contém ainda teores consideráveis de vitaminas A, B1 (tiamina), B2 (riboflavina) e C e de sais minerais como potássio, fósforo, cálcio, sódio e magnésio, além de outros em menor quantidade (ALCANTARA *et al.*, 2014; AQUINO *et al.*, 2014). Porém, o Se não faz parte da composição nutricional dos frutos de bananeira.

A principal forma de propagação das mudas de bananeira é a vegetativa, sendo que no sistema de produção comercial de banana é utilizada a micropropagação (SILVA *et al.*, 2018). Adicionalmente, tem-se o fato de que a micropropagação, em escala comercial, já é realidade em diversas regiões do mundo, com destaque para a Europa Ocidental, América do Norte, Ásia, Austrália e Israel (OLIVEIRA *et al.*, 2008). No Brasil, a bananeira é uma das frutíferas mais micropropagadas (COSTA *et al.*, 2016), pois essa técnica proporciona mudas saudáveis em larga escala e em pequeno espaço físico (CAMOLESI *et al.*, 2010). No entanto, pouco se sabe sobre o enriquecimento com Se durante a micropropagação e o efeito desse processo ao longo do crescimento e desenvolvimento das plantas.

O selênio (Se) é um nutriente essencial para o ser humano, sendo responsável por uma série de reações bioquímicas que aumentam a atividade antioxidante (RAYMAN, 2002). Além disso, esse elemento é componente de proteínas e aminoácidos importantes para o crescimento e funcionamento de células (PUCCINELLI, 2017).

A deficiência desse elemento em humanos pode prejudicar o sistema imunológico, funções cognitivas e pode estar relacionado a doenças do coração, Alzheimer, hipotireoidismo, problemas de fertilidade e câncer (COMBS, 1980; RAYMAN, 2012; CARDOSO *et al.*, 2015; LOPES *et al.*, 2017).

Mais recentemente, estudos buscam comprovar a ação do selênio na melhoria da imunidade, e, conseqüentemente, minimização dos efeitos da doença COVID-19 no organismo humano (GOIS *et al.*, 2020), atuando principalmente na defesa antioxidante do hospedeiro (GUILLIN *et al.*, 2019). Nesse sentido, pesquisas que visem o aumento da disponibilidade de Se na alimentação humana são de grande impacto social, nutricional e econômico.

O selênio pode ser suplementado na dieta humana por meio do consumo de alimentos ricos em Se em sua composição, como peixes, carnes, nozes, pão e cereais (FAIRWEATHER-TAIT *et al.*, 2011). Porém, muitas vezes, tais alimentos não estão à disposição da população carente, sendo estes mais suscetíveis à fome oculta. Nesse contexto, o enriquecimento de plantas utilizadas na alimentação básica, durante a fase de crescimento, com micronutrientes e vitaminas que aumentam a qualidade nutricional, pode ser um grande aliado no combate à desnutrição.

Tal processo é conhecido como biofortificação, podendo ser executada de duas formas: pelo melhoramento genético – biofortificação genética (convencional ou transgenia) ou pelo manejo da cultura – biofortificação agrônômica (VERGÜTZ *et al.*, 2016).

O enriquecimento agrônômico com Se é uma alternativa mais rápida de melhoria pontual da qualidade nutricional. Porém, o sucesso dessa técnica depende das concentrações de Se e propriedades físicas do solo, bem como da forma química de Se disponível (REIS *et al.*, 2014). Além disso, fatores fisiológicos e genéticos também interferem na capacidade da planta de absorver e acumular Se em partes comestíveis (LESSA *et al.*, 2019).

Já foi reportado na literatura, o enriquecimento de plantas com Se por meio da fertilização via solo, pulverização foliar/frutos ou pela aplicação em solução nutritiva (LOUREIRO *et al.*, 2018). Nesse trabalho, é utilizado um método diferenciado de enriquecimento de plantas utilizando a cultura de tecidos vegetais.

O enriquecimento por Se *in vitro* pode acelerar o processo de obtenção de plantas nutricionalmente superiores, uma vez que o controle das variáveis ambientais é muito mais eficiente, com menor exposição a fatores estressantes. Além disso, tecidos jovens podem ser mais eficientes na absorção e distribuição de minerais. Porém, o sucesso dessa técnica depende da espécie, de seu potencial de propagação *in vitro*, tanto técnica, quanto economicamente, e de sua importância na alimentação básica. Nesse cenário, a bananeira (*Musa spp.*) se encaixa como uma espécie promissora a ser enriquecida nutricionalmente.

Embora o Se não seja considerado essencial para as plantas (TERRY *et al.*, 2000; KÁPOLNA *et al.*, 2009), este elemento desempenha vários papéis-chave no seu desenvolvimento, que depende dos níveis aplicados ao meio de crescimento (solo ou água). Em concentrações mais baixas, o Se pode melhorar o crescimento das plantas, atuando como elemento benéfico, e em maiores concentrações, pode suprimir o crescimento e perturbar o seu metabolismo (NATASHA *et al.*, 2018).

Quando a concentração de Se se encontra em níveis adequados nas plantas, contribui para aumentar a taxa fotossintética (MADURAIMUTHU *et al.*, 2010), enquanto o excesso de Se pode agravar esse estresse e causar danos ao aparato fotossintético (FENG, 2013). Além disso, o selênio age como centro catalítico de proteínas no metabolismo celular das plantas (GUPTA; GUPTA, 2017) e regulam as atividades de enzimas como superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), ascorbato peroxidase (APX), importantes eliminadores de espécies reativas de oxigênio (EROs) e formam a primeira linha de defesa contra o estresse oxidativo (HERNÁNDEZ *et al.*, 2019).

Trabalhos envolvendo biofortificação de plantas geralmente são conduzidos e avaliados até a obtenção do produto final que é consumido como alimento. Nesse trabalho, foi avaliado o enriquecimento com Se na fase de produção de mudas *in vitro* de bananeira, utilizando uma técnica diferenciada, que permite uma avaliação mais rápida sobre o potencial de acumulação de Se pela espécie. O intuito é que, caso comprovado o acúmulo de Se até a fase de aclimatização sem comprometer o crescimento vegetal, seja possível produzir mudas com maior conteúdo de Se. Possivelmente, tal acúmulo refletirá em maior conteúdo de Se no fruto ou em qualquer outra parte do vegetal utilizada na alimentação.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material vegetal, cultivo *in vitro* e bioensaio com selênio

O experimento foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos da Universidade Federal de Lavras (UFLA), latitude 21°14' S, longitude 44°59' W, altitude 919 m e clima Cwa. Os explantes foram obtidos de plântulas de bananeira variedade Prata Anã (clone Gorutuba) provenientes da Embrapa Mandioca Fruticultura e foram cultivados em meio MS Murashige e Skoog (1962) semissólido, acrescido de 25 g L⁻¹ de sacarose e 6 g L⁻¹ de ágar e pH ajustado para 5,7 ± 0,1 antes da autoclavagem. Foram utilizados tubos de ensaio contendo 15 mL de meio de cultura.

Anteriormente a este experimento, foi realizado um pré-teste para definição das doses a serem usadas no experimento definitivo. Os tratamentos consistiram em duas fontes de selênio: selenato e selenito de sódio nas concentrações de 0, 25, 50, 75, 100 µmol. L⁻¹, com quatro repetições contendo dois tubos por repetição. A partir dos resultados obtidos no pré-teste, foram compilados os melhores resultados para definição dos tratamentos do experimento definitivo, sendo o selenito descartado devido à fitotoxicidade observada que ocasionou a morte das plântulas.

Os tratamentos do experimento definitivo consistiram na adição de selenato de sódio nas concentrações de 0, 10, 20, 30, 40 e 50 µmol. L⁻¹ de selênio, com cinco repetições contendo seis tubos por repetição.

O experimento foi disposto em delineamento inteiramente casualizado. Os tubos foram mantidos em sala de crescimento, com temperatura de 25 ± 1°C durante 30 dias.

Para a aclimatização das plantas, as mudas micropropagadas foram transferidas para casa de vegetação com sombrite de 50%, em temperatura ambiente, e irrigação sendo realizada manualmente uma vez ao dia. Foram utilizadas 10 plântulas de cada tratamento, acondicionadas em bandejas contendo substrato comercial Plantmax®, as plantas permaneceram neste ambiente por 90 dias.

2.2 Características avaliadas

Foram avaliados no final do período experimental *in vitro* (30 dias), número de folhas, número de raízes por contagem, comprimento do broto e comprimento da raiz principal com auxílio de uma régua, massa fresca e seca de parte aérea em balança analítica. Também foram

avaliados após 90 dias de aclimatização: número de folhas, comprimento e diâmetro das mudas, medindo com paquímetro digital.

As análises de selênio foram realizadas no laboratório de Geoquímica do Departamento de Solos/UFLA. Os teores de selênio nas plântulas de bananeira cultivadas *in vitro* foram determinados aos 30 dias de idade, e nas plantas aclimatizadas em casa de vegetação aos 90 dias de idade. Foi utilizado 100 mg de massa seca que formaram extratos após digestão ácida, executada por meio de um concentrado de HNO₃ e vasos fechados em forno de micro-ondas de acordo com o método 3051A da Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos - USEPA (USEPA, 2007).

O conteúdo de selênio nas soluções digeridas foi medido utilizando-se um espectrômetro de absorção atômica em forno de grafite (Espectrometria de Absorção Atômica com correção de fundo de Zeeman e lâmpada de EDL para Se; AAnalyst™ 800 AAS, Perkin Elmer). A curva de calibração para a medição de Se foi obtida a partir de uma solução padrão com 1 g kg⁻¹ de Se ($\geq 98\%$ de pureza, Fluka, Buchs, Suíça).

Para garantia de qualidade e controle na medição de Se, um material de referência padrão do Instituto de Materiais de Referência e Medidas (White Clover - BCR 402, IRMM, Geel, Bélgica) e uma amostra em branco foram incluídos em cada lote de digestão. O valor médio de recuperação obtido para o material padrão foi de $96,78 \pm 1,88\%$ (n = 13).

Foram realizadas análises enzimáticas e de pigmentos fotossintéticos apenas para as plantas com 30 dias de idade após cultivo *in vitro*.

Para avaliar as atividades enzimáticas, as folhas de bananeira das plântulas foram coletadas e imediatamente acondicionadas em nitrogênio líquido e mantidas congeladas a -80 °C até a análise das atividades das enzimas antioxidantes. No momento das análises 0,2 g de tecido foliar fresco foram homogeneizados em 1,5 mL de tampão de extração (fosfato de potássio 0,1 mol L⁻¹, pH 7,8, EDTA 0,1 mmol L⁻¹, pH 7,0, ácido ascórbico 0,01 mol L⁻¹ e 22 mg de polivinilpolipirrolidona - PVPP) em almofariz e pilão, pré-refrigerados com nitrogênio líquido, segundo Biemelt et al. (1998). Em seguida, a suspensão foi centrifugada a 13.000 g por 10 min a 4 °C e o sobrenadante foi coletado para análise da atividade enzimática, avaliando-se as seguintes atividades enzimáticas: (SOD) (GIANNOPOLITIS; RIES, 1977), catalase (CAT) (HAVIR; MCHALE, 1987) e ascorbato peroxidase (APX) (NAKANO; ASADA, 1981).

Foram utilizadas 3 repetições em triplicatas para cada tratamento, e as leituras realizadas em espectrometria com placa de Elisa.

Os pigmentos fotossintéticos analisados foram clorofila a, clorofila b e carotenoides. A extração foi realizada, conforme metodologia descrita por Lichtenthaler e Buschmann (2001). As análises foram realizadas no Laboratório de Cultura de Tecidos (Departamento de Agricultura/UFLA).

Para a extração dos pigmentos, foram pesados 0,1g de matéria fresca das folhas de bananeira das plântulas e homogeneizadas com 5 mL de acetona 80% (v/v), filtrados em lã de vidro, completando-se o volume para 10 mL de acetona 80%. Imediatamente após este procedimento, foi realizada a leitura da absorbância a 663,2 nm, 646,8 nm e 470nm. Todo o procedimento foi realizado no escuro para evitar a degradação das clorofilas. Os teores clorofila e carotenoides foram calculados seguindo as equações: clorofila a $[(12,25 \times A_{663,2}) - (2,79 \times A_{646,8})]$; clorofila b $[(21,5 \times A_{646,8}) - (5,1 \times A_{663,2})]$; clorofila total (a+b) e carotenoides $[\{(1000 \times A_{470}) - (1,82 \times A_{663,2}) - (85,02 \times A_{646,2})\}/198]$, sendo os resultados expressos em mg de pigmento por g de massa fresca de tecido das folhas. Foram utilizadas 3 repetições em triplicatas para cada tratamento.

2.3 Análise estatística

O método empregado para testes de média foi a análise de variância ($P < 0,05$) dos modelos de regressão (linear e quadrática) para concentração de selenato em laboratório e em casa de vegetação. Utilizou-se o software RStudio (2012). Os gráficos apresentados são suavizações de regressão local (LOWESS -Locally Weighted Scatterplot Smoothing) (CHAMBERS; HASTIE, 1991).

3 RESULTADOS

Para as variáveis de crescimento das plântulas *in vitro*: comprimento de broto, massa fresca e teor de selênio na massa fresca e seca, houve diferença significativa entre as concentrações de selenato com ajuste linear. Já para o comprimento de raiz foi observado ajuste quadrático (TABELA 1, APÊNDICE A). Não houve diferença significativa para as variáveis: número de folhas (p-valor: 0,7863) e número de raízes (p-valor: 0,2894).

Em relação às plantas que estavam na fase de aclimatização em casa de vegetação por 90 dias, foram avaliadas as seguintes variáveis de crescimento: altura (p-valor: 0,2517) e número de folhas (p-valor: 0,4150) que não apresentaram diferenças significativas. Já para diâmetro com ajuste quadrático, e teor de selênio na massa fresca e seca com ajuste linear, houve diferença entre as doses de selênio (TABELA 2, APÊNDICE A).

Na análise sequencial dos caracteres com diferença significativa foi realizado o teste t para indicar o aumento ou diminuição das concentrações de selenato e interações. Os valores do intercepto em cada modelo linear representam a média geral de cada variável somado ao efeito do somatório dos fatores ($\sum_i^k r_i=0$). Os valores das estimativas dos efeitos dos fatores ou associação deste, para t, em cada variável significativa pelo teste F, conforme Tabela 1, representam ganho ou redução da variável resposta quando se aumentava as doses da menor para a dose imediatamente superior.

Na Tabela 1 pode-se observar que, para comprimento do broto (CB) e comprimento de raiz (CR) foi observado um efeito negativo. Já para o teor de Se na massa seca foi observado efeito positivo em relação às doses de selênio.

Tabela 1 - Resumo das estimativas do modelo e teste t associados para comparação entre médias de tratamentos para as variáveis de crescimento: comprimento de brotos (CB), comprimento de raiz (CR), massa fresca (MF), teor de selênio na massa fresca e teor de selênio na massa seca de mudas de bananeiras variedade Prata Anã (clone Gorutuba) aclimatizadas.

Comprimento de Brotos (CB)				
FV	Estimativa	Erro padrão	t-valor	Pr(> t)
(Intercepto)	6,5542	0,31745	20,647	<2x10 ⁻¹⁶ **
I(D)	-0,02888	0,02986	-0,967	0,337
I(D ²)	-0,00017	0,00057	-0,299	0,766
Comprimento de Raiz (CR)				
FV	Estimativa	Erro padrão	t-valor	Pr(> t)
(Intercepto)	3,62334	0,10913	33,202	< 2x10 ⁻¹⁶ **
I(D)	0,01820	0,01026	1,773	0,08154
I(D ²)	-0,000792	0,00019	-4,023	0,00017**
Massa Fresca (MF)				
FV	Estimativa	Erro padrão	t-valor	Pr(> t)
(Intercepto)	0,4110	0,10957	8,589	3.33x10 ⁻⁹ **
I(D)	0,00785	0,01030	0,762	0,452
I(D ²)	-0,00030	0,00019	-1,526	0,139
Teor de Se (MF)				
FV	Estimativa	Erro padrão	t-valor	Pr(> t)
(Intercepto)	-5,505x10 ⁻¹	4,280x10 ⁻¹	-1,286	0,289
I(D)	4,657x10 ⁻²	4,026x10 ⁻²	1,157	0,331
I(D ²)	6,605x10 ⁻⁵	7,729x10 ⁻⁴	0,085	0,937
Teor de Se (MS)				
FV	Estimativa	Erro padrão	t-valor	Pr(> t)
(Intercepto)	2,91803	0,19272	15,141	0,00062**
I(D)	0,07826	0,01812	4,317	0,02289*
I(D ²)	-0,00064	0,00034	-1,861	0,15966

*Significativo a 5% de probabilidade pelo teste T.

**Significativo a 1% de probabilidade pelo teste T.

Fonte: Da autora (2020).

Por meio da análise visual, é possível observar o comportamento do crescimento das plantas de bananeira sob diferentes concentrações de selenato de sódio in vitro (FIGURA 1). Com o aumento da dose de Se, houve uma redução no desenvolvimento das plântulas, com menor comprimento de parte aérea e raiz.

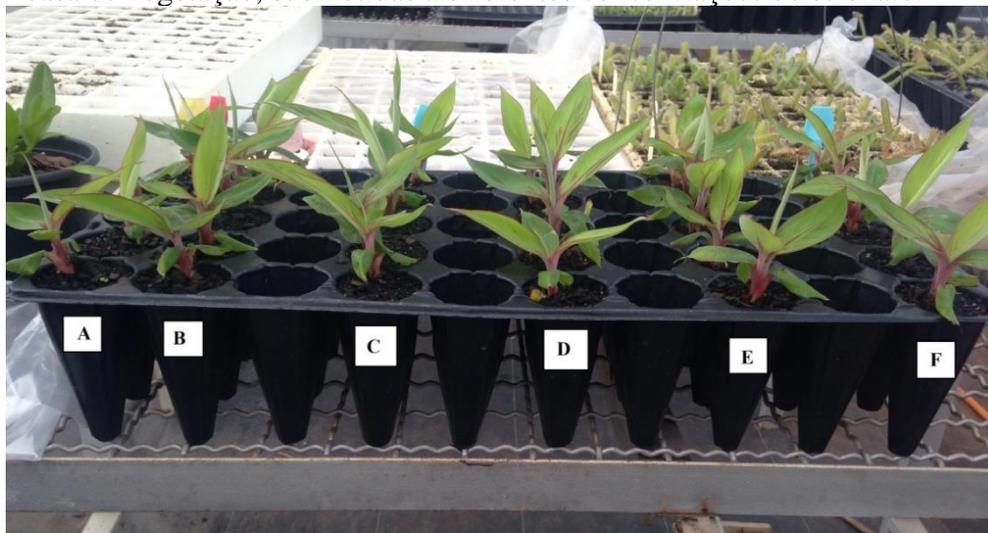
Figura 1 - Plântulas de bananeira variedade Prata Anã (Clone Gorotuba) aos 30 dias de cultivo *in vitro*, submetidos a diferentes concentrações de selenato.



A: testemunha, B: $10\mu\text{mol L}^{-1}$, C: $20\mu\text{mol L}^{-1}$, D: $30\mu\text{mol L}^{-1}$, E: $40\mu\text{mol L}^{-1}$, F: $50\mu\text{mol L}^{-1}$.
Fonte: Da autora (2020).

Após 90 dias em casa de vegetação as plantas que receberam o selênio estavam bem desenvolvidas e com várias folhas, é possível observar que a testemunha representada pela letra (A) estava com o crescimento mais alongado quando comparado às demais (FIGURA 2).

Figura 2 - Plântulas de bananeira Prata Anã (Clone Gorotuba) aos 90 dias de aclimatização em casa de vegetação, submetidas a diferentes concentrações de selenato.



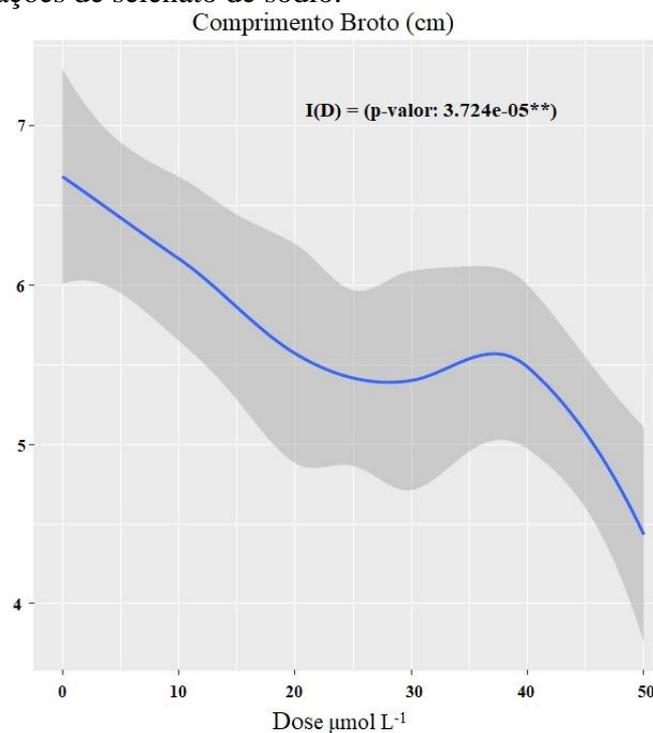
A: testemunha, B: $10\mu\text{mol L}^{-1}$, C: $20\mu\text{mol L}^{-1}$, D: $30\mu\text{mol L}^{-1}$, E: $40\mu\text{mol L}^{-1}$, F: $50\mu\text{mol L}^{-1}$.
Fonte: Da autora (2020).

Nas Figuras 3, 4, 5 e 6 são representados pelas áreas hachuradas, o intervalo com 95% de confiança para os caracteres avaliados em cada gráfico. Na Figura 3 é possível visualizar a média do comprimento das plântulas de bananeira nas diferentes doses. Com o uso de menores doses de selenato $10\mu\text{mol L}^{-1}$, obteve-se maiores comprimento de brotos. É importante

ressaltar, que as plantas do tratamento controle obtiveram valores maiores que os tratamentos que continham selenato, mas o crescimento das plantas ainda foi expressivo mesmo na presença do elemento sem apresentar grandes prejuízos.

No entanto pode-se, desta forma, inferir que o selênio é benéfico, do ponto de vista do crescimento de plantas em menores quantidades.

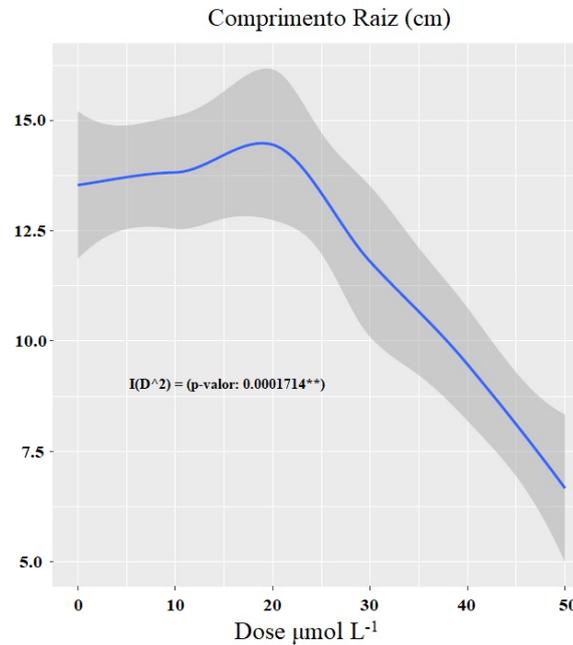
Figura 3 - Intervalo com 95% de confiança para média do comprimento de plântulas de bananeira Prata Anã (Clone Gorotuba), cultivadas *in vitro* com diferentes concentrações de selenato de sódio.



Fonte: Da autora (2020).

Para o comprimento de raiz, as doses de 10 µmol L⁻¹ e 20 µmol L⁻¹ foram as que apresentaram melhores resultados, sendo observado um decréscimo acentuado para as doses seguintes, ou seja, quanto maior a dose ministrada, menor o desenvolvimento das raízes (FIGURA 4).

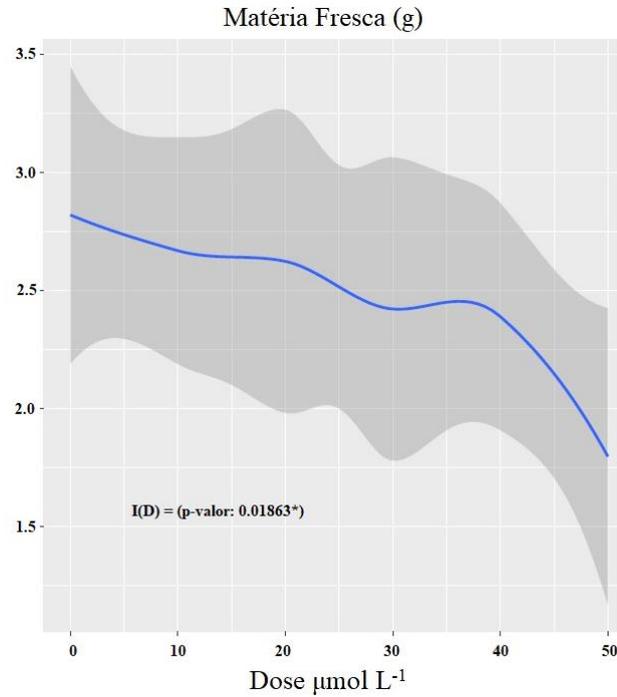
Figura 4 - Intervalo com 95% de confiança para média do comprimento da raiz de plântulas de bananeira Prata Anã (Clone Gorotuba), cultivadas *in vitro* sob diferentes concentrações de selenato de sódio.



Fonte: Da autora (2020).

Pela Figura 5 pode-se observar o comportamento da massa fresca, sendo que as menores doses apresentaram maiores valores, com decréscimo a partir da dose de $30 \mu\text{mol L}^{-1}$ e a maior dose de $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ foi responsável pelo menor valor de massa seca.

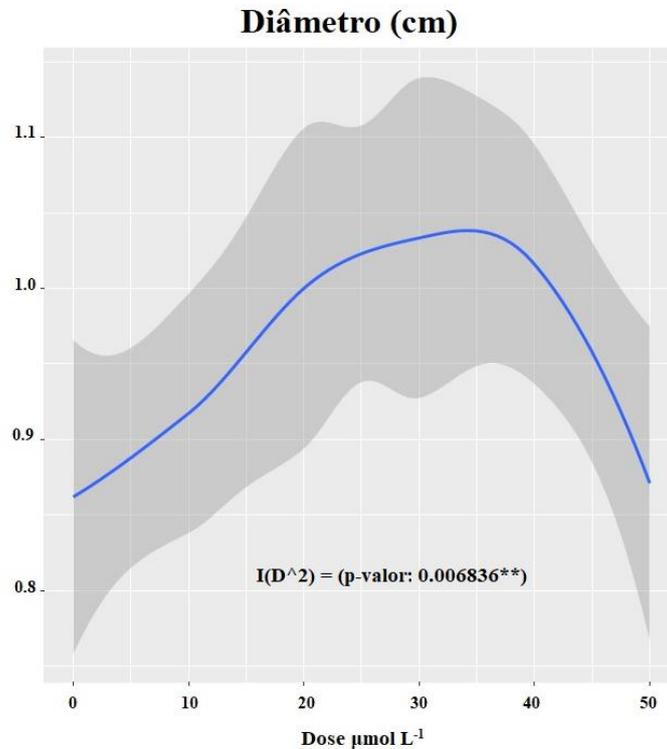
Figura 5 - Intervalo com 95% de confiança para média da massa fresca de plântulas de bananeira Prata Anã (Clone Gorotuba) cultivadas *in vitro* sob diferentes concentrações de selenato de sódio.



Fonte: Da autora (2020)

Em relação aos caracteres de crescimento, para as plantas que se encontravam em aclimatização, apenas o diâmetro teve efeito significativo. E, como foi observado para as plantas que estavam em laboratório, os melhores resultados foram para as doses intermediárias (FIGURA 6), sendo que a maior dose ocasionou prejuízos em relação ao diâmetro da muda.

Figura 6 - Intervalo com 95% de confiança para média do diâmetro do coleto de mudas de bananeiras Prata Anã (Clone Gorotuba), aclimatizadas em casa de vegetação após 90 dias, sob diferentes concentrações de selenato de sódio.



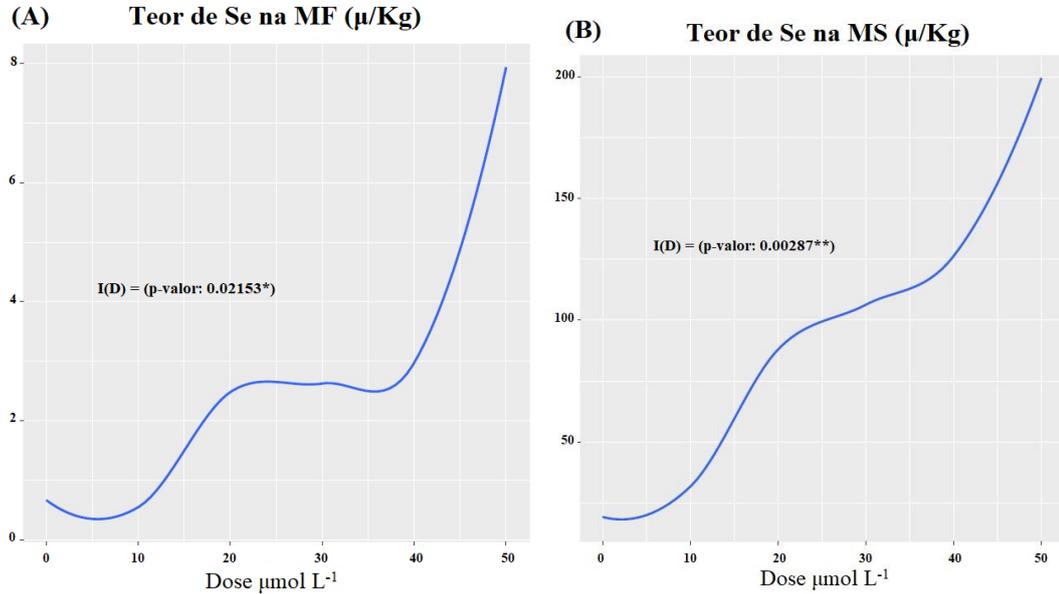
Fonte: Da autora (2020).

Pela Figura 7 verifica-se o teor de selênio em relação à massa fresca e massa seca. Por meio da análise desse gráfico é possível definir uma dose que ao mesmo tempo proporcione o completo desenvolvimento das plântulas e um maior acúmulo do elemento em estudo.

Tanto massa fresca, quanto para massa, seca foi observado um acúmulo crescente, sendo que na maior dose ($50 \mu\text{mol L}^{-1}$) obteve maior acúmulo de selênio, porém, é importante associar essa informação aos resultados das características fitotécnicas, pois essas maiores doses não podem prejudicar o desenvolvimento das plântulas.

Fazendo essa associação entre acúmulo de selênio e características fitotécnicas, observa-se que as doses intermediárias como a de $20 \mu\text{mol L}^{-1}$, foram as que apresentaram melhores resultados de ambos os pontos de vista. Assim, plantas com maiores acúmulos, ou seja, que receberam selênio em excesso, têm o seu crescimento e o desenvolvimento retardados, quando comparadas com plantas que receberam menores doses de selênio.

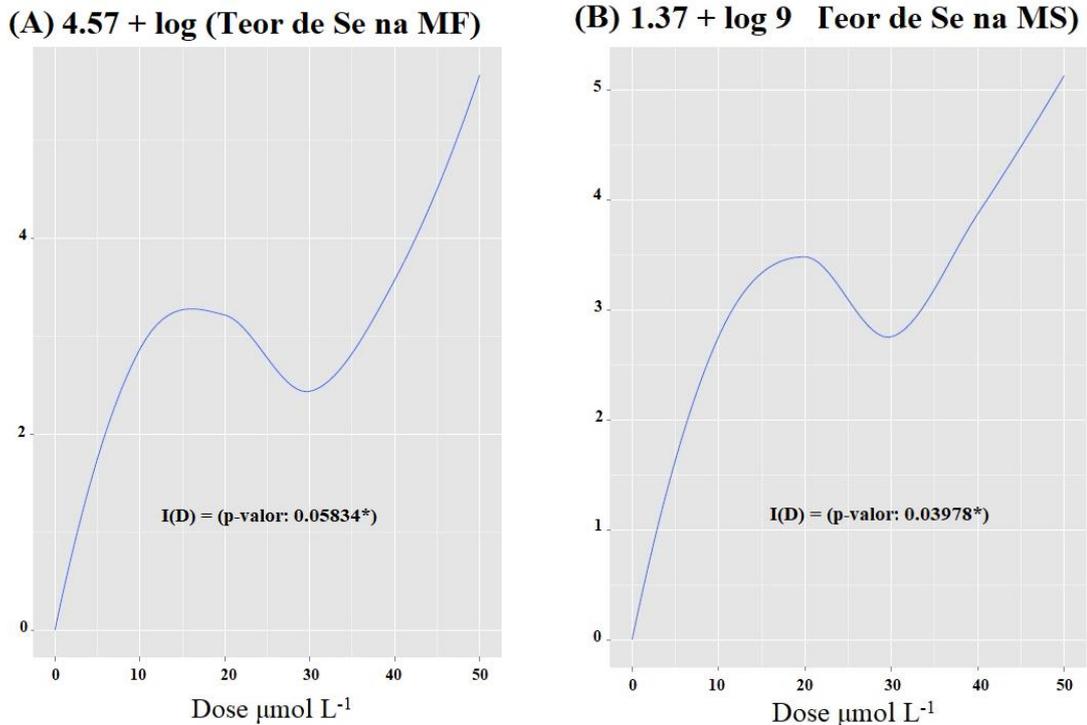
Figura 7 - Média do teor de selênio (A) na massa fresca MF e (B) na massa seca MS em plântulas de bananeiras Prata Anã (Clone Gorotuba) cultivadas in vitro com adição selenato de sódio.



Fonte: Da autora (2020).

O teor de Se em plantas aclimatizadas em casa de vegetação, teve um comportamento crescente em relação ao aumento da dose (FIGURA 8) apenas um decréscimo na dose 30 µmol L⁻¹. É importante fazer um paralelo com as características de crescimento, pois apesar das plantas estarem acumulando mais Se, prejuízos podem ser notados do ponto de vista fitotécnico. Desta forma, a concentração 20 µmol L⁻¹ parece ser a mais interessante também em casa de vegetação, resultando em diâmetro e teor consideráveis.

Figura 8 - Teor de selênio (A) na massa fresca e (B) na massa seca em mudas de bananeiras Prata Anã (Clone Gorotuba) com adição selenato de sódio aclimatizadas em casa de vegetação após 90 dias.



Fonte: Da autora (2020)

Em relação à quantificação de selênio, as plântulas em laboratório apresentam maiores valores desse elemento, quando comparadas às plantas que estava em casa de vegetação (TABELA 2). Houve alta diluição desse elemento de acordo com o crescimento e desenvolvimento das plantas. Dessa forma, visado o processo de biofortificação, e posteriormente, a obtenção de frutos com quantidade de selênio proveniente da muda, o processo de micropropagação não seria eficiente. É importante ressaltar que após as plantas serem trocadas de ambiente, não receberam suplementação da fonte de selênio, ou seja, o elemento absorvido *in vitro*, permaneceu presente em sua estrutura, porém, em quantidades bastante reduzidas.

Tabela 2 - Acúmulo de selênio na massa seca em plantas de bananeiras Prata Anã (Clone Gorotuba) cultivadas *in vitro* e 90 dias após aclimatização em casa de vegetação ($\mu\text{g}/\text{kg MS}$).

Tratamentos	Plantas em cultivo <i>in vitro</i>	Plantas em fase de aclimatização
0	19,15	0,25
10	31,63	3,99
20	88,01	8,26
30	106,35	3,99
40	126,34	12,98
50	199,50	42,86

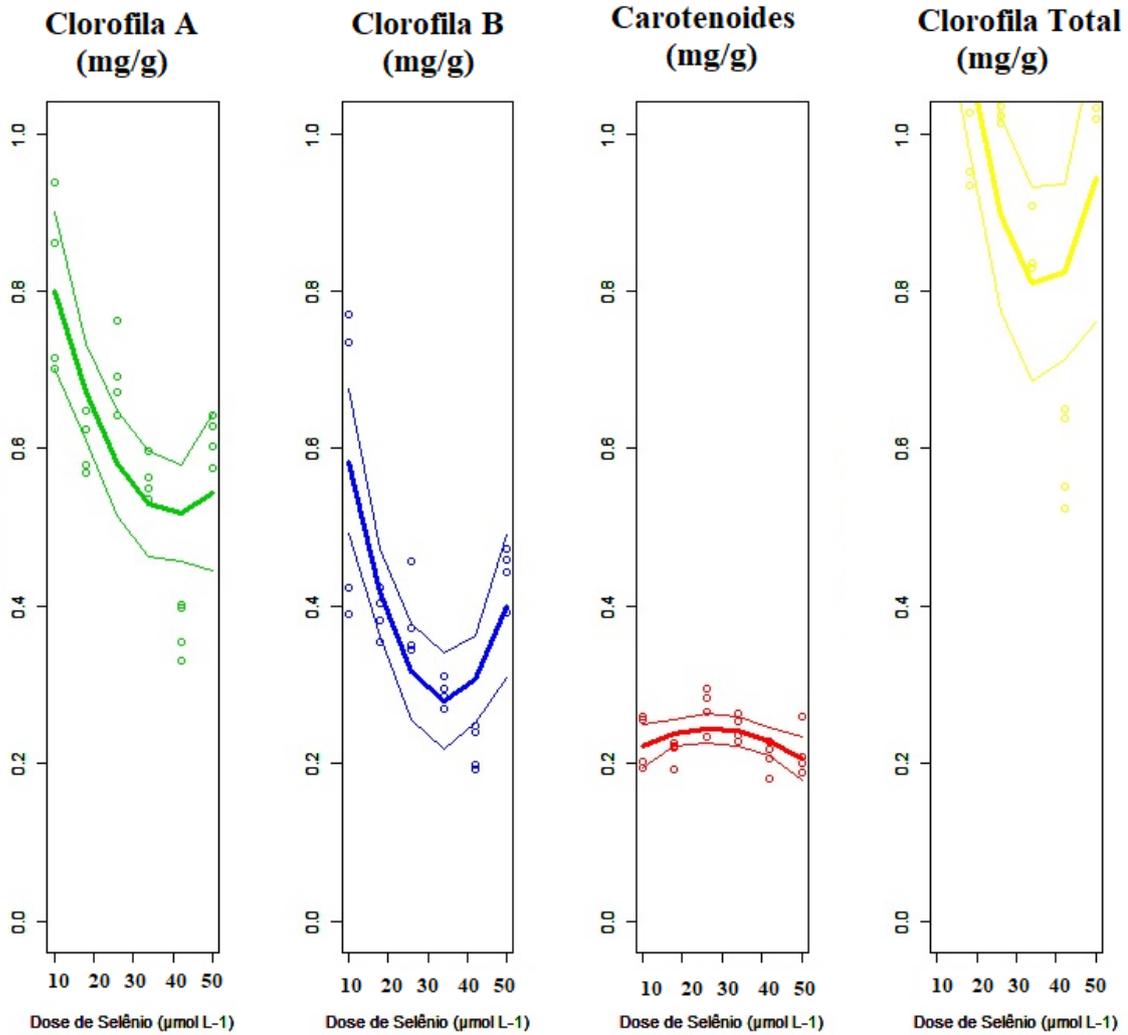
Fonte: Da autora (2020).

As plantas de bananeiras não tratadas foram caracterizadas por uma baixa concentração de selênio em suas folhas em laboratório e casa de vegetação, representando 19,15 e 0,25 $\mu\text{g}/\text{Kg}^{-1}$ de MS respectivamente (TABELA 2). No entanto, ao usar 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de selênio, a concentração de selênio nas folhas aumentou 1,65 vezes (pela aplicação de selênio no cultivo *in vitro*) e 15,96 vezes (na fase de aclimatização). O uso de doses mais altas (40 e 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$) de selênio contribuiu para um aumento significativo na concentração deste elemento nas folhas de bananeira. Pela adição de selênio em laboratório, seu nível nas folhas foi 4,6 vezes maior em relação as plantas que estavam em casa de vegetação nas mesmas doses de selênio.

O complexo enzimático antioxidante foi avaliado apenas para as plântulas que se encontraram *in vitro*, sendo que não houve diferença significativa, para as três enzimas avaliadas. Já em relação aos pigmentos fotossintéticos, o comportamento da clorofila a, b e total, foi semelhante, sendo o tratamento de 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ o melhor resultado com aumento da clorofila nas maiores doses, diferindo do comportamento para carotenoides, em que o tratamento de 30 $\mu\text{mol L}^{-1}$ apresentou valores mais elevados.

Observou-se ajuste aos modelos quadráticos suaves para as clorofilas, decrescentes e com leve curvatura para cima. Ao passo que se viu um modelo praticamente estável para carotenoides com a dose de selênio (FIGURA 9).

Figura 9 - Pigmento fotossintético: clorofila *a* (verde), *b* (azul), total (amarelo) e carotenoides (vermelho) em plantas de bananeiras Prata Ana (Clone Gorotuba) cultivadas *in vitro* com adição selenato de sódio.



Fonte: Da autora (2020).

4 DISCUSSÃO

O aumento das concentrações de Se no meio, causou uma redução progressiva no comprimento das plantas, comprimento de raízes, bem como um declínio significativo da massa seca. No entanto, em baixas concentrações de Se exerceu efeitos benéficos nas plantas do ponto de vista do crescimento, sabe-se que o selênio interfere no metabolismo da xiloglucana e afeta o processo de expansão celular nas plantas e, conseqüentemente, seu crescimento (EKLÖF; BRUMER, 2010 ; RIBEIRO *et al.*, 2016 ; ZHOU *et al.*, 2018).

Efeito semelhante foi observado por Hawrylak-Nowak (2013) em plantas de alface em condições hidropônicas. O autor verificou efeito deletério nas maiores doses de selênio nas raízes, brotações e área foliar. Assim como Domokos-Szabolcsy *et al.* (2014), que testaram a tolerância de nano selênio elementar vermelho e o selenato em dois ecótipos de cana gigante, sendo que o ecotipo Blossom apresentou sintomas tóxicos a partir de 20 mg L⁻¹ de selênio. Como também Dall'acqua *et al.* (2019), em seus estudos, também observaram que concentrações mais altas como 40 µM foram associados a um declínio na biomassa foliar.

O selênio pode trazer benefícios em relação a qualidade das mudas, tanto do ponto de vista fitotécnico, quanto da proteção de plantas. Estudos mostraram que o Se em doses baixas protege as plantas de estresses abióticos (FENG *et al.*, 2013). Os efeitos do Se no crescimento das plantas podem ser atribuídos principalmente à função antioxidante do Se, mediada por selenoproteínas, esses compostos protegem as plantas dos danos causados pela oxidação (SOUZA *et al.*, 2019).

Por meio da análise das assinaturas espectrais e espectroscopia no infravermelho Sharma e Uttam (2020) descreveram o papel do selênio na modulação da estrutura da parede celular e das membranas de mudas de trigo, relatando que o Se em maiores quantidades altera significativamente a composição bioquímica relacionada às paredes celulares e membranas de folhas das mudas de trigo, como na composição de celulose, hemicelulose, pectina, lignina, aminoácidos, proteínas e lipídios, diminuindo-os. Assim, destaca-se que o uso desse elemento deve ser recomendado em menores quantidades para promover mudas de qualidade.

A atividade dos pigmentos fotossintéticos também foi melhor em menores concentrações de selenato, assim, é importante ressaltar que a presença do selênio nas plantas desempenha um papel fundamental na proteção das plantas. Principalmente contra estresses bióticos e abióticos, resultando em muitos benefícios, por exemplo, aparato fotossintético aprimorado (NATACHA *et al.*, 2018), e essas modificações podem indicar a plasticidade

adaptativa das espécies a essas condições (PACHECO *et al.*, 2013). Djanaguiraman *et al.* (2005) observaram que baixas concentrações de Se aumentam o conteúdo de clorofilas em plantas de soja, corroborando com os resultados desse trabalho. Assim como Silva *et al.* (2020), observaram para a cultura do feijão caupi, que o selênio, quando aplicado a uma taxa de 2,5 g ha⁻¹ (menores doses) sob a forma de selenato de sódio, proporcionou um aumento notável nas concentrações de pigmentos, para clorofila *a* e *b*, clorofila total e carotenóides.

De forma geral, as atividades enzimáticas avaliadas neste estudo para superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e peroxidase do ascorbato (APX), não apresentaram sensibilidade ao selênio. Resultados semelhantes foram observados por (RAMOS *et al.*, 2011) em germoplasmas de alfaces onde as atividades de APX, CAT e GSH-Px não mostraram significância diferença na resposta ao tratamento com selenato e selenito. Em avaliação da biofortificação em grãos de trigo via foliar (LARA *et al.*, 2019) verificou aumento da atividade APX sendo influenciado pela presença de Se. No entanto, a CAT e a SOD mostraram sem sensibilidade a Se.

5 CONCLUSÕES

A concentração de $20 \mu\text{mol L}^{-1}$ foi a mais indicada para a obtenção de plantas em relação aos acúmulos de selênio, sem acarretar prejuízos em variáveis fitotécnicas e atividade fotossintetizante em mudas micropropagadas de bananeira.

REFERÊNCIAS

- ALCANTARA, B.; CASTILHO, L.; CLEMENTE, E. Desenvolvimento e análise físico-química da farinha da casca, da casca in natura e da polpa de banana verde das cultivares maçã e prata. **Revista e-xacta**, [S.l.], v. 7, n.2, p. 107-114, 2014.
- AQUINO, C. F. *et al.* Teores de minerais em polpas e cascas de frutos de cultivares de bananeira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 49, n. 7, p. 546-553, 2014.
- CAMOLESI, M. R. *et al.* Enraizamento in vitro de mudas micropropagadas de bananeira (*Musa sp.*) em diferentes meios de cultivo. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 34, p. 1446-1451, 2010.
- CARDOSO, B. R. *et al.* Selenium, selenoproteins and neurodegenerative diseases. **Metallomics**, [S.l.], v. 7, n. 8, p. 1213-1228, 2015.
- CHAMBERS, J. M.; HASTIE, T. J. **Statistical Models in S**. Taylor & Francis, 1991.
- COSTA, A. M. *et al.* Cultivo in vitro da bananeira Prata Anã clone Gorutuba, em meio líquido, agitado e estacionário. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 63, p. 277-284, 2016.
- DALL'ACQUA, S. *et al.* Selenium Biofortification Differentially Affects Sulfur Metabolism and Accumulation of Phytochemicals in Two Rocket Species (*Eruca Sativa* Mill. and *Diplotaxis Tenuifolia*) Grown in Hydroponics. **Plants**, [S.l.], v. 8, n. 3, p. 68, 2019.
- DJANAGUIRAMAN, M. *et al.* Selenium: an-antioxidative protectant in soybean during senescence. **Plant and Soil**, [S.l.], v. 272, n. 1/2, p. 77-86, 2005.
- DOMOKOS-SZABOLCSY, E. *et al.* In vitro comparative study of two *Arundo donax* L. ecotypes' selenium tolerance. **International Journal of Horticultural Science**, [S.l.], v. 20, p. 119-122, 2014.
- EKLÖF, J. M.; BRUMER, H. The XTH gene family: an update on enzyme structure, function, and phylogeny in xyloglucan remodeling. **Plant physiology**, [S.l.], v. 153, n. 2, p. 456-466, 2010.
- FAIRWEATHER-TAIT, S. *et al.* Selenium in Human Health and Disease. **Antioxidants & redox signaling**, [S.l.], v. 14, p. 1337-83, 2011.
- FENG, R.; WEI, C.; TU, M. The roles of selenium in protecting plants against abiotic stresses. **Environmental and Experimental Botany**, [S.l.], v. 87, p. 58-68, 2013.
- FAO. Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação. FAOSTAT. Roma: FAO, 2017.
- GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxide dismutases: I. Occurrence in higher plants. **Plant physiology**, [S.l.], v. 59, n. 2, p. 309-314, 1977.

GOIS, B. *et al.* Suplementação e alimentação adequada no contexto atual da pandemia causada pela COVID-19. **Desafios - Revista Interdisciplinar da Universidade Federal do Tocantins, Tocantins**, v. 7, p. 89-96, n. Supl. 2020.

GUILLIN, O. *et al.* Selenium, Selenoproteins and Viral Infection. **Nutrients**, [S.l.], v. 11, p. 2101, 2019.

GUPTA, M.; GUPTA, S. An Overview of Selenium Uptake, Metabolism, and Toxicity in Plants. **Frontiers in Plant Science**, [S.l.], v. 7, p. 2074-2074, 2017.

HAVIR, E. A.; MCHALE, N. A. Regulation of catalase activity in leaves of *Nicotiana sylvestris* by high CO₂. **Plant Physiology**, [S.l.], v. 89, n. 3, p. 952-957, 1989.

HAWRYLAK-NOWAK, B. Comparative effects of selenite and selenate on growth and selenium accumulation in lettuce plants under hydroponic conditions. **Plant Growth Regulation**, [S.l.], v. 70, n. 2, p. 149-157, June 01 2013.

HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ, H. *et al.* Impact of Selenium and Copper Nanoparticles on Yield, Antioxidant System, and Fruit Quality of Tomato Plants. **Plants**, [S.l.], v. 8, n. 10, p. 355, 2019.

KÁPOLNA, E. *et al.* Effect of foliar application of selenium on its uptake and speciation in carrot. **Food Chemistry**, [S.l.], v. 115, n. 4, p. 1357-1363, 2009.

LARA, T. S. *et al.* Selenium biofortification of wheat grain via foliar application and its effect on plant metabolism. **Journal of Food Composition and Analysis**, [S.l.], v. 81, p. 10-18, 2019.

LESSA, J. H. L. *et al.* Agronomic biofortification of rice (*Oryza sativa* L.) with selenium and its effect on element distributions in biofortified grains. **Plant and Soil**, [S.l.], p. 1-12, 2019.

LICHTENTHALER, H. K.; BUSCHMANN, C. Chlorophylls and carotenoids: Measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy. **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**, [S.l.], 01 nov. 2001.

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

LOUREIRO, M. *et al.* Biofortificação de alimentos: problema ou solução? **Segurança Alimentar e Nutricional**, Campinas, v. 25, p. 66-84, 2018.

MADURAIMUTHU, D.; PRASAD, P. V. V.; SEPPÄNEN, M. Selenium protects sorghum leaves from oxidative damage under high temperature stress by enhancing antioxidant defense system. **Plant Physiology and Biochemistry: PPB / Société française de physiologie végétale**, France, v. 48, p. 999-1007, 2010.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, [S.l.], v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.

TERRY, N. *et al.* Selenium in Higher Plants. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, [S.l.], v. 51, n. 1, p. 401-432, 2000.

NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen Peroxide is Scavenged by Ascorbate-specific Peroxidase in Spinach Chloroplasts. **Plant and Cell Physiology**, [S.l.], v. 22, n. 5, p. 867-880, 1981.

NATASHA, N. *et al.* A critical review of selenium biogeochemical behavior in soil-plant system with an inference to human health. **Environmental Pollution**, [S.l.], v. 234, p. 915-934, 2018.

PACHECO, F. V. *et al.* Gas exchange and production of photosynthetic pigments of *Piper aduncum* L. grown at different irradiances. **American Journal of Plant Sciences**, [S.l.], v. 4, p. 114-121, 2013.

RAMOS, S. J. *et al.* Selenium accumulation in lettuce germplasm. **Planta**, [S.l.], v. 233, n. 4, p. 649-660, 2011.

RAYMAN, M. P. The argument for increasing selenium intake. **Proceedings of the Nutrition Society**, [S.l.], v. 61, n. 2, p. 203-215, 2002.

RIBEIRO, D. M. *et al.* Growth inhibition by selenium is associated with changes in primary metabolism and nutrient levels in *Arabidopsis thaliana*. **Plant, cell & environment**, [S.l.], v. 39, n. 10, p. 2235-2246, 2016.

REIS, A. *et al.* Biofortificação agrônômica com selênio no brasil como estratégia para aumentar a qualidade dos produtos agrícolas. **Revista Brasileira de Engenharia de Biosistemas**, São Paulo, v. 8, p. 128, 2014.

SHARMA, S; UTTAM, K. N. Non-Destructive Assessment of the Impact of Selenium Treatment on the Biochemical Profile of the Leaves of Wheat Seedlings by Attenuated Total Reflectance Fourier Transform Infrared Spectroscopy. **Analytical Letters**, [S.l.], p. 1-18, 2020.

SILVA, E. D. N. D. *et al.* Effect of Selenite and Selenate Application on Mineral Composition of Lettuce Plants Cultivated Under Hydroponic Conditions: Nutritional Balance Overview Using a Multifaceted Study. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, [S.l.], v. 29, p. 371-379, 2018.

SILVA, V. M. *et al.* Selenate and selenite affect photosynthetic pigments and ROS scavenging through distinct mechanisms in cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) walp) plants. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, [S.l.], v. 201, p. 110777, 2020.

SOUZA, A. F. C. *et al.* Selenium improves the transport dynamics and energy conservation of the photosynthetic apparatus of *in vitro* grown *Billbergia zebrina* (Bromeliaceae). **Photosynthetica**, [S.l.], v. 57, 2019.

STUDIO, R. R. **Studio**: integrated development environment for R. RStudio Inc, Boston, Massachusetts, 2012.

VERSINI, A. *et al.* Influence of Se concentrations and species in hydroponic cultures on Se uptake, translocation and assimilation in non-accumulator ryegrass. **Plant Physiology and Biochemistry**, [S.l.], v. 108, p. 372-380, 2016.

ZHOU, Y. *et al.* Comparative transcriptomics provides novel insights into the mechanisms of selenium tolerance in the hyperaccumulator plant *Cardamine hupingshanensis*. **Scientific Reports**, [S.l.], v. 8, n. 1, p. 1-17, 2018.

CAPÍTULO 3 BIOFORTIFICAÇÃO DE FRUTOS DE BANANEIRA PRATA-ANÃ CLONE GORUTUBA COM SELÊNIO

RESUMO

O cultivo de banana tem se destacado devido a sua grande importância econômica, gerando vários empregos diretos e indiretos. A fruta é consumida em larga escala por pessoas de todas as classes sociais, em todo o mundo. Assim, trata-se de um produto agrícola passível de ser utilizado com a finalidade de biofortificação. Esse processo consiste no aumento do teor de um elemento em partes comestíveis da planta, visando a suplementação alimentar de populações desfavorecidas. Dessa forma, objetivou-se avaliar o efeito de fontes inorgânicas de selênio (selenato e selenito) e dosagens de aplicação via solo (SL), foliar (FL), em inflorescências (INF) ou cachos (CH). Para as análises estatísticas foram ajustados modelos lineares simples para o experimento fatorial incompleto em blocos casualizados completos. Foi escolhido para apresentação o modelo mais parcimonioso em cada caso. As doses utilizadas em cada via foram de 0g/ha, 150g/ha (inteira ou fracionada em vias de 75 ou 50g/ha) e 300g/ha (inteira ou fracionada em vias de 75 ou 100g/ha). Uma fração de 40 das 4802 combinações possíveis deste fatorial foi aleatorizada em blocos incompletos (seis blocos de nove parcelas). Foram avaliadas variáveis de qualidade, produção e teor de selênio nos frutos de bananeiras Prata Anã (Clone Gorutuba), cultivadas em campo. As doses de selênio influenciaram positivamente no teor e acúmulo desse elemento nos frutos de bananeira, assim como em parâmetros de qualidade dos frutos, como firmeza, teor de sólidos solúveis e acidez. Pode-se concluir, que é viável o uso da biofortificação de frutos de bananeiras Prata Anã (Clone Gorutuba) em campo, utilizando como fonte principal o selenato de sódio, aplicado diretamente no cacho das plantas.

Palavras-chave: Suplementação. Selenato de sódio. Elemento benéfico. *Musa* spp.

ABSTRACT

Banana cultivation has stood out due to its great economic importance, creating several direct and indirect jobs. The fruit is consumed on a large scale by people at all life stages, from around the world. Therefore, it is an agricultural product that can be used for the purpose of biofortification. This process consists of increasing the content of an element in edible parts of the plant, aiming at the food supplementation of disadvantaged populations. Thus, the objective of this study was to evaluate the effect of five factors, which are inorganic sources of selenium (selenate and selenite), and application rates via soil (SL), leaf (FL), in inflorescences (INF) or bunches (CH). For the statistical analysis, simple linear models were adjusted for the incomplete factorial design in complete randomized blocks. The most parsimonious model was chosen for presentation in each case. The doses used in each route were 0g / ha, 150g / ha (whole or fractionated in 75 or 50g / ha routes) and 300g / ha (whole or fractionated in 75 or 100g / ha routes). A fraction of 40 out of the 4802 possible combinations of this factorial was randomized into incomplete blocks (six blocks of nine plots). Variables indicating the quality of Gorutuba 'Prata anã' banana fruit cultivated in the field were evaluated. Selenium doses positively influenced the content and accumulation of this element in banana fruits, as well as fruit quality parameters, such as firmness, soluble solids and acidity. It can be concluded that it is feasible to use the biofortification of 'Prata anã' banana clone Gorotuba in the field, using sodium selenate as the main source, applied directly to the plant cluster.

Keywords: Supplementation. Sodium selenate. Beneficial element.

1 INTRODUÇÃO

O selênio (Se) é um elemento que ainda não é considerado essencial para as plantas (ZHU *et al.*, 2009), porém, esse elemento pode trazer alguns benefícios como o estímulo ao crescimento e auxílio na resistência ao estresse hídrico (ANDRADE *et al.*, 2018) e demais estresses abióticos no geral (FENG *et al.*, 2013). Em concentrações mais baixas, o selênio atua como elemento benéfico (NATASHA *et al.*, 2018).

As vantagens do selênio não são evidenciadas apenas para as plantas. Este elemento é essencial aos seres humanos e é componente de proteínas e aminoácidos importantes para o crescimento e funcionamento das células (PUCCINELLI; MALORGIO; PEZZAROSSA, 2017). A ingestão do selênio abaixo da ideal contribui para maior risco de desenvolvimento de câncer (FEDIRKO *et al.*, 2019). Esse elemento também pode auxiliar na regulação do sistema imunológico (MAGGINI PIERRE; CALDER, 2018) atuando na defesa antioxidante do hospedeiro e na patogenicidade de vários vírus (GUILLIN *et al.*, 2019). Nesse último quesito, por exemplo, Meplan e Hughes (2020) discutem o importante papel do selênio na proteção contra vírus, que considerando a atual pandemia do vírus SARS-CoV-2, mediada pela doença COVID-19, pode apresentar efeitos benéficos.

Sendo assim, o desenvolvimento de pesquisa que vise o aumento do teor deste elemento em produtos alimentícios, se torna de suma importância do ponto de vista agrônomo, alimentar e da saúde pública. Tais estudos podem ser conduzidos por intermédio da biofortificação, que consiste em aumentar a concentração de elementos biodisponíveis nos tecidos comestíveis. Ou seja, alimentos biofortificados com selênio podem suprir as deficiências em humanos, aumentando assim, a quantidade de selênio na dieta (PUCCINELLI *et al.*, 2017), além da proteção na saúde dos indivíduos que fazem o consumo destes alimentos.

O enriquecimento de frutos com selênio apresenta potencial para estudos considerando que a banana é altamente consumida, inclusive por pessoas de diferentes classes sociais. Além disso, a banana é considerada um dos mais importantes produtos agrícolas do mundo, com produção estimada de 113 milhões de toneladas em uma área de 5,6 milhões de hectares (FAOSTAT, 2018). Os países com a maior produção dessa frutífera são Índia, China, Brasil e Indonésia.

A produção brasileira de banana é superior a 6,7 milhões de toneladas ao ano, em uma área de aproximadamente 449 mil hectares (FAOSTAT, 2018), destinada principalmente ao mercado interno (NOBRE *et al.*, 2018), atendendo uma demanda de consumo de 25

kg/pessoa/ano. No Brasil, essa frutífera tem importância significativa, pois é a segunda em maior volume de produção, atrás apenas da laranja (IBGE, 2018). Ademais, dentre as frutas tropicais, a banana constitui fonte significativa de crescimento econômico, renda, segurança alimentar e nutrição para as áreas rurais de muitos países em desenvolvimento (FAO, 2020).

A 'Prata-Anã' se destaca entre as principais cultivares de banana, devido a seu sabor e resistência ao transporte, boa aceitação comercial, além de algumas vantagens como menor altura da planta e maior produtividade (FERREIRA, 2016). Porém, é afetada por doenças como a Sigatoka-Amarela e o Mal-do-Panamá (CASTRICINI *et al.*, 2017). Para o controle do Mal-do-Panamá, é necessário erradicação das plantas afetadas e substituição por cultivares resistentes (FARIA *et al.*, 2014). Uma alternativa viável é o uso do variante somaclonal, conhecido como Prata Anã (Clone Gorutuba), que tem sido usado para a expansão de novas áreas (RODRIGUES *et al.*, 2012).

A biofortificação tornou-se uma estratégia promissora na agricultura moderna, permitindo o fornecimento de alimentos mais nutritivos, a um maior número de pessoas, com o uso de menos recursos (CARVALHO; VASCONCELOS, 2013). Nesse contexto, objetivou-se avaliar o efeito da aplicação de fontes inorgânicas (selenato e selenito) e doses de selênio (Se), aplicados em diferentes locais da planta, avaliando a qualidade de frutos de bananeiras Prata Anã (Clone Gorutuba), cultivadas a campo. O intuito de tais avaliações é confirmar a hipótese de que a aplicação de baixas doses de selênio aumentam o teor desse elemento nos frutos e melhoram características produtivas da banana; e que a fonte inorgânica e o local de aplicação do selênio exercem influência para o sucesso da biofortificação da cultura da bananeira.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no campo, na empresa Agromila, Fazenda São Francisco, localizada no município de Paraopeba, região central do estado de Minas Gerais. A fazenda/empresa cultiva bananeira comercialmente há mais de dez anos em uma área de 70 ha irrigados.

2.1 Caracterização da área experimental

A fazenda está situada a 19°16'01.1" de latitude S, 44°26'02.6" de longitude O, com altitude de 761 m. O clima da região, de acordo com a classificação de Koppen, é do tipo Aw, clima tropical com estação seca, com precipitação pluvial média anual de 1.244 mm e período crítico de deficiência hídrica estendendo-se de maio até setembro. A temperatura média anual na região de Paraopeba é de 21,8 °C, com variação de 5,2 °C ao longo do ano.

A área experimental localiza-se em uma área de aproximadamente 22,3 ha, com solo classificado como Latossolo Vermelho, Embrapa (2018), o qual apresenta as seguintes características químicas: 5,26 de pH (CaCl); 58,78 mg.dm⁻³ de P; 0,841 cmolc de K; 3,761 cmolc de Ca; 0,891 cmolc de Mg; 8,89 cmolc kg⁻¹ de CTC; 61,63 % de V.

Antes da implantação do experimento, foi realizada a adubação de plantio da área a ser cultivada com Banana Prata Anã (Clone Gorutuba). O plantio foi realizado utilizando-se mudas provenientes de micropropagação, em sulco (0,40 x 0,40 x 0,40 m), com espaçamento de fileiras duplas com 2,7 m entre fileiras e 3,3 m entre fileiras duplas e 2,0 m entre plantas, totalizando uma densidade de plantio de 1.666 plantas/ha.

A adubação de plantio pré-definida foi a seguinte: 200 g de superfosfato simples, 200 g de Yoorin (18% P₂O₅; 18% Ca; 7% Mg; 10% Si) e 1 kg de esterco de galinha (metro de sulco de plantio). A irrigação foi realizada por microaspersão, durante 1h e 30 min, com turno de rega de dois dias até o encerramento do 1º ciclo e continuidade nos demais ciclos da cultura.

2.2 Delineamento do experimento

Na estrutura de tratamentos, avaliou-se fontes inorgânicas de selênio (selenato e selenito) e doses de aplicação via solo (SL), foliar (FL), em inflorescências (INF) ou cachos (CH). As doses utilizadas em cada via foram de 0g/ha, 150g/ha (inteira ou fracionada em vias

de 38, 50 e 75g/ha) e 300g/ha (inteira ou fracionada em vias de 75, 100 e 150 g/ha). Das 4.802 combinações possíveis neste fatorial, foi escolhida e aleatorizada uma fração de 40 tratamentos em blocos incompletos (seis blocos de nove parcelas). Houve três parcelas perdidas, resultando em 51 parcelas com os seguintes 37 tratamentos avaliados.

Cada unidade experimental foi constituída por uma planta. O croqui do experimento pode ser visualizado nas Tabelas 1 e 2, do Apêndice B.

As doses de selênio testadas foram aplicadas na forma de soluções. O tratamento controle recebeu apenas água deionizada, já os tratamentos contendo selênio consistiram na diluição das respectivas doses do sal de selênio em 100 mL de água deionizada. Os tratamentos de selênio, referentes ao solo e a folha foram realizados na fase de florescimento das bananeiras, nove meses após o plantio, quando as plantas estavam em pleno desenvolvimento. Os tratamentos via solo foram distribuídos em círculo ao redor da planta, já os tratamentos via folha foram aplicados na axila da segunda folha da bananeira, com auxílio de uma seringa dosadora segundo metodologia de (GASPAROTTO; PEREIRA, 2008). A aplicação via cacho foi realizada com o auxílio de um borrifador, para direcionamento do jato para os frutos, tentando evitar a deriva, e ocorreu aproximadamente 2 meses após a aplicação via inflorescência.

2.3 Avaliações de produção (Colheita)

Foram feitas no momento da colheita dos frutos, que ocorreu no estágio de maturação I (fruto fisiologicamente maduro, mas com casca totalmente verde) conforme os padrões de classificação de Von Loesecke (PBMH e PIF, 2006). Sendo assim, os cachos em maturação I foram selecionados em cada parcela, dos quais foram determinados: peso do cacho sem engaço, peso do cacho total, peso de pencas em kg, número de frutos por penca, número de frutos por cacho, número de pencas por cacho e a produtividade (kg/ha) a partir do produto do peso do cacho sem engaço da planta útil multiplicada pela densidade de plantio.

2.4 Determinação de selênio

Foi realizada a determinação de Se na polpa dos frutos de bananeira. Para isso, os frutos com casca foram lavados em água corrente, depois foram imersos em água clorada a 50 ppm por 10 minutos e, posteriormente, foram novamente imersos em água clorada a 20 ppm por 10

minutos. Por fim, foram enxaguados e descascados manualmente. Em seguida, o fruto foi cortado em seguimentos de aproximadamente 5mm de espessura. Os seguimentos dos frutos de banana foram dispostos em bandejas perfuradas e secos em estufas com circulação forçada de ar, na temperatura de 60 °C, até atingirem peso constante. Após sua secagem, os seguimentos de banana foram triturados em moinho analítico IKA A11. A farinha obtida foi acondicionada em potes de polipropileno fechados hermeticamente.

Da farinha obtida, utilizou-se 500 mg de massa seca para formar extratos para determinação do teor de selênio. Os extratos foram submetidos a digestão ácida, executada por meio de um concentrado de HNO₃ e vasos fechados em forno de microondas de acordo com o método 3051A da Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos - USEPA (USEPA 2007).

Após digestão, mediu-se o conteúdo de selênio nas soluções utilizando um espectrômetro de absorção atômica em forno de grafite (Espectrometria de Absorção Atômica com correção de fundo de Zeeman e lâmpada de EDL para Se; AAnalyst™ 800 AAS, Perkin Elmer). A curva de calibração para a medição de selênio foi obtida a partir de uma solução padrão com 1 g.kg⁻¹ de Se (≥ 98% de pureza, Fluka, Buchs, Suíça).

Para a garantia de qualidade e controle na medição de selênio, um material de referência padrão do Instituto de Materiais de Referência e Medidas (White Clover - BCR 402, IRMM, Geel, Bélgica) e uma amostra em branco foram incluídos em cada lote de digestão. O valor médio de recuperação obtido para o material padrão foi de 96,78 ± 1,88% (n = 13).

Relacionando os teores de Se com a massa seca produzida, foi determinado o acúmulo de selênio na polpa dos frutos de bananeira.

2.5 Avaliações de qualidade (pós-colheita)

Foram realizadas no Laboratório de Produção Vegetal da Universidade Federal de São João del Rei – Campus Sete Lagoas. Foram selecionadas amostras de frutos para cada tratamento, no estágio de maturação V (fruto com casca amarela com as pontas verdes) conforme os padrões de classificação de Von Loesecke (PBMH e PIF, 2006), considerando quatro frutos da parte central da 2ª penca, da base para o ápice do cacho. Após seleção, conduziu-se as seguintes análises físico-químicas: firmeza do fruto ainda com a casca, determinada com penetrômetro (N); peso do fruto determinada com balança (kg), o pH foi medido através da maceração de 20g da polpa do fruto diluídos em 50ml água para

determinação com potenciômetro; sólidos solúveis (SS) obtido por leitura em refratômetro (°BRIX); acidez titulavel (AT) determinada com auxílio de um titulador semi-automático, através da titulação com NaOH 0,1N e relação do teor de sólidos solúveis e acidez. Também foram avaliados o comprimento médio (mm) e diâmetro médio (mm) de dez frutos na 2ª penca, com auxílio de paquímetro digital.

2.6 Análises estatísticas

É apresentada a análise, em cada caso, apenas do modelo mais parcimonioso, com as variáveis do delineamento que melhor explicaram as causas da variação encontrada em cada variável de interesse.

Para a seleção do melhor modelo linear foi utilizado inicialmente a transformação, para buscar a normalidade dos resíduos (BOX; COX, 1964). Todas as análises foram feitas no programa estatístico R. Para a recuperação da informação interblocos, via modelos mistos com efeito aleatório de blocos, foi utilizada a biblioteca de lme4 (BATES *et al.*, 2015).

3 RESULTADOS

3.1 Avaliações de produção (colheita)

A análise de variância foi realizada para os caracteres de produção: número de frutos por penca (TABELA 1, APÊNDICE C), teor (TABELA 2, APÊNDICE C) e acúmulo de selênio (TABELA 3, APÊNDICE C). Na Tabela 1, verificou-se diferenças significativas ($P \leq 0,01$) entre as fontes avaliadas, para os caracteres número de frutos por penca (NFPP) e acúmulo de selênio (ACSE), evidenciando que o uso de diferentes fontes influenciou de maneira diferente os resultados obtidos. Não houve diferença de forma significativa para o número de pencas por cacho, peso de pencas por cacho, peso do cacho total, número de frutos por cacho, peso do cacho sem engajo, tampouco a produtividade (TABELA 1).

Houve indicio de que a utilização de diferentes fontes de selênio (p-valor: 0,0151) quando aplicadas nas folhas e no cacho FL: CH (p-valor: 0,0092) ou diretamente na inflorescência INF (p-valor: 0,0279), ocasionou o principal aumento no número de frutos por penca. O maior teor de selênio nos frutos ocorreu quando as fontes de selênio foram aplicadas nas folhas e no cacho Fonte: FL: CH (p-valor: 0,0304) apresentando efeito significativo. Quanto ao acúmulo de selênio, estatisticamente foi favorecido por aplicações via solo ($6,17 \mu\text{g/Kg}$) com p-valor: 0,019; nas folhas ($11,03 \mu\text{g/Kg}$) com p-valor: 0,0025; ou diretamente no cacho ($39,56 \mu\text{g/Kg}$) com p-valor: 9.896×10^{-7} ; mas como pode ser observado numericamente, a aplicação diretamente no cacho ocasionou acúmulo mais pronunciado. Portanto, visando a biofortificação agrônômica, essa seria a forma mais eficiente de aplicação de selênio nos frutos de bananeira.

Tabela 1 – Valores para F significativo a 1% (**) e a 5% (*) para as variáveis de colheita, para cada fator selecionado em experimento com bananeira Prata clone Gorotuba (continua).

FV	Núm. Pencas /cacho	Peso Pencas/cacho	Peso Cacho Total	Núm. Frutos/Cacho	Núm. Frutos/Penca	Peso Cacho Sem Engaço	Produtividade	Teor de Selênio	Acúmulo De Selênio
Bloco	0,0795	0,593	70,8677**	0,1123	1,0898	0,4976	0,4977	0,2505	1,3992
Fonte	0,8058	1,6858	0,6654	3,7672	6,7233*	2,1654	2,1605	2,335	12,7368**
SL	0,057	0,0025	0,5266	0,0258	0,0297	0,0082	0,0081	0,0108	6,1729*
FL	0,3049	0,3996	0,2511	0,0231	0,6461	0,1237	0,1231	0,1863	11,0633**
CH	0,0714	2,4625	2,7991	0,1239	1,7626	1,7868	1,7864	1,7561	39,5607**
INF	0,1068	0,6649	0,0173	0,744	5,3982*	0,2865	0,2872	0,304	3,9295
Fonte: FL	1,2724	1,5627	0,7596	0,8855	0,1617	2,044	2,0422	2,5069	0,8217
SL: FL	0,2227	0,0061	1,3748	0,294	0,131	0,1075	0,1072	0,0578	0,3769
Fonte: CH	0,3243	2,2935	0,0257	1,6269	3,6543	2,5268	2,524	2,6257	4,0606
SL: CH	1,4878	0,1562	0,2526	0,0007	3,6861	0,009	0,0089	0,0194	0,1034
FL: CH	0,2306	1,2592	2,9536	2,3676	7,8587**	1,1085	1,1103	1,863	0,1704
Fonte: INF	1,0171	0,1123	0,0079	0,4346	0,082	0,4873	0,4854	0,5107	0,0678
SL: INF	0,0958	1,3691	0,6556	0,0324	0,0331	1,0949	1,0973	1,1658	0,0173
FL: INF	0,4425	0,6713	0,7547	0,0478	0,3387	0,2404	0,2399	0,2714	0,2858
CH: INF	1,9436	1,2464	0,1863	0,8493	0,1554	0,2635	0,2638	0,2859	1,4678
Fonte: FL: CH	1,1408	3,7917	0,6404	1,8062	2,4057	3,6921	3,6935	5,2166*	0,0112
SL: FL: CH	0,114	0,8013	1,3626	0,0016	0,2225	0,4795	0,4806	0,3949	1,3023

Tabela 1 – Valores para F significativo a 1% (**) e a 5% (*) para as variáveis de colheita, para cada fator selecionado em experimento com bananeira Prata clone Gorotuba (conclusão).

FV	Núm. Pencas /cacho	Peso Pencas/ cacho	Peso Cacho Total	Núm. Frutos/ Cacho	Núm. Frutos/ Penca	Peso Cacho Sem Engaço	Produtividade	Teor de Selênio	Acúmulo De Selênio
SL: FL: INF	0,5124	2,2744	0,1122	0,7328	0,3161	1,3175	1,3171	0,9214	0,1836
Fonte: CH: INF	0,6963	0,8525	0,3444	0,8732	0,4342	0,3076	0,3082	0,3352	0,0546
SL: CH: INF	0,0977	0,0025	0,992	0,1073	0,0204	0,0173	0,0169	0,0119	0,0249
FL: CH: INF	0,1141	0,0354	3,0078	0,1859	0,2164	0,0055	0,0057	0,0463	0,1802
Fonte: FL: CH: INF	0,3658	0,0128	0,1212	0,8656	1,2928	0,0832	0,0828	0,0465	3,7649
SL: FL: CH: INF	0,0003	0,0286	1,4634	0,0283	0,1718	0,0298	0,0299	0,0135	0,5389

FV: Fonte de variação; NP: número de pencas; PP: peso de pencas (kg); NFC: número de frutos por cacho; NFPP: número de frutos por penca; PCSE: peso do cacho sem engaço; PROD: produtividade (kg/ha); TEORSE: teor de selênio (μg); ACSE: acúmulo de selênio ($\mu\text{g}/\text{kg}$).

Fonte: Da autora (2020).

Na análise sequencial dos caracteres com diferença significativa foi realizado o teste t para indicar o aumento ou diminuição em relação aos locais de aplicação de selênio e interações. Os valores do intercepto em cada modelo linear representam a média geral de cada variável somado ao efeito do somatório dos fatores ($\sum_i^k r_i=0$). Os valores das estimativas dos efeitos dos fatores ou associação deste, para t, em cada variável significativa pelo teste F, conforme Tabela 2, representam ganho ou redução da variável resposta quando se aumentava as doses da menor para a dose imediatamente superior.

Pela Tabela 2, é possível observar por meio da estimativa que quando foi trocada a fonte de selenato por selenito observou-se que houve diminuição do número de frutos por penca (-4.120×10^2), do teor (-3.038×10^{-1}) e acúmulo de selênio (-67.3223).

É possível concluir também, que a aplicação de selênio nas inflorescências promoveu um incremento em relação ao número de frutos por penca igual a 5.39 frutos/penca (p-valor: 0,02552).

Para o acúmulo de selênio, houve efeito positivo quando a aplicação foi realizada no solo (0.3854), nas folhas (0.4178), no cacho (0.6907) e nas inflorescências (0.2727). Assim como foi observado um prejuízo de 67% quando se aplicou selenito ao invés de selenato.

A aplicação de selênio em cada local individualmente melhorou linearmente o acúmulo, independente da fonte utilizada e a aplicação diretamente no cacho provocou maior aumento no acúmulo (TABELA 2).

Tabela 2 – Resumo das estimativas dos modelos e teste t associados para a comparação entre as médias dos tratamentos para as variáveis de colheita, significativos a 1% (**) e a 5% (*) para cada fator selecionado no experimento com bananeira Prata clone Gorotuba.

Variável	FV	Estimativa (%)	Erro padrão	T valor	Pr(> t)
Núm. Frutos/Penca	(Intercepto)	$2,620 \times 10^0$	$1,911 \times 10^2$	137,077	2×10^{16} **
	Fonte:Selenito	$-4,120 \times 10^2$	$1,528 \times 10^2$	-2,696	0,00984**
	INF	$2,437 \times 10^4$	$1,055 \times 10^4$	2,310	0,02552*
Teor Selênio	FL:CH	$-4,544 \times 10^6$	$1,645 \times 10^6$	-2,763	0,00827**
	(Intercepto)	$4,484 \times 10^0$	$3,369 \times 10^1$	13,312	$2,23 \times 10^{13}$ **
	Fonte:Selenito	$3,038 \times 10^{-1}$	$4,87 \times 10^{-1}$	0,623	0,053*
Acúmulo Selênio	FL:CH	$-1,090 \times 10^4$	$4,828 \times 10^5$	-2,257	0,0323 *
	(Intercepto)	74,1967	24,2663	3,058	0,003748**
	Fonte:Selenito	-67,3223	17,8803	-3,765	0,000480**
	SL	0,3854	0,1448	2,663	0,010719*
	FL	0,4178	0,1186	3,523	0,00099**
Selênio	CH	0,6907	0,1107	6,237	$1,39 \times 10^7$ **
	INF	0,2727	0,1177	2,317	0,025090*

FV: fonte de variação; Núm. Frutos/Penca: número de frutos por penca.

Fonte: Da autora (2020).

Fazendo análise para investigar o efeito quadrático em relação aos locais de aplicação na planta em relação ao acúmulo de selênio, verificou-se que não houve significância para o efeito quadrático (SL2, FL2, CH2 e INF2) (TABELA 3), ou seja, não há declínio do acúmulo mediante o aumento constante da aplicação de selênio. Logo, há indícios de que apenas o efeito linear seja importante para a dose em cada local de aplicação, sendo que os melhores resultados foram observados quando a aplicação de selênio foi realizada na folha (p-valor: 0,026) e no cacho (p-valor: $5,83 \times 10^{-5}$). Ou seja, quanto maior a dose de selênio aplicada, maior será o acúmulo de selênio nos frutos.

Tabela 3 – Análise do efeito linear ou quadrático sob os locais de aplicação de selênio em relação ao acúmulo de selênio em plantas de bananeira Prata clone Gorotuba.

FV	SQ	GL	F - valor	Pr(> t)
Bloco	4064	1	1,457	0,234
Fonte	32630	1	11,701	0,001**
SL1	6954	1	2,493	0,121
FL1	14850	1	5,325	0,026*
CH1	56009	1	20,086	5,83x10 ⁻⁵ **
INF1	3738	1	1,340	0,253
SL2	384	1	0,137	0,712
FL2	1892	1	0,678	0,414
CH2	10515	1	3,777	0,059
INF2	217	1	0,077	0,781
Resíduo	114327	41		

FV: Fonte de variação. Local de aplicação seguido: pelo número 1= efeito linear, seguido pelo número 2 = efeito quadrático. Valores para F significativo a 1% (**) e a 5% (*)

Fonte: Da autora (2020).

Apesar da busca pelo acúmulo de selênio, este deve ocorrer de forma otimizada, pois existe a possibilidade de toxidez, tendo em vista que existe uma relação muito estreita entre os teores de selênio que podem provocar deficiência e os considerados tóxicos em plantas (DE ALMEIDA; DUTRA; FILHO, 2016). Na Figura 1 podem ser observados dois casos de toxidez por selênio, que impediram a colheita dos frutos e, conseqüentemente, culminaram em perda de parcela. É importante ressaltar que a fitotoxidez observada foi apenas utilizando o critério visual, que causou a depreciação dos frutos e conseqüente perda de produção agrícola.

Figura 1- Imagens mostrando danos ocasionados pela aplicação de selênio nos frutos: Fonte selenito na dose de 300g/ha (Folha, inflorescência e cacho); Fonte selenito na dose de 300g/ha (Folha e inflorescência).



Fonte: Da autora (2020).

3.2 Avaliações de Qualidade (pós-colheita)

O resumo da análise de variância para os caracteres de pós-colheita são apresentados: redução de peso das pencas (RED) (TABELA 1, APÊNDICE C), comprimento médio dos frutos (CMF) (TABELA 2, APÊNDICE D), firmeza (FMZ) (TABELA 3, APÊNDICE D), sólidos solúveis (SS) (TABELA 4, APÊNDICE D), pH (TABELA 5, APÊNDICE D), acidez titulável (AT) (TABELA 6, APÊNDICE D) e ratio (TABELA 7, APÊNDICE D). O diâmetro médio dos frutos (DMF) não sofreu influência de nenhum fator avaliado. Não houve diferença significativa para fonte em nenhum dos caracteres avaliados.

Em relação aos caracteres de pós-colheita, pela Tabela 4, observa-se que, para a redução do peso de pencas (RED) apenas quando o selênio foi aplicado em associação dos locais folha e cacho (FL:CH) apresentou efeito significativo (p-valor: 0,0169). Já para a aplicação de selênio diretamente no cacho CH (p-valor: 0,0357) promoveu melhores resultados, com aumento para o comprimento médio dos frutos. Quanto a FMZ, a combinação de fatores SL: FL: CH (p-valor: 0,0488), SL: FL: INF (p-valor: 0,0140) e Fonte: CH: INF (p-valor: 0,0117) foram as que influenciaram de forma positiva a firmeza de frutos. Para SST a principal influência foi em relação a associação entre SL: FL (p-valor: 0,0421) e FL:CH (p-valor: 0,0342). O pH teve alteração significativa a 5% para o fator Fonte: FL (p-valor: 0,0122) e Fonte: INF (p-valor:

0,0196). Para AT foi para associação Fonte: FL (p-valor: 0,0239), SL: CH (p-valor: 0,0480), Fonte: INF (0,0487). E o RATIO foi influenciado pela aplicação na SL: FL (p-valor: 0,0387).

Tabela 4 – Valores para F significativo a 1% (**) e a 5% (*) para as variáveis de pós colheita para cada fator selecionado em experimento com bananeira Prata clone Gorotuba.

FV	RED	CMF	DMF	FMZ	SS	pH	AT	RATIO
Bloco	,	0.0815	0,5052	0,0227	0,0183	2,5417	0,4831	0,5498
Fonte	1,8522	3,0354	0,0605	0,1316	0,0002	0,0005	0,0911	0,0747
SL	0.1009	0.5069	0.3927	0.0138	0.126	0.0159	2.0763	2.7776
FL	0.4206	1.1382	0.093	1.5658	2.0413	2.5294	0.0143	0.8122
CH	0.8886	4.902*	0.427	2.5686	0.0613	3.0418	0.3799	0.6914
INF	0.0178	0.3759	0.3262	1.6894	0.4433	1.9973	0.7289	0.2218
Fonte: FL	0.0615	0.1946	0.578	0.118	0.9012	7.2499*	5.7535*	3.0129
SL: FL	0.0394	0.7432	0.002	0.6142	4.5679*	0.6324	0.9419	4.7372*
Fonte: CH	0.0167	0.0014	0.0332	0.2711	0.0007	3.7219	0.2835	0.3408
SL: CH	0.0106	0.4344	0.1084	0.7075	0.8993	0.0039	4.3055*	1.7122
FL: CH	6.507*	0.0575	0.0789	0,3473	4,9948*	0,0003	0,0026	2,0413
Fonte: INF	0,4224	0,2004	0,0025	0,0106	0,608	6,1846*	4,2775*	2,6091
SL: INF	0,0045	0,0993	0,5607	0,2039	0,0484	0,2854	0,5732	0,7665
FL: INF	0,5005	0,0748	0,9744	0,6139	2,1218	0,0542	0,2475	0,2102
CH: INF	0,09	0,1372	0,7546	0,7389	0,0044	0,4218	0,0179	0,012
Fonte: FL: CH	0,5308	1,3819	4,1244	3,4863	1,0696	0,3815	0,9431	2,1527
SL: FL: CH	0,2593	0,051	0,8795	4,271*	2,2998	0,1099	2,6637	0,3156
Fonte: FL: INF	0,194	0,1036	1,6606	1,1684	3,5113	0,6762	3,5963	0,396
SL: FL: INF	0,8496	0,1583	1,0919	6,935*	0,1824	0,0087	0,0298	0,017
Fonte: CH: INF	1,1904	0,1352	2,2514	7,343*	0,2197	1,4512	0,9869	1,333
SL: CH: INF	1,9739	0,2867	0,9066	0,3441	0,2593	0,0086	1,9162	0,739
FL: CH: INF	1,4707	0,3819	0,0088	0,0044	0,6067	0,0157	0	0,1711
Fonte: FL: CH: INF	1,0802	0,127	0,0135	0,4432	0,8425	0,1172	0,0929	0,4167
SL: FL: CH: INF	0,0407	0,0947	0,0368	0,0373	0,2938	0,0382	1,0357	0,4453

FV: Fonte de variação; RED: redução de peso de pencas (Kg); CMF: comprimento médio dos frutos (mm); DMF: diâmetro médio dos frutos (mm); FMZ: firmeza de frutos (N); SST: sólidos solúveis totais (°BRIX); pH: potencial hidrogeniônico de frutos; ATT: acidez total titulável; RATIO: (SST/ATT)

Fonte: Da autora (2020).

Analisando a Tabela 5, houve decréscimo para a redução de peso dos frutos (RED) quando a aplicação é realizada simultaneamente na folha e no cacho, (p-valor = 0,00667), Já para o comprimento médio de frutos, a aplicação somente no cacho também teve efeito negativo.

Em relação à firmeza dos frutos, os melhores resultados são observados quando a aplicação é feita simultaneamente no solo e nas folhas (p-valor = 0,02633), ou diretamente no cacho quando se utiliza como fonte o selenito (p-valor = 0,03639). Efeitos benéficos também

foram observados quando a aplicação era realizada no cacho e na inflorescência (p-valor = 0,02991). A aplicação de selênio nos frutos proporcionou a obtenção de frutos com maior firmeza, característica muito importante do ponto de vista de pós-colheita de frutos de bananeiras, tendendo a diminuir os riscos e as perdas durante armazenamento e transporte.

Para o SS, melhores resultados foram para aplicação na folha e no cacho (p-valor = 0,0305). Em relação ao pH, quando se utiliza a fonte selenito teve redução quando comparado ao selenato. Efeitos negativos também foram observados para AT utilizando o selenito e para o RATIO na aplicação conjunta em solo e folha (p-valor = 0,00607).

Tabela 5 - Resumo das estimativas dos modelos e teste t associados para comparação entre as médias dos tratamentos para as variáveis de pós-colheita, significativos a 1% (**) e a 5% para cada fator selecionado em experimento com bananeira Prata Anã (clone Gorotuba).

Variável	FV	Estimativa	Erro padrão	t value	Pr(> t)
RED	(Intercepto)	1,32x10 ⁰	4,871x10 ²	27,107	2x10 ⁻¹⁶ **
	FL: CH	-1,912x10 ⁵	6,735x10 ⁶	-2,839	0,00667 **
CMF	(Intercepto)	148,34108	2,90077	51,138	2x10 ⁻¹⁶ **
	CH	-0,07546	0,02949	-2,559	0,0136 *
FMZ	(Intercepto)	1,098x10 ⁰	7,051x10 ³	155,777	2x10 ⁻¹⁶ **
	CH	-1,553x10 ⁴	5,374x10 ⁵	-2,890	0,00767 **
	SL: FL	1,700x10 ⁶	7,216x10 ⁷	2,355	0,02633 *
	Fonte Se (ito):CH	1,700x10 ⁴	7,705x10 ⁵	2,206	0,03639 *
	CH: INF	1,342x10 ⁶	5,844x10 ⁷	2,297	0,02991 *
	SL: FL: INF	-4,024x10 ⁸	1,742x10 ⁸	-2,310	0,02906 *
	Fonte Se(ito):CH:INF	-2,057x10 ⁶	8,149x10 ⁷	-2,524	0,01805 *
SS	(Intercepto)	3,119x10 ⁰	3,710x10 ²	84,074	2x10 ⁻¹⁶ **
	FL: CH	1,046x10 ⁵	4,676x10 ⁶	2,237	0,0305 *
pH	(Intercepto)	4,61x10 ⁰	1,994x10 ¹	23,124	2x10 ⁻¹⁶ **
	Fonte: Selenito	-9,006x10 ¹	2,874x10 ¹	-3,134	0,00424 **
	Fonte: Selenito: FL	5,013x10 ³	2,047x10 ³	2,450	0,02135 *
	Fonte: Selenito: CH	5,039x10 ³	2,179x10 ³	2,313	0,02892 *
AT	(Intercepto)	-1,962x10 ⁰	6,578x10 ²	-29,823	2x10 ⁻¹⁶ **
	Fonte Selenito: FL: INF	-5,169x10 ⁵	2,368x10 ⁵	-2,183	0,0346 *
RATIO	(Intercepto)	5,025x10 ⁰	4,378x10 ²	114,775	2x10 ⁻¹⁶ **
	SL: FL	-2,71x10 ⁵	9,428x10 ⁶	-2,874	0,00607 **

Fonte de variação; RED: redução de peso de pencas (Kg); CMF: comprimento médio dos frutos (mm); FMZ: firmeza de frutos (N); SST: sólidos solúveis totais (°BRIX); pH: potencial hidrogeniônico de frutos; ATT: acidez total titulável; RATIO: (SST/ATT)

Fonte: Da autora (2020).

A biofortificação deve ser conduzida de forma a não ocasionar toxidez nas plantas. Na Figura 2 é demonstrado os níveis de danos ocasionados nos frutos pela aplicação de selênio sob

a fonte selenito, onde foi feita a compilação de fotos de pencas de acordo com o local de aplicação na planta e a dose ministrada. Durante o período experimental, não foi observado visualmente sintomas de toxidez em plantas que receberam como fonte de selênio, o selenato.

Figura 2 – Imagens mostrando danos ocasionados pela aplicação de selenito nos frutos de bananeira Prata clone Gorutuba, em relação ao local de aplicação e dose. (continua)

Local de Aplicação/Dose	150	300
Folha		
Inflorescência		
Cacho		
Inflorescência/Folha		PARCELA PERDIDA

Figura 2 – Imagens mostrando danos ocasionados pela aplicação de selenito nos frutos de bananeira Prata clone Gorutuba, em relação ao local de aplicação e dose. (conclusão)

Local de Aplicação/Dose	150	300
Inflorescência/Cacho		
Folha/Inf/Cacho		

Fonte: Da autora (2020).

4 DISCUSSÃO

Vários estudos mostraram que a aplicação de Selênio como fertilizante pode efetivamente aumentar o teor de Selênio na parte comestível das culturas. A título de exemplificação tem-se o trabalho desenvolvido por Reis *et al.* (2018), sobre biofortificação agrônômica de arroz em condições de campo, resultando em benefícios para a saúde humana. Segundo Oliveira *et al.* (2018), em trabalho com biofortificação de selênio em cenoura, a aplicação de Selênio por meio do solo e meios foliares, de ambas as fontes (selenato e selenito), aumentou o conteúdo nas raízes da cenoura.

Zhu *et al.* (2017), ao aplicarem selênio via foliar em espécies de videiras, observaram melhoras significativas na qualidade de frutos. Resultados semelhantes foram obtidos por Lara *et al.* (2019), pois sugerem que o trigo seja uma cultura biofortificada com selênio por via foliar. Esses autores concluíram ainda, que concentrações adequadas de Selênio não trouxeram prejuízo para o crescimento nem para a produtividade da cultura.

Já Babalar *et al.* (2019) também fizeram aplicação de fontes de selênio diretamente em frutos, mas nesse caso, em macieira. Os autores obtiveram resultados positivos, indicando que a aplicação de selenato de sódio foi eficiente no aumento do teor de selênio nos frutos, reforçando ainda, o potencial de utilização para produção de maçãs biofortificadas.

Os resultados do presente estudo demonstraram que a adição de Selênio na forma de selenato é menos tóxico para as bananeiras “Prata Anã” clone Gorotuba que o selenito e a fonte selenato foi mais eficiente em aumentar a concentração de Selênio nas plantas de bananeira. Resultados parecidos foram vistos por Hawrylak-Nowak (2013) que compararam o efeito de selenato e selenito em plantas de alface em sistema hidropônico.

O efeito tóxico do selênio observado nas plantas de bananeiras “Prata Anã” clone Gorotuba pode ser resultado da interferência desse elemento no metabolismo do Enxofre (HAJIBOLAND; AMJAD, 2007). Isso pode ser explicado por diferentes mecanismos de absorção e metabolismo de Se na planta, ou seja, enquanto o selenato é muito móvel no xilema da planta, o selenito é rapidamente convertido em formas orgânicas com baixa mobilidade e são menos translocados (SILVA *et al.*, 2018), causando toxidez mais rapidamente quando comparado ao selenato.

Sendo assim, o selenato se sobressai em relação ao selenito, devido a maior absorção das raízes, do melhor aproveitamento pela planta, da translocação do Se para a parte aérea e da

maior eficiência em redistribuir esse elemento para as partes comestíveis (BOLDRIN *et al.*, 2012). Em relação aos locais de aplicação na planta, melhores resultados foram observados para aplicação folha e diretamente no cacho. O efeito menos pronunciado quando se aplicou as fontes de selênio no solo, pode ser explicado devido aos diferentes processos em que Se está envolvido, como volatilização, lixiviação, adsorção em partículas do solo e seu acúmulo em outros órgãos vegetais como raízes, folhas etc (LESSA *et al.*, 2019).

Babalar *et al.* (2019) não encontraram diferença significativa entre a testemunha para os parâmetros sólidos solúveis, acidez titulável e firmeza, em relação às plantas de macieira que receberam selênio. Já Jing *et al.* (2017) encontraram diferenças para vitamina C, acidez, açúcares e flavonoides para frutos de jujuba de inverno, concluindo ainda, que maiores doses de selênio não são recomendadas, podendo levar a perdas econômicas.

Os resultados do presente trabalho determinaram que a concentração de selênio pode trazer ganhos em relação a qualidade dos frutos, principalmente para firmeza, sólidos solúveis e acidez.

5 CONCLUSÃO

É viável a biofortificação de frutos de bananeiras Prata Anã clone Gorotuba em campo, utilizando-se o selenato de sódio.

As doses de selênio influenciaram positivamente no teor e acúmulo desse elemento nos frutos de bananeira, assim como em parâmetros de qualidade dos frutos, como firmeza, sólidos solúveis e acidez.

A biofortificação de bananeira com selenito ocasiona redução no acúmulo de selênio e toxidez nos frutos, não sendo recomendada.

A biofortificação de frutos de bananeiras com selenato de sódio pela aplicação diretamente no cacho é a melhor alternativa de uso.

REFERÊNCIAS

- BABALAR, M. *et al.* Effect of foliar application with sodium selenate on selenium biofortification and fruit quality maintenance of ‘Starking Delicious’ apple during storage, **Journal of the Science of Food and Agriculture**, [S.l.], v. 99. p. 5149–5156. 2019.
- BARBOSA, F. E. L. *et al.* Crescimento, nutrição e produção da bananeira associados a plantas de cobertura e lâminas de irrigação, **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 17. n. 12. p. 1271-1277. 2013.
- BATES, D. *et al.* **Package Lme4**: Linear Mixed-Effects Models Using Eigen and S4, 2015.
- BOLDRIN, P. F. *et al.* Selenato e selenito na produção e biofortificação agrônômica com selênio em arroz. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 47. n. 6, p. 831-837, 2012.
- BOX, G. E. P.; COX, D. R. An analysis of transformations. **Journal of the Royal Society**, [S.l.], v. 26, p. 211-252, 1964.
- CARVALHO, S. M. P.; VASCONCELOS, M. W. Producing more with less: Strategies and novel technologies for plant-based food biofortification. **Food Research International**, [S.l.], v. 54. p. 961-971. 2013.
- CASTRICINI, A. *et al.* Quality of organic banana produced in the semiarid region of Minas Gerais, Brazil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 39. n. 2: (e-813). 2017.
- CRISOSTOMO, L. A. *et al.* Influência da adubação NPK sobre a produção e qualidade dos frutos de bananeira cv. “Pacovan”. **Revista Ciência Agrônômica**, Lavras, v. 39. n. 1. p. 45-52. 2008.
- DE ALMEIDA, H. J.; DUTRA, A. F.; FILHO, A. B. C. **Biofortificação de Hortaliças e Saúde Global-Um Enfoque para Selênio, Zinco, Ferro e Iodo. Nutrição e Adubação de Hortaliças**: FUNEP. 600 p. 2016.
- EMBRAPA. Empresa Brasileira De Pesquisa Agropecuária. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 5.ed. rev. e ampl. Brasília, 2018. 353 p.
- FARIA, R. A. N. *et al.* Influência da composição da matriz de encapsulamento de microbrotos de banana (*Musa* sp.) cv. Prata-Anã clone Gorutuba. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 36, n. 2, p. 472-478, 2014.
- FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2020. **Medium-term Outlook: Prospects for global production and trade in bananas and tropical fruits 2019 to 2028**. Rome: FAO, 2020.
- FERREIRA, C. F.; SILVA, S. de O.; AMORIM, E. P.; SEREJO, J. A. dos S. (Ed.). **O agronegócio da banana**. Brasília. DF: Embrapa. 2016. 832 p.

GASPAROTTO, L.; PEREIRA, J. C. R. **Deposição de fungicidas na axila da segunda folha da bananeira**: nova tecnologia para o controle da Sigatoka-Negra. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2008. (Embrapa Amazônia Ocidental. Comunicado Técnico. 59). 2 p.

HAJIBOLAND, R.; AMJAD, L. Does antioxidant capacity of leaves play a role in growth response to selenium at different sulfur nutritional status? **Plant, Soil and Environment**, [S.l.], v. 53. n. 5. p. 207-215. 2007.

HAWRYLAK-NOWAK, B. Comparative effects of selenite and selenate on growth and selenium accumulation in lettuce plants under hydroponic conditions. **Plant Growth Regulation**, [S.l.], v. 70. n. 2. p. 149-157, 2013.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Levantamento sistemático da produção agrícola**. 2018. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria>. Acesso em: 06 mar. 2020.

JING, D.-W. *et al.* Selenium enrichment. fruit quality and yield of winter jujube as affected by addition of sodium selenite. **Scientia Horticulturae**, [S.l.], v. 225. p. 1-5. 2017.

LARA, T. S. *et al.* Selenium biofortification of wheat grain via foliar application and its effect on plant metabolism. **Journal of Food Composition and Analysis**, [S.l.], v. 81. p. 10-18. 2019.

LESSA, J. H. L. *et al.* Agronomic biofortification of rice (*Oryza sativa* L.) with selenium and its effect on element distributions in biofortified grains, **Plant and Soil**, [S.l.], p. 1-12, 2019.

NOBRE, R. C. G. G. *et al.* Post-harvest quality of bananas Prata-anã and Nanica after application of exogenous ethylene in maturation, **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 40, n. 5, p. e-904, 2018,

OLIVEIRA, V. C. D. *et al.* Agronomic biofortification of carrot with selenium, **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 42, n. 2, p. 138-147, 2018.

PBMH. Programa Brasileiro para Modernização da Horticultura e Produção Integrada de Frutas (PBMH & PIF). **Normas de classificação de banana**. São Paulo: Ceagesp, 2006. (Documentos. 29).

PUCCINELLI, M.; MALORGIO, F.; PEZZAROSSA, B. Selenium Enrichment of Horticultural Crops. **Molecules**, [S.l.], v. 22. n. 6. p. 933. 2017.

REIS, H. *et al.* Agronomic biofortification of upland rice with selenium and nitrogen and its relation to grain quality. **Journal of Cereal Science**, [S.l.], v. 79. p. 508-515. 2018.

RODRIGUES, F. E. *et al.* Genetic variability in clones of 'Prata Anã' bananas based on phenotypic and molecular markers. **Bragantia**, Campinas, v. 71, n. 2, p. 182-189. 2012.

SILVA, E. D. N. D. *et al.* Effect of Selenite and Selenate Application on Mineral Composition of Lettuce Plants Cultivated Under Hydroponic Conditions: Nutritional Balance Overview Using a Multifaceted Study. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, [S.l.], v. 29. p. 371-379. 2018.

SOUSA, Y. A. *et al.* Avaliação físico-química e microbiológica de polpas de frutas congeladas comercializadas em Santarém-PA. **Brazilian Journal of Food Technology**, [S.l.], v. 23. p. e2018085, 2020.

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**, [S.l.], v. 182, n. 1, p. 49-84, 2009.

ZHU, S. *et al.* Spraying foliar selenium fertilizer on quality of table grape (*Vitis vinifera* L.) from different source varieties. **Scientia Horticulturae**, [S.l.], v. 218. p. 87-94. 2017.

APÊNDICES

APÊNDICE A

Quadro de análise de variância para as variáveis de crescimento de plântulas de bananeiras cultivadas *in vitro* e em casa de vegetação.

Tabela 1 – Resumo da análise de variância (ANOVA) para as variáveis de crescimento de plântulas de bananeiras cultivadas *in vitro*.

Número de Folhas				
FV	SQ	GL	F-valor	Pr(>F)
I(D)	0,0229	1	0,0742	0,7863
I(D ²)	0,0107	1	0,0348	0,8527
Número de Raiz				
FV	SQ	GL	F-valor	Pr(>F)
I(D)	0,0870	1	1,1437	0,2894
I(D ²)	0,0076	1	0,1002	0,7527
Comprimento de Broto				
FV	SQ	GL	F-valor	Pr(>F)
I(D)	24,553	1	20,0134	3,724e-05**
I(D ²)	0,110	1	0,0894	0,766
Comprimento de Raiz				
FV	SQ	GL	F-valor	Pr(>F)
I(D)	8,0398	1	55,451	5,732e-10**
I(D ²)	2,3461	1	16,181	0,0001714**
Massa Fresca				
FV	SQ	GL	F-valor	Pr(>F)
I(D)	0,45820	1	6,2698	0,01863*
I(D ²)	0,17013	1	2,3280	0,13870
Massa Seca				
FV	SQ	GL	F-valor	Pr(>F)
I(D)	0,24316	1	2,7835	0,10680
I(D ²)	0,29206	1	3,3433	0,07855
Teor Se MF				
FV	SQ	GL	F-valor	Pr(>F)
I(D)	4,3525	1	19,5168	0,02153*
I(D ²)	0,0016	1	0,0073	0,93728
Teor Se MS				
FV	SQ	GL	F-valor	Pr(>F)
I(D)	3,6842	1	81,4742	0,00287**
I(D ²)	0,1566	1	3,4634	0,159668

FV: fonte de variação; NF: número de folhas; NR: número de raiz; CB: comprimento do broto (cm); CR: comprimento de raiz (cm); MF: massa fresca (g); MS: massa seca (g),

*Significativo na análise sequencial a 5% de probabilidade pelo teste F,

**Significativo na análise sequencial a 1% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Da autora (2020).

Tabela 2 – Resumo da análise de variância (ANOVA) para as variáveis de crescimento de plântulas de bananeiras cultivadas em casa de vegetação.

Altura				
FV	SQ	GL	F-valor	Pr(>F)
I(D)	6,344	1	1,4214	0,2517
I(D ²)	3,111	1	0,6971	0,4169
Número de Folhas				
FV	SQ	GL	F-valor	Pr(>F)
I(D)	0,2333	1	0,7027	0,4150
I(D ²)	0,3968	1	1,1950	0,2916
Diâmetro				
FV	SQ	GL	F-valor	Pr(>F)
I(D)	0,008048	1	1,1287	0,304864
I(D ²)	0,070000	1	9,8175	0,006836**
Teor de Se na MF				
FV	SQ	GL	F-valor	Pr(>F)
I(D)	12,541	1	8,9132	0,05834*
I(D ²)	0,006	1	0,0042	0,95216
Teor de Se na MS				
FV	SQ	GL	F-valor	Pr(>F)
I(D)	11,3890	1	12,1776	0,03978*
I(D ²)	0,4156	1	0,4444	0,55270

*Significativo na análise sequencial a 5% de probabilidade pelo teste F.

**Significativo na análise sequencial a 1% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Da autora (2020).

APÊNDICE B

Plano original feito aleatoriamente pelo algoritmo de troca no software R representando as doses distribuídas em cada local de aplicação da planta e suas respectivas subdivisões das doses ou não entre todos os locais ou pares de locais.

Tabela 1- Doses de selenito aplicadas em cada unidade experimental e seus respectivos locais de aplicação na planta para o experimento de biofortificação de bananeiras Prata clone Gorotuba.

FONTE	SOLO	FOLHA	CACHO	INFLORESCÊNCIA	DOSE CHEIA
Selenito	0	0	0	0	0
Selenito	0	0	0	0	0
Selenito	0	150	0	0	150
Selenito	0	0	150	0	150
Selenito	0	0	0	150	150
Selenito	0	75	75	0	150
Selenito	0	0	75	75	150
Selenito	0	75	0	75	150
Selenito	0	50	50	50	150
Selenito	0	300	0	0	300
Selenito	0	0	300	0	300
Selenito	0	0	0	300	300
Selenito	0	150	0	150	300
Selenito	0	150	150	0	300
Selenito	0	0	150	150	300
Selenito	0	0	150	150	300
Selenito	0	100	100	100	300
Selenito	0	100	100	100	300

Fonte: Da autora (2020).

Tabela 2 - Doses de selenato aplicadas em cada unidade experimental e seus respectivos locais de aplicação na planta para o experimento de biofortificação de bananeiras Prata clone Gorotuba.

FONTE	SOLO	FOLHA	CACHO	INFLORESCÊNCIA	DOSE CHEIA
Selenato	0	0	0	0	0
Selenato	0	0	0	0	0
Selenato	150	0	0	0	150
Selenato	0	150	0	0	150
Selenato	0	0	150	0	150
Selenato	0	0	0	150	150
Selenato	75	75	0	0	150
Selenato	75	0	75	0	150
Selenato	75	0	0	75	150
Selenato	0	75	75	0	150
Selenato	0	75	0	75	150
Selenato	0	0	75	75	150
Selenato	0	50	50	50	150
Selenato	50	0	50	50	150
Selenato	50	50	0	50	150
Selenato	50	50	50	0	150
Selenato	38	38	38	38	152
Selenato	300	0	0	0	300
Selenato	0	300	0	0	300
Selenato	0	0	300	0	300
Selenato	0	0	0	300	300
Selenato	150	150	0	0	300
Selenato	150	0	150	0	300
Selenato	150	0	0	150	300
Selenato	0	150	150	0	300
Selenato	0	150	0	150	300
Selenato	0	0	150	150	300
Selenato	0	0	150	150	300
Selenato	100	100	100	0	300
Selenato	100	100	0	100	300
Selenato	100	0	100	100	300
Selenato	100	0	100	100	300
Selenato	0	100	100	100	300
Selenato	75	75	75	75	300
Selenato	75	75	75	75	300

Fonte: Da autora (2020).

APÊNDICE C

Quadro de análise de variância para caracteres de colheita.

Tabela 1 - Quadro da análise de variância (Anova) para número de frutos por penca (NFPP) de bananeira prata clone Gorutuba.

FV	SQ	GL	F - valor	Pr(>F)
Bloco	0,003134	1	1,0898	0,305766
Fonte	0,019331	1	6,7233	0,01518*
SL	0,000085	1	0,0297	0,864407
FL	0,001858	1	0,6461	0,428524
CH	0,005068	1	1,7626	0,195416
INF	0,015521	1	5,3982	0,027931*
Fonte:FL	0,000465	1	0,1617	0,690782
SL:FL	0,000377	1	0,131	0,720215
Fonte:CH	0,010507	1	3,6543	0,066592
SL:CH	0,010598	1	3,6861	0,065492
FL:CH	0,022596	1	7,8587	0,009251**
Fonte:INF	0,000236	1	0,082	0,776811
SL:INF	0,000095	1	0,0331	0,857015
FL:INF	0,000974	1	0,3387	0,56541
CH:INF	0,000447	1	0,1554	0,696562
Fonte:FL:CH	0,006917	1	2,4057	0,132541
SL:FL:CH	0,00064	1	0,2225	0,640958
Fonte:FL:INF	0,00112	1	0,3895	0,537823
SL:FL:INF	0,000909	1	0,3161	0,578628
Fonte:CH:INF	0,001248	1	0,4342	0,515539
SL:CH:INF	0,000059	1	0,0204	0,887469
FL:CH:INF	0,000622	1	0,2164	0,64556
Fonte:FL:CH:INF	0,003717	1	1,2928	0,265519
SL:FL:CH:INF	0,000494	1	0,1718	0,681814
Resíduo	0,077632	27		

FV: Fonte de variação; SQ: soma de quadrados; GL: graus de liberdade; valores para F significativo a 1% (**) e a 5% (*).

Fonte: Da autora (2020).

Tabela 2 - Quadro da análise de variância (Anova) para teor de selênio (TEORSE) de bananeira prata clone Gorutuba.

FV	SQ	GL	F-valor	Pr(>F)
Bloco	0,1068	1	0,2505	0,62074
Fonte	0,9949	1	2,335	0,13813
SL	0,0046	1	0,0108	0,91789
FL	0,0794	1	0,1863	0,66941
CH	0,7483	1	1,7561	0,19621
INF	0,1295	1	0,304	0,58592
Fonte:FL	1,0681	1	2,5069	0,12499
SL:FL	0,0246	1	0,0578	0,81182
Fonte:CH	1,1188	1	2,6257	0,11677
SL:CH	0,0083	1	0,0194	0,89015
FL:CH	0,7938	1	1,863	0,18354
Fonte:INF	0,2176	1	0,5107	0,48098
SL:INF	0,4967	1	1,1658	0,28982
FL:INF	0,1157	1	0,2714	0,60662
CH:INF	0,1218	1	0,2859	0,59721
Fonte:FL:CH	2,2227	1	5,2166	0,03046*
SL:FL:CH	0,1683	1	0,3949	0,53502
Fonte:FL:INF	0,2328	1	0,5464	0,46616
SL:FL:INF	0,3926	1	0,9214	0,34563
Fonte:CH:INF	0,1428	1	0,3352	0,56743
SL:CH:INF	0,0051	1	0,0119	0,91393
FL:CH:INF	0,0197	1	0,0463	0,8313
Fonte:FL:CH:INF	0,0198	1	0,0465	0,83098
SL:FL:CH:INF	0,0057	1	0,0135	0,9085
Resíduo	11,5043	27		

FV: Fonte de variação; SQ: soma de quadrados; GL: graus de liberdade; valores para F significativo a 1% (**) e a 5% (*).

Fonte: Da autora (2021).

Tabela 3 - Quadro da análise de variância (Anova) para acúmulo de selênio (ACSE) de bananeira prata clone Gorutuba.

FV	SQ	GL	F-valor	Pr(>F)
Bloco	4010	1	1,3992	0,247163
Fonte	36506	1	12,7368	0,001368**
SL	17693	1	6,1729	0,019467*
FL	31710	1	11,0633	0,002546**
CH	113389	1	39,5607	9,90E-07**
INF	11263	1	3,9295	0,057709
Fonte:FL	2355	1	0,8217	0,372693
SL:FL	1080	1	0,3769	0,54438
Fonte:CH	11638	1	4,0606	0,053951
SL:CH	296	1	0,1034	0,750278
FL:CH	488	1	0,1704	0,683041
Fonte:INF	194	1	0,0678	0,796518
SL:INF	50	1	0,0173	0,896327
FL:INF	819	1	0,2858	0,597293
CH:INF	4207	1	1,4678	0,236191
Fonte:FL:CH	32	1	0,0112	0,916473
SL:FL:CH	3733	1	1,3023	0,263814
Fonte:FL:INF	2197	1	0,7664	0,389064
SL:FL:INF	526	1	0,1836	0,671663
Fonte:CH:INF	157	1	0,0546	0,816947
SL:CH:INF	71	1	0,0249	0,875684
FL:CH:INF	516	1	0,1802	0,674598
Fonte:FL:CH:INF	10791	1	3,7649	0,062847
SL:FL:CH:INF	1545	1	0,5389	0,469205
Resíduo	77387	27		

FV: Fonte de variação; SQ: soma de quadrados; GL: graus de liberdade; valores para F significativo a 1% (**) e a 5% (*).

Fonte: Da autora (2020).

APÊNDICE D

Quadro de análise de variância para caracteres de pós – colheita.

Tabela 1 - Quadro da análise de variância (Anova) para redução de peso das pencas (RED) de bananeira prata clone Gorutuba.

FV	SQ	GL	F-valor	Pr(>F)
Bloco	0,0017	1	0,0315	0,8604
Fonte	0,09981	1	1,8522	0,1852
SL	0,00544	1	0,1009	0,75323
FL	0,02267	1	0,4206	0,52232
CH	0,04789	1	0,8886	0,35452
INF	0,00096	1	0,0178	0,89481
Fonte:FL	0,00332	1	0,0615	0,80604
SL:FL	0,00212	1	0,0394	0,84416
Fonte:CH	0,0009	1	0,0167	0,89831
SL:CH	0,00057	1	0,0106	0,91888
FL:CH	0,35068	1	6,5077	0,01697*
Fonte:INF	0,02276	1	0,4224	0,52144
SL:INF	0,00024	1	0,0045	0,94684
FL:INF	0,02697	1	0,5005	0,48558
CH:INF	0,00485	1	0,09	0,76661
Fonte:FL:CH	0,0286	1	0,5308	0,4728
SL:FL:CH	0,01397	1	0,2593	0,61488
Fonte:FL:INF	0,01046	1	0,194	0,66322
SL:FL:INF	0,04578	1	0,8496	0,36513
Fonte:CH:INF	0,06415	1	1,1904	0,28525
SL:CH:INF	0,10637	1	1,9739	0,17187
FL:CH:INF	0,07925	1	1,4707	0,23614
Fonte:FL:CH:INF	0,05821	1	1,0802	0,30821
SL:FL:CH:INF	0,00219	1	0,0407	0,84177
Resíduo	1,40105	26		

FV: Fonte de variação; SQ: soma de quadrados; GL: graus de liberdade; valores para F significativo a 1% (**) e a 5% (*).

Fonte: Da autora (2020).

Tabela 2 - Quadro da análise de variância (Anova) para comprimento de frutos (CMF) de bananeira prata clone Gorutuba.

FV	SQ	GL	F-valor	Pr(>F)
Bloco	26,4	1	0,0815	0,77758
Fonte	982,3	1	3,0354	0,09328
SL	164	1	0,5069	0,48284
FL	368,3	1	1,1382	0,29585
CH	1586,6	1	4,9025	0,03579*
INF	121,6	1	0,3759	0,54516
Fonte:FL	63	1	0,1946	0,66279
SL:FL	240,5	1	0,7432	0,39653
Fonte:CH	0,5	1	0,0014	0,9705
SL:CH	140,6	1	0,4344	0,51562
FL:CH	18,6	1	0,0575	0,81242
Fonte:INF	64,9	1	0,2004	0,6581
SL:INF	32,1	1	0,0993	0,75523
FL:INF	24,2	1	0,0748	0,78663
CH:INF	44,4	1	0,1372	0,71409
Fonte:FL:CH	447,2	1	1,3819	0,25044
SL:FL:CH	16,5	1	0,051	0,82313
Fonte:FL:INF	33,5	1	0,1036	0,75013
SL:FL:INF	51,2	1	0,1583	0,69398
Fonte:CH:INF	43,8	1	0,1352	0,71603
SL:CH:INF	92,8	1	0,2867	0,59691
FL:CH:INF	123,6	1	0,3819	0,54195
Fonte:FL:CH:INF	41,1	1	0,127	0,72442
SL:FL:CH:INF	30,7	1	0,0947	0,76071
Resíduo	8414,3	26		

FV: Fonte de variação; SQ: soma de quadrados; GL: graus de liberdade; valores para F significativo a 1% (**) e a 5% (*)

Fonte: Da autora (2021).

Tabela 3 - Quadro da análise de variância (Anova) para firmeza de frutos (FMZ) de bananeira prata clone Gorutuba.

FV	SQ	GL	F-valor	Pr(>F)
Bloco	4,2E-06	1	0,0227	0,8815
Fonte	2,41E-05	1	0,1316	0,71974
SL	2,5E-06	1	0,0138	0,90751
FL	0,000287	1	1,5658	0,22196
CH	0,000471	1	2,5686	0,12108
INF	0,00031	1	1,6894	0,20508
Fonte:FL	2,16E-05	1	0,118	0,73402
SL:FL	0,000113	1	0,6142	0,4403
Fonte:CH	4,97E-05	1	0,2711	0,60698
SL:CH	0,00013	1	0,7075	0,40793
FL:CH	6,37E-05	1	0,3473	0,56071
Fonte:INF	1,9E-06	1	0,0106	0,91897
SL:INF	3,74E-05	1	0,2039	0,6553
FL:INF	0,000113	1	0,6139	0,44041
CH:INF	0,000135	1	0,7389	0,39787
Fonte:FL:CH	0,000639	1	3,4863	0,07319
SL:FL:CH	0,000783	1	4,2712	0,04886*
Fonte:FL:INF	0,000214	1	1,1684	0,28966
SL:FL:INF	0,001271	1	6,9357	0,01404*
Fonte:CH:INF	0,001346	1	7,3439	0,01175*
SL:CH:INF	6,31E-05	1	0,3441	0,56255
FL:CH:INF	8E-07	1	0,0044	0,94743
Fonte:FL:CH:INF	8,12E-05	1	0,4432	0,51145
SL:FL:CH:INF	6,8E-06	1	0,0373	0,84827
Resíduo	0,004765	26		

FV: Fonte de variação; SQ: soma de quadrados; GL: graus de liberdade; valores para F significativo a 1% (**) e a 5% (*).

Fonte: Da autora (2020).

Tabela 4 - Quadro da análise de variância (Anova) para sólidos solúveis (SS) de bananeira prata clone Gorutuba.

FV	SQ	GL	F-valor	Pr(>F)
Bloco	0,00037	1	0,0183	0,8933
Fonte	0	1	0,0002	0,98881
SL	0,00256	1	0,126	0,72551
FL	0,04155	1	2,0413	0,16498
CH	0,00125	1	0,0613	0,80646
INF	0,00902	1	0,4433	0,51139
Fonte:FL	0,01835	1	0,9012	0,3512
SL:FL	0,09299	1	4,5679	0,04215*
Fonte:CH	0,00001	1	0,0007	0,97973
SL:CH	0,01831	1	0,8993	0,35169
FL:CH	0,10167	1	4,9948	0,03423*
Fonte:INF	0,01238	1	0,608	0,4426
SL:INF	0,00098	1	0,0484	0,82762
FL:INF	0,04319	1	2,1218	0,15719
CH:INF	0,00009	1	0,0044	0,94772
Fonte:FL:CH	0,02177	1	1,0696	0,31055
SL:FL:CH	0,04681	1	2,2998	0,14146
Fonte:FL:INF	0,07148	1	3,5113	0,07223
SL:FL:INF	0,00371	1	0,1824	0,67282
Fonte:CH:INF	0,00447	1	0,2197	0,64315
SL:CH:INF	0,00528	1	0,2593	0,6149
FL:CH:INF	0,01235	1	0,6067	0,44305
Fonte:FL:CH:INF	0,01715	1	0,8425	0,36711
SL:FL:CH:INF	0,00598	1	0,2938	0,5924
Resíduo	0,52926	26		

FV: Fonte de variação; SQ: soma de quadrados; GL: graus de liberdade; valores para F significativo a 1% (**) e a 5% (*).

Fonte: Da autora (2020).

Tabela 5 – Quadro da análise de variância (Anova) para pH de bananeira prata clone Gorutuba.

FV	SQ	GL	F-valor	Pr(>F)
Bloco	0,3724	1	2,5417	0,12296
Fonte	0,0001	1	0,0005	0,98198
SL	0,0023	1	0,0159	0,90071
FL	0,3706	1	2,5294	0,12383
CH	0,4457	1	3,0418	0,09296
INF	0,2927	1	1,9973	0,16944
Fonte:FL	1,0623	1	7,2499	0,01224*
SL:FL	0,0927	1	0,6324	0,43369
Fonte:CH	0,5454	1	3,7219	0,06469
SL:CH	0,0006	1	0,0039	0,9508
Fonte:INF	0,9062	1	6,1846	0,01963*
SL:INF	0,0418	1	0,2854	0,59771
FL:INF	0,0079	1	0,0542	0,81773
CH:INF	0,0618	1	0,4218	0,52176
Fonte:FL:CH	0,0559	1	0,3815	0,54217
SL:FL:CH	0,0161	1	0,1099	0,74288
Fonte:FL:INF	0,0991	1	0,6762	0,41838
SL:FL:INF	0,0013	1	0,0087	0,92628
Fonte:CH:INF	0,2126	1	1,4512	0,23919
SL:CH:INF	0,0013	1	0,0086	0,92663
FL:CH:INF	0,0023	1	0,0157	0,90129
Fonte:FL:CH:INF	0,0172	1	0,1172	0,73482
SL:FL:CH:INF	0,0056	1	0,0382	0,84662
Resíduo	3,8097	26		

FV: Fonte de variação; SQ: soma de quadrados; GL: graus de liberdade; valores para F significativo a 1% (**) e a 5% (*).

Fonte: Da autora (2020).

Tabela 6 - Quadro da análise de variância (Anova) para acidez titulável (AT) de bananeira prata clone Gorutuba.

FV	SQ	GL	F-valor	Pr(>F)
Bloco	0,0229	1	0,4831	0,49317
Fonte	0,00432	1	0,0911	0,7652
SL	0,09841	1	2,0763	0,16154
FL	0,00068	1	0,0143	0,90558
CH	0,01801	1	0,3799	0,543
INF	0,03455	1	0,7289	0,40104
Fonte:FL	0,27269	1	5,7535	0,02392*
SL:FL	0,04464	1	0,9419	0,34073
Fonte:CH	0,01343	1	0,2835	0,59897
SL:CH	0,20406	1	4,3055	0,048028
FL:CH	0,00012	1	0,0026	0,95964
Fonte:INF	0,20273	1	4,2775	0,048788
SL:INF	0,02717	1	0,5732	0,45581
FL:INF	0,01173	1	0,2475	0,623
CH:INF	0,00085	1	0,0179	0,89448
Fonte:FL:CH	0,0447	1	0,9431	0,34044
SL:FL:CH	0,12625	1	2,6637	0,11471
Fonte:FL:INF	0,17045	1	3,5963	0,06907
SL:FL:INF	0,00141	1	0,0298	0,86435
Fonte:CH:INF	0,04677	1	0,9869	0,32966
SL:CH:INF	0,09082	1	1,9162	0,17804
FL:CH:INF	0	1	0	0,99974
Fonte:FL:CH:INF	0,0044	1	0,0929	0,76291
SL:FL:CH:INF	0,04909	1	1,0357	0,3182
Resíduo	1,23228	26		

FV: Fonte de variação; SQ: soma de quadrados; GL: graus de liberdade; valores para F significativo a 1% (**) e a 5% (*).

Fonte: Da autora (2020).

Tabela 7 - Quadro da análise de variância (Anova) para RATIO frutos de bananeira prata clone Gorutuba.

FV	SQ	GL	F-valor	Pr(>F)
Bloco	0,0285	1	0,5498	0,46503
Fonte	0,00387	1	0,0747	0,7868
SL	0,14398	1	2,7776	0,10759
FL	0,0421	1	0,8122	0,37575
CH	0,03584	1	0,6914	0,41325
INF	0,01149	1	0,2218	0,64163
Fonte:FL	0,15618	1	3,0129	0,09444
SL:FL	0,24556	1	4,7372	0,03879*
Fonte:CH	0,01766	1	0,3408	0,56441
SL:CH	0,08875	1	1,7122	0,20215
FL:CH	0,10581	1	2,0413	0,16499
Fonte:INF	0,13524	1	2,6091	0,11832
SL:INF	0,03973	1	0,7665	0,38931
FL:INF	0,0109	1	0,2102	0,65039
CH:INF	0,00062	1	0,012	0,91373
Fonte:FL:CH	0,11159	1	2,1527	0,15431
SL:FL:CH	0,01636	1	0,3156	0,57907
Fonte:FL:INF	0,02053	1	0,396	0,53467
SL:FL:INF	0,00088	1	0,017	0,89733
Fonte:CH:INF	0,0691	1	1,333	0,25877
SL:CH:INF	0,03831	1	0,739	0,39784
FL:CH:INF	0,00887	1	0,1711	0,6825
Fonte:FL:CH:INF	0,0216	1	0,4167	0,52425
SL:FL:CH:INF	0,02308	1	0,4453	0,51045
Resíduo	1,34773	26		

FV: Fonte de variação; SQ: soma de quadrados; GL: graus de liberdade; valores para F significativo a 1% (**) e a 5% (*).

Fonte: Da autora (2020).