



CARLOS HENRIQUE MILAGRES RIBEIRO

**SELÊNIO E IODO NA TOLERÂNCIA AO ESTRESSE
TÉRMICO E NA QUALIDADE DE FRUTAS DE AMOREIRAS-
PRETA E FRAMBOESEIRAS EM REGIÕES SUBTROPICAIS**

LAVRAS – MG

2025

CARLOS HENRIQUE MILAGRES RIBEIRO

**SELÊNIO E IODO NA TOLERÂNCIA AO ESTRESSE TÉRMICO E NA
QUALIDADE DE FRUTAS DE AMOREIRAS-PRETA E FRAMBOESEIRAS EM
REGIÕES SUBTROPICAIS**

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.

Orientador
Prof. Dr. Rafael Pio

LAVRAS – MG

2025

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

Ribeiro, Carlos Henrique Milagres
Selênio e iodo na tolerância ao estresse térmico e na qualidade de
frutas de amoreiras-preta e framboeseiras em regiões subtropicais / Carlos
Henrique Milagres Ribeiro. – Lavras : UFLA, 2025.
127 p. : il.

Tese (doutorado acadêmico) – Universidade Federal de
Lavras, 2025.
Orientador: Rafael Pio.
Bibliografia.

1. *Rubuss* spp. 2. Qualidade de frutos. 3. Estresses térmicos,
Pio Rafael.

CARLOS HENRIQUE MILAGRES RIBEIRO

**SELÊNIO E IODO NA TOLERÂNCIA AO ESTRESSE TÉRMICO E NA
QUALIDADE DE FRUTAS DE AMOREIRAS-PRETA E FRAMBOESEIRAS EM
REGIÕES SUBTROPICAIS
SELENIUM AND IODINE IN THERMAL STRESS TOLERANCE AND FRUIT
QUALITY OF BLACKBERRIES AND RASPBERRIES PLANTS IN SUBTROPICAL
REGIONS**

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 28 de agosto de 2025.

Dra. Leila Aparecida Salles Pio	UFLA
Dr. Pedro Maranhã Pêche	UFLA
Dra. Paula Nogueira Curi	EPAMIG
Dr. Emerson Dias Gonçalves	EPAMIG

Orientador
Prof. Dr. Rafael Pio

LAVRAS – MG

2025

*Aos meus pais, Márcia e Ronan, minha avó Terezinha, por todo amor, apoio incondicional
e por acreditarem em cada passo da minha jornada.*

*Ao meu avô Antônio (in memoriam) e aos meus tios José Roberto e Paulo Sérgio (in
memoriam), cuja memória e exemplo continuam vivos em meu coração e me inspiram
diariamente a seguir em frente.*

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus, por caminhar comigo em cada passo desta jornada, por me dar força nos momentos de cansaço, coragem diante dos desafios e serenidade para transformar obstáculos em aprendizado. Este sonho só se tornou realidade porque Sua presença foi constante.

À minha família, meu porto seguro. À minha mãe, Márcia Maria Milagres da Costa, ao meu pai, Ronan Martins de Almeida; à minha avó, Terezinha Milagres da Costa, ao meu tio, Paulo Roberto Milagres da Costa (Beto), exemplos vivos de resiliência, honestidade e força, e à minha prima, Danielle Karla Araújo Milagres. Obrigado pelo amor incondicional, pelo incentivo diário, pelos conselhos sábios e, acima de tudo, por compreenderem minha ausência nos dias de dedicação intensa.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) e ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, pela oportunidade de transformar um objetivo em conquista, e por me permitir dar início a uma nova etapa da minha vida.

Ao meu orientador e amigo, professor Dr. Rafael Pio, minha profunda gratidão pela confiança depositada, pelas oportunidades e conselhos que moldaram meu caminho. Seu exemplo como profissional e ser humano será inspiração para sempre.

Ao Departamento de Ciência do Solo, em especial o professor Luiz Roberto Guimarães Guilherme e o Pós-Doc Everton Geraldo de Moraes, agradeço pelo suporte, ensinamentos e palavras que, muitas vezes, acalmaram e motivaram.

Ao Laboratório de Pós-Colheita de Frutas, Hortaliças e Vegetais, coordenado pelos professores Dr. Eduardo Valério Vilas Boas e Dra. Elisângela Elena Nunes Carvalho, e aos doutorandos Gilson Gustavo Machado, Ana Beatriz Silva Araújo e Lorraine Ribeiro, por toda paciência, disposição para ensinar e companheirismo ao longo de quase três anos de aprendizado.

Ao Laboratório de Fisiologia de Plantas Cultivadas – UFLA, coordenado pelo professor Paulo Marchiori, e em especial ao Dr. Juscelino Sousa e à técnica Dra. Taís Teixeira, pela generosidade nos ensinamentos e pelo apoio essencial nas análises.

Aos órgãos de fomento - CAPES, FAPEMIG (Processo APQ-03781-22) e CNPq (Processo 403040/2023-0) - pelo apoio ao desenvolvimento desta pesquisa, e ao INCT Segurança de Solo e Alimento (Processo 406577/2022-6), pelo financiamento de parte das análises laboratoriais. Ao La da Serra, Aiuruoca-MG, agradeço por abrir suas portas e ceder o campo experimental.

Ao Núcleo de Estudos em Fruticultura - NEFRUT, especialmente a Ana Gabriela Resende, Gustavo Aissum, Caio Canestri, Daniel Leopoldo, Isabel Roque, Isabella Oliveira, Leandro Costa, Melissa Franco, Thiago José, Tessa Maria e Fabiano Junior, pelo apoio incansável nos tratos culturais, coletas e atividades que ajudaram a dar forma a esta tese.

Aos professores e colaboradores do Setor de Fruticultura, pela ajuda prática e constante, e aos pós-graduandos Fabiano Luís Ramos Filho, Denny Oswaldo Paéz Piñango, Moysa Silva de Assis, Gabriele Schneider e Monalisa Barbosa, pela dedicação e amizade.

Aos amigos que a UFLA me presenteou - Carmélia Maia Silva, Paulina Celestino, Pedro Vilela, Cléber Junior, Ana Clara Mazzoni, Elisabeth Watanabe Daniel Leopoldo, Laise dos Santos, Cecília Balduino Ferreira, Paulo Henrique Frois Barros, Thamiris Ferreira de Souza, Laura Maria Batista, Letícia Miranda, Francilene Bonifácio, Elisabeth (Elda Zue), Micaela Rodrigues, Gislaine Cristina, Juan Antônio, Pamela Santos, Renata Vacaro e Gabriela Memento, por dividirem não apenas o trabalho, mas também conversas, risadas e momentos que tornaram a jornada mais leve.

À banca examinadora, pela disponibilidade e pelas contribuições valiosas para este trabalho.

À Marli, pela amizade genuína, pelos conselhos e pela disposição em me ajudar sempre.

Aos meus amigos de vida Roni Peterson Carlos, Thatyelle Cristina Bonifácio, Pedro Henrique Ferreira, Hortência Magierek, Bárbara Lisboa, Isabela Garcia, Anna Clara Magalhães, Thairine Faria, Karise Fernanda Froner Nogara, Dra. Marília Maia de Souza, Lucas Ferreira Costa, Lucas Augusto e Fred Henrique, que mesmo longe, sempre estiveram presentes, me encorajando, aconselhando e celebrando cada conquista como se fosse deles.

Aos discentes de iniciação científica do professor Rafael Pio, Ana Vitória Niz, Katharina Fischer, Aurélio Souza, Leonardo Isidoro (*in memoriam*), Pedro Carrijo, Arthur Adamante, Lara de Paula, Bruno Coelho, Álvaro Carvalho, Pedro Lucas, Vitor Ribeiro, Arthur Ricardo, Breno Silveira e Gustavo Silva Freire, pela ajuda essencial nas avaliações, tratos culturais e pela amizade que cultivamos.

E a todas as pessoas que, de alguma forma, contribuíram para que esta tese se tornasse realidade, meu sincero e eterno muito obrigado.

MUITO OBRIGADO!!

“Não fui eu que lhe ordenei? Seja forte e corajoso! Não se apavore nem desanime, pois o Senhor, o seu Deus, estará com você por onde você andar”
(Josué 1:9)

RESUMO GERAL

A amoreira-preta (*Rubus* spp.) e a framboeseira (*Rubus idaeus*) são frutíferas de clima temperado em expansão no Brasil, destacando-se pelo elevado teor de compostos bioativos, como antocianinas, flavonoides e vitamina C. Contudo, em regiões subtropicais, enfrentam limitações ligadas à adaptação climática e à baixa fertilidade dos solos, especialmente quanto à disponibilidade de micronutrientes como selênio (Se) e iodo (I). A deficiência desses elementos é um problema global que afeta tanto a produtividade agrícola quanto a saúde humana, estando associada a doenças crônicas, disfunções endócrinas e prejuízos ao desenvolvimento físico e cognitivo. A biofortificação agrônômica é uma estratégia eficiente para o enriquecimento nutricional das culturas, especialmente por meio da aplicação foliar de fertilizantes contendo minerais essenciais. Além de melhorar o valor nutricional dos alimentos, essa técnica pode aumentar a tolerância das plantas a estresses abióticos, contribuindo para a sustentabilidade da produção. Os trabalhos realizados tiveram como objetivo avaliar os efeitos da aplicação foliar de Se e I em amoreira-preta e framboeseira, com enfoque na qualidade nutricional e funcional dos frutos e na mitigação de estresses térmicos (abiótico). Foram conduzidos quatro estudos envolvendo diferentes combinações de fontes e doses de fontes desses micronutrientes, em distintas fenofases de desenvolvimento, tanto em condições de campo quanto em ambiente controlado. No primeiro estudo, realizado com framboeseira ‘Heritage’, a aplicação combinada de Se e I, especialmente Se inorgânico multinutriente com iodato de potássio (KIO_3), resultou em aumentos nos teores de antocianinas, ácido ascórbico, carotenoides, fenólicos totais e na atividade antioxidante dos frutos, evidenciando a eficácia da aplicação na melhoria do perfil funcional. Já no segundo experimento, conduzido com amoreira-preta ‘BRS Tupy’, a aplicação foliar de Se e I aumentou os parâmetros físico-químicos, compostos bioativos e a composição mineral dos frutos. Combinações contendo Se orgânico e KIO_3 promoveram maiores incrementos no ácido ascórbico, fenólicos totais, antocianinas, carotenoides e na atividade antioxidante, além de melhorar atributos comerciais como sólidos solúveis, relação SS/AT e coloração. O terceiro estudo, voltado à tolerância ao frio em amoreira-preta ‘BRS Tupy’, revelou que a aplicação conjunta de Se orgânico e I atenuou os efeitos negativos do estresse térmico, estimulando enzimas antioxidantes (SOD, CAT, APX), aumentando o acúmulo de osmoprotetores (prolina e açúcares solúveis) e preservando a atividade fotossintética após exposição a $-2\text{ }^{\circ}\text{C}$. No quarto experimento, desenvolvido com framboeseira ‘Heritage’ sob altas temperaturas, mostrou que combinações moderadas de Se e I melhoraram o conteúdo relativo de água, reduziram a peroxidação lipídica, ativaram o sistema antioxidante e favorece o

acúmulo de compostos osmoprotetores. Esses tratamentos também preservaram parâmetros fotossintéticos, como Fv/Fm, rendimento quântico efetivo e dissipação fotoquímica, conforme evidenciado pela análise de componentes principais. De forma geral, os resultados indicam que a aplicação foliar de Se e I constitui prática agronômica promissora para a amoreira-preta e framboeseira cultivadas em regiões subtropicais, capaz de melhorar simultaneamente a qualidade nutricional e funcional dos frutos e a resiliência das plantas a estresses abióticos. A adoção dessa estratégia pode contribuir para o manejo sustentável, a segurança alimentar e a adaptação da fruticultura de clima temperado às mudanças climáticas.

Palavras-chave: *Rubus spp.*; antioxidantes; qualidade de frutos; estresses térmicos.

ABSTRACT

The Blackberry (*Rubus* spp.) and raspberry (*Rubus idaeus*) are temperate-climate fruit species expanding in Brazil, standing out for their high levels of bioactive compounds such as anthocyanins, flavonoids, and vitamin C. However, in subtropical regions they face limitations related to climatic adaptation and low soil fertility, particularly regarding the availability of micronutrients such as selenium (Se) and iodine (I). The deficiency of these elements is a global issue affecting both agricultural productivity and human health, being associated with chronic diseases, endocrine dysfunctions, and impaired physical and cognitive development. Agronomic biofortification is an efficient strategy for enhancing the nutritional value of crops, especially through foliar application of fertilizers containing essential minerals. In addition to improving the nutritional quality of food, this technique can increase plant tolerance to abiotic stresses, contributing to sustainable production. The studies carried out aimed to evaluate the effects of foliar Se and I application in blackberry and raspberry, focusing on the nutritional and functional quality of the fruits and the mitigation of thermal (abiotic) stresses. Four experiments were conducted using different combinations and doses of these micronutrients, applied at distinct developmental stages under both field and controlled conditions. In the first study, conducted with raspberry 'Heritage', the combined application of Se and I, particularly inorganic multi-nutrient Se with potassium iodate (KIO_3), increased anthocyanins, ascorbic acid, carotenoids, total phenolics, and antioxidant activity in the fruits, demonstrating the effectiveness of the treatment in enhancing the functional profile. In the second experiment, carried out with blackberry 'BRS Tupy', foliar application of Se and I improved physicochemical attributes, bioactive compounds, and mineral composition of the fruits. Combinations including organic Se and KIO_3 promoted higher increases in ascorbic acid, total phenolics, anthocyanins, carotenoids, and antioxidant activity, in addition to improving commercial traits such as soluble solids, SS/TA ratio, and fruit color. The third study, focused on cold tolerance in blackberry 'BRS Tupy', showed that the joint application of organic Se and I alleviated the negative effects of thermal stress by stimulating antioxidant enzymes (SOD, CAT, APX), increasing the accumulation of osmoprotectants (proline and soluble sugars), and preserving photosynthetic activity after exposure to $-2\text{ }^{\circ}\text{C}$. The fourth experiment, performed with raspberry 'Heritage' under high temperatures, revealed that moderate Se and I combinations improved relative water content, reduced lipid peroxidation, activated the antioxidant system, and enhanced the accumulation of osmoprotectants. These treatments also preserved photosynthetic parameters such as Fv/Fm , effective quantum yield, and

photochemical quenching, as evidenced by principal component analysis. Overall, the results indicate that foliar application of Se and I is a promising agronomic practice for blackberry and raspberry grown in subtropical regions, capable of simultaneously improving fruit nutritional and functional quality and enhancing plant resilience to abiotic stresses. Adoption of this strategy may contribute to sustainable management, food security, and the adaptation of temperate-climate fruit crops to climate change.

Keywords: *Rubus spp.*; antioxidants; fruit quality; thermal stresses.

INDICADORES DE IMPACTO

A fruticultura tem papel importante no agronegócio brasileiro, e o consumo de frutas trás benefícios à saúde humana. Entre as culturas que vêm ganhando destaque encontram-se as pequenas frutas, como amora-preta e framboesa, valorizadas pelo formato, coloração e elevado teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante, os quais contribuem para o combate a doenças degenerativas. O selênio (Se) e o iodo (I) são micronutrientes benéficos para as plantas, pois, em baixas concentrações, elevam as defesas antioxidantes enzimáticas e não enzimáticas, aumentam a taxa fotossintética, o conteúdo de pigmentos foliares, a capacidade osmoprotetora e o balanço iônico. Além do ganho nutricional promovido pela aplicação de Se e I possui potencial para reduzir perdas e desperdícios na produção agrícola. Estudos que investiguem a aplicação foliar com Se e I em frutas vermelhas são essenciais para esclarecer seus efeitos sobre a composição química, compostos bioativos e atividade antioxidante. O presente trabalho gerou impactos em potencial nas dimensões social, ambiental, tecnológica e de saúde ao avaliar a aplicação foliar de Se e I em framboeseira e amoreira-preta, visando a melhoria da qualidade nutricional e funcional, bem como a mitigação de estresses térmicos em mudas e frutos sob diferentes condições ambientais. Se e I são um dos micronutrientes mais deficitários na dieta humana mundial, associados à “fome oculta”. A aplicação desses elementos em culturas agrícolas se destaca como estratégia eficaz para aumentar suas concentrações nos produtos colhidos, promovendo também o enriquecimento em compostos bioativos e antioxidantes. Os resultados demonstram que a aplicação foliar com Se e I aumentou os teores de compostos fenólicos, antocianinas, vitamina C, carotenoides e a atividade antioxidante dos frutos, além de favorecer a tolerância ao estresse térmico e a conservação pós-colheita, refletindo diretamente na segurança alimentar e nutricional. Os experimentos foram conduzidos no município de Aiuruoca-MG, em áreas de agricultura familiar, e no Setor de Fruticultura da Universidade Federal de Lavras (UFLA), envolvendo docentes, estudantes de graduação e pós-graduação, e técnicos, o que reforça a integração entre pesquisa e formação acadêmica. A proposta apresenta potencial para ampliação extensionista, com transferência de tecnologia a pequenos produtores de frutas vermelhas. As contribuições do estudo alinham-se às áreas temáticas da Política Nacional de Extensão - especialmente Tecnologia e Produção, Saúde, Meio Ambiente e Trabalho - e a diversos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) da ONU, destacando-se os ODS 2 (Fome Zero e Agricultura Sustentável), 3 (Saúde e Bem-estar), 12 (Consumo e Produção Responsáveis) e 13 (Ação Contra a Mudança Global do Clima).

IMPACT INDICATORS

Fruit farming plays an important role in the Brazilian agribusiness sector, and fruit consumption brings benefits to human health. Among the crops gaining prominence are small fruits such as blackberry and raspberry, valued for their shape, color, and high content of phenolic compounds and antioxidant activity, which contribute to combating degenerative diseases. Selenium (Se) and iodine (I) are micronutrients beneficial to plants because, at low concentrations, they enhance enzymatic and non-enzymatic antioxidant defenses, increase the photosynthetic rate, foliar pigment content, osmoprotective capacity, and ionic balance. Beyond the nutritional gains promoted by biofortification, the application of Se and I has the potential to reduce losses and waste in agricultural production. Studies investigating biofortification with Se and I in small red fruits are essential to clarify their effects on chemical composition, bioactive compounds, and antioxidant activity. This study generated potential impacts in social, environmental, technological, and health dimensions by evaluating the foliar application of Se and I in the agronomic biofortification of raspberry and blackberry plants, aiming to improve nutritional and functional quality as well as mitigate thermal stress in seedlings and fruits under different environmental conditions. Se and I are among the micronutrients most deficient in the global human diet, associated with “hidden hunger.” The application of these elements in agricultural crops stands out as an effective strategy to increase their concentrations in harvested products, also promoting enrichment in bioactive and antioxidant compounds. The results demonstrate that biofortification with Se and I increased levels of phenolic compounds, anthocyanins, vitamin C, carotenoids, and antioxidant activity in the fruits, besides enhancing tolerance to thermal stress and postharvest conservation, directly impacting food security and nutrition. Experiments were conducted in the municipality of Aiuruoca, Minas Gerais, in family farming areas, and at the Fruit Growing Sector of the Federal University of Lavras (UFLA), involving faculty, undergraduate and graduate students, and technicians, reinforcing the integration between research and academic training. The proposal shows potential for extension activities, with technology transfer to small producers of red fruits. The study’s contributions align with thematic areas of the National Extension Policy — especially Technology and Production, Health, Environment, and Work — and with several United Nations Sustainable Development Goals (SDGs), notably SDG 2 (Zero Hunger and Sustainable Agriculture), SDG 3 (Health and Well-being), SDG 12 (Responsible Consumption and Production), and SDG 13 (Climate Action). Thus, the study reinforces biofortification as a viable, sustainable, and

promising strategy to address nutritional insecurity and promote human health through agriculture.

SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE.....	16
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	16
SEGUNDA PARTE – ARTIGOS.....	18
ARTIGO 1 – APLICAÇÃO DE SELÊNIO E IODO MELHORA A QUALIDADE E OS COMPOSTOS BIOATIVOS DE FRUTOS DE FRAMBOESA ‘HERITAGE’	18
ARTIGO 2 – SELÊNIO E IODO MELHORA A QUALIDADE E O PERFIL BIOATIVO DA AMOREIRA-PRETA ‘TUPY’	42
ARTIGO 3 – SELÊNIO E IODO MELHORAM O BALANÇO OXIDATIVO E A RECUPERAÇÃO FOTOSSINTÉTICA EM AMOREIRA-PRETA SOB ESTRESSE POR FRIO.....	65
ARTIGO 4 – MODULAÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO E DO DESEMPENHO FOTOSSINTÉTICO POR SELÊNIO E IODO EM MUDAS DE FRAMBOESEIRAS EXPOSTAS A ALTAS TEMPERATURAS	93
TERCEIRA PARTE.....	123
2. CONSIDERAÇÕES FINAIS	123
REFERÊNCIAS	124

PRIMEIRA PARTE

I. INTRODUÇÃO GERAL

As deficiências de micronutrientes nos cultivos agrícolas caracterizam-se como uma preocupação, tanto para a produção agrícola quanto para a nutrição humana (Gibas-Dorma; Żukiewicz-Sobczak, 2024). Estima-se que aproximadamente metade da população mundial apresenta algum grau de desnutrição, em função da baixa ingestão de vitaminas e minerais essenciais, como de zinco (Zn), iodo (I), ferro (Fe) e vitamina A (Kumar *et al.*, 2024; Razzaque; Wimalawansa, 2025). Nas últimas décadas, os sistemas agrícolas têm priorizado o aumento da produtividade, porém, a necessidade dos incrementos produtivos, muitas das vezes, negligenciou a qualidade nutricional dos alimentos (Yilmaz; Yilmaz, 2025). Assim, torna-se importante realizar estudos que auxiliem desde uma maior produtividade, como a produção de alimentos com um elevado teor nutricional e em quantidades suficientes para suprir a demanda crescente da população global (Bhardwaj *et al.*, 2024).

Nesse contexto, as deficiências de Se e I estão entre as formas mais comuns de desnutrição, representando um desafio global (Kumar *et al.*, 2025). O Se possui funções antioxidantes e anticancerígenas, e sua ingestão insuficiente está associada a doenças cardiovasculares, disfunções endócrinas, comprometimento imunológico e aumento da suscetibilidade a infecções e câncer (Bai *et al.*, 2024; Sadler *et al.*, 2024; Calcaterra *et al.*, 2025). O I é essencial para a síntese dos hormônios tireoidianos, de grande importância durante a gravidez e para o desenvolvimento físico e cognitivo infantil (Wu *et al.*, 2024; Daniel; Mangano, 2025; Feldt-Rasmussen, 2025).

A biofortificação agronômica em cultivos agrícolas pode ser uma solução eficaz e acessível para o enriquecimento nutricional das espécies cultivadas (Azeem *et al.*, 2025), podendo ser realizada por melhoramento genético (Zulfiqar *et al.*, 2024), melhoramento convencional (Sen *et al.*, 2024) e aplicação de fertilizantes (Xue *et al.*, 2023), sendo esta última a mais acessível e de rápida implementação. Estudos de campo em cultivos destinados a alimentação, como trigo, arroz, milho e feijão, demonstraram a eficácia da biofortificação agronômica na elevação dos teores dos micronutrientes alvo (Kachinski *et al.*, 2022; Rajendran; Veeramani, 2022; Ram *et al.*, 2024; Oumer *et al.*, 2024). Além disso, a biofortificação tem se expandido para além dos grãos e tubérculos, alcançando também folhosas, raízes e frutos (Agrawal *et al.*, 2024; Andrade-Sifuentes *et al.*, 2025; Ikaram *et al.*, 2025; Tallarita *et al.*, 2025).

Em frutíferas, pesquisas recentes destacam o potencial da biofortificação com Se e I em macieira e morangueiro (Wójcik, 2023; Zhang *et al.*, 2024). O consumo de pequenas frutas, como a amora-preta (*Rubus spp.*) e a framboesa (*Rubus idaeus*), tem crescido devido ao seu elevado teor de compostos fenólicos, antocianinas e atividade antioxidante, os quais estão associados à prevenção de doenças degenerativas (Chen *et al.*, 2021; Vahapoglu *et al.*, 2021; Čechovičienė *et al.*, 2024). Destacam-se ainda os pigmentos naturais, em especial as antocianinas, responsáveis pela coloração característica e atraente desses frutos (Li *et al.*, 2022; Yuan *et al.*, 2023). A aplicação de Se em diferentes doses e formas demonstrou aumento dos compostos fenólicos e das propriedades funcionais em variedades de maçã (Groth *et al.*, 2020).

Para as plantas, o Se e I são considerados elementos benéficos que, cuja aplicação em doses adequadas pode estimular o sistema antioxidante, melhorar o desempenho fotossintético, o balanço osmótico e o metabolismo do nitrogênio, além de contribuir para a redução de perdas pós-colheita (Nascimento *et al.*, 2022; Titov *et al.*, 2022; Khan *et al.*, 2023; Riyazuddin *et al.*, 2023).

Além da melhora nutricional dos frutos, a aplicação agrícola de Se e I pode contribuir para a redução de perdas pós-colheita e desperdícios alimentares (Moraes *et al.*, 2024; Mageshen *et al.*, 2025; Mezey *et al.*, 2025). No entanto, os estudos envolvendo a aplicação isolada ou conjunta de Se e I em frutíferas de clima temperado, especialmente a amoreira-preta e a framboeseira, ainda são escassos, especificamente em condições atípicas de cultivo, notadamente em regiões subtropicais.

A aplicação foliar de Se e I de forma individual ou em combinações, em concentrações adequadas, pode promover a biofortificação dos frutos da amoreira-preta e da framboeseira, resultando em incremento dos teores de compostos bioativos e propriedades antioxidantes, além de contribuir para o aumento da tolerância das plantas a estresses abióticos, com reflexos positivos em características fisiológicas, bioquímicas e agronômicas.

Diante do exposto, este trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos da aplicação foliar de Se e I sobre a qualidade nutricional e funcional dos frutos, bem como sobre as características fisiológicas, bioquímicas e agronômicas das plantas da amoreira-preta e da framboeseira, visando à biofortificação agronômica e à mitigação de estresses abióticos.

SEGUNDA PARTE – ARTIGOS



**ARTIGO 1 – APLICAÇÃO DE SELÊNIO E IODO NA MELHORIA DA QUALIDADE
DE FRUTOS DE FRAMBOESA EM REGIÕES SUBTROPICAIS
APPLICATION OF SELENIUM AND IODINE IMPROVE RASPBERRY FRUIT
QUALITY IN SUBTROPICAL REGIONS¹**

Carlos Henrique Milagres Ribeiro

<https://orcid.org/0000-0003-0850-4070>

Gilson Gustavo Lucinda Machado

<https://orcid.org/0000-0003-3778-0357>

Ana Beatriz Silva Araújo

<https://orcid.org/0000-0001-7031-9613>

Cecília Baldoino Ferreira

<https://orcid.org/0000-0001-7163-288X>

Rafael Pio

<https://orcid.org/0000-0003-3730-8191>

Everton Geraldo de Moraes

<https://orcid.org/0000-0001-6419-6282>

Luiz Roberto Guimarães Guilherme

<https://orcid.org/0000-0002-5387-6028>

Eduardo Valério Villas Boas

<https://orcid.org/0000-0002-0252-695X>

Pedro Maranhã Pêche

<https://orcid.org/0000-0001-8865-1702>

Resumo: Considerando o potencial do selênio (Se) e o iodo (I) para promover o enriquecimento nutricional de frutos, este estudo teve como objetivo avaliar a qualidade físico-química e o perfil de compostos bioativos dos frutos de framboesa (*Rubus idaeus* L.) mediante a aplicação foliar de fertilizantes multinutrientes contendo Se e I. O experimento foi conduzido com aplicação

¹ Artigo científico apresentado à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, área de concentração em Produção Vegetal.

foliar realizada em distintas fenofases do desenvolvimento das framboeseiras ‘Heritage’ (pré-florescimento, florescimento, floração, frutificação e frutos maduros), utilizando sete tratamentos: controle, sem aplicação (CON); selenato de sódio (SS); Se orgânico comercial (COS); Se inorgânico comercial com fertilizante multinutriente (CIS); selenato de sódio + iodeto de potássio (SS + KIO₃); Se orgânico comercial + iodeto de potássio (COS + KIO₃); e Se inorgânico comercial com fertilizante multinutriente + iodeto de potássio (CIS + KIO₃). O delineamento experimental foi em blocos casualizados, em esquema fatorial 7 × 2, sendo 7 tratamentos e dois tempos de colheita (40 e 54 dias após a aplicação). Foram avaliados atributos físicos, coloração da epiderme da baga, características físico-químicas, compostos bioativos (antocianinas, ácido ascórbico, carotenoides, fenólicos totais e capacidade antioxidante total) e composição elementar elementar. A aplicação combinada de Se e I, especialmente com CIS + KIO₃, promoveu melhorias nos atributos nutricionais e funcionais dos frutos, estimulando à síntese de compostos bioativos e aumentando a atividade antioxidante. Conclui-se que a aplicação foliar com Se e I é uma estratégia promissora para enriquecer framboesas com compostos benéficos à saúde.

Palavras-chave: *Rubus idaeus* L; capacidade antioxidante; elementos benéficos; segurança alimentar; fome oculta.

Abstract: Considering the potential of selenium (Se) and iodine (I) to promote the nutritional enrichment of fruits, this study aimed to evaluate the effects of foliar application of multi-nutrient fertilizers containing Se and I on the physicochemical quality and bioactive compound profile of raspberry (*Rubus idaeus* L.). The experiment involved foliar application carried out at different phenological stages of ‘Heritage’ raspberry development (pre-flowering, flowering, fruit set, fruit development, and ripe fruit), using seven treatments: control, without application (CON); sodium selenate (SS); commercial organic Se (COS); commercial inorganic Se with multi-nutrient fertilizer (CIS); sodium selenate + potassium iodate (SS + KIO₃); commercial organic Se + potassium iodate (COS + KIO₃); and commercial inorganic Se with multi-nutrient fertilizer + potassium iodate (CIS + KIO₃). The experimental design was a randomized complete block in a 7 × 2 factorial arrangement, with seven treatments and two harvest times (40 and 54 days after application). Physical attributes, skin color, physicochemical characteristics, bioactive compounds (anthocyanins, ascorbic acid, carotenoids, total phenolics, and total antioxidant capacity), and elemental composition were evaluated. The combined application of Se and I, especially with CIS + KIO₃, promoted improvements in the nutritional and functional attributes of the fruits, stimulating the synthesis of bioactive compounds and increasing antioxidant activity. It was concluded that foliar biofortification with Se and I is a promising strategy to enrich raspberries with health-promoting compounds.

Keywords: *Rubus idaeus* L; antioxidant capacity; beneficial elements; food security; hidden hunger.

1 INTRODUÇÃO

A framboeseira (*Rubus idaeus* L.), pertencente à família *Rosaceae*, é uma planta de clima temperado originária da região entre a Europa Central e do Norte, além de partes da Ásia (Medina *et al.*, 2024). Nos últimos anos, o cultivo dessa espécie tem se expandido mundialmente, alcançando uma área de 116.393 hectares e produção de 947.852 toneladas (FAO, 2023). No ranking global, a Rússia lidera com 219,38 mil toneladas, seguida por México (190,41 mil toneladas) e Sérvia (98,67 mil toneladas).

No entanto, o crescente interesse da população tem impulsionado estudos voltados à expansão do cultivo, inclusive em regiões de clima mais quente (Fagundes *et al.*, 2023; Leonel *et al.*, 2025). Entre as cultivares mais adaptadas ao clima subtropical, destaca-se a ‘Heritage’, que produz em dois ciclos anuais, possibilitando colheitas escalonadas e maior produtividade. Essa cultivar apresenta boa adaptação a regiões de clima ameno (Campos *et al.*, 2023). Seus frutos têm aroma agradável, boa aceitação comercial para consumo *in natura* e processamento, além de serem ricos em compostos bioativos com ação antioxidante, associados à prevenção de doenças degenerativas e cardiovasculares (Araujo *et al.*, 2024; De Moraes Fagundes *et al.*, 2024).

O cultivo da framboeseira em regiões subtropicais enfrenta desafios relacionados à adaptação climática, pragas (mosca da frutas, pulgão, ataque de formigas, etc) e doenças (mofo cinzento, ferrugem da framboeseira, antracnose, etc) (Silveira *et al.*, 2023). O aquecimento global tem provocado alterações na fenologia e fisiologia de frutíferas de clima temperado, exigindo estratégias de manejo mais eficientes e o desenvolvimento de cultivares adaptadas (Osorio-Marín *et al.*, 2024). Altas temperaturas, variações na disponibilidade hídrica e aumento da radiação solar comprometem o crescimento, a frutificação e a síntese de compostos bioativos como fenólicos e antocianinas (Aguilar *et al.*, 2025).

Uma alternativa promissora para mitigar esses efeitos é a aplicação foliar com elementos benéficos às plantas, como o Se e o I (Behera *et al.*, 2025). Em baixas concentrações, esses elementos contribuem para o aumento das defesas antioxidantes, da taxa fotossintética, do conteúdo de pigmentos foliares, da capacidade osmoprotetora e do equilíbrio iônico (Lima *et al.*, 2023).

Para os seres humanos, a biofortificação pode auxiliar na redução da deficiência como de zinco, vitamina A, ferro, Se e de I, uma das formas mais comuns de desnutrição (Debnath *et al.*, 2022). O Se possui propriedades antioxidantes e anticancerígenas, sendo sua deficiência associada a doenças cardiovasculares, hipotireoidismo, infertilidade, imunossupressão e maior

risco de câncer (Bai *et al.*, 2024). O I, por sua vez, é essencial para a síntese dos hormônios tireoidianos, especialmente durante a gravidez e a infância, sendo sua deficiência associada a prejuízos no desenvolvimento físico e cognitivo (Kiran *et al.*, 2022).

Em estudos com frutíferas, como em macieira e pereira, a aplicação foliar de Se e I elevou os teores desses elementos nos frutos e melhorou as características físico-químicas, como firmeza, sólidos solúveis e potencial antioxidante (Budke *et al.*, 2021; Oztekin *et al.*, 2024). No entanto, ainda são escassas as pesquisas sobre a aplicação de Se e I em framboeseiras, principalmente em locais atípicos de cultivo, como as regiões subtropicais.

Diante disso, o objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade nutricional e os compostos bioativos e fitoquímicos dos frutos da framboeseira, mediante a aplicação foliar de fertilizantes enriquecidos com Se e I, em plantas cultivadas em clima subtropical.

2 METODOLOGIA

O experimento foi conduzido em uma unidade produtiva no município de Aiuruoca, Minas Gerais, Brasil (21°58'33" S; 44°36'10" O). O clima do local é classificado como Cwb, segundo Köppen, caracterizado por clima tropical de altitude, com temperatura média anual de 13,8 e 22,5 °C, mínima e máxima, respectivamente, apresenta uma altitude de 989 metros (INMET 2025). O período chuvoso ocorre principalmente entre setembro a março, com precipitação média anual de 1.533 mm.

Conforme o sistema de classificação de solos brasileiro, o solo do local do estudo foi classificado como Latossolo Vermelho (Dos Santos *et al.*, 2009). Antes da instalação do experimento, o solo da área experimental foi amostrado nas camadas de 0 – 0,20 m de profundidade para a sua caracterização química, podendo ser observado na Tabela 1 os resultados dos atributos químicos dos solos.

Tabela 1. Atributos químicos dos solos (0-20 m) para a área de cultivo de framboeseira em condições subtropicais. 2025.

pH		MOS		CTC	Al	H + Al	Ca	Mg
H2O		%			 cmol _c kg ⁻¹			
6,8		6,2		11,6	0,2	4,8	5,0	1,5
K	P	Na	S	Zn	Fe	Mn	Cu	B
..... mg kg ⁻¹								
141,8	56,7	19,0	16,2	9,4	37,1	14,0	0,5	0,3

CTC – capacidade de troca de cátions; MOS – matéria orgânica do solo.

Foram utilizadas plantas da cultivar de framboeseira ‘Heritage’. O plantio a campo foi realizado em setembro de 2020, no espaçamento de 3,0 m x 0,5 m (densidade de 6.667 plantas por hectare), com condução de espaldeira dupla, espaçadas 50 cm entre si.

Com objetivo de garantir maior sanidade das plantas, foram adotadas práticas de manejo fitossanitário, incluindo o controle de doenças, pragas e plantas infestantes (por meio de capina manual), além da realização de fertilizações, utilizando-se produtos devidamente registrados para a cultura.

Para a adubação foliar, os tratamentos com as diferentes fontes de Se e I estão detalhados na Tabela 2. A aplicação foi realizada em distintas fenofases do desenvolvimento das plantas – pré florescimento, floração, frutificação e frutos maduros. Os tratamentos foram aplicados em dose única, por meio de pulverização foliar, no dia 03 de dezembro de 2022. Todas as aplicações ocorreram entre 08:00 e 11:00 da manhã, utilizando um pulverizador de mochila pressurizado com CO₂, calibrado a uma pressão de 0,6 Mpa. A barra de pulverização estava equipada com um único bico de jato cônico vazio, operando a uma velocidade de 5 km/h e com espaçamento de 0,46 m entre o bico na lança da aplicação.

Tabela 2. Descrição dos tratamentos aplicados na área de cultivo de framboeseira em condições subtropicais. 2025.

Tratamentos	Se	I
	g ha ⁻¹	
CON - Controle	0	0
SS - Selenato de sódio	30	0
COS - Comercial Se orgânico	30	0
CIS - Comercial Se inorgânico com fertilizante multi-nutriente	30	0
SS + KIO ₃ - Selenato de sódio + iodeto de potássio	30	200
COS + KIO ₃ - Comercial Se orgânico + iodeto de potássio	30	200
CIS + KIO ₃ - Comercial Se inorgânico com fertilizante multi-nutriente + iodeto de potássio	30	200

Tratamentos de pulverização realizados com um pulverizador costal pressurizado com CO₂; fertilizante multi-nutriente tem Se e Zn e outros nutrientes em sua composição: N-1%, P₂O₅-6%, K₂O-18%, Mg-3%, B-0.5%, Se-0.25%, and Zn-0.25%.

O experimento foi conduzido em delineamento em blocos casualizados, em esquema fatorial duplo. O primeiro fator foi composto por seis tratamentos para fonte de Se e I, além do controle (sem aplicação de Se e I) (Tabela 2). O segundo fator correspondeu ao tempo de colheita, realizado aos 40 e 54 dias após a aplicação dos tratamentos. Cada parcela tinha área de 9 m² (3 × 3 m), com 10 plantas por bloco.

Aos 40 e 54 dias após a aplicação dos tratamentos, foram coletados 100 frutos maduros

de cada tratamento no período da manhã e transportados em caixas de isopor com gelo. As análises de cor, tamanho do fruto, sólidos solúveis, acidez titulável, pH e umidade foram realizadas com os frutos frescos, logo após a colheita. Para a quantificação do teor de antocianina, ácido ascórbico, compostos fenólicos totais e atividade antioxidante, os frutos foram armazenados em ultra-freezer a -80 °C.

Os parâmetros avaliados foram:

- Massa fresca, comprimento e diâmetro da baga: a massa fresca dos frutos de 60 frutos foi realizada com auxílio de uma balança eletrônica semi-analítica modelo AD330 (Marte®). Posteriormente, foram mensurados o comprimento e o diâmetro da baga (no terço médio dos frutos) dos 60 frutos com um paquímetro digital (MTX®).
- Análise da coloração dos frutos: realizada em dois pontos diametralmente opostas na zona equatorial de 60 frutos com o auxílio de um colorímetro (CR-400, Konica Minolta), utilizando o sistema CIE Lab* que fornece valores nas coordenadas CIE L^* (luminosidade, variando de claro a escuro), a^* (cromaticidade no eixo verde-vermelho) e b^* (cromaticidade no eixo azul-amarelo).
- Teor de Sólidos solúveis (SS): realizado empregando um refratômetro digital ATAGO PR-100 (Tóquio, Japão) com ajuste automático de temperatura. Os resultados foram expressos em porcentagem (%), seguindo o procedimento descrito na AOAC (2019).
- Acidez titulável (AT): A acidez dos frutos foi determinada utilizando 5 g da amostra, previamente homogeneizada com 100 mL de água destilada. A solução resultante foi titulada com solução de hidróxido de sódio (NaOH) 0,01 N até que o pH atingisse valores entre 8,2 e 8,3, correspondentes ao ponto de viragem do indicador fenolftaleína. As medições de pH foram realizadas com auxílio de um potenciômetro digital (Tecnal®, Piracicaba, Brasil). Os resultados foram expressos em gramas de ácido cítrico por 100 g de peso fresco da amostra (mg ácido cítrico 100 g⁻¹ de polpa).
- Razão entre sólidos solúveis (SS) e a acidez titulável (AT): calculada pela divisão do valor de SS pelo valor de AT (mg ácido cítrico 100 g⁻¹ de polpa).
- pH: Determinado com o auxílio de um pHmetro Tecnal®, Piracicaba, Brasil, previamente calibrado com soluções tampão (pH 4,0 e 7,0).
- Teor de umidade dos frutos: A umidade foi determinada pelo método gravimétrico em estufa de circulação de ar a 105°C até peso constante, conforme a metodologia proposta pela AOAC (2019).
- Quantificação do teor de Antocianina: foi realizada por espectrofotometria, conforme o método descrito por Lee e Francis (1972), com adaptações propostas por Barcia *et al.* (2012).

Para a extração dos pigmentos antociânicos, utilizou-se 1g da amostra, ao qual foram adicionados 25 mL de etanol acidificado (pH 1, ajustado com ácido clorídrico). A mistura foi mantida em incubação à temperatura ambiente por 1 hora. Em seguida, o extrato foi filtrado e o volume ajustado para 50 mL com o mesmo etanol acidificado. A absorbância foi determinada em espectrofotômetro (Biochrom, Bio EZ Read 2000) a 535 nm, utilizando como branco o etanol acidificado. A concentração de antocianinas totais foi calculada com base no coeficiente de extinção molar da cianidina-3-glicosídeo (eq 1), principal antocianina presente em frutos, sendo os resultados expressos em miligramas de cianidina-3-glicosídeo por 100 g⁻¹ de amostra.

$$AT = \frac{(A \times PM \times FD)}{\epsilon \times l} \times 100 \quad (\text{eq 1})$$

Onde: A= absorbância da amostra; FD= fator de diluição; ϵ absortividade molar = 26900; PM cianidina 3-glicosídeo= 449,2.

- Ácido ascórbico (vitamina C): Foram pesados 5 g da amostra, os quais foram homogeneizados com 50 mL de solução de ácido oxálico a 0,5% utilizando um homogeneizador do tipo rotor-estator (Polytron®). Em seguida, o homogenato foi submetido à agitação em mesa agitadora por 30 minutos e, posteriormente, filtrado com papel filtro qualitativo (15 cm de diâmetro, Unifil®). O extrato obtido foi então empregado para a determinação do teor de ácido ascórbico, após a oxidação do ácido ascórbico e do ácido dehidroascórbico, pelo método colorimétrico, empregando 2,4-dinitrofenilhidrazina, conforme descrito por Strohecker e Henning (1967). A absorbância foi medida em 520 nm utilizando um espectrofotômetro (Biochrom, Bio EZ Read 2000), e os resultados expressos em miligramas de ácido ascórbico por 100 g⁻¹ de polpa.

- Carotenoides totais: A extração foi realizada conforme descrito por Rodriguez-Amaya (2001). Foram pesados 5 g da amostra, acondicionados em frasco escuro, e adicionados 20 mL de acetona P.A. gelada. Após agitação por 20 minutos, a mistura foi filtrada, lavando-se o resíduo com acetona até o material retido tornar-se esbranquiçado. O filtrado foi transferido para funil de separação protegido da luz, acrescentando-se 30 mL de éter de petróleo e 100 mL de água destilada, nessa ordem. Após separação das fases, a fase inferior foi descartada, repetindo-se o processo três vezes para completa remoção da acetona. A fase superior foi transferida para balão volumétrico de 100 mL, completando-se o volume com éter de petróleo. Os carotenoides totais foram quantificados utilizando método espectrofotométrico proposto por Rodriguez-Amaya (2001). As leituras foram realizadas em espectrofotômetro (Biochrom, Bio EZ Read 2000) a 444 nm, 450 nm, 456 nm, 462 e 470 nm, que correspondem aos comprimentos

de onda específicos dos carotenoides, α -caroteno, β -caroteno, δ -caroteno, γ -caroteno e licopeno, respectivamente. O teor total de carotenoides foi calculado pela soma das quantidades individuais desses compostos, eo resultado obtido em $\mu\text{g por g}^{-1}$ foi convertido para mg por 100 g^{-1} de matéria fresca. O teor de cada carotenoide foi calculado segundo a equação 2:

$$\mu\text{g. g}^{-1} = \frac{A \times V \times 10^6}{A_{1\text{cm}1\%} \times M \times 100} \quad (\text{eq 2})$$

Onde: A é a absorbância da solução no comprimento de onda específico, V é o volume final da solução, $A_{1\text{cm}1\%}$ é o coeficiente de extinção ou coeficiente de absortividade molar de um pigmento em um determinado solvente específico, no caso o éter de petróleo, e M é a massa da amostra tomada para a análise em g.

▪ Preparo do extrato para compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante total: A obtenção dos extratos para a quantificação dos compostos fenólicos totais e da capacidade antioxidante total foi realizada conforme a metodologia descrita por Rufino *et al.* (2010), com adaptações. Inicialmente, pesaram-se 2,5 g da amostra em tubos de centrifuga, adicionando-se 20 mL de metanol a 50%, homogeneizou-se e deixou-se em agitação (em mesa agitadora) por 30 minutos ao abrigo da luz, transferindo-se o filtrado para um balão volumétrico de 50 mL. Em seguida, o resíduo da primeira extração recebeu 20 mL de acetona a 70% e foi submetido a banho de ultrassom por 30 minutos. Após esse tempo, realizou-se nova filtração com papel filtro qualitativo (15 cm de diâmetro, Unifil[®]), transferindo-se o filtrado para o mesmo balão contendo o primeiro extrato, e o volume completado até o menisco com água destilada. O extrato obtido foi armazenado em frasco âmbar e mantido sob refrigeração, sendo empregado para a realização das análises de compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante.

▪ Determinação dos compostos fenólicos totais pelo método de Folin-Ciocalteu: A quantificação foi realizada conforme descrito por Paradiso *et al.* (2018), com modificações. Em suma, em cada poço de uma microplaca de 96 poços (fundo chato), foram adicionados 30 μL do extrato e 150 μL do reagente Folin-Ciocalteu a 10% (v/v). Após um período de reação de 4 minutos, acrescentaram-se 120 μL de solução de carbonato de sódio a 4% (p/v). Essa mistura reacional foi incubada por 2 horas em ambiente protegido da luz. A leitura da absorbância foi realizada a 720 nm, utilizando um leitor de microplacas (EZ Read 2000, Biochrom[®]). O teor de fenólicos totais foi calculado com base na equação da reta obtida a partir da curva padrão de ácido gálico, sendo os resultados expressos em miligramas de equivalente de ácido gálico (GAE) por 100 g^{-1} de amostra fresca (mg ácido gálico 100 g^{-1} FW).

- Determinação dos compostos fenólicos totais pelo método de Fast Blue: foi realizada conforme descrito por Medina (2011), com adaptações. Na microplaca de 96 poços foram adicionados 200 µL do extrato, 25 µL de solução de Fast Blue a 0,1% (v/v), 25 µL de hidróxido de sódio a 5% (p/v) e 50 µL de água destilada. A mistura foi incubada no escuro por 1,5 hora, e a absorbância foi medida a 420 nm utilizando um leitor de microplacas (EZ Read 2000, Biochrom®). As análises foram conduzidas em triplicata, e os resultados expressos em miligramas de equivalente de ácido gálico por 100 g⁻¹ de peso fresco da amostra (mg GAE/100 g⁻¹ FW).
- Atividade antioxidante pelo método β-Caroteno/ácido linoleico: baseado na oxidação (descoloração) do β-caroteno causada pela oxidação induzida pelos produtos da degradação oxidativa do ácido linoleico, conforme descrito por Rufino *et al.* (2010), com adaptações. Para cada análise, foram adicionados 270 µL da solução do sistema β-caroteno/ácido linoleico e 30 µL do extrato em poços de uma microplaca de 96 poços (fundo chato). As amostras foram incubadas a 40 °C e, após o intervalo de 2 horas, a leitura realizada a 470 nm utilizando um leitor de microplacas (EZ Read 2000, Biochrom®). Os resultados obtidos foram expressos como percentual de inibição da oxidação.
- Atividade antioxidante pelo método DPPH: O procedimento seguiu a metodologia descrita por Brand-Williams *et al.* (1995), com adaptações. A reação foi conduzida misturando-se 10 µL do extrato vegetal com 290 µL de solução etanólica de DPPH (6 × 10⁻² mM). A mistura foi mantida em repouso por 30 minutos, protegida da luz, e a absorbância foi medida a 515 nm utilizando um leitor de microplacas (EZ Read 2000, Biochrom®). A capacidade antioxidante foi expressa como percentual de redução do radical DPPH, calculada por meio da equação 3 a seguir:

$$\% \text{ de redução} = \frac{A_{\text{controle}} - A_{\text{amostra}}}{A_{\text{controle}}} \times 100 \quad (\text{eq 3})$$

Onde:

A controle = Absorbância da solução de DPPH inicial;

A amostra = Absorbância da mistura relacional após 30 minutos.

- Atividade antioxidante pelo método fosfomolibdênio: O procedimento seguiu a metodologia descrita por Prieto *et al.* (1999), foram pipetados 100 µL do extrato da amostra + 400 µL de água destilada + 1,5 mL do complexo fosfomolibdênio em tubos com tampas rosqueáveis, os quais foram fechados agitados, e em seguida, levados a banho-maria a 95 °C por 90 minutos. Após o resfriamento, a leitura foi realizada em espectrofotômetro a 695 nm. A vitamina C foi empregada para a construção da curva padrão, e os resultados obtido foram

expressos em miligramas de ácido ascórbico por 100 g⁻¹ de amostra fresca.

▪ **Análise elementar nos frutos:** Para simular o procedimento comum de limpeza doméstica, os frutos recém-colhidos foram lavados manualmente com água deionizada. Posteriormente, as amostras foram secas em estufa com circulação de ar (SL – 102/1540) a 45 °C até atingirem peso constante e, em seguida, moídas (< 0,38 mm) em moinho de aço inoxidável (SL- 31).

Para a digestão, utilizou-se 0,5 g de massa seca de frutos de framboeseira, conforme o método 3051A da USEPA (2007). Cada alíquota foi digerida com 5 mL de ácido nítrico (HNO₃) em tubos de Teflon[®] (CEM Corporation, Matthews, NC, EUA). Os extratos permaneceram em repouso à temperatura ambiente durante a noite, e a digestão foi realizada na manhã seguinte. Os tubos foram então hermeticamente selados e submetidos à digestão em micro-ondas (marca CEM, modelo Mars-5) a 175 °C, com pressão controlada de 0,76 MPa, durante 15 minutos. Após o resfriamento dos extratos à temperatura ambiente, adicionaram-se 5 mL de água deionizada, e os extratos foram transferidos para frascos de 30 mL e armazenados a 5 °C até a quantificação dos elementos.

A análise dos teores de macro e micronutrientes, framboeseira foi realizada utilizando espectroscopia de emissão óptica com plasma induzido acoplado (ICP-OES) para fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), boro (b), magnésio (Mg), enxofre (S), ferro (Fe), cobre (Cu), zinco (Zn) e manganês (Mn).

Os dados obtidos para cada variável foram submetidos à análise de variância ($p \leq 0,05$) e as médias foram comparadas usando o teste de Duncan ($p \leq 0,05$). As análises estatísticas foram realizadas na linguagem de programação R (R Core Team, 2022), versão 4.0.3.

3 RESULTADOS

Com relação à massa fresca dos frutos, não houve variação significativa entre os tratamentos dentro de cada tempo de coleta, mantendo-se estável entre 3,5 e 3,9 g (Tabela 3). O maior valor foi observado no tratamento COS + KIO₃, enquanto o menor foi no CIS, ambos em 40 DAP. Houve diferença significativa entre os tempos apenas para o comprimento e diâmetro das bagas.

Quanto ao comprimento da baga, todos os tratamentos apresentaram redução de 40 para 54 DAP (Tabela 3). O tratamento CON apresentou maior redução, de 21,06 mm para 16,29 mm. Já o COS manteve valores mais altos de comprimento entre os tratamentos aos 40 DAP, enquanto SS e CIS apresentaram os menores aos 54 DAP (Tabela 3).

O diâmetro da baga seguiu tendência semelhante, com decréscimo significativo entre os tempos (Tabela 3). O tratamento SS + KIO₃ apresentou o maior diâmetro aos 40 DAP, enquanto o SS teve o menor valor aos 54 DAP (Tabela 3).

Com relação as variáveis de coloração dos frutos (Tabela 3), observou-se que no parâmetro L^* (luminosidade), ocorreu um aumento nos valores entre 40 e 54 DAP, sendo observado maiores valores de luminosidade para os tratamentos com KIO₃, apresentando frutos mais claros, com destaque para o tratamento CIS + KIO₃, o qual apresentou o maior valor de L^* aos 54 DAP, já o tratamento COM obteve resultado inferior aos demais apresentando uma coloração mais escura.

Quanto ao parâmetro a^* , que varia de verde (valores negativos) ao vermelho (valores positivos) o tratamento CIS + KIO₃ destacou-se com os maiores valores para tal parâmetro em ambos os tempos de colheita (Tabela 3) indicando uma coloração mais vermelha. Enquanto o tratamento SS apresentou o menor valor de a^* indicando coloração menos atrativa.

Já o parâmetro b^* que varia do azul (-) ao amarelo (+), é possível observar que os tratamentos contendo Se e KIO₃ também apresentaram resultados superior aos demais tratamentos indicando tons mais amarelados, enquanto o tratamento SS obteve os menores valores nesse parâmetro.

Tabela 3. Tamanho do fruto (massa fresca, comprimento e diâmetro da baga), análise da coloração dos frutos ($L^* - a^* - b^*$), dos frutos de framboeseira em condições subtropicais. 2025.

Tratamentos	Massa fresca do fruto (g)*		Comprimento da baga (mm)	
	40 DAP	54 DAP	40 DAP	54 DAP
CON	3,8 ± 0,3	3,8 ± 0,3	21,06 ± 1,1 Aa	16,29 ± 1,4 Ab
SS	3,7 ± 0,2	3,7 ± 0,2	20,82 ± 1,0 Aa	15,51 ± 1,0 Ab
COS	3,7 ± 0,3	3,7 ± 0,3	21,52 ± 2,0 Aa	15,98 ± 0,7 Ab
CIS	3,5 ± 0,2	3,5 ± 0,2	20,71 ± 0,6 Aa	15,39 ± 1,6 Ab
SS + KIO ₃	3,8 ± 0,6	3,8 ± 0,6	21,69 ± 1,1 Aa	15,20 ± 0,4 Ab
COS + KIO ₃	3,9 ± 0,2	3,9 ± 0,2	21,42 ± 0,7 Aa	15,59 ± 1,9 Ab
CIS + KIO ₃	3,8 ± 0,1	3,8 ± 0,1	21,11 ± 0,6 Aa	15,96 ± 1,2 Ab
<i>p</i> - valor	0,7680 ^{NS}		0,001*	
CV (%)	9,95		6,48	
Tratamentos	Diâmetro da baga (mm)		Coloração dos frutos L^*	
	40 DAP	54 DAP	40 DAP	54 DAP
CON	22,4 ± 0,5 Aa	19,1 ± 1,1 Bb	30,72 ± 0,6 Ab	29,38 ± 0,1 Bf
SS	21,6 ± 0,8 Aa	18,0 ± 0,5 Bb	28,05 ± 0,3 Bc	30,89 ± 0,6 Ae
COS	22,4 ± 1,1 Aa	18,5 ± 0,9 Bb	27,64 ± 0,4 Bc	32,51 ± 0,5 Ad
CIS	21,4 ± 0,3 Aa	18,2 ± 1,2 Bb	32,99 ± 0,2 Ba	35,72 ± 0,4 Ac
SS + KIO ₃	22,5 ± 0,7 Aa	18,6 ± 0,9 Bb	32,57 ± 0,4 Ba	37,25 ± 0,2 Ab
COS + KIO ₃	22,0 ± 0,2 Aa	18,7 ± 0,9 Bb	33,51 ± 0,8 Ba	37,33 ± 0,3 Ab
CIS + KIO ₃	22,0 ± 0,9 Aa	18,7 ± 1,1 Bb	33,86 ± 0,3 Ba	41,25 ± 0,5 Aa

<i>p</i> - valor	0,001*		0,001*	
CV (%)	4,22		2,69	
	Coloração dos frutos <i>a</i> *		Coloração dos frutos <i>b</i> *	
Tratamentos	40 DAP	54 DAP	40 DAP	54 DAP
CON	34,96 ± 1,2 Acd	34,16 ± 1,0 Ad	21,65 ± 0,1 Ac	21,26 ± 0,2 Ac
SS	31,83 ± 1,1 Bf	33,39 ± 1,1 Ad	19,52 ± 0,2 Bd	20,69 ± 0,2 Ab
COS	33,83 ± 1,3 Bde	36,76 ± 1,3 Ac	19,94 ± 0,1 Bd	25,38 ± 0,1 Ab
CIS	32,86 ± 1,2 Bef	39,90 ± 1,2 Ab	23,23 ± 0,2 Bab	26,09 ± 0,1 Ab
SS + KIO ₃	36,82 ± 1,0 Bab	41,11 ± 1,0 Aab	22,77 ± 0,1 Babc	26,67 ± 0,3 Ab
COS + KIO ₃	35,56 ± 1,2 Bbc	40,54 ± 0,8 Aab	22,48 ± 0,3 Bbc	26,03 ± 0,4 Ab
CIS + KIO ₃	38,70 ± 1,2 Ba	41,95 ± 0,9 Aa	23,83 ± 0,1 Ba	28,59 ± 0,1 Aa
<i>p</i> - valor	0,001*		0,001*	
CV (%)	1,70		3,66	

*As médias seguidas da mesma letra maiúscula para tempo de colheita e da mesma letra minúscula para tratamentos não diferem estatisticamente pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade. Legenda: CON: controle; SS: selenato de sódio; COS: comercial Se orgânico; CIS: comercial Se inorgânico com fertilizantes multi-nutrientes; SS + KIO₃: selenato de sódio + iodato de potássio; COS + KIO₃: comercial Se orgânico + iodato de potássio; CIS + KIO₃: Comercial Se inorgânico com fertilizante multi-nutriente + iodato de potássio.

Não houve diferença estatística ($p \leq 0,05$) entre os tratamentos quanto ao teor de sólidos solúveis (SS) em cada tempo de avaliação, ocorrendo a diferença apenas quando se compara os tempos de coletas dos frutos, onde observa-se uma redução nos valores aos 54 DAAT (Tabela 4).

Em relação à acidez titulável (AT) (Tabela 4), não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos aos 40 DAAT. Já aos 54 DAAT, os tratamentos CON e SS apresentaram maiores valores de acidez em comparação aos demais. Na comparação entre os dois tempos, houve uma redução nos tratamentos COS a CIS + KIO₃ aos 54 DAAT.

Quanto à razão sólidos solúveis/acidez titulável (SS/AT), não houve diferença estatística entre os tratamentos aos 40 DAAT (Tabela 4). No entanto, aos 54 DAAT, os tratamentos que apresentaram maiores médias foram o COS + KIO₃ e o CIS + KIO₃. Ao comparar os dois tempos de colheita, observa-se que os tratamentos que se diferenciam foram COS + KIO₃ e o CIS + KIO₃ aos 54 DAAT (Tabela 4).

Com relação ao pH (Tabela 4), não foram observadas diferenças entre os tratamentos aos 40 DAAT. Já aos 54 DAAT, os tratamentos CON, SS e COS apresentaram valores significativamente superior aos demais. A comparação entre os tempos revelou aumento do pH em todos os tratamentos aos 54 DAAT, o que é coerente com a redução da acidez observada nesse estágio de maturação (Tabela 4).

Não houve diferença estatística entre o teor de umidade dos frutos entre os tratamentos,

entre os tempos de colheita e nem na interação entre esses fatores (Tabela 4).

Tabela 4. Sólidos solúveis (SS), acidez titulável (AT), relação sólidos solúveis/ acidez titulável (SS/AT), pH e teor de umidade dos frutos de framboeseira em condições subtropicais, após 40 e 54 dias após a aplicação dos tratamentos. 2025.

Tratamentos	Sólidos solúveis (°Brix)*		Acidez titulável ácido cítrico g (100 FW) g ⁻¹	
	40 DAP	54 DAP	40 DAP	54 DAP
CON	6,3 ± 0,3	5,9 ± 1,6	2,3 ± 0,1 Aa	2,4 ± 0,6 Aa
SS	5,8 ± 0,5	5,6 ± 0,6	2,3 ± 0,1 Ba	2,6 ± 0,5 Aa
COS	5,9 ± 0,4	5,4 ± 0,4	2,4 ± 0,1 Aa	1,9 ± 0,1 Bb
CIS	6,0 ± 0,1	5,6 ± 0,3	2,3 ± 0,1 Aa	1,9 ± 0,2 Bb
SS + KIO ₃	5,8 ± 0,2	4,9 ± 0,2	2,2 ± 0,1 Aa	1,9 ± 0,4 Ab
COS + KIO ₃	5,7 ± 0,1	5,3 ± 0,2	2,3 ± 0,1 Aa	1,6 ± 0,1 Bb
CIS + KIO ₃	5,7 ± 0,5	5,6 ± 0,8	2,3 ± 0,1 Aa	1,7 ± 0,1 Bb
	0,6520 ^{NS}		0,001*	
CV (%)	10,33		10,67	
Tratamentos	Relação SS/AT		pH	
	40 DAP	54 DAP	40 DAP	54 DAP
CON	2,7 ± 0,2 Aa	2,6 ± 1,0 Abc	2,90 ± 0,1 Ba	3,22 ± 0,1 Aab
SS	2,5 ± 0,2 Aa	2,2 ± 0,4 AC	2,87 ± 0,1 Ba	3,27 ± 0,1 Aa
COS	2,5 ± 0,2 Aa	2,8 ± 0,3 Aab	2,87 ± 0,1 Ba	3,24 ± 0,1 Aab
CIS	2,6 ± 0,2 Aa	2,9 ± 0,2 Aab	2,87 ± 0,1 Ba	3,10 ± 0,1 Ac
SS + KIO ₃	2,6 ± 0,1 Aa	2,7 ± 0,5 ABC	2,90 ± 0,1 Ba	3,09 ± 0,1 Ac
COS + KIO ₃	2,5 ± 0,1 Ba	3,3 ± 0,2 Aa	2,90 ± 0,1 Ba	3,16 ± 0,1 Abc
CIS + KIO ₃	2,5 ± 0,3 Ba	3,3 ± 0,5 Aa	2,88 ± 0,1 Ba	3,09 ± 0,1 Ac
<i>p</i> - valor	0,001*		0,001*	
CV (%)	14,43		2,23	
Tratamentos	Teor de Umidade (%)			
	40 DAP	54 DAP		
CON	94,05	90,89		
SS	91,12	92,21		
COS	90,18	90,51		
CIS	91,08	91,01		
SS + KIO ₃	92,72	93,15		
COS + KIO ₃	95,95	91,73		
CIS + KIO ₃	92,12	93,01		
<i>p</i> - valor	0,8190 ^{NS}			
CV (%)	3,67			

*As médias seguidas da mesma letra maiúscula para tempo de colheita e da mesma letra minúscula para tratamentos não diferem estatisticamente pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade. Legenda: CON: controle; SS: selenato de sódio; COS: comercial Se orgânico; CIS: comercial Se inorgânico com fertilizantes multi-nutriente; SS + KIO₃: selenato de sódio + iodato de potássio; COS + KIO₃: comercial Se orgânico + iodato de potássio; CIS + KIO₃: Comercial Se inorgânico com fertilizante multi-nutriente + iodato de potássio.

Os teores de compostos bioativos variaram significativamente entre os tratamentos e ao longo do tempo, com destaque para os tratamentos com aplicação combinada de selênio e iodo, especialmente CIS + KIO₃, que proporcionou os maiores acúmulos de antocianinas, ácido

ascórbico, carotenoides, compostos fenólicos e atividade antioxidante por todos os métodos avaliados (Figura 1).

Com relação a variável antocianinas, observa-se que o melhor tratamento foi o CIS + KIO₃, principalmente aos 54 DAP, superando em mais de 80% o valor obtido no COM no mesmo tempo. O pior desempenho foi observado no tratamento SS, com valores próximos ao controle (Figura 1. A).

O tratamento CIS + KIO₃, também obteve maior teor de ácido ascórbico (vitamina C), representando um aumento de cerca de 85% em relação ao CON, entretanto, o tratamento SS teve o menor acúmulo de vitamina C entre os biofortificados, sem diferença significativa em relação ao COM (Figura 1. B).

Os carotenoides totais também foram influenciados positivamente pela aplicação conjunta de Se e I. O tratamento CIS + KIO₃ apresentou os maiores teores em ambos os tempos, com aumento de aproximadamente 70% em comparação ao controle, indicando maior potencial funcional, já os tratamentos COS + KIO₃ e SS + KIO₃ também apresentaram desempenho superior ao COM (Figura 1. C).

Com relação aos compostos fenólicos totais, tanto pelo método Folin–Ciocalteu quanto pelo Fast Blue, o tratamento CIS + KIO₃, obteve resultados superiores aos demais tratamentos, principalmente aos 54 DAP, apresentando valores de 60 a 70% superiores aos do controle (Figura 1. D e E). O tratamento COS + KIO₃ também apresentou bom desempenho, seguido de SS + KIO₃. Os tratamentos com Se isolado (SS, COS, CIS) apresentaram valores similares ou apenas ligeiramente superiores ao controle, com destaque negativo para o SS, que não aumentou significativamente o teor fenólico (Figura 1. D e E).

Em relação a capacidade antioxidante em todos os métodos empregados (Figura 1), observa-se que o tratamento CIS + KIO₃ apresentou maior capacidade antioxidante em todos os métodos empregados β -caroteno/ácido linoleico, DPPH e fosfomolibdênio).

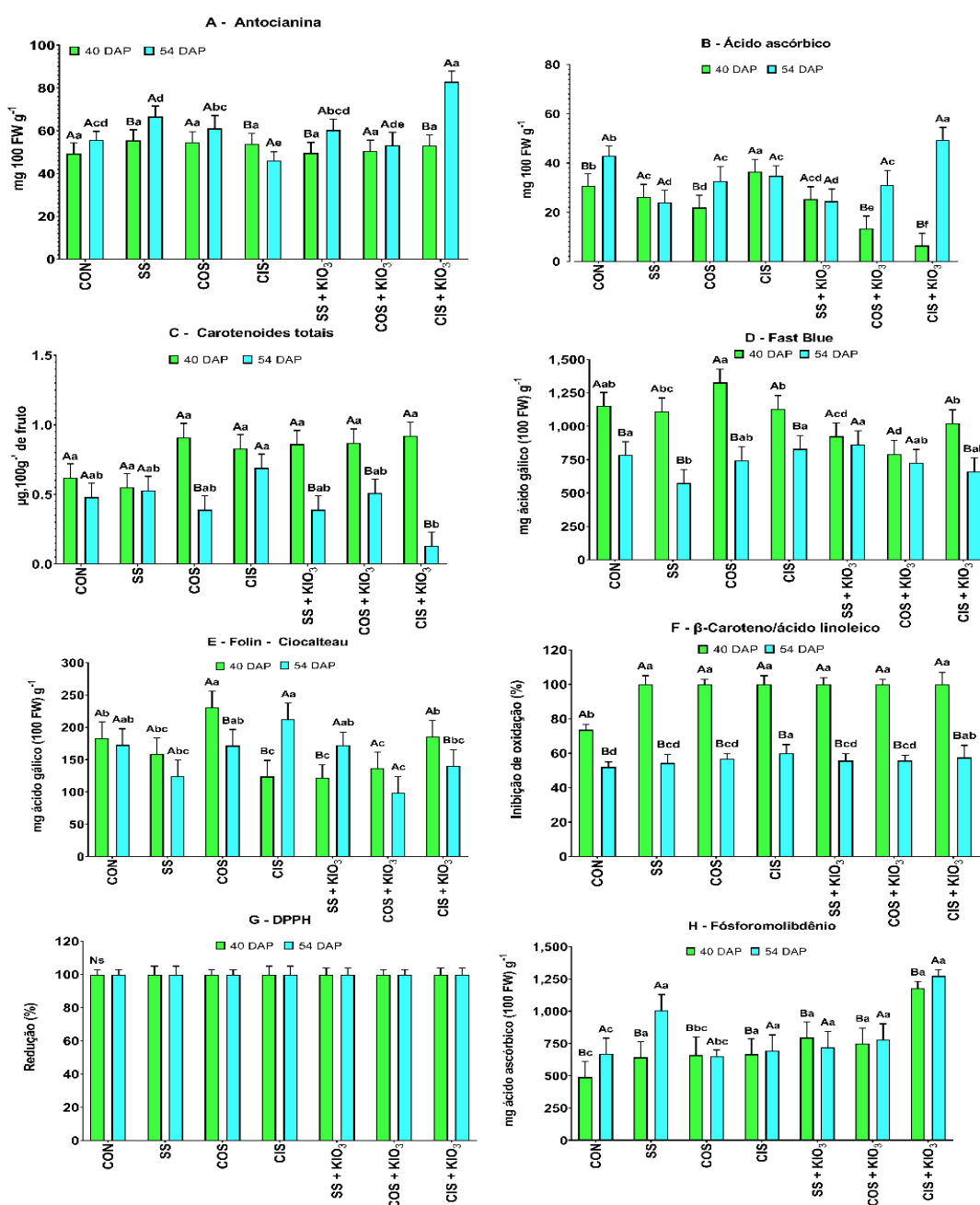


Figura 1. Teor de antocianina, ácido ascórbico, carotenoides totais, compostos fenólicos totais pelos métodos Fast Blue e Folin – Ciocalteu, atividade antioxidante pelos métodos método β-Caroteno/ácido linoleico, DPPH e fosforomolibdênio de framboeseira em condições subtropicais, após 40 e 54 dias após a aplicação dos tratamentos. 2025. *As médias seguidas da mesma letra maiúscula para tempo de colheita e da mesma letra minúscula para tratamentos não diferem estatisticamente pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade. Legenda: CON: controle; SS: selenato de sódio; COS: comercial Se orgânico; CIS: comercial Se inorgânico com fertilizantes multi-nutriente; SS + KIO₃: selenato de sódio + iodato de potássio; COS +

KIO₃: comercial Se orgânico + iodato de potássio; CIS + KIO₃: Comercial Se inorgânico com fertilizante multi-nutriente + iodato de potássio.

Com relação ao conteúdo de macronutrientes dos frutos, observa-se na Tabela 5 que não houve diferença estatística entre os tratamentos e o período de colheita, entretanto, observou-se tendência de aumento no teor de potássio e fósforo em frutos biofortificados. O COS + KIO₃ destacou-se com o maior teor de K em 40 DAP, já o tratamento SS + KIO₃ com maior P.

Já em relação aos micronutrientes, o tratamento CIS + KIO₃ apresentou o maior teor de ferro em 40 DAP e também superior para manganês e zinco, embora sem significância estatística (Tabela 5). De maneira geral, os tratamentos com Se e KIO₃ sugerem aumento na densidade mineral dos frutos.

Tabela 5. Conteúdo de macro e micronutrientes em frutos de framboeseira em condições subtropicais, após 40 e 54 dias após a aplicação dos tratamentos. 2025.

Tratamentos	Cálcio (Ca)*		Potássio (K)		Magnésio (Mg)	
			----- g kg ⁻¹ -----			
	40 DAP	54 DAP	40 DAP	54 DAP	40 DAP	54 DAP
CON	12,2 ± 0,9	11,2 ± 1,7	11,9 ± 0,8	12,8 ± 2,6	3,1 ± 0,2	4,6 ± 0,8
SS	10,9 ± 0,4	11,6 ± 1,4	11,2 ± 0,5	15,2 ± 2,6	2,8 ± 0,4	4,4 ± 0,6
COS	11,0 ± 1,3	11,2 ± 0,6	12,1 ± 1,3	15,2 ± 4,9	4,2 ± 0,9	4,2 ± 0,8
CIS	10,0 ± 2,0	11,2 ± 0,9	11,0 ± 1,2	14,1 ± 4,4	4,2 ± 1,1	4,0 ± 0,6
SS + KIO ₃	11,1 ± 1,0	11,1 ± 0,3	12,4 ± 1,8	13,6 ± 1,5	4,4 ± 0,6	4,0 ± 1,1
COS + KIO ₃	11,7 ± 0,4	10,9 ± 0,3	14,7 ± 2,5	13,5 ± 2,8	4,4 ± 0,5	4,2 ± 1,8
CIS + KIO ₃	11,2 ± 0,5	12,3 ± 0,4	12,4 ± 1,7	12,8 ± 2,2	4,1 ± 1,1	4,5 ± 2,1
<i>p</i> – valor	0,7920 ^{NS}		0,3853 ^{NS}		0,3683 ^{NS}	
CV (%)	12,50		19,38		27,11	
Tratamentos	Fósforo (P)		Enxofre (S)		Boro (B)	
			----- g kg ⁻¹ -----		----- mg kg ⁻¹ -----	
	40 DAP	54 DAP	40 DAP	54 DAP	40 DAP	54 DAP
CON	1,7 ± 0,1	1,2 ± 0,8	1,5 ± 0,1	2,0 ± 1,4	8,9 ± 0,6	8,8 ± 1,6
SS	1,5 ± 0,1	1,7 ± 0,5	1,3 ± 0,1	1,3 ± 0,2	10,2 ± 1,2	8,9 ± 1,5
COS	1,9 ± 0,2	2,7 ± 0,9	1,4 ± 0,2	1,2 ± 0,4	8,8 ± 2,6	8,4 ± 1,4
CIS	2,0 ± 0,3	2,2 ± 1,1	1,5 ± 0,3	1,2 ± 0,5	8,4 ± 2,7	8,6 ± 1,4
SS + KIO ₃	2,1 ± 0,3	2,4 ± 1,2	1,4 ± 0,3	1,1 ± 0,5	8,4 ± 2,6	8,7 ± 1,2
COS + KIO ₃	2,7 ± 0,4	2,1 ± 1,2	1,4 ± 0,1	1,1 ± 0,6	8,2 ± 1,4	8,8 ± 1,1
CIS + KIO ₃	2,5 ± 0,2	2,2 ± 0,8	1,4 ± 0,1	1,2 ± 0,1	8,5 ± 1,5	8,3 ± 1,5
<i>p</i> – valor	0,4824 ^{NS}		0,6921 ^{NS}		0,9997 ^{NS}	
CV (%)	34,33		36,95		30,48	
Tratamentos	Cobre (Cu)		Ferro (Fe)		Manganês (Mn)	
			----- mg kg ⁻¹ -----			
	40 DAP	54 DAP	40 DAP	54 DAP	40 DAP	54 DAP
CON	13,0 ± 0,7	14,8 ± 1,5	26,6 ± 1,6	20,8 ± 3,2	7,4 ± 1,7	8,7 ± 1,2
SS	12,3 ± 1,0	14,9 ± 1,8	23,2 ± 1,9	19,7 ± 3,5	6,4 ± 0,3	9,1 ± 0,6
COS	10,2 ± 3,5	14,3 ± 1,6	17,7 ± 6,7	20,6 ± 1,3	7,1 ± 1,7	7,6 ± 0,5
CIS	11,1 ± 2,2	14,3 ± 1,7	15,3 ± 7,7	23,1 ± 3,2	7,6 ± 1,2	7,1 ± 1,2
SS + KIO ₃	11,3 ± 2,9	14,9 ± 0,9	24,8 ± 3,3	20,2 ± 1,8	7,3 ± 1,5	6,9 ± 0,3
COS + KIO ₃	12,5 ± 0,8	14,7 ± 1,1	27,8 ± 4,0	20,6 ± 2,3	7,2 ± 1,0	7,6 ± 0,4

CIS + KIO ₃	11,6 ± 0,7	14,8 ± 1,0	29,7 ± 3,1	26,2 ± 1,5	7,9 ± 2,3	7,2 ± 0,6
<i>p</i> – valor	0,9984 ^{NS}		0,6051 ^{NS}		0,4454 ^{NS}	
CV (%)	32,75		27,74		34,09	
	Zinco					
	----- mg kg ⁻¹ -----					
Tratamentos	40 DAP		54 DAP			
CON	32,4 ± 4,3		31,4 ± 1,0			
SS	35,7 ± 1,8		35,5 ± 0,9			
COS	35,1 ± 0,9		33,4 ± 2,6			
CIS	35,6 ± 1,9		32,4 ± 1,2			
SS + KIO ₃	33,2 ± 0,9		33,1 ± 0,4			
COS + KIO ₃	29,9 ± 4,6		30,4 ± 0,8			
CIS + KIO ₃	30,1 ± 3,2		29,3 ± 0,9			
<i>p</i> – valor			0,6474 ^{NS}			
CV (%)			27,30			

* NS: estatisticamente não significativo ($p > 0,05$). Legenda: CON: controle; SS: selenato de sódio; COS: comercial Se orgânico; CIS: comercial Se inorgânico com fertilizantes multi-nutrientes; SS + KIO₃: selenato de sódio + iodato de potássio; COS + KIO₃: comercial Se orgânico + iodato de potássio; CIS + KIO₃: Comercial Se inorgânico com fertilizante multi-nutriente + iodato de potássio.

4 DISCUSSÃO

A aplicação foliar com Se e I, aplicados isoladamente ou em combinação, influenciou nos atributos físicos, físico-químicos, nutricionais e funcionais dos frutos da framboeseira ‘Heritage’, com destaque para os efeitos observados na aplicação combinada (CIS + KIO₃). Esses efeitos podem estar relacionados ao papel fisiológico e bioquímico desses elementos nas plantas, além da interação com fatores ambientais ao longo do ciclo de desenvolvimento dos frutos (Behera *et al.*, 2025).

Embora o Se não seja considerado essencial para a maioria das espécies vegetais, sua aplicação está associada ao aumento da atividade de enzimas antioxidantes, como peroxidases, glutathione redutase e superóxido dismutase (Lima *et al.*, 2023). Esses mecanismos promovem proteção contra o estresse oxidativo e podem modular vias metabólicas relacionadas à qualidade do fruto (Duborská *et al.*, 2022). O I, por sua vez, tem sido investigado por seu papel na melhora do crescimento vegetal, aumento da atividade enzimática e estímulo à produção de metabólitos secundários, incluindo compostos fenólicos e antioxidantes (Riyazuddin *et al.*, 2023). A interação sinérgica entre Se e I parece favorecer mecanismos de defesa e rotas antioxidantes, resultando em um acúmulo mais expressivo de compostos bioativos nos frutos (Wójcik, 2023).

Estudos anteriores, como o de Maro *et al.* (2014), demonstraram que fatores genéticos e ambientais afetam diretamente as características físicas dos frutos. Nas regiões da Serra da

Mantiqueira e do Rio Grande do Sul, por exemplo, a massa e as dimensões dos frutos variaram consideravelmente. Moura *et al.* (2012), também evidenciaram variações de comprimento, diâmetro e massa de frutos da cv. 'Heritage' cultivados em diferentes regiões. Os valores obtidos no presente estudo foram superiores aos registrados em estudos anteriores, o que sugere que além dos tratamentos aplicados, às condições edafoclimáticas podem ter contribuído (Aguilar *et al.*, 2025).

Com relação ao tamanho dos frutos, não foram observadas diferenças estatísticas entre o controle e os tratamentos, embora tenha havido uma redução aos 54 DAP. Essa resposta pode estar relacionada à redistribuição dos elementos aplicados, que inicialmente estimulam o crescimento via regulação hormonal e antioxidante, mas que, ao longo do tempo, podem apresentar limitações na disponibilidade ou na absorção (Golubkina *et al.*, 2021). Além disso, as condições climáticas durante o período experimental (Figura 1) podem ter limitado a fotossíntese e o acúmulo de fotoassimilados (Ali *et al.*, 2021). A baixa radiação solar, a elevada umidade relativa do ar e as chuvas frequentes são fatores que podem afetar a produção de energia, o transporte de nutrientes e a maturação dos frutos (Moaaz *et al.*, 2021).

A coloração dos frutos está relacionada à presença de pigmentos naturais, como antocianinas, carotenoides e clorofilas (Kapoor *et al.*, 2022). No presente estudo, o aumento dos valores de L^* e a^* no tratamento CIS + KIO_3 indicou maior degradação de clorofila e acúmulo de pigmentos vermelhos, como antocianinas. Uma das hipóteses para este fato pode ser atribuída à ativação da enzima fenilalanina amônia-liase (PAL) pelo Se, (Zeeshan *et al.*, 2025) e à modulação de genes reguladores de pigmentos pelo I (Kang *et al.*, 2024). O aumento do parâmetro b^* também indica maior acúmulo de carotenoides, contribuindo para a coloração amarelada e a qualidade funcional dos frutos (Kapoor *et al.*, 2022).

Quanto aos parâmetros físico-químicos, os teores de sólidos solúveis, acidez titulável, pH e relação SS/AT mostraram variações em função dos tratamentos e do tempo de coleta, podendo estar relacionado esses resultados em função as com condições climáticas durante o período experimental (Aguilar *et al.*, 2025). Comparando com Moura *et al.* (2012), os valores encontrados estão dentro da faixa observada em outras regiões produtoras. A literatura aponta que a aplicação foliar de Se e I pode afetar o metabolismo de carboidratos e a atividade enzimática, influenciando diretamente esses parâmetros (Izydorczyk *et al.*, 2021; Ikram *et al.*, 2025).

O aumento do teor de vitamina C nos frutos pode estar relacionado ao fornecimento equilibrado de macro e micronutrientes, pois a síntese do ácido ascórbico em plantas ocorre principalmente pela rota do L-galactose, que depende de enzimas ativadas por macronutrientes

(N, P, K) e micronutrientes (Mg, Fe, Cu, Zn, Mn) essenciais para a atividade enzimática, como o Se modula o metabolismo antioxidante, auxilia na proteção de enzimas e favorecendo assim a produção de vitamina C, enquanto o I atua na regulação redox e na expressão gênica da biossíntese, tendo o equilíbrio desses nutrientes ocasiona condições ideais para uma maior produção e acúmulo de vitamina C nos frutos (Sami *et al.*, 2024). Aos 54 DAP, o tratamento CIS + KIO₃ resultou no maior acúmulo, o que sugere uma interação entre Se e I em estágios mais avançados do desenvolvimento dos frutos (Lu *et al.*, 2022). A síntese da vitamina C é influenciada por fatores nutricionais e ambientais e está ligada à atuação de antioxidantes no combate ao estresse oxidativo (Doseděl *et al.*, 2021).

As antocianinas, associadas à cor e à atividade antioxidante dos frutos, apresentaram aumento em todos os tratamentos aos 54 DAP. A estimulação da via dos flavonoides pelo Se e pelo I, via regulação de genes como CHS (chalcona sintase) e DFR (dihidroflavonol redutase), pode ter favorecido esse acúmulo (Zhou *et al.*, 2025). Além disso, a presença de um fertilizante multinutriente nos tratamentos pode ter contribuído para intensificar a coloração e o teor de antocianinas (Ayenew *et al.*, 2025).

Os carotenoides também aumentaram nos tratamentos com Se e I, especialmente nas combinações com KIO₃. Esse aumento pode estar relacionado à maior disponibilidade de precursores do metabolismo isoprenoide, como o geranylgeranyl pirofosfato (GGPP), que serve como substrato para a biossíntese dos carotenoides, sendo esse aumento pode estar relacionado à melhora no metabolismo geral da planta, promovendo maior produção e disponibilidade desses precursores, como o GGPP, devido à melhor nutrição e menor estresse oxidativo promovida pelo Se e ao estresse moderado que estimula a biossíntese desses pigmentos (Wójcik *et al.*, 2024).

No que se refere aos teores de macro e micronutrientes, embora as diferenças não tenham sido estatisticamente significativas, observou-se uma tendência de aumento para K, P, Fe, Mn e Zn, especialmente nos tratamentos combinados. Esse comportamento pode estar associado ao aumento da atividade radicular, à maior eficiência de absorção por bombas iônicas e à regulação do transporte de nutrientes induzida pelo Se e pelo I (Kaur *et al.*, 2023).

Os compostos fenólicos totais também se destacaram nos tratamentos com aplicação conjunta de Se e I, com incrementos expressivos em relação ao controle. Esses compostos, produzidos pelas rotas do ácido chiquímico e do fenilpropanóide, têm sua síntese estimulada por estresses oxidativos moderados e pela ativação de enzimas como a PAL (Wang *et al.*, 2023; Zhou *et al.*, 2025). O I, ainda que menos estudado nesse contexto, também pode atuar como modulador enzimático e antioxidante indireto (Liu *et al.*, 2022).

A maior concentração de compostos bioativos refletiu-se em maior atividade antioxidante dos frutos biofortificados, conforme demonstrado pelos três métodos utilizados (β -caroteno/ácido linoleico, DPPH e fosfomolibdênio) (Preciado-Rangel *et al.*, 2021). A capacidade de neutralizar radicais livres, inibir a peroxidação lipídica e preservar a integridade celular indica que a estratégia da aplicação foliar com Se e I foi eficiente para promover frutos com maior valor funcional e potencial para a promoção da saúde humana (Sharma *et al.*, 2023; Mezey *et al.*, 2025).

5 CONCLUSÃO

- I. A aplicação com Se e I, especialmente em aplicação combinada (CIS + KIO₃), promove melhorias nos atributos físico-químicos, nutricionais e funcionais dos frutos da framboeseira.
- II. Os tratamentos estimulam a biossíntese de compostos bioativos, como antocianinas, carotenoides, vitamina C e fenólicos, resultando em maior atividade antioxidante.

REFERÊNCIAS

AGUILAR, F. et al. Increased Temperature Effects During Fruit Growth and Maturation on the Fruit Quality, Sensory and Antioxidant Properties of Raspberry (*Rubus idaeus* L.) cv. Heritage. **Foods**, v. 14, n. 7, p. 1201, 2025.

ALI, M. et al. Effect of environmental factors on growth and development of fruits. **Tropical Plant Biology**, v. 14, n. 3, p. 226-238, 2021.

ARAÚJO, N. M. P et al. Potential of Brazilian berries in developing innovative, healthy, and sustainable food products. **Sustainable Food Technology**, v. 2, n. 3, p. 506-530, 2024.

AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY. **Official methods of analysis**. 21. ed. Gaithersburg: AOAC, 2019.

AYENEW, B. M. et al. A review on the production of nanofertilizers and its application in agriculture. **Heliyon**, v. 11, n. 1, 2025.

BAI, S. *et al.* Effects and impact of selenium on human health, a review. **Molecules**, v. 30, n. 1, p. 50, 2024.

BARCIA, M. T.; PERTUZATTI, P. B.; JACQUES, A. C.; GODOY, H. T.; ZAMBIARI, R. Bioactive Compounds, Antioxidant Activity and Percent Composition of Jambolão Fruits (*Syzygium cumini*). **The Natural Products Journal, Shariah**, v. 2, n.2, p. 129-138, 2012.

BEHERA, S. R. et al. Agronomic Biofortification of Vegetable Crops with Selenium and Iodine: A Review. **Journal of Advances in Biology & Biotechnology**, v. 28, n. 2, p. 972–986, 3 mar. 2025.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E; BERSET, C. L. W. T. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT-Food science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.

BUDKE, C. et al. Iodine biofortification of apples and pears in an orchard using foliar sprays of different composition. **Frontiers in plant science**, v. 12, p. 638671, 2021.

CAMPOS, G. R. et al. Construction and genetic characterization of an interspecific raspberry hybrids panel aiming resistance to late leaf rust and adaptation to tropical regions. **Scientific Reports**, v. 13, n. 1, p. 15216, 2023.

DE MORAES FAGUNDES, C. et al. Production, quality, bioactive compounds, and phenology of raspberry cultivars under an organic cropping system in a subtropical region of Brazil. **Scientia Agricola**, v. 81, 2024.

DEBNATH, S. et al. Selenium-based drug development for antioxidant and anticancer activity. **Future Pharmacology**, v. 2, n. 4, p. 595-607, 2022.

DOS SANTOS, Humberto Gonçalves et al. **Proposta de atualização da segunda edição do Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 2009.

DOSEDĚL, M. et al. Vitamin C—sources, physiological role, kinetics, deficiency, use, toxicity, and determination. **Nutrients**, v. 13, n. 2, p. 615, 2021.

DUBORSKÁ, E. et al. Current strategies for selenium and iodine biofortification in crop plants. **Nutrients**, v. 14, n. 22, p. 4717, 2022.

FAGUNDES, C. M. et al. Production, quality, bioactive compounds, and phenology of raspberry cultivars under an organic cropping system in a subtropical region of Brazil. **Scientia Agricola**, v. 81, p. e20230009, 2023.

FAO STAT. Crops and Livestock Products; **Food and Agriculture Organization of the United Nations**: Rome, Italy, 2023. Disponível em: ><https://www.fao.org/faostat/><. Acesso em 12 julho de 2025.

GOLUBKINA, N. et al. Joint biofortification of plants with selenium and iodine: new field of discoveries. **Plants**, v. 10, n. 7, p. 1352, 2021.

IKRAM, N.A.; GHAFAR, A.; KHAN, A.A.; NAWAZ, F.; HUSSAIN, A. Foliar iodine application: A strategy for tomato biofortification and yield optimization. **Journal of Plant Nutrition**, v. 48, n. 3, 2025.

INMET. **Normais Climatológicas do Brasil**. Disponível: <<https://portal.inmet.gov.br/normais>>>. Acesso em: 14 mai. 2025.

IZYDORCZYK, G.; LIGAS, B.; MIKULA, K.; WITEK-KROWIAK, A.; MOUSTAKAS, K.; CHOJNACKA, K. Biofortification of edible plants with selenium and iodine—A systematic literature review. **Science of The Total Environment**, v. 754, 2021.

KANG, L. et al. Selenium Nanoparticle and Melatonin Treatments Improve Melon Seedling Growth by Regulating Carbohydrate and Polyamine. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 25, n. 14, p. 7830, 2024.

KAPOOR, L. et al. Fruit ripening: dynamics and integrated analysis of carotenoids and anthocyanins. **BMC plant biology**, v. 22, n. 1, p. 27, 2022.

KAUR, H. et al. The beneficial roles of trace and ultratrace elements in plants. **Plant Growth Regulation**, v. 100, n. 2, p. 219-236, 2023.

KIRAN, A. et al. Biofortification of staple crops to alleviate human malnutrition: contributions and potential in developing countries. **Agronomy**, v. 12, n. 2, p. 452, 2022.

LEE, D. H.; FRANCIS, F. J. Standardization of Pigment Analyses in Cranberries. **HortScience**, Stanford, v. 7, n. 1, p. 83-84, 1972.

LEONEL, S.; ROBERTO, S. R.; DA SILVA, S. R. Orchard Management Under Climate Change. **Horticulturae**, v. 11, n. 1, p. 98, 2025.

LIMA, J. S. et al. Soybean plants exposed to low concentrations of potassium iodide have better tolerance to water deficit through the antioxidant enzymatic system and photosynthesis modulation. **Plants**, v. 12, n. 13, p. 2555, 2023.

LIU, H. et al. Selenium regulates antioxidant, photosynthesis, and cell permeability in plants under various abiotic stresses: A review. **Plants**, v. 12, n. 1, p. 44, 2022.

LU, N. et al. Selenium improves the content of vitamin C in the fruit of strawberry by regulating the enzymes responsible for vitamin C metabolism. **Plant, Soil & Environment**, v. 68, n. 4, 2022.

MARO, L. A. C. et al. Ciclo de produção de cultivares de framboeseiras (*Rubus idaeus*) submetidas à poda drástica nas condições do sul de Minas Gerais. **Revista Brasileira De Fruticultura**, v. 34, n. 2, 2012.

MEDINA, M. B. Determination of the total phenolics in juices and superfruits by a novel Chemical method. **Journal of Functional Foods**, v. 3, p. 79-87, 2011.

MEDINA, R. B. et al. Cropping and Pruning Systems of Primocane Raspberries in the Subtropical Climate. **Horticulturae**, v. 10, n. 11, p. 1197, 2024.

MEZEY, J. et al. Foliar Selenium Biofortification in Temperate Fruit Crops: Impact on Selenium Accumulation and Nutritional Quality of Fruits and Juices. **Beverages**, v. 11, n. 2, p. 53, 2025.

MOAAZ, A. M. et al. Effect of environmental factors on growth and development of fruits. **Tropical Plant Biology**, v. 14, n. 3, p. 226-238, 2021.

MOURA, P. H. A. et al. Fenologia e produção de cultivares de framboeseiras em regiões subtropicais no Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, n. 12, 2012.

OSORIO-MARÍN, J. et al. Climate change impacts on temperate fruit and nut production: a systematic review. **Frontiers in Plant Science**, v. 15, 2024.

OZTEKIN, Y.; BUYUKTUNCER, Z. Agronomic Biofortification of Plants with Iodine and Selenium: A Potential Solution for Iodine and Selenium Deficiencies. **Biological Trace Element Research**, p. 1-12, 2024.

PARADISO, V. M. et al. Nutritional characterization and shelf-life of packaged microgreens. **Food & function**, v. 9, n. 11, p. 5629-5640, 2018.

PRECIADO-RANGEL, P. et al. Biofortification with selenium increases bioactive compounds and antioxidant capacity in tomato fruits. **Terra Latinoamericana**, v. 39, 2021.

PRIETO, P.; PINEDA, M.; AGUILAR, M. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. **Analytical biochemistry**, v. 269, n. 2, p. 337-341, 1999.

R CORE TEAM. R: **A language and environment for statistical computing**. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2024. Disponível em: : <<https://www.R-project.org/>>. Acesso em: 23 maio 2025.

RIYAZUDDIN, R. et al. Iodine: an emerging biostimulant of growth and stress responses in plants. **Plant and Soil**, v. 486, n. 1, p. 119-133, 2023.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. A guide to carotenoid analysis in foods. Washington: **Internacional Life Sciences Institute Press**, p.64, 2001

RUFINO, M. S. et al. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food chemistry**, v. 121, n. 4, p. 996-1002, 2010.

SAMI, A. et al. Genetics aspect of vitamin C (ascorbic acid) biosynthesis and signaling pathways in fruits and vegetables crops. **Functional & Integrative Genomics**, v. 24, n. 2, p. 73, 2024.

SHARMA, R. et al. Enhancing nutritional value in fruit crops through biofortification: A comprehensive review. **The Indian Journal of Agricultural Sciences**, v. 93, n. 11, p. 1167-1174, 2023.

SILVEIRA, M. L. R. et al. Características físico-químicas, compostos bioativos e potencial antioxidante de frutos de framboesa vermelha (*Rubus idaeus* L.). **Observatório de la economía latinoamericana**, v. 21, n. 9, p. 12241-12262, 2023.

STROHECKER, R.; HENNING, H. M. Analisis de vitaminas: métodos comprobados. **Madrid: Paz Montalvo**, 1967. 428 p.

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

WANG, F. et al. Transcriptome and metabolome analysis of selenium treated alfalfa reveals influence on phenylpropanoid biosynthesis to enhance growth. **Plants**, v. 12, n. 10, p. 2038, 2023.

WÓJCIK, P. Effects of preharvest sprays of iodine, selenium and calcium on apple biofortification and their quality and storability. **PLoS One**, v. 18, n. 3, p. e0282873, 2023.

WÓJCIK, P.; FILIPCZAK, J.; WÓJCIK, M. Impact of selenium fertilisation of ‘Red Jonaprince’ apple trees on selenium nutrition and fruit quality and storability. **Scientia Horticulturae**, v. 327, p. 112871, 2024.

ZEESHAN, M. et al. Nano-selenium mitigates arsenate toxicity in soybean roots by modulating phenylalanine and salicylic acid pathways. **BMC Plant Biology**, v. 25, n. 1, p. 699, 2025.

ZHOU, Y. et al. Selenium's Role in Plant Secondary Metabolism: Regulation and Mechanistic Insights. **Agronomy**, v. 15, n. 1, 2025.

Agradecimentos: os autores agradecem Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e INCT Segurança Solo e Alimento (Processo 406577/2022-6), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (Processo 403040/2023-0).



**ARTIGO 2 – QUALIDADE E PERFIL FUNCIONAL DE AMORAS-PRETAS SOB
APLICAÇÃO FOLIAR DE SELÊNIO E IODO
QUALITY AND FUNCTIONAL PROFILE OF BLACKBERRIES UNDER FOLIAR
APPLICATION OF SELENIUM AND IODINE²**

Carlos Henrique Milagres Ribeiro
<https://orcid.org/0000-0003-0850-4070>

Gilson Gustavo Lucinda Machado
<https://orcid.org/0000-0003-3778-0357>

Cecília Balduino Ferreira
<https://orcid.org/0000-0001-7163-288X>

Ana Beatriz Silva Araújo
<https://orcid.org/0000-0001-7031-9613>

Paulo Henrique Frois Correa Barros
<https://orcid.org/0000-0002-2166-133X>

Rafael Pio
<https://orcid.org/0000-0003-3730-8191>

Everton Geraldo de Moraes
<https://orcid.org/0000-0001-6419-6282>

Luiz Roberto Guimarães Guilherme
<https://orcid.org/0000-0002-5387-6028>

Eduardo Valério Villas Boas
<https://orcid.org/0000-0002-0252-695X>

Pedro Maranhã Pêche
<https://orcid.org/0000-0001-8865-1702>

Resumo: O objetivo deste estudo foi avaliar a qualidade físico-química e os compostos bioativos em frutos da amoreira-preta mediante a aplicação foliar de fertilizantes contendo selênio (Se) e iodo (I). O experimento foi conduzido em diferentes fenofases do desenvolvimento das plantas da cultivar “BRS Tupy” (pré-florescimento, florescimento, frutificação e frutos maduros). O delineamento foi em blocos casualizados, esquema fatorial 7

² Artigo científico apresentado à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, área de concentração em Produção Vegetal.

× 3, com sete tratamentos: controle (CON); selenato de sódio (SS); Se orgânico comercial (COS); Se inorgânico comercial com fertilizante multinutriente (CIS); SS + iodato de potássio (KIO₃); COS + KIO₃; e CIS + KIO₃, e três épocas de colheita (40, 54 e 73 dias após aplicação (DAP)). Foram avaliados atributos físicos, coloração, características físico-químicas, compostos bioativos (antocianinas, ácido ascórbico, carotenoides, fenólicos totais, atividade antioxidante) e composição mineral. A aplicação foliar de Se e I melhorou a qualidade dos frutos, com destaque para CIS + KIO₃ aos 40 DAP, que apresentou maior desempenho físico. COS e COS + KIO₃ elevaram significativamente ácido ascórbico, fenólicos, antocianinas, carotenoides e atividade antioxidante. Houve aumento nos teores de sólidos solúveis, relação SS/AT e coloração dos frutos. Combinações de Se e I aumentaram os teores de B, Ca, Fe, K, Mg e P. A aplicação foliar com Se e I influencia positivamente a qualidade nutricional e o valor funcional da amora-preta ‘BRS Tupy’.

Palavras-chave: *Rubus* spp; capacidade antioxidante; fome oculta; frutas funcionais; segurança alimentar.

Abstract: This study aimed to evaluate the effects of foliar application of fertilizers containing selenium (Se) and iodine (I) on the physicochemical quality and bioactive compounds of ‘BRS Tupy’ blackberry. The experiment was conducted at different phenological stages (pre-bloom, flowering, fruit set, and ripe fruit) in a randomized block design, in a 7 × 3 factorial scheme, with seven treatments: control (CON); sodium selenate (SS); commercial organic Se (COS); commercial inorganic Se with a multi-nutrient fertilizer (CIS); SS + potassium iodate (KIO₃); COS + KIO₃; and CIS + KIO₃, and three harvest times (40, 54, and 73 days after application, DAA). Physical attributes, color, physicochemical characteristics, bioactive compounds (anthocyanins, ascorbic acid, carotenoids, total phenolics, antioxidant activity), and mineral composition were assessed. Foliar application of Se and I improved fruit quality, with CIS + KIO₃ at 40 DAA showing the best physical performance. Treatments with COS and COS + KIO₃ significantly increased ascorbic acid, phenolics, anthocyanins, carotenoids, and antioxidant activity. There were increases in soluble solids, soluble solids/titratable acidity ratio, and fruit color. In addition, combinations of Se and I enhanced B, Ca, Fe, K, Mg, and P contents. In conclusion, foliar biofortification with Se and I positively influences the nutritional quality and functional value of ‘BRS Tupy’ blackberry, representing an effective practice to enrich and add value to the fruits.

Keywords: *Rubus* spp; antioxidant capacity; hidden hunger; functional fruits; food security.

1 INTRODUÇÃO

A deficiência de micronutrientes na dieta humana, conhecida como “fome oculta”, constitui um dos principais desafios de saúde pública global, afetando mais de dois bilhões de pessoas em todo o mundo (Yilmaz; Yilmaz, 2025). Entre os micronutrientes que vêm sendo muito estudados nesse contexto estão o selênio (Se) e o iodo (I), que, apesar de necessários em pequenas quantidades diárias, são essenciais para diversas funções fisiológicas (Köhrle, 2023). O Se atua como antioxidante e imunomodulador, além de estar associado à prevenção de doenças cardiovasculares e cânceres (Wang *et al.*, 2024), enquanto o I é fundamental para a síntese dos hormônios tireoidianos e o adequado desenvolvimento neurológico, especialmente durante a gestação e a infância (Hatch-McChesney; Lieberman, 2022).

Diante dessa realidade, a biofortificação agrônômica se torna uma estratégia eficiente para mitigar deficiências nutricionais, por meio da aplicação de fertilizantes enriquecidos com micronutrientes no solo ou via foliar (Dhaliwal *et al.*, 2022). Estudos recentes têm demonstrado o sucesso da aplicação com Se e I em diferentes espécies cultivadas, como grãos (soja, milho), hortaliças (alfaces, abobrinha) e frutas (maçã, pera), promovendo o aumento dos teores desses elementos e contribuindo para dietas mais saudáveis (Jaiswal *et al.*, 2022; Ray *et al.*, 2024). Além do enriquecimento nutricional, esses elementos podem exercer efeitos bioestimulantes nas plantas, melhorando a capacidade antioxidante, a tolerância a estresses abióticos e a qualidade pós-colheita dos frutos (Lima *et al.*, 2023).

A recomendação do consumo de frutas pelo menos cinco vezes ao dia reforça a importância das fruteiras na promoção da saúde e prevenção de doenças (Wang *et al.*, 2022). Nesse cenário, a aplicação com Se e I representa uma abordagem promissora para potencializar o valor funcional desses alimentos e transformá-los em veículos naturais de nutrientes, contribuindo no combate à fome oculta (Oztekin *et al.*, 2024).

A amoreira-preta destaca-se como uma espécie ideal para estratégias de biofortificação, devido à sua composição rica em antocianinas, flavonoides, vitamina C e fibras, e ao seu crescente consumo (Jain *et al.*, 2025). Contudo, o cultivo de amoreiras-pretas enfrenta desafios crescentes diante das mudanças climáticas, como estresse térmico, déficit hídrico e aumento da radiação solar, que comprometem o desenvolvimento vegetativo, a frutificação e a qualidade dos frutos (Cheema; Zaidi, 2024). Nesse contexto, a aplicação de Se e I pode não apenas enriquecer nutricionalmente os frutos, mas também atuar como estratégia agrônômica para aumentar a resiliência das plantas e reduzir perdas pós-colheita.

A aplicação de Se e I pode representar uma alternativa estratégica não apenas para enriquecer nutricionalmente os frutos, mas também para aumentar a resistência das plantas e reduzir perdas pós-colheita (Wójcik, 2023).

Diante disso, o objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade nutricional e os compostos bioativos e fitoquímicos dos frutos da amoreira-preta, mediante a aplicação foliar de fertilizantes enriquecidos com Se e I, em plantas cultivadas em clima subtropical.

2 METODOLOGIA

O experimento foi conduzido em uma unidade comercial, no município de Aiuruoca, Minas Gerais, Brasil (21°58'33" S; 44°36'10" O). O clima da região é classificado como Cwb, segundo a classificação de Köppen, caracterizado como tropical de altitude, com temperatura média anual mínima de 13,8°C e máximas de 22,5 °C, e altitude de 989 metros (INMET, 2025). A estação chuvosa compreende principalmente os meses de setembro a março, apresentando precipitação média anual de 1.533 mm.

De acordo com o Sistema Brasileiro de Classificação de Solos, o solo da área foi classificado como Latossolo Vermelho (Dos Santos *et al.*, 2009). Antes da instalação do experimento, foram coletadas amostras de solo da camada de 0–0,20 m para caracterização química, cujos resultados constam na Tabela 1.

Tabela 1. Atributos químicos dos solos (0-20 m) para a área de cultivo de amoreira-preta em condições subtropicais. 2025

pH		MOS		CTC	Al	H + Al	Ca	Mg
H ₂ O		%			 cmol _c kg ⁻¹			
4,4		4,3		9,2	0,2	5,9	2,1	0,6
K	P	Na	S	Zn	Fe	Mn	Cu	B
..... mg kg ⁻¹								
230,5	9,0	11,0	145,6	1,4	37,7	4,0	1,1	0,4

CTC – capacidade de troca de cátions; MOS – matéria orgânica do solo.

Foram utilizadas plantas da cultivar de amoreira-preta ‘Tupy’, com a produção das mudas realizadas conforme a metodologia de Pio e Gonçalves (2018). O plantio a campo foi realizado em setembro de 2020, no espaçamento, de 3,0 m x 0,5 m (densidade de 6.667 plantas por hectare), com condução de espaldeira dupla, espaçadas 50 cm entre si. Práticas de manejo fitossanitário foram adotadas para garantir a sanidade do cultivo, incluindo controle de doenças,

pragas e plantas daninhas (capina manual), bem como adubações conforme as recomendações técnicas para a cultura.

Os tratamentos consistiram na aplicação foliar de diferentes fontes de selênio (Se) e iodo (I), detalhados na Tabela 2, aplicadas em dose única em 03 de dezembro de 2022, durante distintas fenofases (pré-florescimento, floração, frutificação e maturação). As pulverizações ocorreram no período da manhã (08h:00 – 11h:00), utilizando pulverizador costal pressurizado com CO₂, calibrado a 0,6 MPa, com barra equipada com um bico de jato cônico vazio, operando a 5 km h⁻¹ e espaçamento entre bicos de 0,46 m.

Tabela 2. Descrição dos tratamentos aplicados na área de cultivo da amoreira-preta em condições subtropicais. 2025.

Tratamentos	Se	I
	g ha ⁻¹	
CON - Controle	0	0
SS - Selenato de sódio	30	0
COS - Comercial Se orgânico	30	0
CIS - Comercial Se inorgânico com fertilizante multi-nutriente	30	0
SS + KIO ₃ - Selenato de sódio + iodeto de potássio	30	20
		0
COS + KIO ₃ - Comercial Se orgânico + iodeto de potássio	30	20
		0
CIS + KIO ₃ - Comercial Se inorgânico com fertilizante multi-nutriente + iodeto de potássio	30	20
		0

Tratamentos de pulverização realizados com um pulverizador costal pressurizado com CO₂; fertilizante multi-nutriente tem Se e Zn e outros nutrientes em sua composição: N-1%, P₂O₅-6%, K₂O-18%, Mg-3%, B-0.5%, Se-0.25%, and Zn-0.25%.

Aos 40, 54 e 73 dias após a aplicação, 100 frutos por tratamento/bloco foram colhidos maduros durante o período da manhã e transportados em caixas térmicas para o laboratório de pós colheita de frutas e hortaliças da Universidade Federal de Lavras, onde foram analisados quanto aos atributos físico-químicos, fenólicos totais, atividade antioxidantes. As análises físico-químicas foram realizadas imediatamente após a colheita, já para a quantificação do teor de antocianina, ácido ascórbico, compostos fenólicos e atividade antioxidante, os frutos foram armazenados em ultrafreezer a -80 °C.

O experimento foi conduzido em delineamento em blocos casualizados, em esquema fatorial duplo. O primeiro fator foi composto por seis tratamentos para fonte de Se e I, além do controle (sem aplicação de Se e I), conforme descrito na Tabela 2. O segundo fator correspondeu ao tempo de colheita, realizado aos 40, 54 e 73 dias após a aplicação dos

tratamentos. O experimento foi organizado em 28 parcelas. Cada parcela tinha área de 9 m² (3 × 3 m), com 10 plantas por bloco.

As avaliações realizadas foram:

- Massa fresca, comprimento e diâmetro da baga: A massa fresca de 60 frutos foi determinada em balança semi-analítica (AD330, Marte[®]). O comprimento e diâmetro de 15 Frutos por blocos foram medidos com paquímetro digital (MTX[®]) no terço médio do fruto.
- pH: O pH foi mensurado em um medidor de pH (Tecnal[®], Piracicaba, Brasil), que previamente calibrado com soluções tampão (pH 4,0 e 7,0).
- Acidez titulável (AT): A acidez dos frutos foi determinada utilizando 5 g da amostra, previamente homogeneizada com 100 mL de água destilada. A solução resultante foi titulada com solução de hidróxido de sódio (NaOH) 0,01 N até que o pH atingisse valores entre 8,2 e 8,3, correspondentes ao ponto de viragem do indicador fenolftaleína. As medições de pH foram realizadas com auxílio de um potenciômetro digital (Tecnal[®], Piracicaba, Brasil). Os resultados foram expressos em gramas de ácido cítrico por 100 g de peso fresco da amostra (mg ácido cítrico 100 g⁻¹ de polpa).
- Sólidos solúveis (SS): Determinados com refratômetro digital ATAGO PR-100 (Tóquio, Japão) com ajuste automático de temperatura, e os resultados expressos em %.
- Razão entre sólidos solúveis (SS) e a acidez titulável (AT): Calculada pela divisão entre os valores de SS (°Brix) e de AT (mg ácido cítrico 100 g⁻¹ de polpa).
- Teor de umidade dos frutos: A umidade foi determinada pelo método gravimétrico em estufa de circulação de ar a 105°C até peso constante, conforme a metodologia proposta pela AOAC (2019).
- Cor dos frutos: Foram empregados 60 frutos os quais foram avaliados em dois pontos opostos com o auxílio de um colorímetro CR-400 (Konica Minolta[®]), utilizando o sistema CIE Lab*.
- Ácido ascórbico (vitamina C): Foram pesados 5 g da amostra, os quais foram homogeneizados com 50 mL de solução de ácido oxálico a 0,5% utilizando um homogeneizador do tipo rotor-estator (Polytron[®]). Em seguida, o homogenato foi submetido à agitação em mesa agitadora por 30 minutos e, posteriormente, filtrado com papel filtro qualitativo (15 cm de diâmetro, Unifil[®]). O extrato obtido foi então empregado para a determinação do teor de ácido ascórbico, após a oxidação do ácido ascórbico e do ácido dehidroascórbico, pelo método colorimétrico, empregando 2,4-dinitrofenilhidrazina, conforme descrito por Strohecker e Henning (1967). A absorbância foi medida em 520 nm utilizando um espectrofotômetro (Biochrom, Bio EZ Read 2000), e os resultados expressos

em miligramas de ácido ascórbico por 100 g⁻¹ de polpa.

- Preparo do extrato para compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante total: A obtenção dos extratos para a quantificação dos compostos fenólicos totais e da capacidade antioxidante total foi realizada conforme a metodologia descrita por Rufino *et al.* (2010), com adaptações. Inicialmente, pesaram-se 2,5 g da amostra em tubos de centrifuga, adicionando-se 20 mL de metanol a 50%, homogeneizou-se e deixou-se em agitação (em mesa agitadora) por 30 minutos ao abrigo da luz, transferindo-se o filtrado para um balão volumétrico de 50 mL. Em seguida, o resíduo da primeira extração recebeu 20 mL de acetona a 70% e foi submetido a banho de ultrassom por 30 minutos. Após esse tempo, realizou-se nova filtração com papel filtro qualitativo (15 cm de diâmetro, Unifil[®]), transferindo-se o filtrado para o mesmo balão contendo o primeiro extrato, e o volume completado até o menisco com água destilada. O extrato obtido foi armazenado em frasco âmbar e mantido sob refrigeração, sendo empregado para a realização das análises de compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante.

- Determinação dos compostos fenólicos totais pelo método de Folin-Ciocalteu: A quantificação foi realizada conforme descrito por Paradiso *et al.* (2018), com modificações. Em suma, em cada poço de uma microplaca de 96 poços (fundo chato), foram adicionados 30 µL do extrato e 150 µL do reagente Folin-Ciocalteu a 10% (v/v). Após um período de reação de 4 minutos, acrescentaram-se 120 µL de solução de carbonato de sódio a 4% (p/v). Essa mistura reacional foi incubada por 2 horas em ambiente protegido da luz. A leitura da absorbância foi realizada a 720 nm, utilizando um leitor de microplacas (EZ Read 2000, Biochrom[®]). O teor de fenólicos totais foi calculado com base na equação da reta obtida a partir da curva padrão de ácido gálico, sendo os resultados expressos em miligramas de equivalente de ácido gálico (GAE) por 100 g⁻¹ de amostra fresca (mg ácido gálico 100 g⁻¹ FW).

- Determinação dos compostos fenólicos totais pelo método de Fast Blue: foi realizada conforme descrito por Medina (2011), com adaptações. Na microplaca de 96 poços foram adicionados 200 µL do extrato, 25 µL de solução de Fast Blue a 0,1% (v/v), 25 µL de hidróxido de sódio a 5% (p/v) e 50 µL de água destilada. A mistura foi incubada no escuro por 1,5 hora, e a absorbância foi medida a 420 nm utilizando um leitor de microplacas (EZ Read 2000, Biochrom[®]). As análises foram conduzidas em triplicata, e os resultados expressos em miligramas de equivalente de ácido gálico por 100 g⁻¹ de peso fresco da amostra (mg GAE/100 g⁻¹ FW).

- Atividade antioxidante pelo método β-Caroteno/ácido linoleico: baseado na oxidação

(descoloração) do β -caroteno causada pela oxidação induzida pelos produtos da degradação oxidativa do ácido linoleico, conforme descrito por Rufino *et al.* (2010), com adaptações. Para cada análise, foram adicionados 270 μ L da solução do sistema β -caroteno/ácido linoleico e 30 μ L do extrato em poços de uma microplaca de 96 poços (fundo chato). As amostras foram incubadas a 40 °C e, após o intervalo de 2 horas, a leitura realizada a 470 nm utilizando um leitor de microplacas (EZ Read 2000, Biochrom®). Os resultados obtidos foram expressos como percentual de inibição da oxidação.

▪ Atividade antioxidante pelo método DPPH: O procedimento seguiu a metodologia descrita por Brand-Williams *et al.* (1995), com adaptações. A reação foi conduzida misturando-se 10 μ L do extrato vegetal com 290 μ L de solução etanólica de DPPH (6×10^{-2} mM). A mistura foi mantida em repouso por 30 minutos, protegida da luz, e a absorbância foi medida a 515 nm utilizando um leitor de microplacas (EZ Read 2000, Biochrom®). A capacidade antioxidante foi expressa como percentual de redução do radical DPPH, calculada por meio da equação 3 a seguir:

$$\% \text{ de redução} = \frac{A_{\text{controle}} - A_{\text{amostra}}}{A_{\text{controle}}} \times 100 \quad (\text{eq 3})$$

Onde:

A controle = Absorbância da solução de DPPH inicial;

A amostra = Absorbância da mistura relacional após 30 minutos.

▪ Atividade antioxidante pelo método fosfomolibdênio: O procedimento seguiu a metodologia descrita por Prieto *et al.* (1999), foram pipetados 100 μ L do extrato da amostra + 400 μ L de água destilada + 1,5 mL do complexo fosfomolibdênio em tubos com tampas rosqueáveis, os quais foram fechados agitados, e em seguida, levados a banho-maria a 95 °C por 90 minutos. Após o resfriamento, a leitura foi realizada em espectrofotômetro a 695 nm. A vitamina C foi empregada para a construção da curva padrão, e os resultados obtido foram expressos em miligramas de ácido ascórbico por 100 g⁻¹ de amostra fresca.

▪ Quantificação do teor de Antocianina: foi realizada por espectrofotometria, conforme o método descrito por Lee e Francis (1972), com adaptações propostas por Barcia *et al.* (2012). Para a extração dos pigmentos antociânicos, utilizou-se 1g da amostra, ao qual foram adicionados 25 mL de etanol acidificado (pH 1, ajustado com ácido clorídrico). A mistura foi mantida em incubação à temperatura ambiente por 1 hora. Em seguida, o extrato foi filtrado e o volume ajustado para 50 mL com o mesmo etanol acidificado. A absorbância foi determinada em espectrofotômetro (Biochrom, Bio EZ Read 2000) a 535 nm, utilizando como branco o etanol acidificado. A concentração de antocianinas totais foi calculada com base no

coeficiente de extinção molar da cianidina-3-glicosídeo (eq 1), principal antocianina presente em frutos, sendo os resultados expressos em miligramas de cianidina-3-glicosídeo por 100 g⁻¹ de amostra.

$$AT = \frac{(A \times PM \times FD)}{\epsilon \times l} \times 100 \quad (\text{eq 1})$$

Onde: A= absorvância da amostra; FD= fator de diluição; ϵ absortividade molar = 26900; PM cianidina 3-glicosídeo= 449,2.

▪ Carotenoides totais: A extração foi realizada conforme descrito por Rodriguez-Amaya (2001). Foram pesados 5 g da amostra, acondicionados em frasco escuro, e adicionados 20 mL de acetona P.A. gelada. Após agitação por 20 minutos, a mistura foi filtrada, lavando-se o resíduo com acetona até o material retido tornar-se esbranquiçado. O filtrado foi transferido para funil de separação protegido da luz, acrescentando-se 30 mL de éter de petróleo e 100 mL de água destilada, nessa ordem. Após separação das fases, a fase inferior foi descartada, repetindo-se o processo três vezes para completa remoção da acetona. A fase superior foi transferida para balão volumétrico de 100 mL, completando-se o volume com éter de petróleo. Os carotenoides totais foram quantificados utilizando método espectrofotométrico proposto por Rodriguez-Amaya (2001). As leituras foram realizadas em espectrofotômetro (Biochrom, Bio EZ Read 2000) a 444 nm, 450 nm, 456 nm, 462 e 470 nm, que correspondem aos comprimentos de onda específicos dos carotenoides, α -caroteno, β -caroteno, δ -caroteno, γ -caroteno e *licopeno*, respectivamente. O teor total de carotenoides foi calculado pela soma das quantidades individuais desses compostos, eo resultado obtido em $\mu\text{g por g}^{-1}$ foi convertido para mg por 100 g⁻¹ de matéria fresca. O teor de cada carotenoide foi calculado segundo a equação 2:

$$\mu\text{g. g}^{-1} = \frac{A \times V \times 10^6}{A_{1\text{cm}1\%} \times M \times 100} \quad (\text{eq 2})$$

Onde: A é a absorvância da solução no comprimento de onda específico, V é o volume final da solução, $A_{1\text{cm}1\%}$ é o coeficiente de extinção ou coeficiente de absortividade molar de um pigmento em um determinado solvente específico, no caso o éter de petróleo, e M é a massa da amostra tomada para a análise em g.

▪ Análise elementar nos frutos: Para simular o procedimento comum de limpeza doméstica, os frutos recém-colhidos foram lavados manualmente com água deionizada. Posteriormente, as amostras foram secas em estufa com circulação de ar (SL – 102/1540) a 45 °C até atingirem peso constante e, em seguida, moídas (< 0,38 mm) em moinho de aço inoxidável (SL- 31). Para a digestão, utilizou-se 0,5 g de massa seca de frutos de framboeseira,

conforme o método 3051A da USEPA (2007). Cada alíquota foi digerida com 5 mL de ácido nítrico (HNO_3) em tubos de Teflon[®] (CEM Corporation, Matthews, NC, EUA). Os extratos permaneceram em repouso à temperatura ambiente durante a noite, e a digestão foi realizada na manhã seguinte. Os tubos foram então hermeticamente selados e submetidos à digestão em micro-ondas (marca CEM, modelo Mars-5) a 175 °C, com pressão controlada de 0,76 MPa, durante 15 minutos. Após o resfriamento dos extratos à temperatura ambiente, adicionaram-se 5 mL de água deionizada, e os extratos foram transferidos para frascos de 30 mL e armazenados a 5 °C até a quantificação dos elementos.

A análise dos teores de macro e micronutrientes, framboeseira foi realizada utilizando espectroscopia de emissão óptica com plasma induzido acoplado (ICP-OES) para fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), boro (b), magnésio (Mg), enxofre (S), ferro (Fe), cobre (Cu), zinco (Zn) e manganês (Mn).

Os dados obtidos para cada variável foram submetidos à análise de variância ($p \leq 0,05$) e as médias foram comparadas usando o teste de Duncan ($p \leq 0,05$). As análises estatísticas foram realizadas na linguagem de programação R (R Core Team, 2022), versão 4.0.3.

3 RESULTADOS

Com relação às características físicas dos frutos de amoreira-preta (Tabela 3), observou-se variação significativa entre os tratamentos e os tempos de colheita. Os parâmetros de comprimento, diâmetro e massa fresca apresentaram tendência de redução ao longo do tempo, sendo que o tratamento CIS + KIO_3 aos 40 DAP, resultou nos maiores valores de comprimento (31,2 mm), diâmetro (25,3 mm) e massa fresca (10,1 g). Em comparação, o tratamento CON obteve 30,1 mm, 23,8 mm e 8,9 g, respectivamente, indicando ganhos de até 13,5% em massa fresca.

O pH dos frutos (Tabela 3), não variou significativamente entre os tratamentos e épocas de colheita. Por outro lado, a acidez titulável (AT), apresentou diferenças, aos 73 DAP, o tratamento COS obteve maior valor de acidez, enquanto o tratamento CON e SS obtiverem os menores valores.

Em relação ao teor de sólidos solúveis (Tabela 3), os maiores valores foram observados aos 54 DAP nos tratamentos CIS + KIO_3 , COS e SS + KIO_3 , já o CON obteve resultado inferior aos demais. A relação SS/AT, indicadora do equilíbrio entre acidez e doçura, observa-se que o tratamento SS aos 54 DAP que obteve maior média, já o CON obteve o pior resultado.

Quanto à umidade dos frutos (Tabela 3), o tratamento COS aos 73 DAA resultou no maior teor, comparado do CON, o que pode contribuir para uma maior suculência e aceitação do fruto ao natural.

Tabela 3. Tamanho do fruto (comprimento, diâmetro e massa fresca), pH, acidez titulável total (ATT), sólidos solúveis totais (SST), ratio SST/ATT e umidade para os frutos de amora-preta em condições subtropicais, após 40, 54 e 73 dias após a aplicação dos tratamentos.

Tratamentos	Comprimento ¹ (mm)			Diâmetro ¹ (mm)		
	40	54	73	40	54	73
CON	30,1 Aa	26,4 Ab	19,6 Cc	23,8 Aa	22,4 Aa	17,4 Bb
SS	29,9 Aa	26,2 Ab	22,0 Bc	24,2 Aa	21,9 Ab	19,5 Ac
COS	30,4 Aa	25,6 Ab	22,2 Ac	23,9 Aa	21,6 Ab	20,1 Ac
CIS	29,5 Aa	26,8 Ab	23,2 Ac	24,5 Aa	22,0 Ab	20,1 Ac
SS + KIO ₃	29,5 Aa	26,1 Ab	23,5 Ac	23,9 Aa	22,6 Aa	20,5 Ac
COS + KIO ₃	28,4 Aa	26,8 Ab	25,1Aa	24,1 Aa	23,3 Aa	21,2 Ab
CIS+ KIO ₃	31,2 Aa	26,6 Ab	24,7 Ab	25,3 Aa	21,7 Ab	19,7 Ac
CV (%)	6,45			4,28		
Tratamentos	Massa Fresca ¹ (g)			pH		
	40	54	73	40	54	73
CON	8,9 Aa	8,5 Aa	5,8 Ab	3,0 Aa	3,0 Aa	3,4 Aa
SS	9,0 Aa	8,7 Aa	6,9 Ab	3,0 Aa	3,3 Aa	3,3 Aa
COS	8,8 Aa	8,7 Aa	6,5 Ab	3,0 Aa	3,4 Aa	3,3 Aa
CIS	8,7 Aa	9,1 Aa	6,7 Ab	3,0 Aa	3,3 Aa	3,3 Aa
SS + KIO ₃	8,9 Aa	8,5 Aa	7,7 Ab	3,0 Aa	3,3 Aa	3,3 Aa
COS + KIO ₃	8,7 Aa	9,1 Aa	7,5 Ab	3,0 Aa	3,4 Aa	3,3 Aa
CIS+ KIO ₃	10,1 Aa	8,7 Aa	7,0 Ab	3,0 Aa	3,4 Aa	3,2 Aa
CV (%)	10,01			1,39		
Tratamentos	AT Ácido cítrico g (100 FW) g ⁻¹			SS ¹ °Brix		
	40	54	73	40	54	73
CON	1,3 Ba	1,2 Aa	1,2 Ba	5,5 Aa	5,7 Ca	6,1 Aa
SS	1,8 Aa	1,0 Ac	1,2 Bb	5,6 Ab	6,6 Ba	5,1 Ab
COS	1,8 Aa	1,2 Ac	2,2 Ab	5,6 Ab	7,2 Aa	5,2 Ab
CIS	1,8 Aa	1,2 Ab	1,2 Bb	5,5 Ab	7,2 Aa	5,3 Ab
SS + KIO ₃	1,7 Aa	1,1 Ac	1,4 Ab	5,7 Ab	7,2 Aa	5,3 Ab
COS + KIO ₃	1,7 Aa	1,1 Ab	1,5 Aa	5,3 Ab	6,7 Ba	5,4 Aa
CIS+ KIO ₃	1,7 Aa	1,1Aa	1,5 Ab	5,6 Ab	7,3 Aa	5,5 Ab
CV (%)	11,74			8,34		
Tratamentos	SS/AT ¹			Umidade %		
	40	54	73	40	54	73
CON	4,1 Aa	4,7 Ca	4,9 Aa	92,3 Ba	93,7 Aa	93,9 Aa
SS	3,1 Ac	6,8 Aa	4,4 Ab	92,4 Ba	92,2 Aa	95,0 Aa
COS	3,2 Ab	5,9 Ba	2,9 Bb	93,9 Aa	90,4 Ab	96,3 Aa
CIS	3,1 Ac	6,0 Ba	4,5 Ab	92,6 Ba	94,0 Aa	93,0 Ba
SS + KIO ₃	3,3 Ab	6,8 Aa	3,9 Bb	95,7 Aa	93,1 Aa	94,6 Aa
COS + KIO ₃	3,2 Ab	5,9 Ba	3,6 Bb	95,9 Aa	93,5 Aa	90,7 Bb
CIS+ KIO ₃	3,2 Ab	6,6 Aa	3,8 Bb	91,1 Ba	92,8 Aa	91,6 Ba

CV (%)	13,34	2,22
¹ Média de 15 frutos; COS – Se orgânico comercial; CIS – Se inorgânico comercial; FW – peso fresco. As médias seguidas da mesma letra maiúscula para tempo de colheita e da mesma letra minúscula para tratamentos não diferem estatisticamente pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.		

A análise individual dos parâmetros de cor, ácido ascórbico e compostos fenólicos totais mostra que o tratamento com selênio orgânico (COS), isoladamente ou em combinação com iodo (COS + KIO₃), proporcionou os melhores resultados aos 73 dias após a aplicação (DAP) (Figura 1).

A aplicação de Se e I influenciou os atributos de cor dos frutos (Figura 1. A - C). Os frutos tratados com COS apresentaram os maiores valores de a^* , indicando coloração vermelha mais intensa, enquanto COS + KIO₃ e SS + KIO₃ proporcionaram os maiores valores de L^* e b^* , refletindo frutos mais claros e com tonalidade amarelada mais desenvolvida, características associadas ao avanço da maturação.

Os teores de ácido ascórbico e compostos fenólicos totais tiveram um aumento nos tratamentos com Se orgânico (COS), tanto isoladamente quanto combinado com iodo (KIO₃), especialmente aos 73 dias após aplicação (Figura 1. D). O tratamento COS isolado foi o tratamento mais eficiente, atingindo os maiores teores de vitamina C e fenólicos totais (Fast Blue e Folin Cicalteau), enquanto o controle apresentou os menores valores e pouca variação com o tempo (Figura 1. D – F).

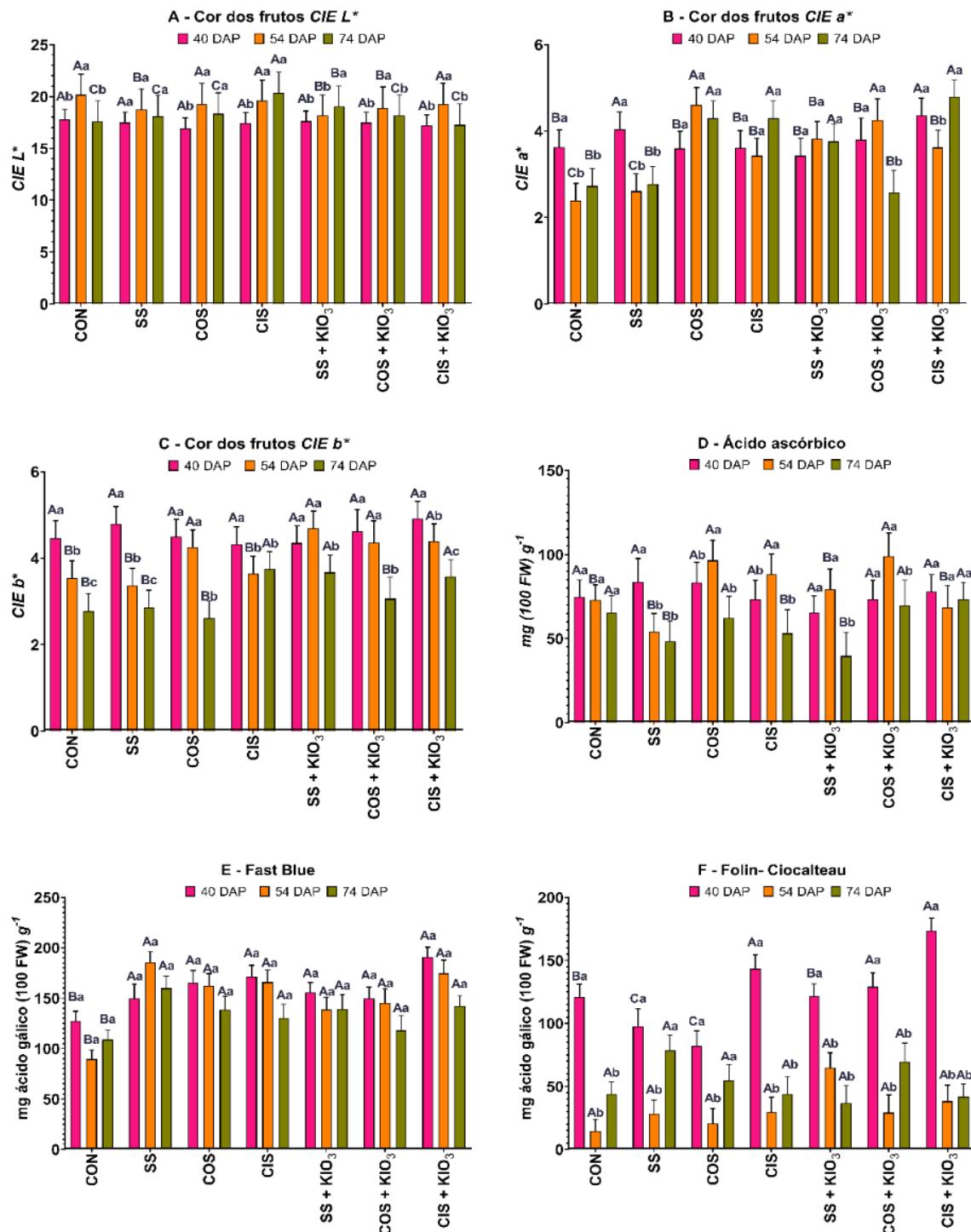


Figura 1. Cor dos frutos CIE (L*, a*, b*), ácido ascórbico e compostos fenólicos totais pelo método Fast Blue e Folin-Ciocalteu para os frutos de amora-preta cultivados em região subtropical, após 40, 54 e 73 dias após a aplicação dos tratamentos. As médias seguidas da mesma letra maiúscula para tempo de colheita e da mesma letra minúscula para tratamentos

não diferem estatisticamente pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade. COS – Se orgânico comercial; CIS – Se inorgânico comercial; FW – peso fresco.

Os teores de antocianinas, carotenoides totais e atividade antioxidante (Figura 2), foram influenciados pelos tratamentos e pela época de colheita.

O tratamento COS + KIO₃ aos 54 DAP destacou-se com o maior conteúdo de antocianinas, seguido por CIS + KIO₃, ambos superiores ao CON, representando incrementos superiores a 50%.

Os teores de carotenoides totais e de β -caroteno foi maior no tratamento COS + KIO₃ aos 54 DAP, demonstrando que a combinação entre Se e I pode potencializar a síntese desses pigmentos lipossolúveis (Figura 2. B e E).

Quanto à capacidade antioxidante, o tratamento COS aos 40 DAP apresentou a maior atividade no método DPPH, enquanto o COS + KIO₃ aos 73 DAP apresentou os melhores resultados no método fósforo-molibdênio, sugerindo que diferentes formas de aplicação de Se influenciam de modo específico os mecanismos antioxidantes (Figura 2). Em contrapartida, o tratamento controle (sem aplicação de Se e I) manteve os menores valores em todos os parâmetros, com variação limitada ao longo do tempo.

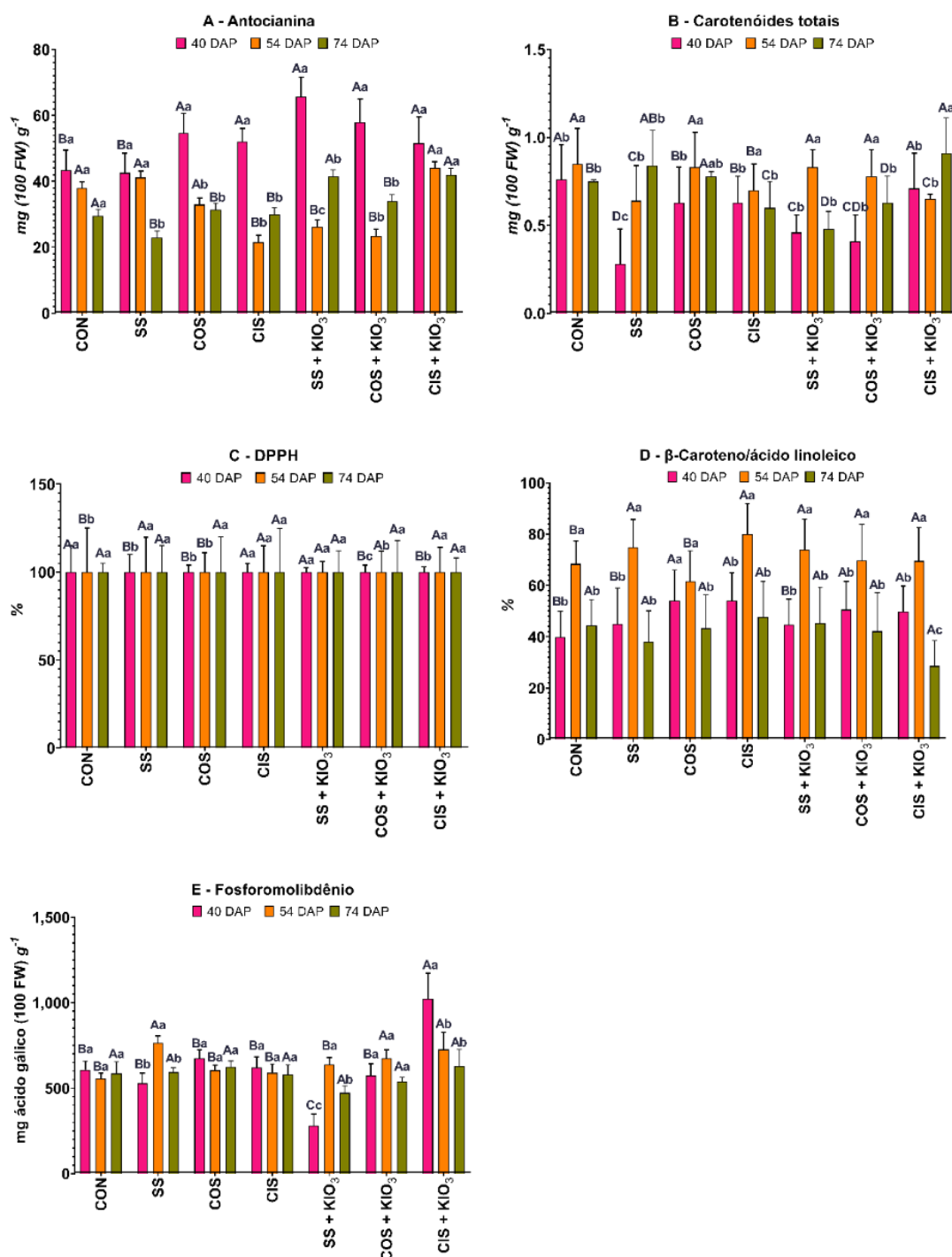


Figura 2. Teor de antocianinas, e atividade antioxidante pelo método DPPH e método β-Caroteno/ácido linoleico para os frutos de amora-preta cultivados em região subtropical, após 40, 54 e 73 dias após a aplicação dos tratamentos. As médias seguidas da mesma letra minúscula para tratamentos não diferem estatisticamente pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

Com relação ao conteúdo de macro e micronutriente dos frutos (Figura 3), observa-se que houve variação em alguns teores em função dos tratamentos. Para o nutriente Boro (Figura

3. A), houve diferença significativa entre tratamentos e entre tempos de coleta. O maior teor foi observado no tratamento KIO_3 aos 54 DAP, seguido por $\text{COS} + \text{KIO}_3$, indicando efeito positivo da aplicação de iodo, isolado ou em combinação. O menor teor foi verificado no tratamento controle aos 40 DAP, mostrando que a ausência de aplicação reduziu a disponibilidade de B no fruto. Já em relação aos teores de cálcio (Figura 3. B), também apresentaram variações significativas. O maior valor foi observado com o tratamento $\text{KIO}_3 + \text{Na}_2\text{SeO}_4$ em 54 DAP, evidenciando sinergismo entre iodo e selênio. O menor teor de Ca foi encontrado no tratamento com Na_2SeO_4 em 40 DAP, demonstrando que a aplicação isolada de selênio não favoreceu o acúmulo deste nutriente nos frutos.

Não houve diferença estatística significativa entre os tratamentos nem entre os tempos de coleta para o teor de cobre (Figura 3. C). Os valores permaneceram estáveis ao longo das aplicações, indicando que os tratamentos com Se, I ou suas combinações não influenciaram a concentração de Cu nos frutos.

Em relação aos teores de ferro dos frutos (Figura 3. D), o maior valor foi observado no tratamento KIO_3 em 54 DAP, demonstrando o efeito do iodo na absorção e translocação de Fe.

Os teores de potássio diferiram significativamente entre tratamentos e tempos (Figura 3. E). Maiores médias foram registradas no tratamento $\text{COS} + \text{KIO}_3$ em 54 DAP, seguido pelo tratamento KIO_3 , ambos refletindo o efeito positivo do iodo no transporte de K. O menor teor foi observado no CON em 40 DAP, evidenciando o efeito limitado da ausência de fertilização complementar.

O magnésio também apresentou diferença significativa (Figura 3.F), sendo o tratamento $\text{COS} + \text{KIO}_3$ em 54 DAP apresentou resultado superior aos demais, já o tratamento Na_2SeO_4 aos 54 DAP obteve menor média. Não houve diferença estatística para o manganês (Figura 3. G). Com relação ao teor de fósforo, o maior valor foi no tratamento Na_2SeO_4 aos 54 DAP, já a menor média foi aos 40 DAP no tratamento CON (Figura 3. H). Não houve diferença estatística nos teores de enxofre e zinco (Figura 3. I – J).

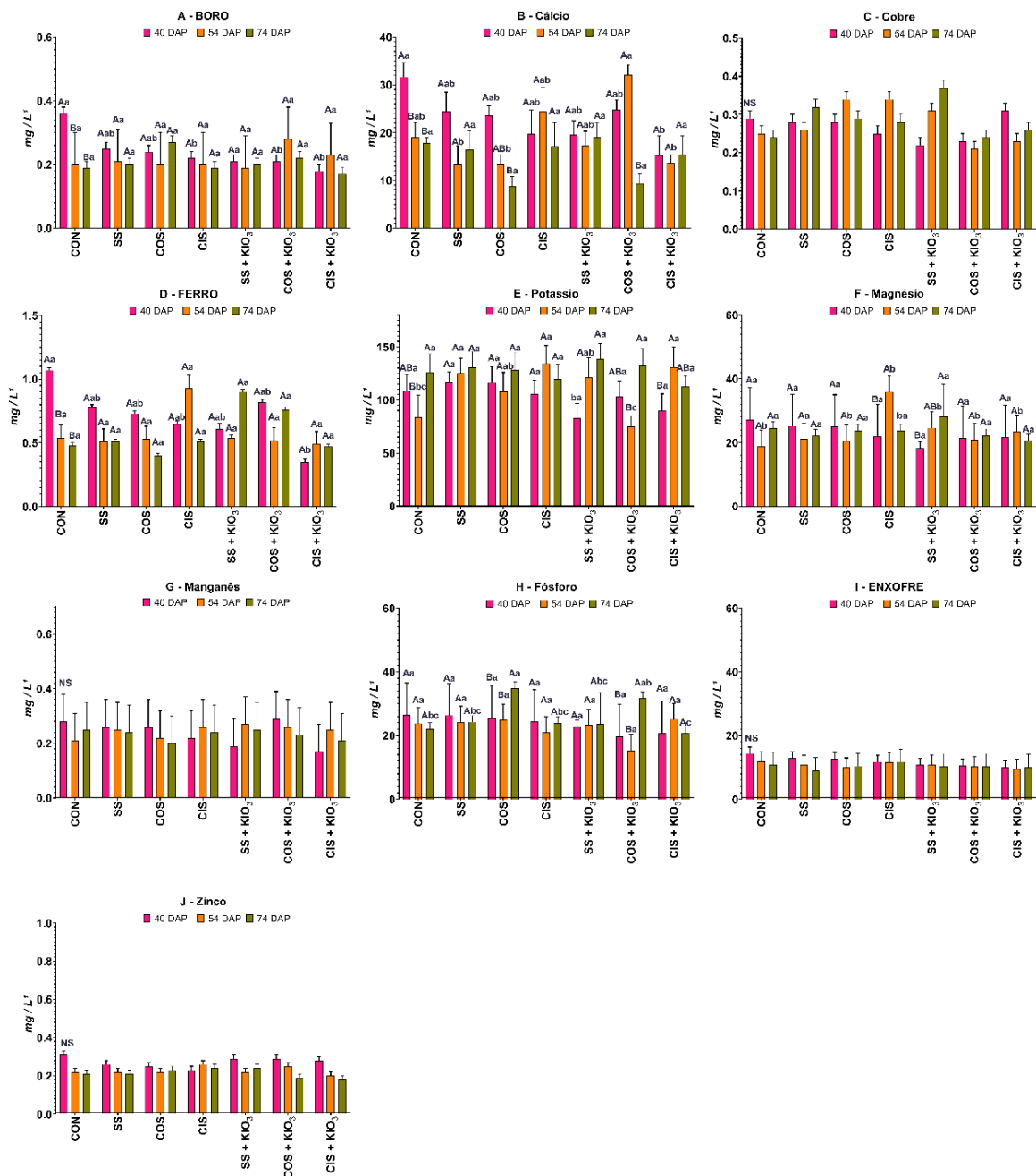


Figura 3. Conteúdo de macro e micronutrientes em frutos da amora-preta cultivados em região subtropical, após 40, 54 e 73 dias após a aplicação dos tratamentos. Legenda: CON: controle; SS: selenato de sódio; COS: comercial Se orgânico; CIS: comercial Se inorgânico com fertilizantes multi-nutriente; SS + KIO₃: selenato de sódio + iodato de potássio; COS + KIO₃: comercial Se orgânico + iodato de potássio; CIS + KIO₃: Comercial Se inorgânico com fertilizante multi-nutriente + iodato de potássio.

5 DISCUSSÃO

Segundo a literatura, frutos de amora-preta apresentam comprimento médio de 24,0 mm, diâmetro de 21,4 mm e massa fresca entre 6,5 g e 8,9 g (Martins *et al.*, 2019). No presente estudo, observou-se incremento desses parâmetros, sugerindo efeito positivo dos tratamentos aplicados. Resultados similares foram reportados por Barros *et al.* (2023), ao avaliarem o manejo de poda em amoreiras para prolongar a sazonalidade da colheita. Contudo, os valores de acidez titulável (AT), sólidos solúveis (SS) e a relação SS/AT obtidos por esses autores foram superiores aos observados neste trabalho.

Uma hipótese para essas diferenças pode estar relacionada aos efeitos fisiológicos e sinérgicos do Se e I aplicados via foliar, associados à interação com condições ambientais locais (Köhrle, 2023). Ambos os micronutrientes podem modular o metabolismo de açúcares e favorecer a translocação de assimilados, contribuindo para o acúmulo de biomassa e qualidade dos frutos (Behera *et al.*, 2025). Em baixas concentrações, o Se atua como promotor do crescimento vegetal ao estimular a atividade enzimática e interagir positivamente com nutrientes como K^+ e I^- (Lima *et al.*, 2023).

Ao longo das colheitas, observou-se redução no tamanho dos frutos em todos os tratamentos, possivelmente devido à senescência natural, diminuição do efeito dos tratamentos e alterações nas condições climáticas (Mauxion *et al.*, 2021). Dados meteorológicos (Figura 1) indicam redução das precipitações e aumento da radiação solar após a aplicação, fatores que podem acelerar a respiração e promover perdas de massa fresca e açúcares, principalmente sob estresse abiótico em regiões de altitude (Fischer *et al.*, 2022; Bacelar *et al.*, 2024).

O pH dos frutos manteve-se estável, refletindo o perfil ácido característico da amora-preta, enquanto a AT apresentou variação, especialmente com o uso de Se orgânico (Santos *et al.*, 2019). Esse micronutriente pode induzir o acúmulo de ácidos orgânicos como mecanismo de resposta antioxidante dos frutos (Lin *et al.*, 2024).

Os SS mostraram comportamento dependente do tempo e dos tratamentos. A aplicação de Se e I pode ter promovido o acúmulo de carboidratos solúveis ao estimular a fotossíntese e a atividade da sacarose sintase, facilitando o transporte de açúcares para os frutos (Kang *et al.*, 2024). A redução de SS na última colheita pode estar relacionada à diluição dos açúcares por maior teor de umidade ou à intensificação da respiração nas fases finais da maturação (Scalisi; O'Connell, 2021).

Tratamentos com COS aos 73 DAP apresentaram os maiores teores de umidade (até 96,3%), possivelmente devido ao efeito osmoprotetores do Se orgânico, que contribui para a

integridade das membranas e reduz a perda de água (Thakur *et al.*, 2025). Esse mesmo tratamento favoreceu o acúmulo de ácido ascórbico, possivelmente por estimular enzimas da rota biossintética (*L-galactose desidrogenase*) e reduzir a oxidação da vitamina C por meio da regulação do sistema antioxidante endógeno (Lu *et al.*, 2022).

Quanto aos compostos fenólicos, os métodos Folin-Ciocalteu e Fast Blue indicaram incremento nos teores com aplicação de COS e COS + KIO₃. O Se orgânico pode modular o estresse oxidativo, ativando vias como a fenilpropanóide, o que favorece a síntese de fenóis e flavonoides (Yaqoob *et al.*, 2022; Yu *et al.*, 2023). A presença do I pode reforçar esse efeito como agente estressor abiótico (Riyazuddin *et al.*, 2023).

A coloração dos frutos e os teores de antocianinas também aumentaram com a aplicação de fontes dos elementos Se e I, especialmente em tratamentos com Se. Isso pode estar associado à indução da atividade da enzima fenilalanina amônia-liase (PAL), essencial na via biossintética de antocianinas, bem como à atuação do Se como regulador redox (Thakur *et al.*, 2025).

Para carotenoides totais a análise do antioxidante β -caroteno, os maiores teores foram obtidos com a aplicação de COS + KIO₃ aos 54 DAP. Esses nutrientes podem favorecer a síntese de carotenoides ao preservar a integridade de membranas e estimular o metabolismo dos isoprenóides, rota precursora dos pigmentos lipofílicos (Duborská *et al.*, 2022).

A atividade antioxidante, avaliada pelos métodos DPPH e β -caroteno/ácido linoleico, também foi influenciada pelos tratamentos com Se e I. Isso reflete tanto a presença de compostos com atividade antioxidante como antocianinas, carotenoides e ácido ascórbico quanto a atuação do Se como cofator da enzima glutationala peroxidase (GPx), que reduz espécies reativas de oxigênio (ERO), sendo o I também envolvido em mecanismos de defesa celular (Lima *et al.*, 2023; Pei *et al.*, 2023).

Os efeitos mais expressivos foram observados aos 54 DAP, possivelmente devido à combinação entre o estágio fisiológico dos frutos e as condições edafoclimáticas da Serra da Mantiqueira, como, aumento da radiação solar e temperaturas amenas, que favorecem o acúmulo de compostos bioativos em frutíferas de clima temperado (Medda *et al.*, 2022).

Além dos atributos de qualidade, observou-se aumento nos teores de diversos nutrientes com os tratamentos. O KIO₃ favoreceu o acúmulo de B, Fe e K, enquanto a combinação com Se aumentou os teores de Ca e Mg, possivelmente por ação na estabilização de membranas e indução de genes transportadores (Li *et al.*, 2024). O Se inorgânico elevou os teores de P, possivelmente ao estimular rotas metabólicas dependentes de fósforo e a atividade de fosfatases ácidas (Skrypnik *et al.*, 2022). Não foram observadas diferenças para Cu, Mn e S, o que pode

ser explicado pela baixa mobilidade desses nutrientes via foliar, alta estabilidade no solo ou menor demanda nos frutos (Rather *et al.*, 2025).

5 CONCLUSÃO

- I. A aplicação foliar de Se e I aumentam os teores de SS e relação entre SS/AT dos frutos de amora-preta, como também nos teores minerais de B, Ca, Fe, K, Mg e P.
- II. O tratamento composto por CIS + KIO₃ aos 40 DAP proporciona melhor desempenho físico-químico.
- III. O tratamento COS isolado e COS + KIO₃ eleva os teores de ácido ascórbico, compostos fenólicos e intensidade de coloração dos frutos.
- IV. O tratamento COS + KIO₃ aos 54 DAP promove maiores teores de antocianinas e carotenoides totais.
- V. Houve aumento na atividade antioxidante com aplicação dos tratamentos COS no método de DPPH e COS + KIO₃ no método de fosforomolibdênio, indicando estímulo a diferentes mecanismos antioxidantes.

REFERÊNCIAS

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY. **Official methods of analysis**. 21. ed. Gaithersburg: AOAC, 2019.

BACELAR, Eunice et al. Impacts of climate change and mitigation strategies for some abiotic and biotic constraints influencing fruit growth and quality. **Plants**, v. 13, n. 14, p. 1942, 2024.

BARCIA, M. T.; PERTUZATTI, P. B.; JACQUES, A. C.; GODOY, H. T.; ZAMBIARI, R. Bioactive Compounds, Antioxidant Activity and Percent Composition of Jambolão Fruits (*Syzygium cumini*). **The Natural Products Journal, Shariah**, v. 2, n.2, p. 129-138, 2012.

BARROS, G. L. D.; PIO, R.; RIBEIRO, C. H. M.; FAZENDA, L. H. V.; SILVA, A. D. D.; PECHE, P. M. Management of blackberry pruning to extend harvest seasonality. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 58, p. e03197, 2023.

BEHERA, S. R. et al. Agronomic Biofortification of Vegetable Crops with Selenium and Iodine: A Review. **Journal of Advances in Biology & Biotechnology**, v. 28, n. 2, p. 972–986, 3 mar. 2025.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.; BERSET, C. L. W. T. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT-Food science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.

CHEEMA, U.; ZAIDI, M. Enhancing Canadian Blackberries Production in New Brunswick through Climate-Smart Agriculture. **International Journal of Agriculture Innovations and Cutting-Edge Research (HEC Recognised)**, v. 2, n. 1, p. 18-24, 2024.

DHALIWAL, S. S. et al. Biofortification—A frontier novel approach to enrich micronutrients in field crops to encounter the nutritional security. **Molecules**, v. 27, n. 4, p. 1340, 2022.

DOS SANTOS, H. G. et al. **Proposta de atualização da segunda edição do Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 2009.

DUBORSKÁ, E. et al. Current strategies for selenium and iodine biofortification in crop plants. **Nutrients**, v. 14, n. 22, p. 4717, 2022.

FISCHER, G.; PARRA-CORONADO, A.; BALAGUERA-LÓPEZ, H. E. Altitude as a determinant of fruit quality with emphasis on the Andean tropics of Colombia. A review. **Agromía Colombiana**, v. 40, n. 2, p. 212-227, 2022.

HATCH-MCCHESENEY, A.; LIEBERMAN, H. R. Iodine and iodine deficiency: a comprehensive review of a re-emerging issue. **Nutrients**, v. 14, n. 17, p. 3474, 2022.

INMET. **Normais Climatológicas do Brasil**. Disponível: <<https://portal.inmet.gov.br/normais>>. Acesso em: 14 mai. 2025.

JAIN, S. et al. Edible Berries-An Update on Nutritional Composition and Health Benefits-Part I. **Current Nutrition Reports**, v. 14, n. 1, p. 7, 2025.

JAISWAL, D. K. et al. Bio-fortification of minerals in crops: current scenario and future prospects for sustainable agriculture and human health. **Plant Growth Regulation**, v. 98, n. 1, p. 5-22, 2022.

KANG, L. et al. Selenium Nanoparticle and Melatonin Treatments Improve Melon Seedling Growth by Regulating Carbohydrate and Polyamine. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 25, n. 14, p. 7830, 2024.

KÖHRLE, J. Selenium, iodine and iron—essential trace elements for thyroid hormone synthesis and metabolism. **International journal of molecular sciences**, v. 24, n. 4, p. 3393, 2023.

LEE, D. H.; FRANCIS, F. J. Standardization of Pigment Analyses in Cranberries. **HortScience**, Stanford, v. 7, n. 1, p. 83-84, 1972.

LI, L. et al. Transcriptome analysis of high-and low-selenium genotypes identifies genes responsible for selenium absorption, translocation, and accumulation. **Frontiers in Plant Science**, v. 15, p. 1413549, 2024.

LIMA, J. S. et al. Soybean plants exposed to low concentrations of potassium iodide have better tolerance to water deficit through the antioxidant enzymatic system and photosynthesis modulation. **Plants**, v. 12, n. 13, p. 2555, 2023.

LIN, Y. et al. Foliar application of sodium selenite affects the growth, antioxidant system, and fruit quality of strawberry. **Frontiers in Plant Science**, v.15, p.1449157, 2024.

LU, N. et al. Selenium improves the content of vitamin C in the fruit of strawberry by regulating the enzymes responsible for vitamin C metabolism. **Plant, Soil & Environment**, v. 68, n. 4, 2022.

MAUXION, J..P.; CHEVALIER, C.; GONZALEZ, N. Complex cellular and molecular events determining fruit size. **Trends in Plant Science**, v. 26, n. 10, p. 1023-1038, 2021.

MEDDA, S.; FADDA, A.; MULAS, M. Influence of climate change on metabolism and biological characteristics in perennial woody fruit crops in the Mediterranean environment. **Horticulturae**, v. 8, n. 4, p. 273, 2022.

MEDINA, M. B. Determination of the total phenolics in juices and superfruits by a novel Chemical method. **Journal of Functional Foods**, v. 3, p. 79-87, 2011.

OZTEKIN, Y.; BUYUKTUNCER, Z. Agronomic Biofortification of Plants with Iodine and Selenium: A Potential Solution for Iodine and Selenium Deficiencies. **Biological Trace Element Research**, p. 1-12, 2024.

PARADISO, V. M. et al. Nutritional characterization and shelf-life of packaged microgreens. **Food & function**, v. 9, n. 11, p. 5629-5640, 2018.

PEI, J. et al. Research progress of glutathione peroxidase family (GPX) in redoxiation. **Frontiers in pharmacology**, v. 14, p. 1147414, 2023.

PIO, R.; GONÇALVES, E D. Cultivo da amoreira-preta. In: PIO, R. (Ed.). Dormência das Fruteiras de Clima Temperado. Lavras: **Editora Ufla**,. 183 p. 2018.

PRIETO P, PINEDA M, AGUILAR M. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. **Anal Biochem**, v. 269, p. 337-341, 1999.

R CORE TEAM. R: **A language and environment for statistical computing**. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2024. Disponível em: <<https://www.R-project.org/>>. Acesso em: 23 maio 2025.

RATHER, G. A.; MANHAS, A.; SHARMA, N. Mobility of Nutrients and Their Metabolism in Agriculture Crops. In: **Agricultural Biotechnology**. Apple Academic Press, 2025. p. 75-93.

RAY, S. et al. An unravelled potential of foliar application of micro and beneficial nutrients in cereals for ensuring food and nutritional security. **Int. J. Exp. Res. Rev**, v. 41, p. 19-42, 2024.

RIYAZUDDIN, R. et al. Iodine: an emerging biostimulant of growth and stress responses in plants. **Plant and Soil**, v. 486, n. 1, p. 119-133, 2023.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. A guide to carotenoid analysis in foods. Washington: **Internacional Life Sciences Institute Press**, p.64, 2001.

RUFINO, M. S. et al. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food chemistry**, v. 121, n. 4, p. 996-1002, 2010.

SANTOS, S. S. et al. Antioxidant compounds from blackberry (*Rubus fruticosus*) pomace: Microencapsulation by spray-dryer and pH stability evaluation. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 20, p. 100177, 2019.

SCALISI, A.; O'CONNELL, M. G. Relationships between soluble solids and dry matter in the flesh of stone fruit at harvest. **Analytica**, v. 2, n. 1, p. 14-24, 2021.

SKRYPNIK, L. et al. The integral boosting effect of selenium on the secondary metabolism of higher plants. **Plants**, v. 11, n. 24, p. 3432, 2022.

STROHECKER, R.; HENNING, H. M. Analisis de vitaminas: métodos comprobados. **Madrid: Paz Montalvo**, 1967. 428 p.

THAKUR, K. et al. Unveiling the role of nano-selenium in modulating growth and stress resilience of fruit crops under drought conditions. **Journal of Plant Nutrition**, p. 1-17, 2025.

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

WANG, J. et al. Fruit and vegetable consumption, cardiovascular disease, and all-cause mortality in China. **Science China Life Sciences**, v. 65, n. 1, p. 119-128, 2022.

WANG, K. et al. Unveiling the potential of selenium-enriched tea: Compositional profiles, physiological activities, and health benefits. **Trends in Food Science & Technology**, v. 145, p. 104356, 2024.

WÓJCIK, P. Effects of preharvest sprays of iodine, selenium and calcium on apple biofortification and their quality and storability. **PLoS One**, v. 18, n. 3, p. e0282873, 2023.

YAQOOB, U. et al. Crosstalk between brassinosteroid signaling, ROS signaling and phenylpropanoid pathway during abiotic stress in plants: Does it exist. **Plant Stress**, v. 4, n. 100075, p. 10.1016, 2022.

YILMAZ, H.; YILMAZ, A. Hidden hunger in the age of abundance: the nutritional pitfalls of modern staple crops. **Food Science & Nutrition**, v. 13, n. 2, p. e4610, 2025.

YU, H. et al. Improving red pitaya fruit quality by nano-selenium biofortification to enhance phenylpropanoid and betalain biosynthesis. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 267, p. 115653, 2023.

Agradecimentos: os autores agradecem Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e INCT Segurança Solo e Alimento (Processo 406577/2022-6), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (Processo 403040/2023-0).



**ARTIGO 3 – EFEITOS DO SELÊNIO E IODO NA ATIVAÇÃO ANTIOXIDANTE E
RECUPERAÇÃO FOTOSSINTÉTICA DE AMOREIRA-PRETA ‘TUPU’ SOB
ESTRESSE POR FRIO**

**EFFECTIS OF SELENIUM AND IODONE ON ANTIOXIDANT ACTIVATION AND
PHOTOSYNTHETIC RECOVERY OF ‘TUPY’ BLACKBERRY UNDER COLD
STRESS³**

Carlos Henrique Milagres Ribeiro
<https://orcid.org/0000-0003-0850-4070>

Everton Geraldo de Moraes
<https://orcid.org/0000-0001-6419-6282>

Juscelino de Sousa Lima
<https://orcid.org/0000-0003-0706-7657>

Tais Teixeira das Neves
<https://orcid.org/0000-0001-8166-966X>

Maila Adriely Silva
<https://orcid.org/0000-0002-1892-7600>

Antonio Chalfun-Júnior
<https://orcid.org/0000-0002-1794-9429>

Paulo Eduardo Marchiori
<https://orcid.org/0000-0001-9767-9336>

Luiz Roberto Guimarães
<https://orcid.org/0000-0002-5387-6028>

Rafael Pio
<https://orcid.org/0000-0003-3730-8191>

Resumo: O frio excessivo é um dos principais fatores limitantes ao desenvolvimento da amoreira-preta. Alguns estudos com outras espécies mostram que a aplicação de elementos benéficos como selênio (Se) e iodo (I) pode atenuar esse tipo de estresse. Neste contexto, este

³ Artigo científico apresentado à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, área de concentração em Produção Vegetal.

estudo teve como objetivo melhorar a tolerância ao frio de mudas da amoreira-preta por meio da aplicação foliar de Se e I. Foram utilizadas diferentes fontes de Se (sem Se, selenato de sódio e Se orgânico) e doses de I (0, 25 e 50 mg L⁻¹), aplicados isoladamente e em combinação, totalizando nove tratamentos. O Se nas fontes citadas foi aplicado na concentração de aplicando 75 mg L⁻¹. Uma semana após a aplicação foliar dos tratamentos, as mudas foram expostas a condições controladas de 26/–2 °C (dia/noite) por três dias. Durante e após a exposição, foram avaliadas atividades enzimáticas antioxidantes e o conteúdo de osmoprotetores. O estresse térmico reduziu a atividade fotossintética, provocou acúmulo de espécies reativas de oxigênio e prejudicou o metabolismo vegetal. No entanto, a aplicação conjunta de Se orgânico e I atenuou esses efeitos, promovendo maior atividade das enzimas antioxidantes (SOD, CAT, APX), acúmulo de osmoprotetores (prolina e açúcares solúveis) e melhor desempenho fotossintético. Os resultados indicam que a aplicação foliar com Se e I, especialmente quando o Se é aplicado na forma orgânica e combinada, é uma estratégia promissora para mitigar os efeitos do frio em amoreiras-pretas.

Palavras-chave: *Rubus* spp.; estresse oxidativo; sistema antioxidante enzimático; Osmoprotetores; elementos benéficos.

Abstract: Cold stress is one of the main limiting factors for the field establishment of blackberry seedlings; however, studies in other crops have shown that the application of beneficial elements such as selenium (Se) and iodine (I) can mitigate this type of stress. In this context, the objective of this study was to improve the cold tolerance of ‘Tupy’ cultivar seedlings through foliar application of Se and I. Different Se sources (no Se, sodium selenate, and organic Se) and I doses (0, 25, and 50 mg L⁻¹) were applied individually and in combination, totaling nine treatments. Se, from the aforementioned sources, was applied at a concentration of 75 mg L⁻¹. One week after foliar application, seedlings were exposed to controlled conditions of 26/–2 °C (day/night) for three days. During and after exposure, antioxidant enzyme activities and osmoprotectant content were evaluated. Thermal stress reduced photosynthetic activity, caused the accumulation of reactive oxygen species, and impaired plant metabolism. However, the combined application of organic Se and I alleviated these effects, promoting higher activity of antioxidant enzymes (SOD, CAT, APX), accumulation of osmoprotectants (proline and soluble sugars), and better photosynthetic performance. The results indicate that foliar application of Se and I, especially when Se is applied in its organic form and in combination, is a promising strategy to mitigate the effects of cold in blackberries.

Keywords: *Rubus* spp.; oxidative stress; enzymatic antioxidant system; osmoprotectants; beneficial elements.

1 INTRODUÇÃO

As mudanças climáticas decorrentes do aquecimento global têm intensificado a ocorrência de eventos extremos, como secas, enchentes e ondas de calor e frio, impondo sérios desafios à agricultura mundial (Yuan *et al.*, 2024). Entre os estresses abióticos, as baixas temperaturas destacam-se por afetarem diretamente o crescimento, metabolismo e produtividade das plantas, especialmente nas fases iniciais de desenvolvimento, quando os tecidos vegetais ainda são imaturos e mais suscetíveis às variações térmicas (Aslam *et al.*, 2022).

Durante o estresse por frio, ocorrem alterações fisiológicas e bioquímicas, como redução da fotossíntese, acúmulo de espécies reativas de oxigênio (ROS), danos às membranas celulares e inibição de enzimas metabólicas, resultando em menor crescimento, maior suscetibilidade a patógenos e perdas na produtividade agrícola (Qaderi *et al.*, 2023; Li *et al.*, 2024).

No caso da amoreira-preta (*Rubus* spp.), o estresse por frio em temperaturas abaixo de 15 °C em mudas jovens comprometem a formação radicular, inibem a brotações e podem causar necrose de tecidos meristemáticos (Moreno-Medina *et al.*, 2024). Em campo, geadas tardias e frios intensos afetam a floração, danificam gemas reprodutivas e reduzem a frutificação, comprometendo a viabilidade econômica do cultivo (Dickson *et al.*, 2023).

Estima-se que, em frutíferas de clima temperado, podem ocorrer perdas superiores a 50% do potencial produtivo que podem ser atribuídas ao estresse térmico, dependendo da intensidade e duração do evento (Łysiak *et al.*, 2023). Esse estresse promove acúmulo excessivo de ROS, com consequências como a peroxidação lipídica, degradação de proteínas, danos ao DNA e desestruturação das membranas celulares, levando à senescência precoce e à queda da qualidade dos frutos (Fernandez *et al.*, 2023; Roussos, 2024).

Nos últimos anos, o cultivo de pequenas frutas tem ganhado espaço em várias regiões, impulsionado por seu elevado valor agregado, uso agroindustrial e benefícios à saúde humana (Ladyzhenskaya *et al.*, 2023). As amoras-pretas destacam-se por serem ricas em compostos bioativos, como antocianinas, fenólicos, vitamina C e fibras, com propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e cardioprotetoras (Yavuz *et al.*, 2025). No entanto, cultivares como a ‘Tupy’ apresentam sensibilidade ao frio durante a fase de implantação, sendo o estresse térmico um fator limitante à expansão do cultivo em regiões com invernos rigorosos (Serrano-Vicente *et al.*, 2025).

O estresse pelo frio reduz a fotossíntese, dificulta a expansão foliar e provoca desidratação celular, gerando mudas menos vigorosas (Fernandez *et al.*, 2023; Roussos, 2024).

No metabolismo das plantas em condições de estresse pelo frio há uma intensificação do acúmulo de espécies reativas de oxigênio (ROS), como H_2O_2 , O_2^- e OH^- , comprometendo a integridade celular e ativando mecanismos de defesa antioxidante (Salama *et al.*, 2021). Isso leva à redução da eficiência fisiológica e ao aumento da taxa de mortalidade de plantas (Medda *et al.*, 2023).

Nesse contexto, estratégias agronômicas que promovam a tolerância das plantas ao frio vêm sendo estudadas. A aplicação exógena de elementos benéficos as plantas como selênio (Se) e iodo (I) destaca-se pelo potencial de modular respostas antioxidantes e osmoprotetoras (Quispe *et al.*, 2025). O Se participa da regulação do sistema redox ao ativar enzimas como SOD, CAT e APX, além de induzir a síntese de compostos fenólicos e selenoproteínas (Khan *et al.*, 2023). O I, por sua vez, tem demonstrado efeitos benéficos no metabolismo secundário, fotoproteção e tolerância a estresses salino, hídrico e térmico (Riyazuddin *et al.*, 2023; Quispe *et al.*, 2025).

A aplicação combinada de Se e I pode atuar de forma sinérgica, promovendo maior ativação do sistema antioxidante e maior estabilidade estrutural das membranas, contribuindo para mitigar os efeitos do estresse abiótico (Duborská *et al.*, 2022; Quispe *et al.*, 2025). Em concentrações adequadas, esses elementos funcionam como bioestimulantes, melhorando a eficiência fotossintética e aumentando a tolerância das plantas ao estresse oxidativo (Golubkina *et al.*, 2021).

Compreender os efeitos isolados e combinados do Se e I em mudas de amora-preta submetidas ao frio é essencial para o desenvolvimento de estratégias eficazes de mitigação térmica, especialmente durante o transplântio. Este estudo reúne evidências recentes sobre os mecanismos fisiológicos e bioquímicos associados à aplicação desses elementos, com ênfase nos efeitos sinérgicos e isolados. Nossa hipótese é que o fornecimento exógeno de Se e I, individualmente ou em combinação, possa atenuar os danos provocados pelo frio por meio da ativação de enzimas antioxidantes e acúmulo de osmoprotetores.

Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos de diferentes doses de Se e I em mudas de amora-preta expostas a temperaturas de $-2\text{ }^\circ\text{C}$, com foco nas respostas bioquímicas associadas à defesa antioxidante (SOD, APX, CAT e POD), bem como na produção de osmoprotetores como prolina, proteínas solúveis totais (TSP), aminoácidos livres totais (TFAA), sacarose e açúcares redutores (RS), visando à mitigação do estresse abiótico induzido pelo frio.

2 METODOLOGIA

O experimento foi realizado em casa de vegetação do Departamento de Ciência do Solo da Universidade Federal de Lavras (UFLA), localizado no município de Lavras – MG, Brasil. O local situa-se a uma altitude de 918 m, nas coordenadas 21° 75' de latitude Sul e 45° 00' de longitude Oeste. De acordo com a classificação de Köppen (Geiger et al., 1936), o clima da região é do tipo Cwb, temperado suave (mesotérmico) ou tropical de altitude, caracterizando com invernos secos e verões chuvosos, com temperatura média diurna de 25°C e noturna de 15°C, com umidade relativa de 57% de umidade.

Foram utilizadas plantas da cultivar de amoreira-preta 'BRS Tupy', obtidas por propagação via estacas radiculares, conforme a metodologia descrita por Pio e Gonçalves (2018). As mudas apresentavam altura média de $25,0 \pm 0,5$ cm, 8 a 10 folhas totalmente expandidas e diâmetro de caule de $3,0 \pm 0,1$ mm. As mudas foram mantidas em sacos plásticos para mudas com capacidade de 2,5 L, contendo substrato comercial à base de casca de pinus, enriquecido com fertilizante de liberação lenta (Basacot®, 9 meses), na dose de 4g por recipiente. A irrigação foi realizada diariamente, de forma a manter o substrato na capacidade de campo, evitando déficit ou excesso hídrico. Condições semelhantes às recomendadas para a aclimatização de mudas destinadas ao campo.

Para aplicação dos tratamentos, as plantas foram acondicionadas para a câmara de pulverização, a fim de evitar a contaminação durante a aplicação. Foram utilizadas diferentes fontes de Se e doses de I de 0, 25 e 50 mg L⁻¹, combinados com óleo mineral a 0,20% v/v. Os tratamentos foram aplicados isoladamente ou em combinação, conforme apresentado na Tabela 1. O estudo foi realizado em delineamento inteiramente casualizado com 3 repetições.

Table 1. Descrição dos tratamentos utilizados em mudas de amora-preta.

Tratamento	Se	I
	mg L ⁻¹	
T1	-	-
T2	-	25
T3	-	50
T4	Selenato de sódio	0
T5	Selenato de sódio	25
T6	Selenato de sódio	50
T7	Se orgânico	0
T8	Se orgânico	25
T9	Se orgânico	50

As fontes utilizadas foram: Na_2SeO_4 (selenato de sódio, grau de reagente, Sigma-Aldrich) como Se inorgânico; e fertilizante mineral simples em solução contendo Se a 5% (com aminoácidos, conservante e água) como Se orgânico. A concentração de Se, tanto na forma inorgânica quanto orgânica, foi padronizada em 75 mg L^{-1} . O iodato de potássio (KIO_3 , grau de reagente, Synth) foi utilizado como fonte de I, sendo testadas diferentes concentrações de iodo (Tabela 1).

Uma semana após a aplicação foliar, as plantas foram transferidas para câmaras de crescimento (modelo Conviron PGC Flex-1, Canadá), e mantidas por três dias sob as seguintes condições controladas: temperatura diurna de 26°C (fotoperíodo de 12 h, umidade relativa de 65%, intensidade luminosa de $260 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e temperatura noturna de -2°C , com umidade relativa de 80%.

Durante (último dia do estresse) e após o estresse térmico, foram realizadas as seguintes análises bioquímicas para a avaliação dos efeitos dos tratamentos com Se e I. Para avaliar o efeito mitigador do Se e I sobre o estresse por frio, as plantas foram transferidas de volta para a casa de vegetação após o período de estresse, permanecendo por 24 horas em recuperação. Para avaliar as duas condições citadas (durante e após o estresse), foi selecionado dois conjuntos de plantas para cada tratamento e repetições feitas, por se tratar de uma análise com coletas destrutivas das folhas.

Tanto durante o estresse quando após o estresse, nas folhas das plantas foi realizado análises da fotossíntese utilizando um analisador de gases por infravermelho (IRGA-LICOR 6400, LiCOR, Lincoln, Nebraska, USA). Após essas análises no IRGA, as amostras foliares foram coletadas, congeladas em nitrogênio líquido, maceradas individualmente sob nitrogênio líquido e armazenadas a -80°C . Essas amostras foram utilizadas para quantificar parâmetros osmoprotetores, incluindo: sacarose, prolina, aminoácidos livres totais (TFAA), açúcares redutores (RS) e proteínas solúveis totais (TSP). Além disso, foi realizada a determinação da atividade antioxidante enzimática (SOD, APX, CAT e peroxidase - POD), do teor de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e da peroxidação lipídica, esta última estimada pelo conteúdo de malondialdeído (MDA). Os métodos bioquímicos utilizados são descritos a seguir.

- Avaliação de compostos osmoprotetores e bioquímicos: A quantificação dos compostos osmoprotetores foi realizada a partir de $0,05 \text{ g}$ de tecido foliar, homogeneizado em tampão fosfato de potássio 100 mmol L^{-1} (pH 7,0), conforme metodologia adaptada de Zanandrea *et al.* (2009). A mistura foi incubada a 40°C por 30 minutos em banho-maria, centrifugada a $5000\times g$ por 10 minutos, e o sobrenadante foi coletado. Esse procedimento foi repetido duas vezes, combinando-se os extratos obtidos. O teor de sacarose e açúcares solúveis totais (SST)

foi determinado pelo método da antrona (Dische, 1962), enquanto os açúcares redutores (RS) foram quantificados pelo método do ácido 3,5-dinitrossalicílico (DNS), descrito por Miller (1959). Os aminoácidos livres totais (TFAA) foram determinados por reação com ninidrina (Yemm *et al.*, 1955) e as proteínas solúveis totais (TSP) foram avaliadas de acordo com o método colorimétrico de Bradford (1976), utilizando curva padrão de albumina bovina (BSA) e leitura em 595 nm. A concentração de prolina livre foi obtida conforme metodologia proposta por Bates *et al.* (1973), utilizando extração com ácido sulfossalicílico a 3%, seguido de incubação em banho-maria a 100 °C por 60 minutos. Após resfriamento das amostras em gelo, o sobrenadante foi analisado espectrofotômetro de microplacas a 520 nm, com base em curva de calibração de prolina analítica.

- Análises enzimáticas antioxidantes: As enzimas antioxidantes foram extraídas de 0,05 g de tecido foliar recém-macerado em nitrogênio líquido, utilizando 1,5 mL de tampão fosfato de potássio 0,1 mol L⁻¹ (pH 7,8), suplementado com 0,01 mol L⁻¹ de ácido ascórbico e 0,1 mol L⁻¹ de EDTA. As amostras foram centrifugadas, e os sobrenadantes foram usados nas análises espectrofotométricas realizadas em leitor de microplacas (Epoch[®], BioTek). A atividade da superóxido dismutase (SOD) foi determinada pela inibição da fotoredução do nitro azul de tetrazólio (NBT), conforme descrito por Beauchamp e Fridovich (1971). A atividade da ascorbato peroxidase (APX) foi avaliada pela diminuição da absorbância a 290 nm, associada à oxidação do ascorbato, segundo Nakano e Asada (1981). A atividade da catalase (CAT) foi medida com base na decomposição do peróxido de hidrogênio (H₂O₂), monitorada a 240 nm, enquanto a atividade da peroxidase (POD) foi quantificada pela oxidação do guaiacol, com leitura a 470 nm, ambas conforme Maehly e Uflith (1954). A atividade específica das enzimas foi expressa com base no teor de proteína solúvel do extrato bruto.

- Determinação de H₂O₂ e peroxidação lipídica (MDA): O teor de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) foi determinado a partir da extração de 0,05 g de material fresco, macerado com nitrogênio líquido e homogeneizado em ácido tricloroacético (TCA). Após centrifugação a 12.000×g por 15 minutos a 4 °C, uma alíquota do extrato foi reagida com solução de fosfato de potássio (10 mM, pH 7,0) e iodeto de potássio 1 M, conforme protocolo de Velikova *et al.* (2000), com leitura espectrofotométrica específica. A peroxidação lipídica foi quantificada pela formação de malonaldeído (MDA), utilizando a reação com ácido tiobarbitúrico (TBA) em meio de TCA 10%, segundo o método de Buege (1978). As amostras foram incubadas, resfriadas e submetidas à leitura em microplacas nos comprimentos de onda de 535 e 600 nm. O teor de MDA foi calculado pela equação:

$$MDA = \frac{A_{535} - A_{600}}{\epsilon \times b}$$

sendo $\epsilon = 1,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ e $b = 1 \text{ cm}$, expressando os resultados em nmol MDA g^{-1} de matéria fresca.

Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o software R, por meio dos pacotes *stats*, *agricolae*, *corrplot*, *factoextra*, *FactoMineR* e *Metrics* (Le *et al.*, 2008; Wei: Simko, 2017; Mendiburu, 2020; Kassambara: Mundt, 2020; R Core Team, 2022). As premissas básicas da análise de variância (normalidade, homocedasticidade, aditividade e independência dos resíduos) foram testadas e atendidas e, quando houve significância pelo teste F ($p < 0,05$), as médias dos tratamentos para as variáveis avaliadas foram agrupadas pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). A análise de componentes principais (PCA) foi realizada para avaliar a relação entre as variáveis em cada fase de estresse conduzida.

3 RESULTADOS

Durante o estresse por frio, os níveis de MDA e H_2O_2 variaram significativamente entre os tratamentos com diferentes combinações de Se e I (Figura 1). O maior acúmulo de MDA foi observado no tratamento T4, indicando intensificação dos danos oxidativos. Os menores teores foram registrados nos tratamentos T1, T3, T6, T7 e T9, sugerindo menor peroxidação lipídica e possível indução de respostas antioxidantes, especialmente nas combinações com Se orgânico e I.

Para H_2O_2 , o maior valor foi observado no tratamento T6, apontando possível desequilíbrio redox sob altas concentrações combinadas. Já as menores médias foram encontradas nos tratamentos T1, T2, T3, T5, T7, T8 e T9, com destaque para aqueles com Se orgânico e I a 25 ou 50 mg L^{-1} .

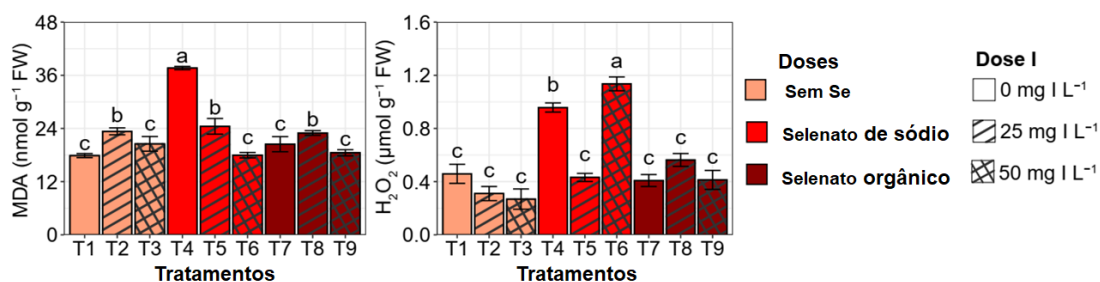


Figura 1. Efeito de fontes de Se e doses de I em diferentes concentrações sobre o malondialdeído (MDA) e o peróxido de hidrogênio (H₂O₂) durante o estresse por frio. Letras diferentes representam diferenças estatísticas ($p < 0,05$) entre os tratamentos avaliados.

Os teores de pigmentos fotossintéticos (clorofilas *a*, *b* e carotenoides) os tratamentos com iodo isolado (T2 e T3), apresentaram maiores médias, demonstrando um efeito fotoprotetor (Figura 2). Já os tratamentos T6 e T9 (Se especialmente na forma orgânica combinado com I), obtiveram resultado inferior aos demais tratamentos, indicando uma possível degradação de pigmentos sob interação desfavorável (Figura 2).

Com relação aos compostos osmoprotetores (Figura 2), os tratamentos T8 e T9 (Se orgânico + I) apresentaram os maiores teores de TSS e sacarose, enquanto T4 e T5 (Se inorgânico) mostraram os menores, indicando melhor acúmulo osmótico com Se orgânico. Os açúcares redutores foram mais elevados nos tratamentos T6 a T9, sem diferenças estatísticas marcantes.

Na Figura 2, observa-se que os teores de aminoácidos livres totais (TFAA) e prolina foram mais altos nos tratamentos com Se inorgânico (T5 e T6), sugerindo indução de mecanismos de proteção. O tratamento T9 apresentou os menores valores de TFAA, possivelmente devido a menor exigência de resposta defensiva. Os teores de proteínas solúveis foram mais elevados em T4 e T5, enquanto o controle (T1) apresentou os menores níveis.

A atividade antioxidante variou entre os tratamentos (Figura 2). A SOD foi mais ativada em T4 e T5, enquanto a CAT teve destaque em T5 e T7. Já a APX apresentou maior atividade nos tratamentos T1, T4 e T5, e os menores valores nos tratamentos com Se orgânico e I (T8 e T9).

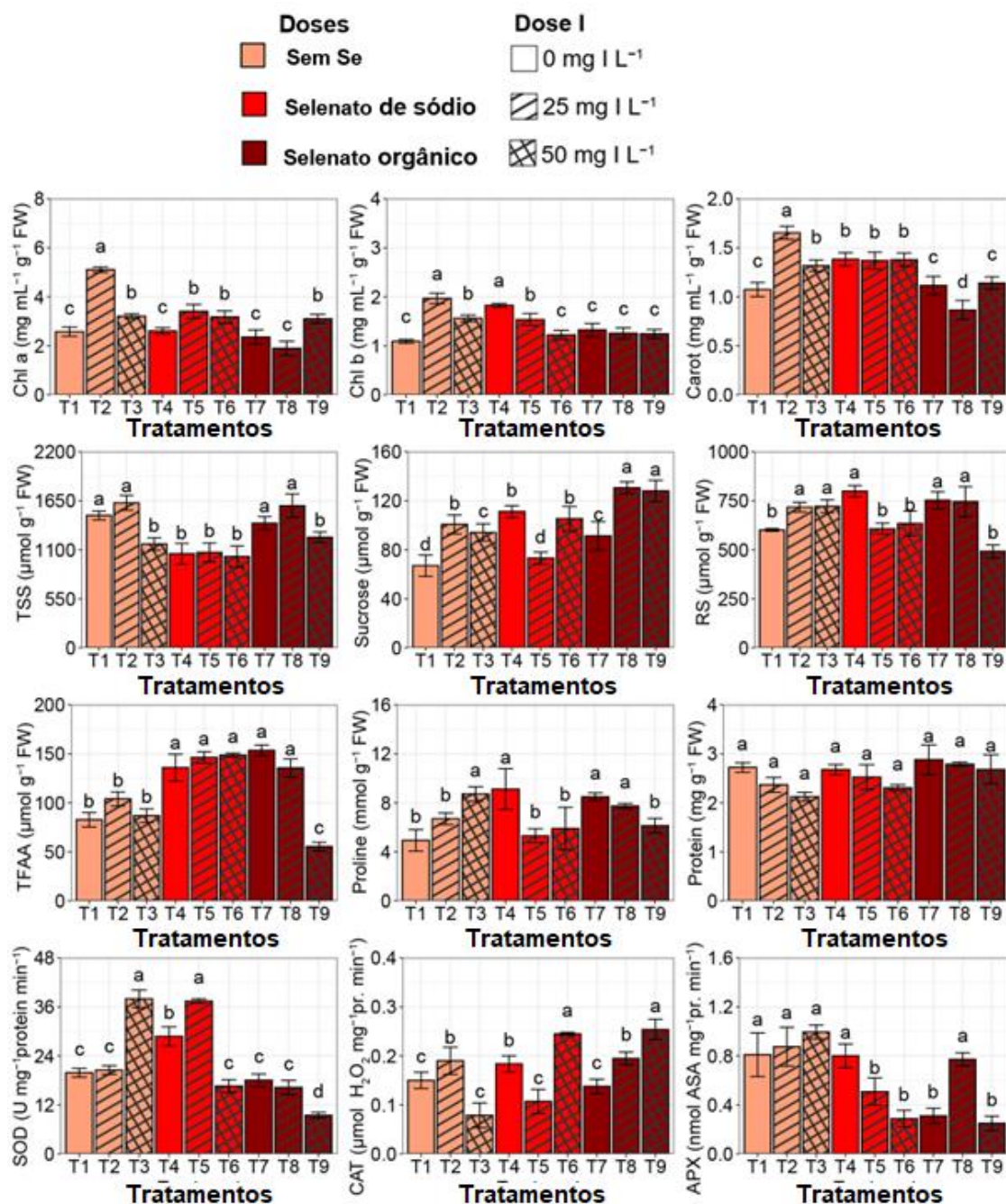


Figura 2. Efeito de fontes de selênio (Se) e doses de iodo em diferentes concentrações sobre os teores de água de clorofila a, b e carotenoides, açúcares solúveis totais (ATS), sacarose, açúcares redutores (AR), aminoácidos livres totais (ATL), prolina, proteína e atividade antioxidante específica da superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT: $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ mg}^{-1} \text{ proteína min}^{-1}$) e ascorbato peroxidase (APX) durante o estresse por frio. Letras diferentes representam diferenças estatísticas ($p < 0,05$) entre os tratamentos avaliados.

Com relação aos parâmetros fotossintéticos (Figura 3), os tratamentos T2 e T8 apresentaram as maiores taxas de assimilação líquida de CO_2 (A), demonstrando que o fornecimento de I, isoladamente ou em combinação com Se orgânico, favoreceu a manutenção da fotossíntese sob estresse por frio. Já o tratamento T4 obteve o menor valor de CO_2 A, sugerindo possível efeito fitotóxico dessa fonte em baixas temperaturas.

A condutância estomática (gs) e a taxa de transpiração (E) não diferiram significativamente entre os tratamentos (Figura 3), indicando que o estresse térmico não comprometeu a abertura estomática nem a perda de água por transpiração.

A concentração intercelular de CO_2 (Ci) foi mais elevada no tratamento T5, indicando possível limitação bioquímica da fotossíntese nesses tratamentos (Figura 3). Já a eficiência instantânea de carboxilação (A/Ci) e a eficiência no uso da água (A/E) foram maiores nos tratamentos T2 e no T8, demonstrando uma maior capacidade de fixação de carbono e melhor aproveitamento hídrico nesses tratamentos (Figura 3). O pior desempenho foi novamente observado no T4, com os menores valores de A/Ci e A/E .

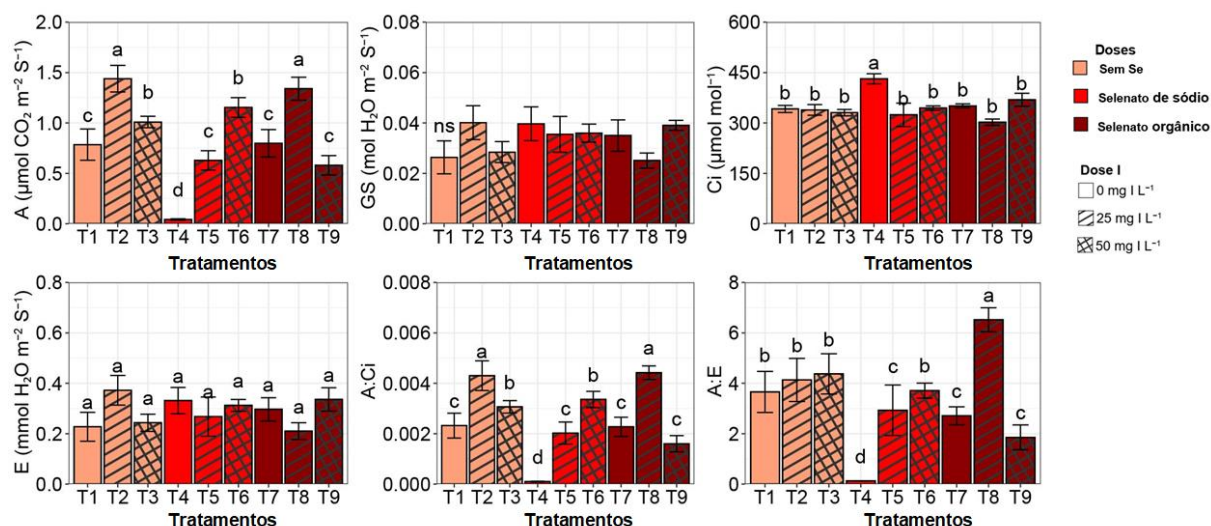


Figura 3. Efeito de fontes de selênio (Se) e dose de iodo em diferentes concentrações sobre parâmetros fotossintéticos: taxa de assimilação líquida de CO_2 (A : $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), taxa de transpiração (E : $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), condutância estomática (gs : $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), concentração intercelular de CO_2 (C_i : $\mu\text{mol mol}^{-1}$), eficiência instantânea de carboxilação (A/C_i : $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1} / \mu\text{mol mol}^{-1}$), e eficiência instantânea do uso de água (A/E : $\mu\text{mol CO}_2 / \text{mmol H}_2\text{O}$) sob condições de estresse por frio. Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$). ns: sem diferença estatística ($p > 0,05$).

Após o período de estresse, observou-se uma redução nos níveis médios de MDA e H_2O_2 em comparação com os resultados obtidos durante o estresse, indicando algum grau de recuperação fisiológica (Figura 4).

Em relação ao parâmetro MDA, o tratamento T4 apresentou o maior valor, reforçando o efeito negativo dessa forma química mesmo após o período de recuperação (Figura 4). Por outro lado, os menores níveis de MDA foram observados nos tratamentos T1 e T6, indicando que a combinação com I pode ter atenuado os danos oxidativos (Figura 4).

Quanto ao H_2O_2 , os tratamentos T4, T5 e T8 mantiveram os maiores teores, indicando um possível acúmulo residual de espécies reativas de oxigênio (Figura 4). Já os demais tratamentos, apresentaram menores valores, demonstrando uma melhor eficiência na neutralização de ROS, e possivelmente, melhor funcionamento dos mecanismos antioxidantes.

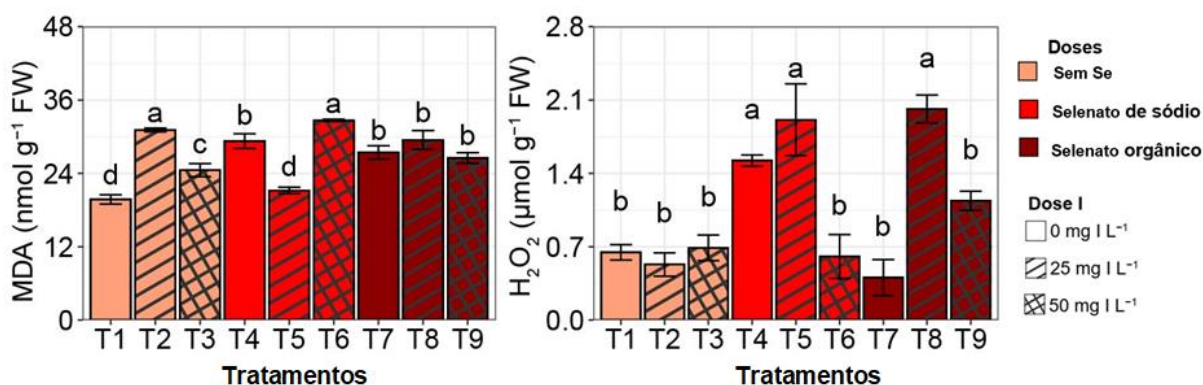


Figura 4. Efeito de fontes de selênio (Se) e doses de iodo em diferentes concentrações sobre o malondialdeído (MDA) e o peróxido de hidrogênio (H₂O₂) após estresse por frio. Letras diferentes representam diferenças estatísticas ($p < 0,05$) entre os tratamentos avaliados.

Após o período de estresse por frio, em relação à clorofila *a* o tratamento T9 obteve maior valor entre os demais, indicando a preservação da atividade fotossintética (Figura 5). Já os tratamentos T2, T4, T5, T6 e T7, apresentaram os menores teores desse pigmento. Para a clorofila *b*, não houve diferença estatística entre os tratamentos.

Quanto aos carotenoides, os maiores valores foram observados nos tratamentos T1 e T9, sugerindo maior proteção antioxidante não enzimática (Figura 5). Em relação aos açúcares, os maiores teores de açúcares totais solúveis (TSS) foram nos tratamentos T4 a T8, enquanto os demais apresentaram valores inferiores (Figura 5). Para os açúcares redutores (RS), os tratamentos T5, T6, T7 e T8 foram superiores, enquanto o tratamento T2 apresentou o menor acúmulo. A sacarose, por sua vez, não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos.

Em relação aos compostos osmorreguladores, os teores de aminoácidos livres totais (TFAA) foram mais elevados nos tratamentos T4 e T8, enquanto os menores valores foram registrados em T1, T2, T5, T6 e T7 (Figura 5). A prolina, outro composto associado à tolerância ao estresse, teve maior acúmulo no tratamento T3, sendo os menores valores observados nos tratamentos T6, T7, T8 e T9, demonstrando uma menor ativação dessa rota em resposta ao frio. O teor de proteínas totais não variou entre os tratamentos.

Em relação às enzimas antioxidantes (Figura 5), a atividade da superóxido dismutase (SOD) foi maior nos tratamentos T3, T4, T5 e T6, demonstrando maior indução do sistema enzimático antioxidante, já os demais tratamentos apresentaram resultado inferior. O maior valor da catalase (CAT) foi no tratamento T7, enquanto os tratamentos T1, T3 e T9, tiveram uma menor atividade dessa enzima (Figura 5). Os tratamentos que apresentaram uma maior

atividade da ascorbato peroxidase (APX) foram T1, T2, T5 e T6, já os demais apresentaram menores médias.

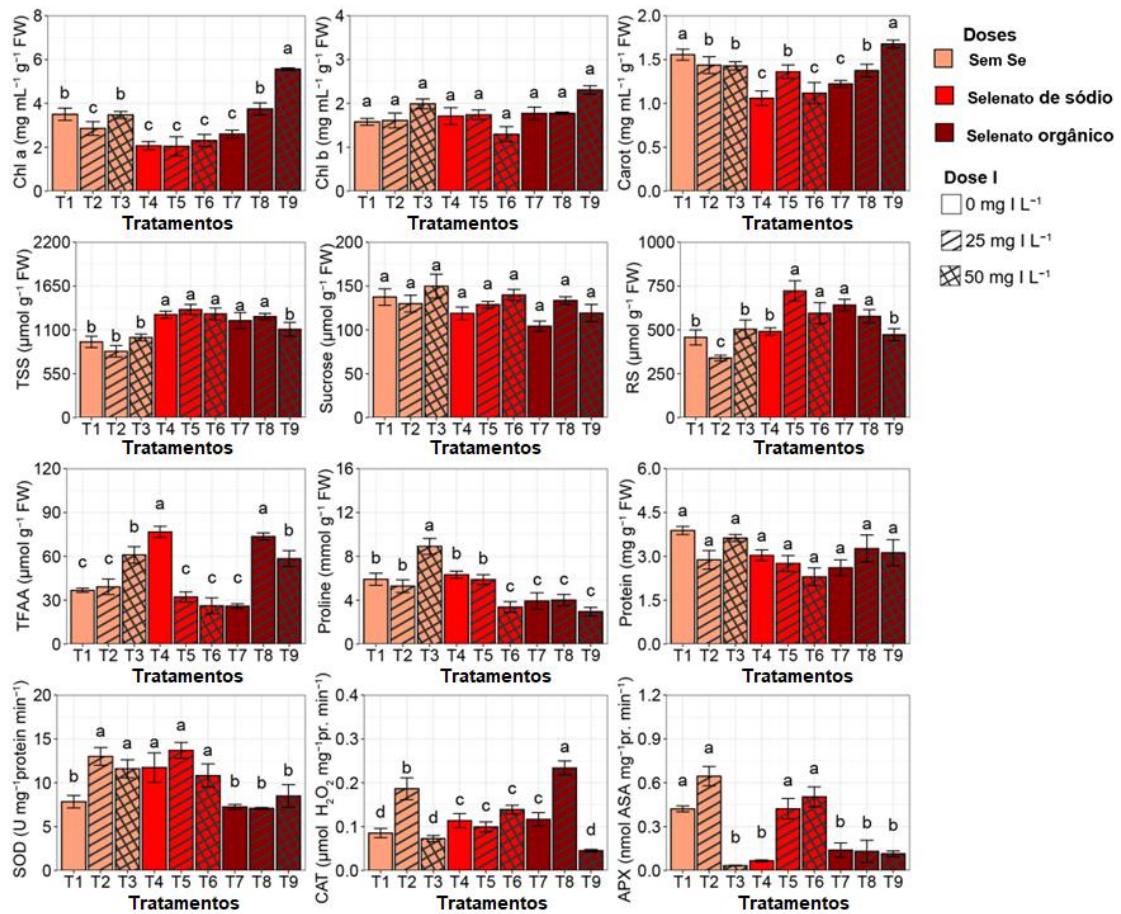


Figura 5. Efeito de fontes de selênio (Se) e doses de iodo em diferentes concentrações sobre os teores de água de clorofila a, b e carotenoides, açúcares solúveis totais (ATS), sacarose, açúcares redutores (AR), aminoácidos livres totais (ATL), prolina, proteína e atividade antioxidante específica da superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT: $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ mg}^{-1} \text{ proteína min}^{-1}$) e ascorbato peroxidase (APX) após estresse por frio. Letras diferentes representam diferenças estatísticas ($p < 0,05$) entre os tratamentos avaliados.

Após o período de estresse por frio, a taxa de assimilação líquida de CO_2 (A) foi significativamente superior nos tratamentos T3, T5 e T7, indicando maior capacidade fotossintética nesses tratamentos (Figura 6). Entretanto, o tratamento T6 apresentou a menor média, demonstrando o comprometimento da assimilação de carbono.

A condutância estomática (gs) foi mais elevada nos tratamentos T3, T4, T5, T7, T8 e T9, enquanto os demais tratamentos apresentaram valores inferiores, sugerindo menor abertura estomática (Figura 6). A concentração intercelular de CO_2 (Ci) foi mais alta nos tratamentos T1

a T6, enquanto T7, T8 e T9 mostraram menores médias, o que pode estar associado a maior fixação de CO₂.

Na taxa de transpiração (E), os tratamentos T3, T4 e T5 tiveram as maiores médias quando comparados aos demais tratamentos (Figura 6). Quanto à eficiência instantânea de carboxilação (A/Ci), os melhores desempenhos foram registrados nos tratamentos T3, T4, T5, T7, T8 e T9, já o tratamento T6 obteve uma menor eficiência. Com relação a eficiência instantânea no uso da água (A/E), na Figura 6, observa-se que os tratamentos T7 e T9 obtiveram maiores médias, enquanto o tratamento T6 teve o pior desempenho nesse parâmetro.

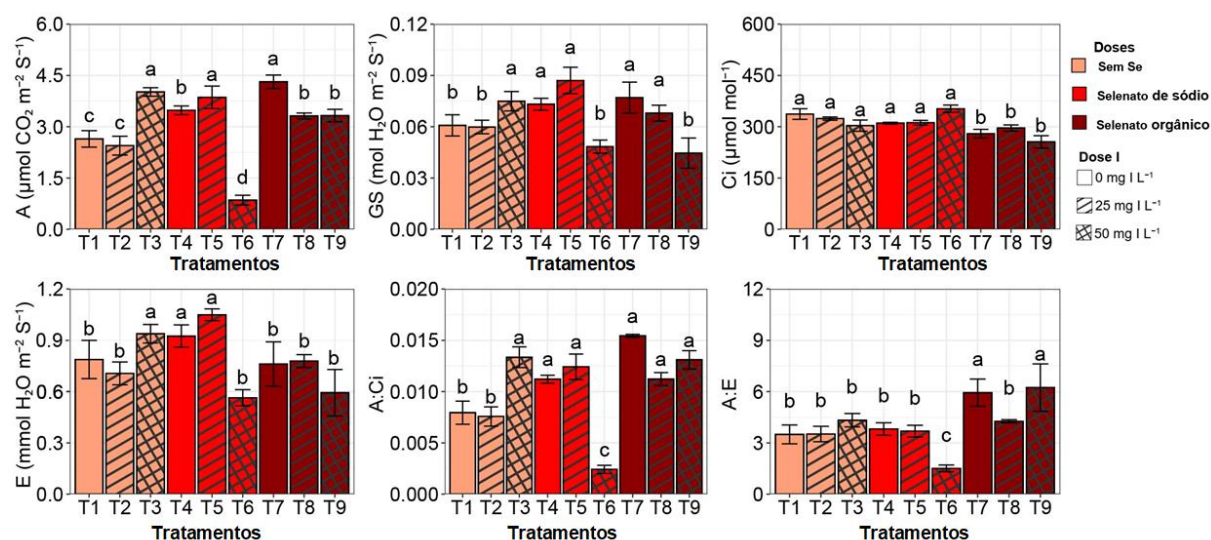


Figura 6. Efeito de fontes de selênio (Se) e dose de iodo em diferentes concentrações sobre parâmetros fotossintéticos: taxa de assimilação líquida de CO₂ (A: µmol CO₂ m⁻² s⁻¹), taxa de transpiração (E: mmol H₂O m⁻² s⁻¹), condutância estomática (gs: mol H₂O m⁻² s⁻¹), concentração intercelular de CO₂ (Ci: µmol mol⁻¹), eficiência instantânea de carboxilação (A/Ci: µmol CO₂ m⁻² s⁻¹ / µmol mol⁻¹) e eficiência instantânea do uso de água (A/E: µmol CO₂ / mmol H₂O) após condições de estresse por frio. Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos (p < 0,05).

A análise de componentes principais (PCA) permitiu visualizar a interação entre as variáveis fisiológicas, bioquímicas e fotossintéticas sob diferentes tratamentos com Se e I durante e após o estresse por frio (Figura 7).

Durante o estresse (Figura 7), os dois primeiros componentes principais (PC1 e PC2) explicaram conjuntamente 42,4% da variância total dos dados. Nesse período, observou-se que os tratamentos com Se orgânico, especialmente associados a doses moderadas de I (25 mg L⁻¹), agruparam-se próximos a variáveis como atividade de APX e SOD, conteúdo de clorofilas (Chl

a e b), açúcares redutores (RS), prolina e eficiência instantânea no uso da água (A/E), indicando que essas combinações favoreceram mecanismos de defesa antioxidante e preservação da fotossíntese sob estresse.

Entretanto, o tratamento com Se inorgânico associado a altas doses de I (50 mg L^{-1}) se posicionou de forma isolada no quadrante positivo de PC1, sendo mais relacionado a altos níveis de H_2O_2 , MDA e concentração intercelular de CO_2 (Ci), sugerindo um acúmulo de espécies reativas de oxigênio (ROS) e limitação bioquímica da fotossíntese. Já os tratamentos, controle, e com apenas I mostraram fraca associação com variáveis fisiológicas favoráveis, indicando resposta limitada ao estresse.

Após o estresse (Figura 7), a distribuição dos tratamentos foi alterada, com PC1 e PC2 explicando 45,7% da variabilidade total. Observou-se um destaque dos tratamentos com Se orgânico, principalmente na dose de 50 mg L^{-1} de I, que passaram a se associar fortemente a parâmetros de desempenho fotossintético como taxa de assimilação de CO_2 (A), eficiência instantânea de carboxilação (A/Ci), pigmentos fotossintéticos (Chl a e carotenoides) e A/E. Esse padrão indica uma recuperação fisiológica mais eficaz nesse grupo, possivelmente devido ao equilíbrio entre o fornecimento de Se e I em formas mais biodisponíveis e menos tóxicas.

Em contrapartida, o tratamento com Se inorgânico e altas doses de I manteve-se distante das variáveis desejáveis, reforçando a hipótese de que essa combinação contribui para um estresse oxidativo prolongado, com menor capacidade de recuperação. O tratamento controle também permaneceu associado a menor atividade de APX e maior MDA, indicando menor indução de respostas antioxidantes.

Esses resultados sugerem que a forma orgânica de Se, especialmente quando combinada a doses moderadas ou elevadas de I, favorece tanto a tolerância quanto a recuperação do estresse por frio, promovendo maior eficiência fotossintética e capacidade antioxidante. Em contraste, a aplicação de Se inorgânico em conjunto com altas doses de I pode intensificar o estresse oxidativo e comprometer os mecanismos de defesa e recuperação das plantas.

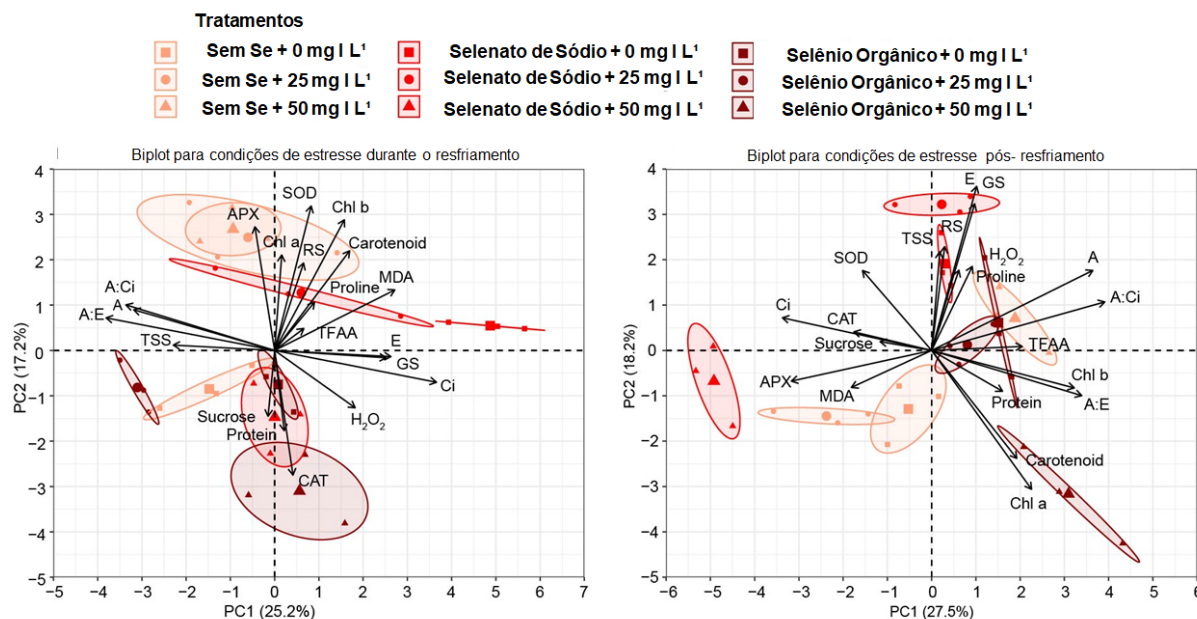


Figura 7. Análise de componentes principais para fontes de selênio (Se) e doses de concentrações de iodo (I) sob diferentes fases de estresse de frio.

4 DISCUSSÃO

A aplicação foliar de Se e I influenciou os mecanismos fisiológicos, bioquímicos e antioxidantes de mudas de amora-preta submetidas ao estresse por frio. Os resultados obtidos demonstraram que a aplicação foliar de Se e I, especialmente quando combinados em formas orgânicas e doses moderadas, promove efeitos mitigadores ao estresse térmico, ativando mecanismos de defesa antioxidante e osmoprotetores, além de preservar o desempenho fotossintético (Singhal *et al.*, 2023).

O aumento nos teores de MDA e H₂O₂ nas mudas quando submetidas ao frio demonstra um efeito negativo do estresse térmico sobre a integridade celular e o balanço redox, corroborando com estudos que associam o acúmulo de espécies reativas de oxigênio (ROS) à peroxidação lipídica e disfunções metabólicas em condições de baixa (Devireddy *et al.*, 2021). Nesse contexto, o tratamento Se inorgânico isolado promoveu os maiores níveis de MDA, indicando que a aplicação do Se na forma de selenato de sódio, sem a presença de I, não foi eficiente na contenção dos danos oxidativos, podendo inclusive agravar a produção de ROS (Manojlović-Stojanoski *et al.*, 2022).

Por outro lado, os menores teores de MDA e H₂O₂ foram observados em tratamentos que combinaram Se e I, especialmente com Se orgânico. Podendo ser justificado este resultado que a forma orgânica do Se apresenta maior eficácia bioativa, atuando na modulação do sistema

antioxidante e reduzindo a peroxidação lipídica (Liu *et al.*, 2022; Giebułtowiec *et al.*, 2024). Além disso, a presença de I pode ter contribuído com efeito osmoprotetor e na estabilização das membranas, promovendo maior resiliência das plantas ao estresse (Riyazuddin *et al.*, 2023).

O acúmulo de H_2O_2 no tratamento Se inorgânico + 50 mg L^{-1} de I demonstrou que a combinação em altas doses pode provocar um desequilíbrio redox, possivelmente por sobrecarga no sistema antioxidante ou geração excessiva de ROS (Duborská *et al.*, 2022). Essa resposta de dose dependente destaca a importância do ajuste fino na aplicação de bioestimulantes, pois tanto a ausência quanto o excesso de micronutrientes podem comprometer a homeostase celular (Wang *et al.*, 2025).

Observou-se que tratamentos onde se utilizou de forma isolada do I foi eficaz em preservar os pigmentos fotossintéticos, sugerindo que o I pode atuar como fotoprotetor, estabilizando estruturas celulares, como tilacoides e cloroplastos, sob estresse térmico (Riyazuddin *et al.*, 2023). Esse efeito pode estar associado à sua função na regulação de genes relacionados à fotossíntese e na atenuação da degradação oxidativa de clorofilas (Kiferle *et al.*, 2021).

Mas usando-se utilizou a combinação de Se e I, principalmente na forma orgânica resultou em menor conteúdo de pigmentos, o que pode indicar que doses elevadas ou a interação entre esses elementos promoveu desequilíbrio redox ou sinalização de senescência precoce (Wang *et al.*, 2025). Essa hipótese é reforçada pelos menores teores de APX e SOD nesses mesmos tratamentos, indicando menor ativação do sistema enzimático antioxidante (Hassan *et al.*, 2023).

Os tratamentos com Se orgânico associados ao I promoveram maior acúmulo de solutos osmoprotetores, como sacarose e TSS, que contribuem para a manutenção da homeostase osmótica e proteção celular (Liu *et al.*, 2022; Medrano *et al.*, 2022). Uma hipótese é que esses tratamentos tenham limitado a resposta enzimática, as plantas ativaram mecanismos alternativos de defesa, via acúmulo de solutos compatíveis (Mittal *et al.*, 2023; Riyaziddin *et al.*, 2023).

O Se inorgânico, especialmente quando combinado ao I, promoveu maior acúmulo de aminoácidos livres e prolina, compostos com papel fundamental na osmoproteção, estabilização de estruturas celulares e eliminação de radicais livres. Além disso, esses tratamentos induziram maior atividade de SOD, CAT e APX, apontando para uma ativação do sistema antioxidante enzimático, fundamental para mitigar o acúmulo de espécies reativas de oxigênio (ROS) sob frio (Liu *et al.*, 2025).

Enquanto o Se inorgânico estimula preferencialmente vias enzimáticas antioxidantes, o Se orgânico favorece rotas metabólicas associadas ao acúmulo de açúcares (Skrypnik *et al.*, 2024). A interação entre Se e I, porém, parece depender das doses utilizadas, sendo que combinações excessivas podem desencadear respostas desbalanceadas, com maior acúmulo de ROS e menor proteção funcional (Duborská *et al.*, 2022).

De posse dos resultados, observe-se que há uma variação no desempenho fotossintético das plantas após o estresse, onde os tratamentos com I a 25 mg L⁻¹ e Se orgânico + I a 25 mg L⁻¹ apresentaram melhor assimilação de CO₂, maior eficiência de carboxilação (A/Ci) e uso da água (A/E), indicando maior estabilidade funcional do aparato fotossintético nessas condições. Uma das justificativas para esse fato, pode estar relacionado à ação protetora do I, que tem sido associado à regulação da fotossíntese e à estabilização de estruturas de membrana sob estresse (Riyazuddin *et al.*, 2023). Pois, conforme o I pode atuar na redução de danos oxidativos em cloroplastos, preservando a integridade dos tilacoides e a funcionalidade da cadeia transportadora de elétrons, o que favorece a continuidade do ciclo de Calvin sob baixas temperaturas (Kiferle *et al.*, 2021; Kaur *et al.*, 2023).

A associação do I ao Se orgânico, por sua vez, pode ter promovido sinergismo, com ativação de rotas antioxidantes e acúmulo de compostos osmoprotetores, favorecendo a manutenção do metabolismo fotossintético (Bian *et al.*, 2025). Além disso, o Se orgânico possui maior afinidade com processos metabólicos celulares e menor toxicidade em comparação ao Se inorgânico, o que pode explicar sua contribuição positiva na presença do I (Quispe *et al.*, 2025).

O tratamento com aplicação isolada de Se inorgânico, apresentou os piores resultados em todos os parâmetros (A, A/Ci e A/E), sugerindo que, em condições de frio, essa forma química pode ter promovido acúmulo excessivo de ROS, inibido enzimas da via fotossintética ou induzido alterações estruturais prejudiciais, como desorganização dos cloroplastos (Xiao *et al.*, 2025), pois em doses inadequadas, ele pode causar fitotoxicidade, bloqueando rotas bioquímicas essenciais ou desregulando o equilíbrio redox celular (Wang *et al.*, 2025).

A ausência de variação significativa em gs e E entre os tratamentos indica que o estresse térmico não comprometeu a abertura estomática, e que as diferenças na taxa fotossintética estiveram mais relacionadas a fatores bioquímicos do mesófilo, como integridade do aparato fotossintético e atividade enzimática do ciclo de Calvin (Manasa *et al.*, 2022).

Os resultados obtidos após o período de estresse das plantas, demonstram, que embora algumas mudas tenham demonstrado recuperação parcial, os efeitos residuais do frio ainda foram evidentes, especialmente em determinados tratamentos. O aumento nos níveis de MDA no tratamento T4, mesmo após o estresse, pode estar relacionado ao fornecimento isolado de

Se inorgânico, comprometendo a integridade das membranas celulares em vez de protegê-las, reforçando o perfil pró-oxidante dessa forma química quando aplicada sem a presença de agentes moduladores (Liu *et al.*, 2022). Esse efeito foi semelhante ao relatado por Rady *et al.* (2021), que observaram aumento na peroxidação lipídica com o uso excessivo de Se inorgânico em condições de estresse térmico.

Por outro lado, a redução dos teores de MDA na associação entre os tratamentos com Se inorgânico e I a 50 mg L⁻¹ pode ter promovido uma resposta antioxidante mais eficiente, contribuindo para a manutenção da integridade das membranas lipídicas, ocasionando uma ação sinérgica entre Se e I onde a aplicação conjunta desses elementos pode atenuar a toxicidade do Se e favorecer o equilíbrio redox celular (Burmistrov *et al.*, 2025).

Em relação ao H₂O₂, o acúmulo nos tratamentos T4, T5 e T8 evidencia a persistência do estresse oxidativo, mesmo após o término da exposição ao frio. Esses resultados indicam que, dependendo da forma química e da dose utilizada, os tratamentos podem interferir negativamente na capacidade de detoxificação de ROS (Samynathan *et al.*, 2023). No caso do tratamento T8, com Se orgânico e alta dose de I, esse acúmulo pode estar relacionado à ativação incompleta ou desbalanceada das enzimas antioxidantes (Skrypnik *et al.*, 2022).

Em contrapartida, os menores teores de H₂O₂ em T1, T3, T6 e T7 demonstram que tanto a ausência de aplicação (controle), quanto o uso isolado de I ou de Se orgânico, foram eficazes na contenção da produção de ROS ou na sua eliminação eficiente. Esses resultados são semelhantes ao encontrado por Lima *et al.* (2023), que destacaram a ação moduladora do I em baixos níveis como estimulante da atividade antioxidante em plantas submetidas a estresse.

Os resultados obtidos após o estresse por frio indicam que a combinação de Se orgânico com doses mais elevadas de I (T9) promoveu melhor preservação da clorofila *a* e dos carotenoides, sugerindo proteção fotossintética e reforço do sistema antioxidante não enzimático (Sardari *et al.*, 2023). Esse efeito pode estar relacionado ao papel do Se na preservação da integridade dos tilacoides e na proteção de pigmentos fotossintéticos, especialmente quando aplicado em sua forma orgânica, de maior biodisponibilidade (Liu *et al.*, 2022). A ausência de diferenças significativas para a clorofila *b* entre os tratamentos sugere uma menor sensibilidade desse pigmento às variações ambientais ou aos tratamentos aplicados (Duborská *et al.*, 2022).

O acúmulo de açúcares totais solúveis (TSS) e açúcares redutores (RS) em tratamentos como T4 a T8, que envolveram diferentes formas de Se com doses moderadas de I, indica uma possível atuação desses solutos como osmoprotetores ou intermediários energéticos para a recuperação celular (Liu *et al.*, 2022; Riyazuddin *et al.*, 2023). Além disso, açúcares redutores

também participam da sinalização de estresse e da regulação redox, ajudando a modular a resposta adaptativa ao frio (Manasa *et al.*, 2022). A ausência de diferenças significativas para sacarose pode refletir uma rápida conversão desse açúcar em formas redutoras ou sua utilização como fonte energética primária durante a fase de recuperação (Saddhe *et al.*, 2021).

Os compostos osmorreguladores, o maior acúmulo de TFAA nos tratamentos T4 e T8 pode estar associado à ativação de vias de biossíntese de aminoácidos como glutamato, aspartato e prolina, importantes na estabilização de estruturas celulares sob estresse (Quispe *et al.*, 2025). Já o elevado acúmulo de prolina no T3 (I a 50 mg L⁻¹) e os menores valores nos tratamentos com Se orgânico (T6 a T9) sugerem que a presença do Se pode reduzir a necessidade de prolina como resposta defensiva, uma vez que há melhor regulação do estresse oxidativo (Zulfiqar; Ashraf, 2023). A ausência de variação no teor de proteínas totais entre os tratamentos sugere que a integridade do metabolismo proteico foi mantida, mesmo após o estresse térmico (Ul Hassan *et al.*, 2022).

As enzimas antioxidantes apresentaram respostas distintas conforme a interação entre os tratamentos. A maior atividade de SOD nos tratamentos T3 a T6, especialmente com Se inorgânico e doses moderadas de I, está em linha com estudos que mostram o Se como cofator essencial para a ativação de enzimas antioxidantes (Skrypnik *et al.*, 2022).

A CAT foi mais ativa no tratamento T7 (Se orgânico isolado), sugerindo que essa forma de Se pode favorecer vias específicas de decomposição do H₂O₂, especialmente em ambientes com menor presença de I (Liu *et al.*, 2022). Já a APX foi ativada nos tratamentos T1, T2, T5 e T6, reforçando o papel central dessa enzima na resposta antioxidante ao frio, especialmente sob ausência ou presença equilibrada de Se e I (Rajput *et al.*, 2021).

Após o período de estresse por frio, os tratamentos T4 e T5 (ambos com Se inorgânico, sendo T5 com I a 25 mg L⁻¹) apresentaram os maiores valores de assimilação líquida de CO₂ (A), condutância estomática (gs), taxa de transpiração (E), eficiência instantânea de carboxilação (A/Ci) e eficiência no uso da água (A/E), indicando que essas combinações foram mais eficientes na manutenção da funcionalidade fotossintética (Riyazuddin *et al.*, 2023). O Se inorgânico, especialmente em doses moderadas de I, pode ter promovido uma ativação mais eficaz das enzimas envolvidas no metabolismo fotossintético, além de atuar na mitigação do estresse oxidativo (Liu *et al.*, 2022).

O tratamento T6 (Se inorgânico + I a 50 mg L⁻¹), por outro lado, teve a menor taxa de assimilação de CO₂, possivelmente em função de um desequilíbrio redox causado pelo excesso relativo de ambos os elementos, resultando em danos bioquímicos às vias de fixação de

carbono, como sugerem estudos anteriores com doses elevadas de Se em condições de estresse (Mittal *et al.*, 2023).

Os resultados obtidos após o período de estresse por frio indicam que certas combinações de Se e I favoreceram a recuperação fotossintética das mudas de amora-preta. Os tratamentos T3, T5 e T7, que combinaram diferentes formas e doses desses elementos, apresentaram as maiores taxas de assimilação líquida de CO₂ (A), o que sugere maior integridade dos componentes do aparato fotossintético, como os fotossistemas e a enzima Rubisco (Liu *et al.*, 2022). Esses resultados reforçam que o fornecimento conjunto de Se e I pode modular positivamente o desempenho fotossintético sob estresse.

A maior condutância estomática (gs) observada nos tratamentos T3, T4, T5, T7, T8 e T9 demonstra que esses grupos mantiveram maior abertura estomática, possibilitando maior entrada de CO₂. No entanto, esse efeito não foi observado em T6, o qual, apesar de ter gs intermediária, apresentou baixa taxa fotossintética (A), o que pode indicar uma limitação não estomática, como inibição enzimática ou prejuízo nos centros de carboxilação (Sohrabi *et al.*, 2024).

A menor concentração intercelular de CO₂ (Ci) nos tratamentos T7, T8 e T9, combinada com boa assimilação de CO₂ (A), sugere que esses tratamentos promoveram maior fixação de CO₂, o que ser justificado pela alta eficiência instantânea de carboxilação (A/Ci). Já o tratamento T6 se destacou negativamente nesse parâmetro, revelando possível ineficiência bioquímica na assimilação de carbono, mesmo com fornecimento de Se e I o que reforça a importância da dose e da forma química utilizada (Singhal *et al.*, 2023).

A taxa de transpiração (E) foi mais elevada nos tratamentos T3, T4 e T5, refletindo maior atividade estomática e, consequentemente, maior troca gasosa. Contudo, os tratamentos T7 e T9, que apresentaram as maiores eficiências no uso da água (A/E), demonstraram um melhor balanço entre assimilação de carbono e perda de água, sendo altamente desejáveis em contextos de estresse (Hassan *et al.*, 2021). Já o T6 mais uma vez apresentou desempenho inferior, com baixa eficiência no uso da água, o que sugere prejuízo fisiológico acentuado mesmo após a fase de recuperação.

Em síntese, os dados apontam que o fornecimento de Se orgânico associado a I (principalmente T7 e T9) foi mais eficiente em preservar ou restaurar o funcionamento fotossintético, promovendo maior eficiência no uso da água e fixação de CO₂. Por outro lado, o tratamento T6, que combinou Se inorgânico com dose elevada de I, demonstrou resultados fisiológicos consistentemente inferiores, sugerindo que essa combinação pode ter sido

excessiva ou mal assimilada, comprometendo o metabolismo da planta mesmo após o estresse (Durborská *et al.*, 2022).

A análise de componentes principais (PCA) reforça os achados individuais dos parâmetros fisiológicos, bioquímicos e fotossintéticos, ao permitir uma visualização integrada da resposta das plantas de amora-preta submetidas ao estresse por frio e à aplicação de diferentes fontes e doses de Se e I.

Durante o estresse térmico, a dispersão dos tratamentos evidenciou respostas contrastantes entre as formas químicas utilizadas. Os tratamentos contendo Se orgânico, especialmente em associação com 50 mg L⁻¹ de I, apresentaram correlação positiva com variáveis indicativas de tolerância ao estresse, como maior atividade das enzimas antioxidantes (APX e SOD), acúmulo de pigmentos fotossintéticos e maior eficiência no uso da água (A/E). Esses resultados sugerem que essa combinação favoreceu mecanismos de proteção celular e manutenção funcional durante o estresse, provavelmente pela maior biodisponibilidade e menor toxicidade do Se orgânico (Golubkina *et al.*, 2021).

Em contrapartida, o tratamento com Se inorgânico associado à maior dose de I (100 mg L⁻¹) destacou-se negativamente, sendo fortemente associado ao acúmulo de H₂O₂ e MDA, bem como a uma maior concentração intercelular de CO₂ (Ci), o que indica acúmulo de espécies reativas de oxigênio e limitação bioquímica da fotossíntese. Isso sugere que essa combinação pode ter provocado um desequilíbrio redox acentuado, intensificando o dano oxidativo e comprometendo a capacidade de assimilação de CO₂ (Hassan *et al.*, 2023).

Após o período de estresse, a PCA revelou uma reorganização na resposta dos tratamentos. Os grupos com Se orgânico, sobretudo com 50 mg L⁻¹ de I, passaram a se associar positivamente a variáveis relacionadas à recuperação fisiológica, como maior taxa de assimilação de CO₂ (A), maior eficiência carboxilativa (A/Ci), maior teor de pigmentos fotossintéticos (clorofilas e carotenoides), além de melhor relação A/E. Esses resultados demonstram que, mesmo após o estresse, a aplicação de Se orgânico em combinação com I não apenas protegeu, mas também potencializou os mecanismos de recuperação das plantas, possivelmente por promover um equilíbrio redox favorável e reduzir os efeitos deletérios do frio (Riyazuddin *et al.*, 2023; Quispe *et al.*, 2025).

Já os tratamentos com Se inorgânico e altas doses de I, mesmo após o estresse, continuaram relacionados a indicadores de estresse oxidativo, como maiores teores de MDA e menor atividade antioxidante, indicando que a recuperação foi limitada e o dano persistente. Esse comportamento pode ser atribuído à maior reatividade e toxicidade do Se inorgânico em doses elevadas, que pode ter agravado o estresse ao invés de mitigá-lo (Singhal *et al.*, 2023).

Dessa forma, os resultados da PCA destacam que a forma química e a dosagem dos elementos Se e I são determinantes na resposta das plantas ao estresse térmico. A aplicação de Se orgânico aliado ao I em concentrações adequadas pode ser uma estratégia eficaz para indução de tolerância e recuperação do estresse por frio, enquanto combinações com Se inorgânico em altas doses devem ser evitadas devido ao risco de toxicidade e prejuízo fisiológico.

6 CONCLUSÃO

- I. A aplicação de Se e iodo I influencia na tolerância ao frio em mudas de amoreira-preta ‘Tupy’.
- II. A utilização do Se orgânico, especialmente combinado com 25 mg L⁻¹ de I, promove, uma maior atividade antioxidante, redução de MDA e H₂O₂, maior acúmulo de osmoprotetores, além de preservar e melhorar os pigmentos fotossintéticos.
- III. O Se inorgânico isolado ou com doses elevadas de I (50 mg L⁻¹) agrava os efeitos do estresse por frio.
- IV. A combinação adequada de Se e I é uma estratégia promissora para mitigar estresses abióticos em amoreiras-pretas.

REFERÊNCIAS

- ASLAM, M. et al. Plant low-temperature stress: Signaling and response. **Agronomy**, v. 12, n. 3, p. 702, 2022.
- BATES, L. S[†]; WALDREN, R. P. A.; TEARE, I. D. Rapid determination of free proline for water-stress studies. **Plant and soil**, v. 39, n. 1, p. 205-207, 1973.
- BEAUCHAMP, C.; FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. **Analytical biochemistry**, v. 44, n. 1, p. 276-287, 1971.
- BIAN, Y. et al. Effects of organic selenium on metabolic responses and disease resistance in rose plants. **Journal of Hazardous Materials**, p. 138684, 2025.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical biochemistry**, v. 72, n. 1-2, p. 248-254, 1976.
- BUEGE, J. A.; AUST, S. D. Microsomal lipid peroxidation. In: **Methods in enzymology**. Academic press, 1978. p. 302-310.

BURMISTROV, D. E. et al. Selenium Nanoparticles (Se NPs) as Agents for Agriculture Crops with Multiple Activity: A Review. **Agronomy**, v. 15, n. 7, p. 1591, 2025.

DEVIREDDY, A. R. et al. Role of reactive oxygen species and hormones in plant responses to temperature changes. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 16, p. 8843, 2021.

DICKSON, R. W.; MACHESNEY, L. M.; HENDERSON, E. O. Forcing Temperature Effects on Plant Development for Containerized Blackberry Grown Using Long-Cane Techniques. **Horticulturae**, v. 9, n. 10, p. 1090, 2023.

DISCHE, Z. General color reactions. **Methods in Carbohydrate Chem.** I, 478. 1962.

DUBORSKÁ, E. et al. Current strategies for selenium and iodine biofortification in crop plants. **Nutrients**, v. 14, n. 22, p. 4717, 2022.

DUBORSKÁ, E. et al. Current strategies for selenium and iodine biofortification in crop plants. **Nutrients**, v. 14, n. 22, p. 4717, 2022.

FERNANDEZ, E. et al. Climate change impacts on winter chill in Mediterranean temperate fruit orchards. **Regional environmental change**, v. 23, n. 1, p. 7, 2023.

GEIGER, W. K. G.; KÖPPEN, W.; KÖPPEN, W. Das geographische System der Klimate. **Handbuch der Klimatologie**, 1936.

GIEBUŁTOWICZ, J. et al. The impact of organic selenium (IV) on *Hypericum perforatum* L. under cadmium stress and non-stress conditions. **Plants**, v. 13, n. 15, p. 2099, 2024.

GOLUBKINA, N. et al. Joint biofortification of plants with selenium and iodine: new field of discoveries. **Plants**, v. 10, n. 7, p. 1352, 2021.

HASSAN, M. S. M. F. et al. Exogenous application of selenium or iodine improves the growth, yield and antioxidant status of *Capsicum annuum* L. **Labyrinth: Fayoum Journal of Science and Interdisciplinary Studies**, v. 1, n. 1, p. 76-83, 2023.

HASSAN, M. A. et al. Cold stress in wheat: plant acclimation responses and management strategies. **Frontiers in plant science**, v. 12, p. 676884, 2021.

KASSAMBARA, A.; MUNDT, F. Factoextra: extract and visualize the results of multivariate data analyses. **CRAN: Contributed Packages**, 2016.

KAUR, H. et al. The beneficial roles of trace and ultratrace elements in plants. **Plant Growth Regulation**, v. 100, n. 2, p. 219-236, 2023.

KHAN, Z. et al. The role of selenium and nano selenium on physiological responses in plant: a review. **Plant Growth Regulation**, v. 100, n. 2, p. 409-433, 2023.

KIFERLE, C. et al. Evidences for a nutritional role of iodine in plants. **Frontiers in plant science**, v. 12, p. 616868, 2021.

LADYZHENSKEYA, O. et al. Comparison of fruit parameters and elemental composition of commercial varieties of blackberries. **Agronomy**, v. 13, n. 10, p. 2628, 2023.

LÊ, S.; JOSSE, J.; HUSSON, F.; **FactoMineR : an R package for multivariate analysis**. J Stat Softw 25. 2008a.

LÊ, S.; JOSSE, J.; HUSSON, F. **FactoMineR : an R package for multivariate analysis**. 2008b.

LI, B. et al. Physiological response to low-temperature stress and cold resistance evaluation of *Ziziphus jujuba* var. *spinosa* clones from different provenances. **Forests**, v. 15, n. 7, p. 1130, 2024.

LIMA, J. S. et al. Soybean plants exposed to low concentrations of potassium iodide have better tolerance to water deficit through the antioxidant enzymatic system and photosynthesis modulation. **Plants**, v. 12, n. 13, p. 2555, 2023.

LIU, H. et al. Selenium regulates antioxidant, photosynthesis, and cell permeability in plants under various abiotic stresses: A review. **Plants**, v. 12, n. 1, p. 44, 2022.

LIU, N. et al. Selenium Alleviates Low-Temperature Stress in Rice by Regulating Metabolic Networks and Functional Genes. **Agriculture**, v. 15, n. 14, p. 1489, 2025.

ŁYSIAK, G. P.; SZOT, I. The use of temperature-based indices for estimation of fruit production conditions and risks in temperate climates. **Agriculture**, v. 13, n. 5, p. 960, 2023.

MAEHLY, A. C. The assay of catalases and peroxidases. **Methods of biochemical analysis**, p. 357-424, 1954.

MANASA S, L. et al. Overview of cold stress regulation in plants. **The Botanical Review**, v. 88, n. 3, p. 359-387, 2022.

MANOJLOVIĆ-STOJANOSKI, M. et al. The effects of BSA-stabilized selenium nanoparticles and sodium selenite supplementation on the structure, oxidative stress parameters and selenium redox biology in rat placenta. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 21, p. 13068, 2022.

MEDDA, S.; FADDA, A.; MULAS, M. Influence of climate change on metabolism and biological characteristics in perennial woody fruit crops in the Mediterranean environment. **Horticulturae**, v. 8, n. 4, p. 273, 2022.

MEDRANO MACIAS, J. et al. Enhancement to salt stress tolerance in strawberry plants by iodine products application. **Agronomy**, v. 11, n. 3, p. 602, 2021.

MENDIBURU, F.; YASEEN, M. agricolae: Statistical Procedures for Agricultural Research. R package version 1.4. 0. **R Foundation for Statistical Computing, Vienna**, 2020.

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

MITTAL, U. et al. Role of beneficial elements in developing resilience to abiotic and biotic stresses in plants: present status and future prospects. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 42, n. 6, p. 3789-3813, 2023.

MORENO-MEDINA, B. L.; CASIERRA-POSADA, F.; GARCÍA-PARRA, M. Á. Chlorophyll a fluorescence and phytochemical response in blackberry species (*Rubus* sp) cultivated in the high tropics. **Journal of Berry Research**, v. 14, n. 2, p. 73-87, 2024.

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

PIO, R; GONÇALVES, E. D. Cultivo da amoreira preta. In: PIO, R. **Cultivo de fruteiras de clima temperado em regiões subtropicais e tropicais**. 2.ed. Lavras: MG, 2018. p. 186-221.

QADERI, Mirwais M.; MARTEL, Ashley B.; STRUGNELL, Courtney A. Environmental factors regulate plant secondary metabolites. **Plants**, v. 12, n. 3, p. 447, 2023.

QUISPE, A. P. V. et al. Priming effect with selenium and iodine on broccoli seedlings: Activation of biochemical mechanisms to mitigate cold damages. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 223, p. 109876, 2025.

R CORE TEAM. R: **A language and environment for statistical computing**. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2022. Disponível em: <<https://www.R-project.org/>>. Acesso em: 23 maio 2025.

RADY, M. M. et al. Foliar nourishment with nano-selenium dioxide promotes physiology, biochemistry, antioxidant defenses, and salt tolerance in *Phaseolus vulgaris*. **Plants**, v. 10, n. 6, p. 1189, 2021.

RAJPUT, V. D. et al. Recent developments in enzymatic antioxidant defence mechanism in plants with special reference to abiotic stress. **Biology**, v. 10, n. 4, p. 267, 2021.

RIYAZUDDIN, R. et al. Iodine: an emerging biostimulant of growth and stress responses in plants. **Plant and Soil**, v. 486, n. 1, p. 119-133, 2023.

ROUSSOS, P. A. Climate change challenges in temperate and sub-tropical fruit tree cultivation. **Encyclopedia**, v. 4, n. 1, p. 558-582, 2024.

SADDHE, A. A.; MANUKA, R.; PENNA, S. Plant sugars: Homeostasis and transport under abiotic stress in plants. **Physiologia plantarum**, v. 171, n. 4, p. 739-755, 2021.

SALAMA, A.M. et al. Temperate fruit trees under climate change: Challenges for dormancy and chilling requirements in warm winter regions. **Horticulturae**, v. 7, n. 4, p. 86, 2021.

SAMYNATHAN, R. et al. A recent update on the impact of nano-selenium on plant growth, metabolism, and stress tolerance. **Plants**, v. 12, n. 4, p. 853, 2023.

SARDARI, M. et al. Selenium and nano-selenium diminish salt stress-mediated oxidative damage in *Narcissus tazetta* by up-regulating enzymatic and non-enzymatic antioxidants. **Russian Journal of Plant Physiology**, v. 70, n. 9, p. 210, 2023.

SERRANO-VINCENTI, S. et al. Measuring the effects of climate change on traditional crops in tropical highlands, Ecuador. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, v. 9, p. 1447593, 2025.

SINGHAL, R. K. et al. Beneficial elements: New Players in improving nutrient use efficiency

and abiotic stress tolerance. **Plant Growth Regulation**, v. 100, n. 2, p. 237-265, 2023.

SKRYPNIK, L. et al. Foliar spraying of selenium in inorganic and organic forms stimulates plant growth and secondary metabolism of sage (*Salvia officinalis* L.) through alterations in photosynthesis and primary metabolism. **Scientia Horticulturae**, v. 338, p. 113633, 2024.

SOHRABI, F. et al. Effects of abiotic stresses on the 26-photosynthesis apparatus in plants. **Energy**, v. 680, p. 700, 2024.

UL HASSAN, M. et al. Linking plants functioning to adaptive responses under heat stress conditions: a mechanistic review. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 41, n. 7, p. 2596-2613, 2022.

VELIKOVA, V.; YORDANOV, I.; EDREVA, A. J. P. S. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: protective role of exogenous polyamines. **Plant science**, v. 151, n. 1, p. 59-66, 2000.

WANG, L. et al. The interaction of nutrient uptake with biotic and abiotic stresses in plants. **Journal of Integrative Plant Biology**, v. 67, n. 3, p. 455-487, 2025.

WEI, T. et al. Package ‘corrplot’. **Statistician**, v. 56, n. 316, p. e24, 2017.

XIAO, D. et al. Advances in the Study of Selenium-Enriched Probiotics: From the Inorganic Se into Se Nanoparticles. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 67, n. 23, p. 2300432, 2023.

YAVUZ, N.; İPEK, M.; ARIKAN, S.; YAVUZ, D.; KARAKOYUN, M. Agronomic and Biochemical Responses of Blackberry to Alternative Deficit Irrigation Strategies to Increase Stress Tolerance. **Applied Fruit Science**, v. 67, n. 3, p. 1-16, 2025.

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

YUAN, X. et al. Impacts of global climate change on agricultural production: a comprehensive review. **Agronomy**, v. 14, n. 7, p. 1360, 2024.

ZANANDREA, I. et al. Tolerance of *Sesbania virgata* plants to flooding. **Australian Journal of Botany**, v. 57, n. 8, p. 661-669, 2010.

ZULFIQAR, F.; ASHRAF, M. Proline alleviates abiotic stress induced oxidative stress in plants. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 42, n. 8, p. 4629-4651, 2023.

Agradecimentos: os autores agradecem Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e INCT Segurança Solo e Alimento (Processo 406577/2022-6), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (Processo 403040/2023-0).



**ARTIGO 4 – MODULAÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO E DO DESEMPENHO
FOTOSSINTÉTICO POR SELÊNIO E IODO EM MUDAS DE FRAMBOESEIRAS
EXPOSTAS A ALTAS TEMPERATURAS
MODULATION OF OXIDATIVE STRESS AND PHOTOSYNTHETIC
PERFORMANCE BY SELENIUM AND IODINE IN RASPBERRY SEEDLINGS
EXPOSED TO HIGH TEMPERATURES⁴**

Carlos Henrique Milagres Ribeiro

<https://orcid.org/0000-0003-0850-4070>

Everton Geraldo de Moraes

<https://orcid.org/0000-0001-6419-6282>

Anyela Pierina Vega Quispe

<https://orcid.org/0000-0003-4169-5702>

Pedro Antônio Namorato Benevenuto

<https://orcid.org/0000-0002-1267-3865>

Jucelino de Sousa Lima

<https://orcid.org/0000-0002-5138-6180>

Rafael Pio

<https://orcid.org/0000-0003-3730-8191>

Luiz Roberto Guimarães Guilherme

<https://orcid.org/0000-0002-5387-6028>

Paulo Eduardo Ribeiro Marchiori

<https://orcid.org/0000-0001-9767-9336>

Antônio Chalfun-Junior

<https://orcid.org/0000-0002-1794-9429>

Leônidas Santos Canuto

<https://orcid.org/0000-0002-0385-4736>

Resumo: Este estudo teve como objetivo melhorar a tolerância ao calor de mudas de framboeseira por meio da aplicação foliar de Selênio (Se) e iodo (I). O delineamento

⁴ Artigo científico apresentado à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, área de concentração em Produção Vegetal.

experimental foi inteiramente casualizado, com nove tratamentos resultantes da combinação de três doses de Se (0, 25 e 50 mg L⁻¹) e três de I (0, 50 e 100 mg L⁻¹), aplicados isoladamente e em combinação, em mudas de framboeseira ‘Heritage’. Uma semana após a aplicação dos tratamentos, as mudas foram expostas a condições controladas de 40/18 °C (dia/noite) por três dias. Durante e após a exposição, foram avaliadas respostas fisiológicas, bioquímicas e fotossintéticas. Os resultados indicaram que as combinações intermediárias de Se e I, especialmente os tratamentos com 25 mg L⁻¹ de Se + 50 ou 100 mg L⁻¹ de I, promoveram maior conteúdo relativo de água, redução nos níveis de H₂O₂ e ativação do sistema antioxidante (SOD e CAT), além de favorecerem o acúmulo de compostos osmoprotetores (prolina, açúcares solúveis e aminoácidos livres). Esses tratamentos também contribuíram para a preservação da integridade fotossintética, com maiores valores de Fv/Fm, rendimento quântico efetivo (Yield) e coeficiente de dissipação fotoquímica (qP), mesmo após o estresse. A análise de componentes principais (PCA) reforçou a correlação entre os tratamentos mais eficazes e os mecanismos associados à tolerância térmica. Conclui-se que a aplicação foliar de Se e I em doses moderadas pode ser uma estratégia eficaz para mitigar os efeitos do estresse térmico em framboesiras, com implicações práticas no manejo nutricional e na adaptação da cultura às mudanças climáticas.

Palavras-chave: *Rubus idaeus*; estresse abiótico; antioxidantes; tolerância ao calor; fotossíntese.

Abstract: Heat stress is one of the main limiting factors for raspberry cultivation in tropical and subtropical regions. Research has shown that the application of beneficial elements such as selenium (Se) and iodine (I) can mitigate this type of stress. In this context, this study aimed to improve heat tolerance in raspberry seedlings of the ‘Heritage’ cultivar through foliar application of Se and I. The experimental design was completely randomized, with nine treatments resulting from the combination of three Se doses (0, 25, and 50 mg L⁻¹) and three I doses (0, 50, and 100 mg L⁻¹), applied individually and in combination. One week after treatment application, seedlings were exposed to controlled conditions of 40/18 °C (day/night) for three days. During and after exposure, physiological, biochemical, and photosynthetic responses were evaluated. The results indicated that intermediate combinations of Se and I, especially treatments with 25 mg L⁻¹ Se + 50 or 100 mg L⁻¹ I, promoted higher relative water content, reduced H₂O₂ levels, and activated the antioxidant system (SOD and CAT), in addition to enhancing the accumulation of osmoprotectants (proline, soluble sugars, and free amino acids). These treatments also contributed to the preservation of photosynthetic integrity, with higher values of Fv/Fm, effective quantum yield (Yield), and photochemical quenching coefficient (qP), even after stress. Principal component analysis (PCA) reinforced the correlation between the most effective treatments and mechanisms associated with heat tolerance. It is concluded that foliar application of Se and I at moderate doses can be an effective strategy to mitigate the effects of heat stress in raspberries, with practical implications for nutritional management and crop adaptation to climate change.

Keywords: *Rubus idaeus*; abiotic stress; antioxidants; heat tolerance; photosynthesis.

1 INTRODUÇÃO

A framboesa (*Rubus idaeus* L.), pertencente à família *Rosaceae*, é uma planta de clima temperado. É considerada uma das mais cultivadas e comercializadas mundialmente, com a sua crescente demanda tanto para consumo ao natural quanto para a indústria (Medina *et al.*, 2024). De acordo com dados da FAO (2023), os principais produtores mundiais são, Rússia (219, 38 mil toneladas), México (190,41 mil toneladas) e Sérvia (98,67 mil toneladas) (Medina *et al.*, 2024; Leonel *et al.*, 2025).

Além de seu valor econômico, a framboesa é reconhecida por suas propriedades nutricionais e funcionais, sendo rica em compostos bioativos, como antocianinas, compostos fenólicos, flavonoides e vitamina C (De Moraes Fagundes *et al.*, 2024). Esses compostos exercem efeitos antioxidantes, anti-inflamatórios e cardioprotetores, tornando o consumo da fruta benéfico para a saúde humana (Araujo *et al.*, 2024).

Devido à sua origem em regiões de clima temperado, o cultivo da framboeseira em ambientes subtropicais e tropicais necessita de práticas agronômicas específicas, sobretudo durante a fase inicial de implantação em campo, quando as mudas são mais suscetíveis a estresses ambientais (Silveira *et al.*, 2023). Altas temperaturas, elevada radiação solar e baixa umidade relativa podem comprometer o estabelecimento das plantas, sendo necessário, atenção quanto à escolha da época de plantio, sombreamento, irrigação e outras práticas que favoreçam a adaptação das mudas ao novo ambiente (Aguilar *et al.*, 2025).

Entre os fatores abióticos, que acarretam perdas durante a fase de estabelecimento de mudas no campo, destaca-se o estresse térmico, o qual representa um dos principais desafios enfrentados na implantação de frutíferas de clima temperado em regiões de maior amplitude térmica (Osorio-Marín *et al.*, 2024). A exposição a temperaturas elevadas provoca alterações fisiológicas e bioquímicas nas plantas, como, redução da taxa fotossintética, desorganização de membranas celulares, degradação de clorofilas e acúmulo de espécies reativas de oxigênio (EROs), causando assim danos oxidativos (Łysiak *et al.*, 2023; Roussos, 2024). Essas alterações comprometem o crescimento, a atividade enzimática, e em alguns casos, até a sobrevivência das mudas, afetando diretamente o sucesso do estabelecimento e a produtividade da cultura a longo prazo (Osorio-Marín *et al.*, 2024; Aguilar *et al.*, 2025).

Pesquisas vêm demonstrando que a aplicação de micronutrientes em frutíferas e hortaliças vem promovendo melhorias na eficiência fotossintética, reduzem a geração de EROs e aumentam a atividade do sistema antioxidante, contribuindo para maior tolerância ao calor e melhor desenvolvimento inicial das plantas em frente a estresses abióticos (Behera *et al.*, 2025).

O Se, mesmo não sendo considerado um elemento essencial para plantas, pode atuar como modulador do sistema antioxidante, promovendo a síntese de enzimas como superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e peroxidase do ascorbato (APX), além de contribuir para a proteção das estruturas celulares contra o estresse oxidativo (Khan *et al.*, 2023). O I, tem demonstrado efeitos na indução de defesas antioxidantes, melhoria da atividade fotossintética e na manutenção da integridade celular, sendo considerado um elemento funcional promissor para o cultivo de diversas espécies vegetais sob condições adversas (Riyazuddin *et al.*, 2023).

A aplicação foliar de Se e I, de forma isolada ou combinada, pode representar uma estratégia eficiente na mitigação dos efeitos do estresse térmico em mudas (Duborská *et al.*, 2022). No entanto, ainda são escassos os estudos que avaliem essa estratégia em framboeseiras, especialmente sob condições tropicais.

Diante disso, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de diferentes doses de Se e I na tolerância ao estresse térmico em mudas de framboeseira.

2 METODOLOGIA

O experimento foi realizado em casa de vegetação do Departamento de Ciência do Solo da Universidade Federal de Lavras (UFLA), localizada no município de Lavras – MG, a uma altitude de 918 m, nas coordenadas 21° 75' de latitude Sul e 45° 00' de longitude Oeste. Segundo a classificação de Köppen (Geiger *et al.*, 1936), o clima da região é do tipo Cwb, temperado suave (mesotérmico) ou tropical de altitude, caracterizado com invernos secos e verões chuvosos, com temperatura média diurna de 25°C e noturna de 15°C, com umidade relativa de 57% de umidade.

Foram utilizadas plantas da cultivar de framboeseira 'Heritage', obtidas por propagação via estacas radiculares, conforme a metodologia descrita por Tadeu *et al.* (2012). As mudas apresentavam altura média de $26,0 \pm 0,5$ cm, 10 a 12 folhas totalmente expandidas e diâmetro de caule de $3,0 \pm 0,2$ mm. As plantas foram cultivadas em sacos plásticos com capacidade de 2,5 L, contendo substrato comercial à base de casca de pinus, enriquecido com fertilizante de liberação lenta (Basacot[®], 9 meses), na dose de 4g por recipiente. A irrigação foi realizada diariamente para manter o substrato na capacidade de campo, evitando déficits ou excessos hídricos, conforme condições recomendadas para a aclimatização de mudas destinadas ao campo.

Para aplicação dos tratamentos, as plantas foram alocadas em uma câmara de pulverização, a fim de evitar a contaminação durante a aplicação. Foram utilizadas diferentes

doses de Se (0, 25 e 50 mg L⁻¹) e doses de I de 0, 50 e 100 mg L⁻¹, combinadas com óleo mineral a 0,20% v/v. Os tratamentos foram aplicados isoladamente ou em combinação, conforme apresentado na Tabela 1. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 3 repetições.

Tabela 1. Descrição dos tratamentos utilizados em mudas de framboeseira.

Tratamento	Se	I
	mg L ⁻¹	
T0 (sem estresse)	-	-
T1	0	0
T2	0	50
T3	0	100
T4	25	0
T5	25	50
T6	25	100
T7	50	0
T8	50	50
T9	50	100

As fontes utilizadas foram o selenato de sódio (Na₂SeO₄, grau de reagente, Sigma-Aldrich) como fonte inorgânica de Se, o iodato de potássio (KIO₃, grau de reagente, Synth) como fonte de I.

Uma semana após a aplicação foliar, as plantas foram transferidas para câmaras de crescimento (modelo Conviron PGC Flex-1, Canadá), onde permaneceram por três dias sob condições controladas: temperatura diurna de 40 °C (fotoperíodo de 12 h, umidade relativa de 45%, intensidade luminosa de 260 µmol m⁻² s⁻¹) e temperatura noturna de 18°C, com umidade relativa de 65%.

Após 1 dia do estresse térmico, seis folhas expandidas foram utilizadas para medir a fluorescência da clorofila usando o equipamento MINI-PAM-II Photosynthesis Yield Analyzer (Heinz Walz GmbH, Alemanha). As medições ocorreram no período da manhã (08:00 - 10:00 h), em folhas totalmente expandidas e aclimatadas à luz. Os dados coletados na análise de MINI-PAM foram: Fv/Fm Eficiência quântica máxima do PSII, F0: Fluorescência mínima medida quando todos os centros de reação do PSII estão abertos, Yield: Rendimento quântico efetivo do PSII em condições adaptadas à luz, Y(NPQ): Rendimento do componente regulado da dissipação não fotoquímica de energia, Y(NO): Rendimento do componente não regulado da dissipação não fotoquímica de energia, qL: Coeficiente de extinção fotoquímica baseado no modelo do estado de ocupação dos centros de reação, qP: Coeficiente de extinção fotoquímica,

qN: Coeficiente de extinção não fotoquímica; NPQ: Extinção não fotoquímica; ETR (Taxa de transporte de elétrons): Taxa de transporte de elétrons através do PSII durante a fotossíntese, PAR (Radiação Fotossinteticamente Ativa): Radiação fotossinteticamente ativa no intervalo de comprimento de onda de 400 a 700 nm.

As folhas utilizadas no MINI-PAM, foram imediatamente divididas ao meio. Uma parte foi usada para determinar o conteúdo relativo de água (CRA) segundo Barrs e Weatherley (1962), utilizando discos foliares pesados nas etapas de massa fresca, túrgida (após 24 h em água) e seca (estufa a 65 °C), aplicando-se a fórmula:

$$CRA = \{[\text{Peso fresco (g)} - \text{Peso seco (g)}] / [\text{Peso túrgido (g)} - \text{Peso seco (g)}]\} \times 100 \quad [\text{Eq.1}]$$

A outra metade das folhas foi imediatamente congelada em nitrogênio líquido e armazenada a -80 °C para análises futuras. As análises bioquímicas incluíram quantificação de: teores de sacarose, amido, açúcares solúveis totais (AST), açúcares redutores (AR), prolina, aminoácidos livres, proteínas, teores de clorofila a e b, carotenoides, peróxido de hidrogênio (H₂O₂), peroxidação lipídica (MDA) e a atividade de enzimas antioxidantes (dismutase do superóxido (SOD), peroxidase do ascorbato (APX), catalase (CAT) e peroxidase (POD)).

Para a realização das análises do teor de clorofila, carotenoides e osmoprotetores (prolina, açúcares), peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e malondialdeído (MDA), foram realizadas a partir da extração etanólica. Para isso, foram utilizados 50 mg de tecido fresco e congelado (-80°C) adicionados em microtubos. Foram adicionados 350 µL de etanol 100% em cada microtubo, sendo as amostras colocadas em seguida em banho-maria a 70 - 75°C por 20 min. Após esse período, as amostras foram centrifugadas a 14.000 g a 4°C por 5 min. O sobrenadante foi cuidadosamente coletado, e duas novas extrações sequenciais foram realizadas, seguindo o mesmo processo mencionado anteriormente, modificando somente a concentração de etanol utilizada (etanol 80% e etanol 50%, respectivamente, para a segunda e terceira extração sequencial). Todo o sobrenadante coletado (extrato etanólico) foi armazenado a -20°C para futuras determinações. Todos os procedimentos seguiram o protocolo descrito por López-Hidalgo et al. (2021).

Na análise de clorofila *a*, clorofila *b* e carotenoides, 25 µL do extrato etanólico foi colocado em microplacas e então adicionado 145 µL de etanol 100%. Em sequência foi realizado leituras de absorbância em 647, 623 e 450 nm. De acordo com os valores de absorbância e a massa fresca (MF) dos tecidos foliares usadas na extração, os teores de clorofila *a*, clorofila *b* e carotenoides foram determinados conforme as equações 2, 3 e 4:

$$\text{Clorofila } a = \{[13,36 \times \text{Abs } 647] - [5,19 \times \text{Abs } 623]\} / \text{MF (g)} \quad [\text{Eq.2}]$$

$$\text{Clorofila } b = \{[27,43 \times \text{Abs } 623] - [8,12 \times \text{Abs } 647]\} / \text{MF (g)} \quad [\text{Eq.3}]$$

$$\text{Carotenoides} = (\{[1000 \times \text{Abs } 450] - 2,13 \times \text{Clor.a}\} - [97,63 \times \text{Clor.b}]) / 209 / \text{MF (g)} \quad [\text{Eq.4}]$$

Para a determinação da peroxidação lipídica, foi determinado o conteúdo de malonaldeído (MDA). Para isso, foram adicionados em microtubos, 250 µL do extrato etanólico e 250 µL da solução de ácido tricloroacético (20%) e ácido tiobarbitúrico (0,5%). Após isso, os microtubos foram colocados em banho-maria a 95°C por 30 minutos. Em seguida, as amostras foram colocadas em gelo e centrifugadas a 3000 g por 10 minutos, a 4°C. Posteriormente, 150 µL das amostras foram pipetados em duplicata em microplaca sendo realizadas leituras de absorbância a 532 e 600 nm e os valores de MDA foram calculados a partir destes (Heath; Packer, 1968). No extrato etanólico, o conteúdo de H₂O₂ foi determinado através da reação com iodeto de potássio e leituras realizadas a 390 nm (Alexieva *et al.*, 2001).

No extrato etanólico, também foi determinada a quantidade de AR determinada pelo método DNS (Miller, 1959). Inicialmente, foram adicionados em microtubos 50 µL do extrato etanólico, 100 µL de água destilada e 100 µL da solução DNS. Os tubos foram então colocados em banho-maria a 100°C por 5 minutos. Em seguida, as amostras foram resfriadas e o volume foi completado para 1000 µL, e novas leituras em duplicata da absorbância a 620 nm foram realizadas. O teor AST foi determinado pelo método da antrona (Chow; Landhausser, 2004), quando foram adicionados 10 µL do extrato etanólico em um microtubo, juntamente com 320 µL de água destilada e 670 µL de antrona. Os microtubos foram então colocados em banho-maria a 100°C por 3 minutos. Após o resfriamento das amostras, foram realizadas leituras em duplicata na absorbância a 620 nm. Para a extração de sacarose, em um microtubo foi adicionado 25 µL do extrato etanólico e 25 µL de uma solução de KOH 30%, e em seguida foram levados para banho-maria a 40°C por 15 minutos. Para a determinação de sacarose, em um microtubo, em 50 µL do extrato produzido na etapa anterior foi adicionado 280 µL de água destilada e 670 µL de antrona, e levado para banho-maria a 100°C por 3 minutos. Após isso, foi feito o resfriamento das amostras, e em duplicata foram realizadas leituras de absorbância a 620 nm.

A determinação da quantidade de aminoácidos solúveis foi realizada misturando em um microtubo 50 µL de tampão citrato de sódio, 50 µL do extrato etanólico e 100 µL de ninidrina (ninidrina 1% em etanol 70%). As amostras foram então levadas para banho-maria a 95°C por 20 minutos e após o resfriamento das amostras, foi realizada a leitura de absorbância na faixa de 550/570 nm. A determinação de prolina também foi realizada pelo método da Ninidrina. Para isso, em 50 µL do extrato etanólico foi pipetado 100 µL do mix de reação (ninidrina 1%

em ácido acético 60% e etanol 20%). Em seguida, as amostras foram incubadas em banho-maria a 95°C por 20 minutos. Após o resfriamento das amostras, estas foram centrifugadas por 1 minuto a 2500 g e realizada a leitura da absorbância das amostras em 520 nm.

No pellet formado após a extração etanólica e retirada do sobrenadante, foi realizada a extração de proteínas. Para isso, foram adicionados 350 µL de etanol 100% no microtubo contendo o pellet. Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 14.000 g a 4°C por 10 minutos, então o sobrenadante foi descartado e novamente as amostras foram centrifugadas por 5 minutos para retirar o restante do álcool. Após isso, foi adicionado 400 µL de solução de NaOH 0,1M e as amostras foram levadas para banho-maria a 75-80°C por 60 minutos. Após esse período, as amostras foram resfriadas e a quantificação de proteína foi realizada pelo método de Bradford (1976).

Após a quantificação de proteína, no mesmo microtubo da etapa anterior (sobrenadante + pellet) foi realizada a extração de amido, adicionando-se e misturando 70 µL de ácido acético 1M, após foi adicionado 100 µL da solução de degradação (amiloglucosidase + tampão acetato de potássio 200 mM com pH ajustado para 4,8). Em seguida, as amostras foram incubadas em banho maria a 40°C por 120 minutos e a quantificação da quantidade amido foi realizada pelo método da antrona (Chow; Landhausser, 2004).

A determinação da atividade enzimática envolveu a maceração de 0,20 g de massa fresca em nitrogênio líquido, seguida da adição de 1,5 mL de uma solução tampão (0,1 mol L⁻¹ de fosfato de potássio pH 7,8, 0,1 mol L⁻¹ de EDTA pH 7,0, 0,5 mol L⁻¹ de DTT, 0,1 mol L⁻¹ de PMSF, 1 mmol L⁻¹ de ácido ascórbico e 22 mg de PVPP). Após centrifugação a 13.000 × g por 10 minutos a 4 °C, o sobrenadante foi coletado.

A atividade da SOD foi determinada no sobrenadante conforme Beauchamp e Fridovich (1971). Alíquotas do sobrenadante foram transferidas para tubos de ensaio protegidos da luz contendo tampão fosfato de potássio 50 mmol L⁻¹ a pH 7,8, suplementado com 0,1 mmol L⁻¹ de EDTA, 13 mmol L⁻¹ de L-metionina e 750 µmol L⁻¹ de nitroblue tetrazolium (NBT). A reação foi iniciada com a adição de 2 mmol L⁻¹ de riboflavina, e os tubos foram rapidamente transferidos, sem proteção contra a luz, para uma câmara iluminada por uma lâmpada de 30 watts (30 µmol fótons m⁻² s⁻¹) por 7 minutos. A reação foi interrompida pelo desligamento da luz, seguida pela leitura da absorbância a 560 nm. A atividade enzimática foi deduzida a partir da inibição do NBT, sendo que uma unidade de atividade correspondeu à quantidade de enzima necessária para inibir 50% de sua redução.

Para a determinação da atividade da APX, alíquotas do sobrenadante foram adicionadas a uma mistura reacional contendo 2,7 mL de tampão fosfato de potássio 50 mmol L⁻¹ (pH 6,0)

com 0,5 mmol L⁻¹ de ácido L-ascórbico (Nakano; Asada, 1981). A reação foi iniciada com 0,2 mL de H₂O₂ 30 mmol L⁻¹, e a diminuição da absorbância a 290 nm foi monitorada em espectrofotômetro durante 120 segundos, com intervalos de 30 segundos. A atividade da APX foi calculada usando o coeficiente de extinção molar de 2,8 mmol L⁻¹ cm⁻¹ para o ascorbato a 290 nm.

Para a determinação da atividade da peroxidase (POD), a solução reacional continha 100 µL de H₂O₂ 30 mmol L⁻¹, 100 µL de guaiacol e 100 µL de extrato enzimático (sobrenadante) em 2,7 mL de tampão fosfato de sódio. O escaneamento temporal da absorbância das amostras de POD foi registrado (0 – 60 s) a 470 e 240 nm em espectrofotômetro (Chance; Maehly, 1955). A atividade da catalase (CAT), baseada no consumo de H₂O₂ (Azevedo et al., 1998), foi determinada em meio reacional contendo tampão fosfato de potássio 100 mmol L⁻¹ (pH 7,0), H₂O₂ 12,5 mmol L⁻¹, água e extrato enzimático (sobrenadante). A atividade foi monitorada pela diminuição da absorbância a 240 nm por dois minutos, incubada a 28 °C.

Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o software R, por meio dos pacotes *stats*, *agricolae*, *corrplot*, *factoextra*, *FactoMineR* e *Metrics* (Lê et al., 2008; Wei et al., 2017; Mendiburu, 2020; Kassambara; Mundt, 2020; R Core Team, 2022). As premissas básicas da análise de variância (normalidade, homocedasticidade, aditividade e independência dos resíduos) foram testadas e atendidas e, quando houve significância pelo teste F ($p < 0,05$), as médias dos tratamentos para as variáveis avaliadas foram agrupadas pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). A análise de componentes principais (PCA) foi realizada para avaliar a relação entre as variáveis em cada fase de estresse conduzida.

3 RESULTADOS

A aplicação foliar de Se e I influenciaram no conteúdo relativo de água (CRA) das mudas de framboesa submetidas ao estresse térmico (Figura 1), sendo observado que os tratamentos T6, T7, T8 e T9, apresentaram os maiores valores de CRA (acima de 75%), já os tratamentos T3, T3 e T5, obtiveram valores inferiores aos demais tratamentos (CRA abaixo de 50%) demonstrando uma menor retenção hídrica nas folhas.

Não houve diferença entre os tratamentos na variável MDA. Já em relação ao peróxido de hidrogênio (H₂O₂), os tratamentos T3 e T5, obtiveram maiores médias quando comparado aos demais. Os demais tratamentos mantiveram níveis inferiores e estatisticamente semelhantes

entre si, indicando uma possível atenuação do acúmulo de H_2O_2 com doses mais elevadas de Se, mesmo em diferentes concentrações de I.

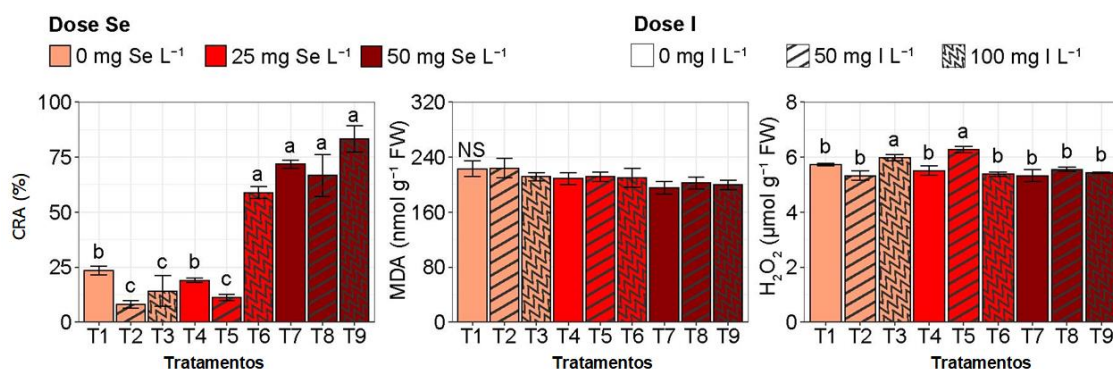


Figura 1. Efeito da aplicação de iodo (I) e selênio (Se) em diferentes concentrações sobre o conteúdo relativo de água (CRA), malondialdeído (MDA) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2) durante o estresse por calor. Letras diferentes representam diferenças estatísticas ($p < 0,05$) entre os tratamentos avaliados.

Os maiores teores de clorofila a (Chl a), clorofila b (Chl b) e carotenoides (Carot) (Figura 2), foram observados no tratamento T9, enquanto os menores valores foram no T1, demonstrando um efeito positivo das doses mais elevadas dos micronutrientes na preservação dos pigmentos sob estresse térmico.

Com relação aos açúcares, os açúcares solúveis totais (TSS) (Figura 2), os tratamentos que apresentaram maiores valores foram, T1, T2, T5, T6, T7 e T9, os quais não diferiram significativamente entre si. Os demais tratamentos apresentaram menores valores. Para sacarose (Figura 2), os maiores teores foram observados nos tratamentos T5 e T9, enquanto os demais tratamentos apresentaram menores teores. Da mesma forma, os açúcares redutores (RS) foram mais elevados nos tratamentos T5 e T9, sendo estatisticamente superiores aos demais, que não diferiram entre si (Figura 2).

Não houve diferença significativa entre os tratamentos para o teor de amido (Figura 2), indicando que esse parâmetro não foi influenciado pelas aplicações de Se e I nas condições de estresse térmico avaliadas.

Para os aminoácidos livres totais (TFAA), os maiores teores foram observados nos tratamentos T2 e T5, enquanto os menores valores foram registrados nos tratamentos T3, T6, T7, T8 e T9 (Figura 2). Quanto à prolina (Figura 2), os tratamentos T2, T4, T5 e T6 apresentaram os maiores teores, indicando possível acúmulo osmoprotetor associado ao estresse, entretanto, os demais tratamentos (T1, T3, T7, T8 e T9) apresentaram os menores teores.

A concentração de proteínas solúveis (Figura 2) foi maior nos tratamentos T1, T8 e T9, enquanto os menores valores foram registrados nos tratamentos T5, T6 e T7, demonstrando que aplicações intermediárias de Se e I podem reduzir a síntese ou acúmulo de proteínas.

Com relação ao parâmetro SOD, o tratamento T6 obteve resultado superior aos demais, já os tratamentos T8 e T9, obtiveram o menor valor. (Figura 2). Já para a CAT, os maiores valores foram encontrados nos tratamentos T2, T4, T5 e T7, destacando a contribuição dessas combinações na proteção antioxidante, já o menor valor de foi no tratamento T9 (Figura 2).

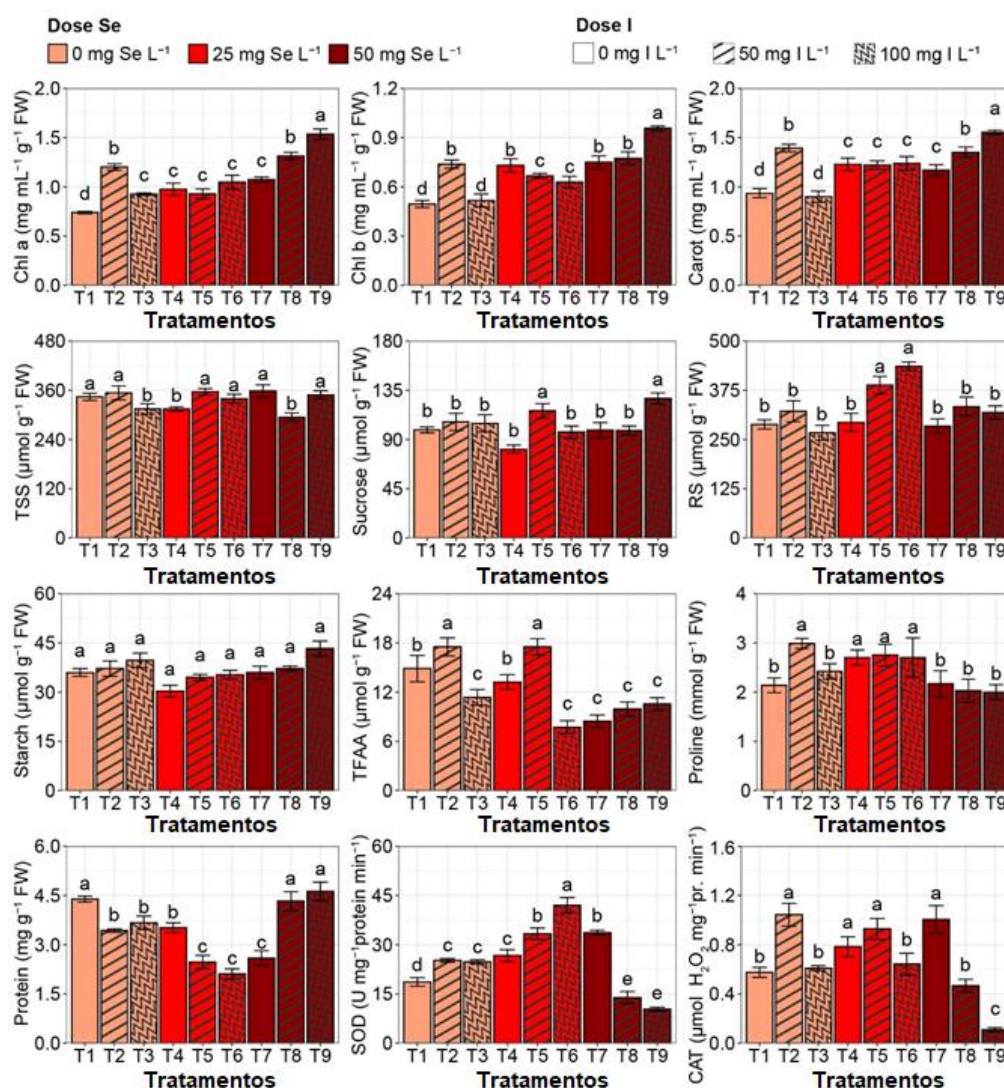


Figura 2. Efeito da aplicação de iodo (I) e selênio (Se) em diferentes concentrações sobre os teores de água da clorofila a, b e carotenoides (carot), açúcares solúveis totais (TSS), sacarose (sucrose), açúcares redutores (RS), amido (starch), aminoácidos livres totais (TFAA), prolina (proline), proteína (protein) e atividade antioxidante específica da superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT: $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ mg}^{-1} \text{ proteína min}^{-1}$) durante o estresse por calor. Letras diferentes representam diferenças estatísticas ($p < 0,05$) entre os tratamentos avaliados.

A razão F_v/F_m , que representa a eficiência quântica máxima do fotossistema II (PSII), variou significativamente entre os tratamentos (Figura 3). Os maiores valores foram observados nos tratamentos T3, T4, T5, T6, T8 e T9, enquanto os menores foram em T1, T2 e T7. O parâmetro F_o foi mais elevado nos tratamentos T1, T2, T7, T8 e T9, enquanto os tratamentos T3 e T4, apresentaram resultado inferior aos demais (Figura 3).

A eficiência quântica efetiva do PSII (Φ_{PSII}) (Figura 3), foi maior no tratamento T5, já os tratamentos T2 e T3 obtiveram o menor valor, indicando que a fotossíntese operacional foi beneficiada pela aplicação combinada de Se e I, especialmente na dose de $25 \text{ mg L}^{-1} \text{ Se} + 50 \text{ mg L}^{-1} \text{ I}$ (T5). Não houve diferença entre os tratamentos com relação à variável $Y(\text{NO})$ (Figura 3).

A dissipação térmica via quenching não fotoquímico (NPQ) (Figura 3) apresentou os maiores valores nos tratamentos T1, T2 e T4, enquanto os demais apresentaram resultado inferior, reforçando que a aplicação com Se e I contribuiu para menor estresse sobre os fotossistemas, reduzindo a necessidade de dissipação térmica excessiva. Já o parâmetro q_L , os tratamentos que apresentaram maiores valores foram, T5, T6 e T7, já os outros não se diferenciam entre si (Figura 3).

A eficiência de abertura dos centros de reação do PSII (q_P) foi mais elevada nos tratamentos T5 e T8, já os menores valores foram aos tratamentos T2 e T3 (Figura 3). Esses resultados indicam que as combinações com doses maiores de Se e I contribuíram para manter mais centros de reação ativos, mesmo sob alta temperatura. O quenching não fotoquímico dependente de estados escuros (q_N) (Figura 3), foi mais alto nos tratamentos T1, T2, T3, T4, T7, T8, enquanto os menores foram nos tratamentos T5, T6 e T9.

Com relação ao coeficiente de dissipação de energia por recombinação no estado estacionário (Φ_{NPQ}), na taxa de transporte de elétrons (ETR) e na radiação fotossinteticamente ativa absorvida (PAR), não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos, sugerindo que a intensidade luminosa foi uniforme entre os tratamentos e que a taxa absoluta de transporte eletrônico não foi sensível ao efeito dos tratamentos.

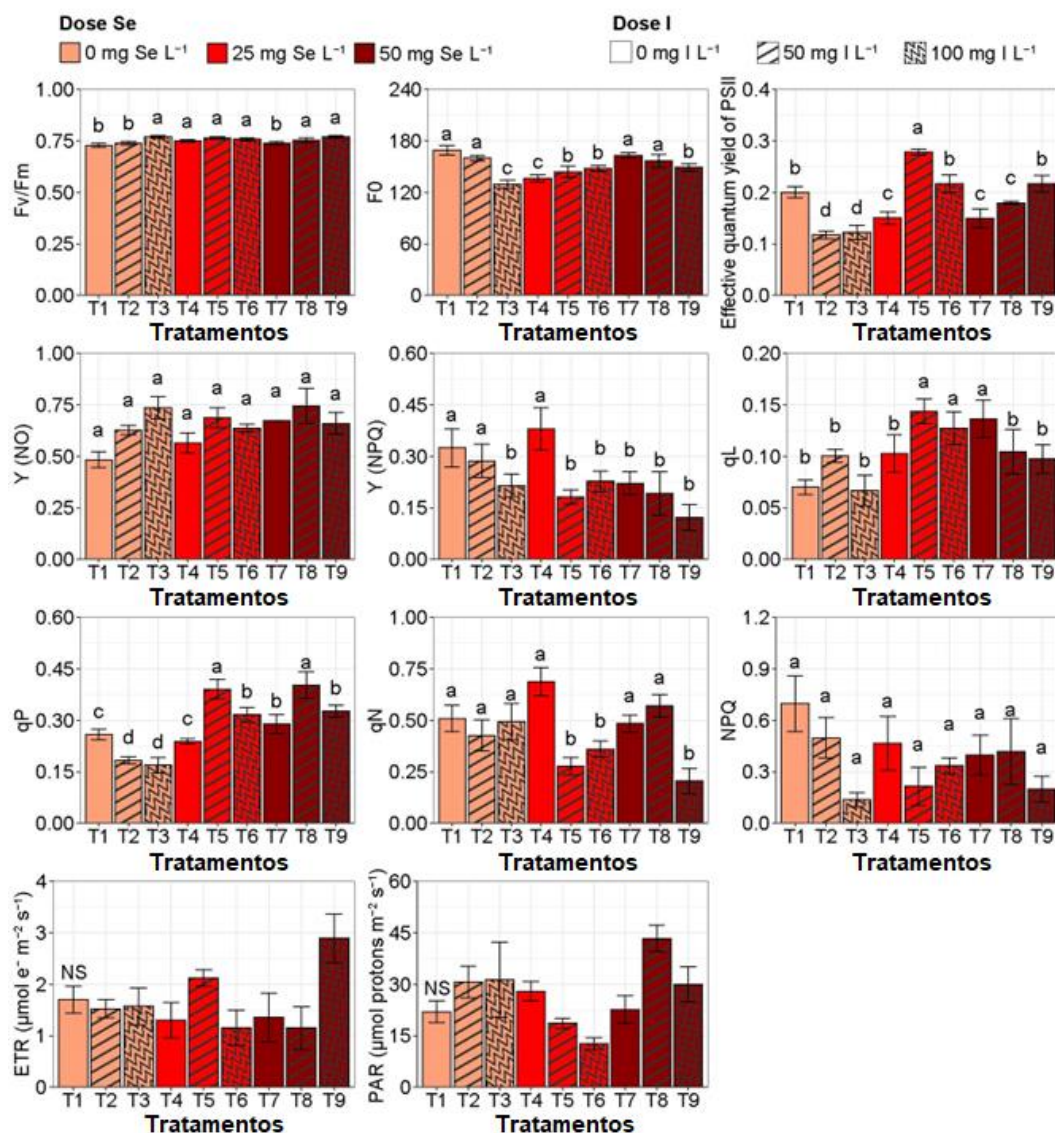


Figura 3. Efeito da aplicação de iodo (I) e selênio (Se) em diferentes concentrações na análise MINI-PAM durante estresse por calor. Fv/Fm: Eficiência quântica máxima do PSII. Letras diferentes representam diferenças estatísticas ($p < 0,05$) entre os tratamentos avaliados.

Após a exposição ao estresse térmico, os teores de MDA não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos avaliados (Figura 4), indicando que, apesar do estresse imposto, os danos por peroxidação lipídica se mantiveram em níveis similares entre as plantas tratadas ou não com Se e I. Por outro lado, os níveis de H₂O₂ variaram significativamente entre os tratamentos (Figura 4). Os maiores teores de H₂O₂ foram observados nos tratamentos T1, T7 e T9, indicando uma menor eficiência antioxidante nesses grupos. Em contrapartida, os tratamentos T2, T3 e T6 apresentaram as menores concentrações de H₂O₂, sugerindo que a

aplicação de I isoladamente, ou a combinação de doses moderadas de Se com I em níveis mais altos, favoreceu a atenuação do estresse oxidativo induzido pelo calor (Figura 4).

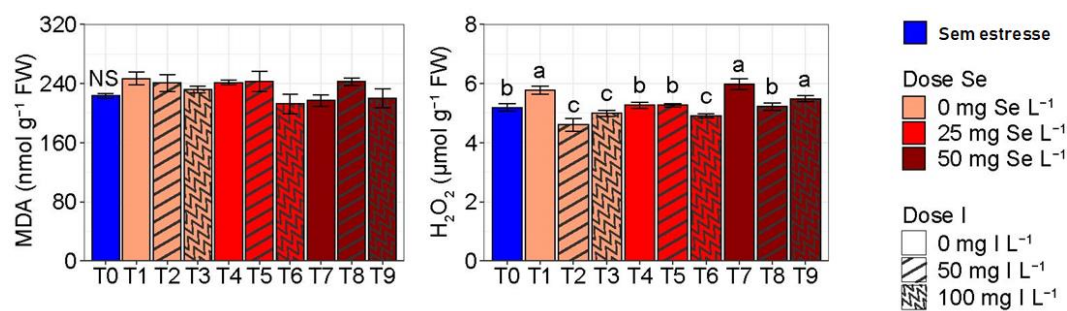


Figura 4. Efeito da aplicação de iodo (I) e selênio (Se) em diferentes concentrações sobre malondialdeído (MDA) e peróxido de hidrogênio (H₂O₂) após estresse por calor. Letras diferentes representam diferenças estatísticas ($p < 0,05$) entre os tratamentos avaliados.

Em relação aos teores de clorofila *a* e o teor de clorofila *b* (Figura 5), os tratamentos que apresentaram maiores médias foram, os tratamentos T2 e o T3, enquanto os demais não diferiram entre si e apresentaram menores médias. Para os carotenoides (Figura 5), os tratamentos T2 e T3, também apresentaram resultado superior aos demais, já as menores médias foram observadas nos tratamentos T0, T4, T5, T6, T7 e T8.

Na avaliação dos teores de açúcares solúveis totais (TSS) (Figura 5), o tratamento que apresentou a maior média foi o T7, enquanto os menores valores foram nos tratamentos T0, T1, T2, T3, T4, e T6. O tratamento T7, também proporcionou maior teor de sacarose (Figura 5), já o tratamento T0 apresentou o resultado inferior aos demais.

O conteúdo de açúcares redutores (RS) (Tabela 5), foi significativamente superior no tratamento T2, enquanto os menores valores foram verificados nos tratamentos T0, T5 e T8. No teor de amido (starch), os tratamentos T1, T2, T4 e T7 apresentaram os maiores valores, enquanto o tratamento T0 apresentou o menor teor (Figura 5).

Os tratamentos T0, T1, T2, T3, T4, T7, T8 e T9, apresentaram maiores médias no teor de aminoácidos livres totais (TFAA), já o tratamento T5 obteve resultado inferior aos demais (Figura 5). Quanto ao teor de prolina, os tratamentos T6 e T7 apresentaram as maiores médias, enquanto os demais tratamentos apresentaram valores significativamente inferiores (Figura 5).

Em relação ao conteúdo de proteína, os tratamentos T2, T3, T4, T5, T7 e T9 apresentaram os maiores teores, enquanto os menores valores foram observados nos tratamentos T0, T1, T6 e T8 (Figura 5).

A atividade da SOD (Figura 5), obteve maiores médias no tratamento T6, já os menores valores foram nos tratamentos T0, T1, T8 e T9. Com relação à atividade CAT, os tratamentos

que apresentaram resultados superiores aos demais tratamentos foram, T0, T5, T6, T7 e T8. O tratamento T9 apresentou a menor média para essa enzima antioxidante (Figura 5).

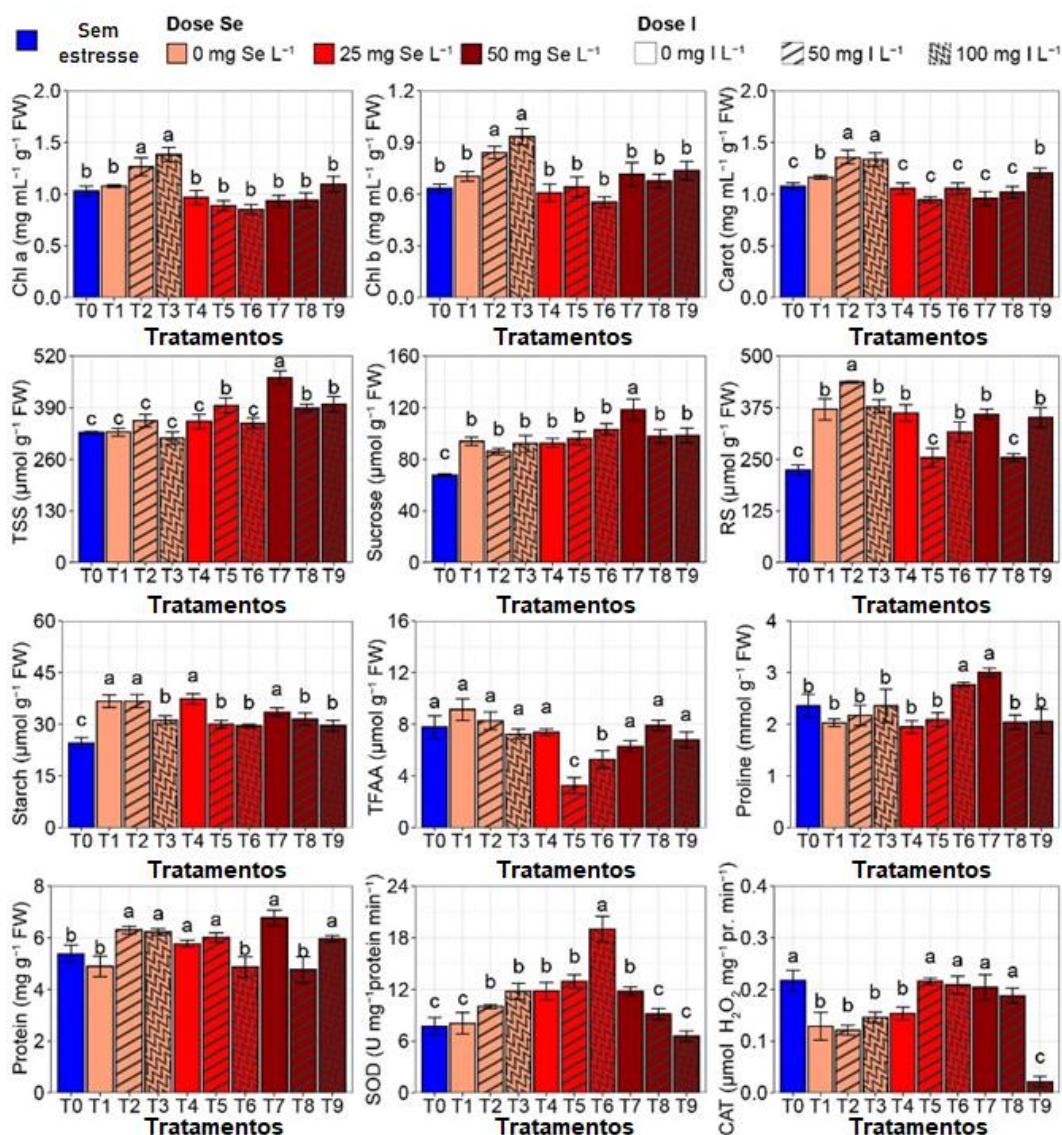


Figura 5. Efeito da aplicação de iodo (I) e selênio (Se) em diferentes concentrações sobre os teores de água da clorofila a, b e carotenoides (carot), açúcares solúveis totais (TSS), sacarose (Sucrose), açúcares redutores (RS), amido (Starch), aminoácidos livres totais (TFAA), prolina (proline), proteína (proteín) e atividade antioxidante específica da superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT: $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ mg}^{-1} \text{ proteína min}^{-1}$) após estresse por calor. Letras diferentes representam diferenças estatísticas ($p < 0,05$) entre os tratamentos avaliados.

Os maiores valores de eficiência quântica máxima do fotossistema II (F_v/F_m), foram nos tratamentos T4, T5, T6, T7, indicando menor dano fotoquímico ao aparato fotossintético. Já os demais tratamentos apresentaram resultado inferior aos demais (Figura 6).

Para a fluorescência inicial (F_0), os tratamentos que apresentaram maiores médias foram T0, T1, T2, T3, T5, T6 e T9, enquanto o tratamento T8 apresentou o menor valor entre os avaliados (Figura 6).

Com relação à eficiência quântica efetiva do PSII (Φ_{PSII}) (Figura 6), os tratamentos T0, T4, T5 e T7 obtiveram resultado superior aos demais, demonstrando uma maior capacidade de uso da energia luminosa para reações fotoquímicas sob estresse, já os demais tratamentos apresentaram resultados inferiores aos demais.

Na dissipação basal de energia Y (NO), os tratamentos T0, T1, T2, T3, T5, T6 e T9 apresentaram os maiores valores, sugerindo maior proporção de energia dissipada de forma não regulada nesses grupos, já os tratamentos T4, T7, T8, obtiveram resultado superior aos demais (Figura 6). No parâmetro de dissipação térmica regulada Y(NPQ), o tratamento T8 obteve uma maior média comparado aos demais, enquanto os menores valores foram observados nos tratamentos T0, T1, T2, T3, T5, T6, T7 e T9 (Figura 6). A variável q_L , associada à fração de centros de reação abertos, o tratamento T8 também obteve maior valor, já os tratamentos T1, T2, T3 e T5, apresentaram menores médias (Figura 6).

O coeficiente de dissipação fotoquímica (q_P) (Figura 6), foi mais elevado nos tratamentos T0, T4, T5, T6, T7, T8 e T9, já os tratamentos T1, T2 e T3 apresentaram menores médias. Para o coeficiente de dissipação não fotoquímica (q_N), o tratamento T8 apresentou novamente resultado superior aos demais, enquanto T0, T1, T2, T3, T5, T6 e T9 apresentaram os menores valores (Figura 6). Esse mesmo resultado foi observado para a variável NPQ, com maior valor no tratamento T8, e os menores nos tratamentos T0, T1, T2, T3, T5, T6 e T9 (Figura 6).

A taxa de transporte de elétrons (ETR) foi superior no tratamento T0, enquanto os menores valores foram observados nos tratamentos T1, T2, T3 e T6 (Figura 6). Já em relação à absorção de fótons (PAR) (Figura 6) o tratamento T0 obteve resultado superior aos demais, já os tratamentos T1, T2, T3, T4, T5 e T6 obtiveram menores valores, indicando maior restrição no aproveitamento da luz sob estresse térmico nesses grupos.

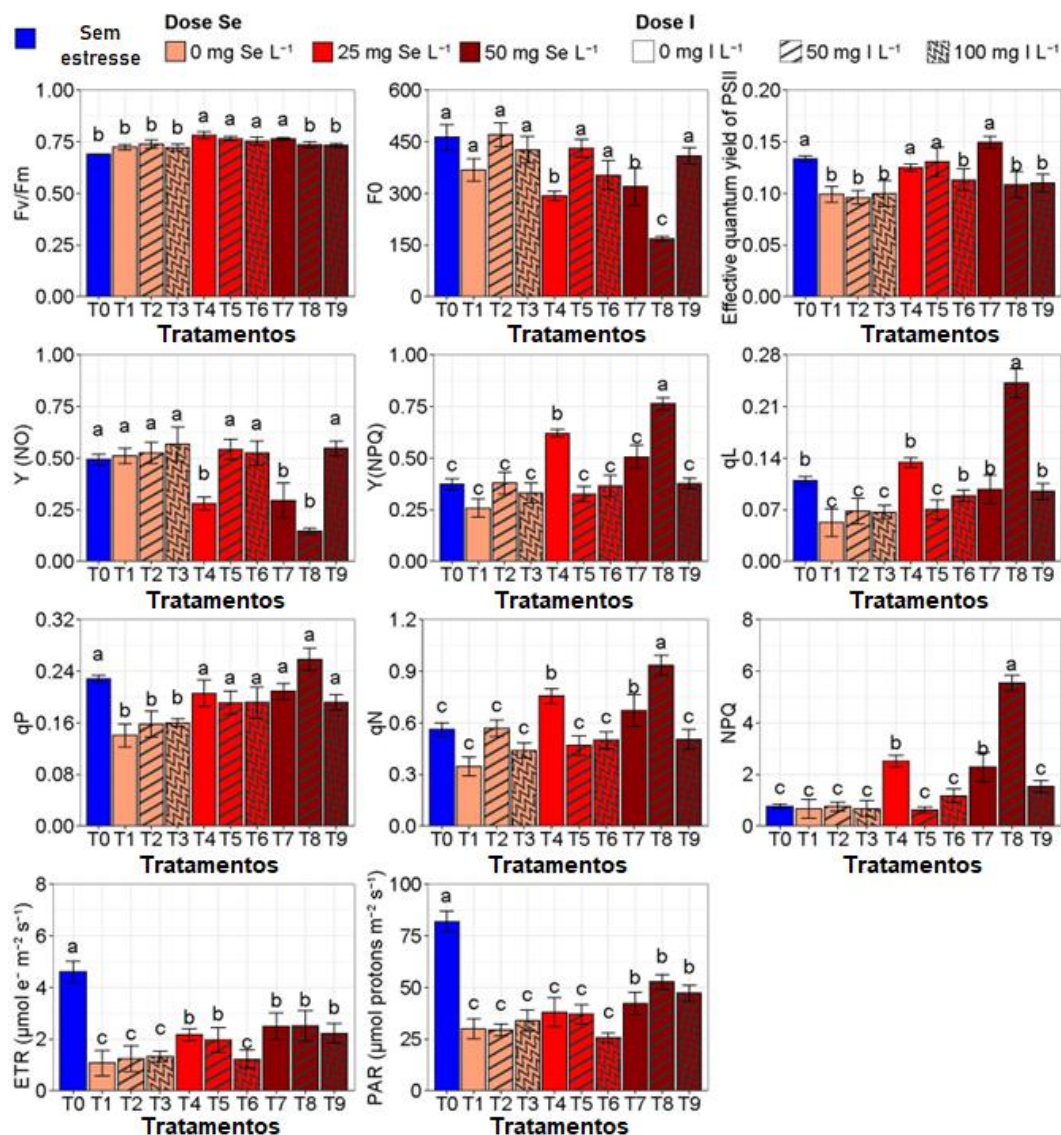


Figura 6. Efeito da aplicação de iodo (I) e selênio (Se) em diferentes concentrações na análise MINI-PAM após estresse por calor. Fv/Fm: Eficiência quântica máxima do PSII. Letras diferentes representam diferenças estatísticas ($p < 0,05$) entre os tratamentos avaliados.

Durante a fase de estresse térmico (Figura 7), os dois primeiros componentes principais (PC1 e PC2) explicaram 48,1% da variância total dos dados, com PC1 representando 30,8% e PC2 17,3%. Os tratamentos T6 e T5, foram associados positivamente com as variáveis SOD, CAT, prolina, RS e TSS, indicando que essas combinações favoreceram a ativação de mecanismos antioxidantes e acúmulo de solutos osmoprotetores durante o estresse térmico (Figura 7). Já os tratamentos T7, T8 e T9 (com 50 mg L⁻¹ de Se) foram relacionados positivamente a parâmetros fotossintéticos como "Yield of PSII", Fv/Fm, carotenoides, Chl a,

Chl b também aos teores de sacarose e amido, destacando-se pela preservação da atividade fotossintética e status nutricional das plantas sob estresse (Figura 7).

Por outro lado, o tratamento T0 (sem estresse) e os tratamentos com menor eficácia (T1, T2 e T3 – sem o Se) agruparam-se do lado negativo de PC1, sendo associados a menores níveis de proteção antioxidante e menor acúmulo de solutos (Figura 7). O T4 associou-se fortemente a maiores teores de proteína e não se agrupou com as demais variáveis relacionadas ao alívio do estresse (Figura 7).

Após o estresse térmico (Figura 7), os dois primeiros componentes explicaram juntos 49,3% da variância total (PC1 = 34,5% e PC2 = 14,8%). Os tratamentos T5 e T6 voltaram a se destacar, agora associados fortemente a maiores teores de sacarose, TSS, proteína e rendimento quântico efetivo do PSII, sugerindo recuperação metabólica acelerada após o estresse (Figura 7). Por sua vez, T0 (controle sem estresse) mostrou alta associação com parâmetros antioxidantes (SOD e CAT), fotossintéticos (Fv/Fm, Yield of PSII) e teor de água relativa (WRC), o que é esperado em condição sem estresse (Figura 7). O tratamento T9 (50 mg L⁻¹ Se + 100 mg L⁻¹ I), por outro lado, foi isolado e relacionado negativamente ao eixo PC1, especialmente às variáveis MDA e TFAA, sugerindo possível efeito deletério dessa combinação após o estresse térmico (Figura 7).

Os tratamentos T1 a T3, que não receberam o Se, mostraram pouca associação positiva com variáveis bioquímicas ou fotossintéticas em ambas as fases do estresse, reforçando sua menor eficácia na mitigação dos efeitos do estresse térmico (Figura 7). O agrupamento dos tratamentos no espaço multivariado reforça a superioridade das combinações intermediárias de Se e I (T5 e T6) tanto na fase aguda do estresse quanto na recuperação, com destaque para a integração de mecanismos antioxidantes, osmóticos e fotossintéticos (Figura 7).

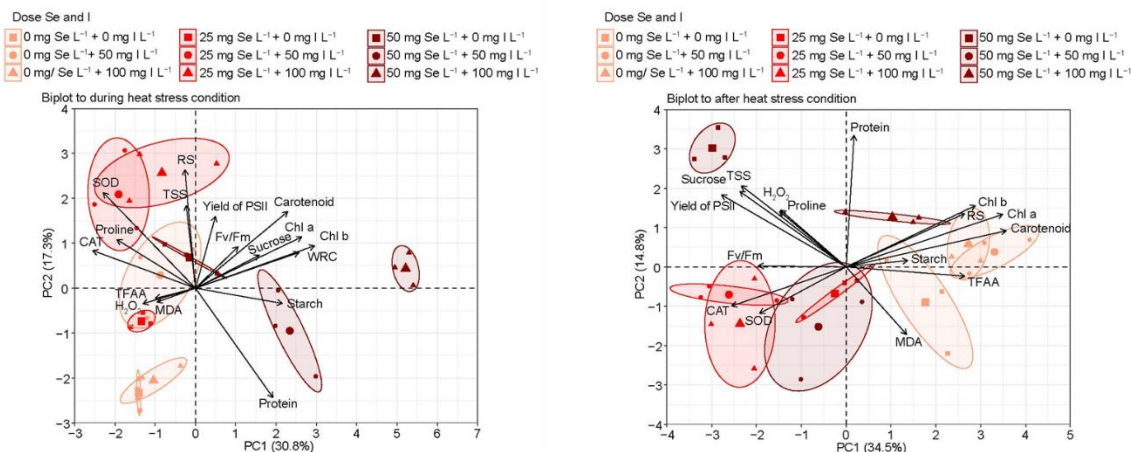


Figura 7. Análise de componentes principais para efeito da aplicação de iodo (I) e selênio (Se) em diferentes concentrações sob diferentes fases de estresse térmico.

4 DISCUSSÃO

Com os resultados no conteúdo relativo de água (CRA) foi observado que a aplicação conjunta de Se e I, nos tratamentos com 25 a 50 mg L⁻¹ de Se (T6 a T9), favoreceu a manutenção do status hídrico das mudas sob estresse térmico. Esse efeito pode estar relacionado à atuação do Se na regulação estomática e na integridade das membranas (Khan et al., 2023), enquanto o I, em doses moderadas a altas, pode ativar mecanismos antioxidantes que contribuem para a estabilidade osmótica (Riyazuddin *et al.*, 2023). Os menores valores de CRA foram observados nos tratamentos com I isolado (T2 e T3) ou em combinações menos eficazes (T5), indicando que o uso do I sem Se pode ser insuficiente para mitigar os efeitos do calor (Ali *et al.*, 2020).

Os teores de MDA não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos, o que sugere uma possível eficácia geral das aplicações na contenção dos danos oxidativos às membranas. Resultado semelhante foi encontrado por Zhang *et al.* (2024), na cultura do morangueiro, onde o uso de micronutrientes contribuiu para a estabilidade nos níveis de MDA sob estresse térmico moderado, indicando manutenção da integridade celular.

Por outro lado, o teor de H₂O₂ foi maior nos tratamentos T3 e T5, que incluíram altas doses de I sem a complementação adequada de Se, sugerindo ativação antioxidante incompleta e acúmulo de EROs (Liu *et al.*, 2022). Entretanto, os tratamentos com 50 mg L⁻¹ de Se (T7 a T9) apresentaram menores níveis de H₂O₂, indicando maior eficiência no sistema de remoção de radicais livres, possivelmente pela indução de enzimas antioxidantes como SOD, CAT e APX (Khan et al., 2023).

A análise dos pigmentos fotossintéticos mostrou que o tratamento com maiores doses de Se e I (T9) resultou nos maiores teores de clorofila *a*, clorofila *b* e carotenoides, enquanto o controle (T1) apresentou os menores. Isso indica que a aplicação combinada de Se e I em doses elevadas protege os pigmentos contra a degradação térmica, possivelmente por reduzir EROs e preservar a integridade dos tilacoides, pois, tanto o Se quanto o I têm sido associados à proteção da maquinaria fotossintética, atuando na estabilização de membranas e na modulação do sistema antioxidante (Singhal *et al.*, 2023).

Os teores de açúcares variaram entre os tratamentos. Para os TSS, os maiores valores foram observados tanto no controle (T1) quanto em tratamentos com Se e I, indicando possível ajuste osmótico eficiente sob estresse (Zeeshan *et al.*, 2024). Os teores de RS e sacarose foram superiores nos tratamentos T5 e T9, sugerindo que a combinação de Se e I favorece o acúmulo desses osmólitos, que atuam na retenção hídrica, fornecimento de energia e sinalização antioxidante (Liu *et al.*, 2022; Riyazuddin *et al.*, 2023).

A ausência de diferenças significativas entre os tratamentos quanto ao teor de amido pode indicar que o estresse térmico, mesmo em condições controladas e de curta duração, não é suficiente para causar alterações relevantes na degradação ou biossíntese do amido (Wu *et al.*, 2021), uma outra hipótese é que as reservas amiláceas foram mantidas estáveis devido ao equilíbrio entre a degradação (para fornecimento de energia) e a síntese de sacarose, o que pode ocorrer em espécies adaptadas a variações ambientais (Oswald; Aubrey, 2024).

Nos teores de TFAA, observou-se no presente estudo que foram maiores nos tratamentos T2 e T5, enquanto os menores valores foram encontrados nos tratamentos com doses mais elevadas de Se e/ou I (T6, T7, T8, T9). Esse resultado demonstra que aplicações moderadas, especialmente de I, estimulam a biossíntese de aminoácidos como resposta ao estresse (Riyazuddin *et al.*, 2023), já em doses elevadas podem causar desbalanços metabólicos, possivelmente pela retroinibição enzimática ou pelo redirecionamento do metabolismo para outros compostos de defesa (Mittal *et al.*, 2023).

A prolina, um dos principais osmoprotetores acumulados em resposta ao estresse abiótico, sendo o seu acúmulo sob estresse térmico relatado como um mecanismo de defesa para estabilização de estruturas celulares e neutralização de EROs (Zulfqar *et al.*, 2023). Os tratamentos que estimularam seu acúmulo coincidem, em geral, com os que apresentaram melhores teores de água relativa e açúcares, indicando sinergismo entre esses mecanismos de tolerância.

Os teores de proteínas solúveis foram maiores nos tratamentos T1, T8 e T9, e significativamente menores nos tratamentos T5, T6 e T7. A alta concentração de proteínas em

T9 pode estar associada à manutenção da maquinaria enzimática, favorecida pela menor peroxidação lipídica observada anteriormente (Huang; Jiang, 2024). Por outro lado, a redução dos teores proteicos em tratamentos intermediários pode estar relacionada a degradação proteica induzida por EROs, uma vez que as enzimas antioxidantes nessas condições não apresentaram máximos valores de Atividade (Fortunato *et al.*, 2023).

A SOD foi mais elevada no tratamento T6 (25 Se + 100 I), sugerindo uma intensa ativação da primeira linha de defesa antioxidante contra ânions superóxidos gerados sob estresse térmico (Riyazuddin *et al.*, 2023). A SOD catalisa a conversão de $O_2^{\bullet-}$ em H_2O_2 , que, por sua vez, deve ser detoxificado por catalase (CAT) e peroxidases (Rajput *et al.*, 2021). A menor atividade de SOD nos tratamentos T8 e T9 pode indicar saturação ou inibição da expressão enzimática, possivelmente associada ao excesso de micronutrientes ou à repressão retroalimentada por baixos níveis de EROs (Gupta *et al.*, 2024).

A atividade da CAT, por sua vez, foi mais elevada nos tratamentos T2, T4, T5 e T7, reforçando a eficiência dessas combinações na eliminação de H_2O_2 gerado durante o estresse. O tratamento T9 apresentou a menor atividade de CAT, o que pode ser explicado por uma menor geração de H_2O_2 (como já observado nos resultados de H_2O_2), demandando menos atividade dessa enzima.

A análise da fluorescência da clorofila demonstrou que o estresse térmico afetou a atividade fotossintética das mudas de framboesa, sendo possível observar diferenças entre os tratamentos. A razão F_v/F_m , que expressa a eficiência máxima do fotossistema II (PSII), foi reduzida nos tratamentos controle submetidos ao estresse térmico (T1 e T2), refletindo os danos à maquinaria fotossintética, principalmente ao complexo do PSII, sob condições de alta temperatura (Sun *et al.*, 2023). Reduções em F_v/F_m são amplamente relatadas como um dos primeiros indicadores de fotoinibição causada por estresses ambientais, incluindo calor, seca e salinidade (Muhammad *et al.*, 2021).

Por outro lado, os tratamentos T4, T5, T6, T8 e T9, que envolvem aplicações de Se e/ou I, apresentaram valores elevados de F_v/F_m , sugerindo que ambos os elementos atuaram de forma protetora sobre os centros de reação do PSII, podendo essa proteção estar associada à redução de EROs e ao aumento na integridade das membranas tilacoides, conforme demonstrado em estudos prévios com aplicação de Se e I em outras espécies (Khan *et al.*, 2023; Duborská *et al.*, 2022).

A eficiência quântica efetiva do PSII ($\Phi PSII$), que reflete a proporção de energia luminosa convertida em transporte de elétrons sob condições de luz, foi superior nos tratamentos T5 e T6, revelando maior atividade fotossintética operacional nessas condições.

Isso pode indicar um maior acoplamento entre a absorção de luz e a assimilação de carbono, fator fundamental para o crescimento e desempenho vegetal sob estresse (Qin *et al.*, 2025).

Valores mais altos de F_0 observados em T6, embora geralmente associados a danos ou desacoplamento das antenas coletoras, podem também refletir um estado de alerta fotoprotetor transitório, que contribui para dissipar a energia excessiva em vez de canalizá-la para reações fotoquímicas sob estresse térmico (Zhang *et al.*, 2018). Ainda assim, os valores elevados de F_v/F_m e $\Phi PSII$ nesse tratamento indicam que tais mecanismos foram eficientes em evitar danos severos.

A redução de $Y(NPQ)$ e NPQ em T5, T6, T8 e T9, tratamentos que envolveram aplicações conjuntas de Se e I, demonstra uma menor necessidade de dissipação térmica regulada, o que está em consonância com a manutenção da atividade fotossintética nesses grupos, indicando que o excesso de energia luminosa foi utilizado na fotossíntese, reduzindo o estresse fotooxidativo (Jiang *et al.*, 2021). Os menores valores de $Y(NO)$ nesses tratamentos também apontam para menor incidência de dissociação não regulada da energia, o que representa menor dano estrutural ao PSII (Qiu *et al.*, 2025).

Os parâmetros qP e qL , que avaliam a fracionalidade dos centros de reação do PSII abertos e disponíveis para fotossíntese, foram maiores nos tratamentos T8 e T9. Isso indica que o uso combinado de 50 mg L^{-1} de Se com 50 ou 100 mg L^{-1} de I favoreceu o funcionamento dos centros de reação, o que pode ser resultado da proteção das proteínas da cadeia de transporte de elétrons, como D1 e plastoquinona, contra o estresse oxidativo (Duborská *et al.*, 2022; Liu *et al.*, 2022).

A maior atividade de quenching não fotoquímico total (qN) em T4, T5, T6 e T9 indica que mecanismos de dissipação térmica auxiliaram na proteção contra o excesso de energia luminosa em condições de estresse térmico (Trojak; Skowron, 2023). Essa regulação foi eficiente, pois não comprometeu a $\Phi PSII$ nem resultou em altos níveis de $Y(NO)$, o que reforça a hipótese de que as aplicações de Se e I modulam as respostas fotoprotetoras e antioxidantes de forma positiva (Lu *et al.*, 2022).

Com relação ao estresse oxidativo das plantas após o estresse térmico, observou-se neste estudo que não houve diferença significativas entre o parâmetro MDA nos tratamentos testados, uma justificativa para este fato pode ser que apesar do estresse térmico imposto, as membranas celulares das mudas de framboesa mantiveram níveis semelhantes de integridade lipídica, podendo ser esse resultado atribuído à eficiência basal do sistema antioxidante das plantas, capaz de conter a progressão dos danos oxidativos às membranas, mesmo nas plantas não tratadas (Garcia-Caparrós *et al.*, 2021).

No entanto, os teores de H_2O_2 , apresentaram variações significativas entre os tratamentos. Observou-se maior acúmulo de H_2O_2 nas plantas dos tratamentos T1, T7 e T9, indicando maior estresse oxidativo. O tratamento T1, que não recebeu Se nem I, funcionou como um controle estressado, refletindo a vulnerabilidade das mudas ao calor sem qualquer intervenção mitigadora. Já os tratamentos T7 e T9 também resultaram em acúmulo elevado de H_2O_2 , sugerindo que a aplicação isolada de Se em doses elevadas, ou sua combinação com altas doses de I, pode gerar desequilíbrios redox ou promover respostas paradoxais de toxicidade, em culturas sob estresse (Duborská *et al.*, 2022). Em contrapartida, os tratamentos T2, T3 e T6, apresentaram os menores teores de H_2O_2 , destacando-se como estratégias eficazes na atenuação do estresse oxidativo. Esses resultados indicam que o iodo, mesmo aplicado isoladamente, contribuiu para a indução de respostas antioxidantes eficazes na redução de EROs, pois ele atua como elemento funcional em plantas, promovendo o aumento da capacidade antioxidante e reduzindo o acúmulo de radicais livres (Riyazuddin *et al.*, 2023). Além disso, a combinação de doses moderadas de Se com maiores níveis de I (T6) demonstrou efeitos positivos, o que corrobora com achados de Duborská *et al.* (2022), que destacaram a ação conjunta de Se e I na ativação de enzimas antioxidantes e proteção celular em plantas sob estresses abióticos.

Com relação ao metabolismo primário, osmoprotetores e atividade antioxidante após o estresse. A análise dos pigmentos fotossintéticos demonstrou que os tratamentos T2 e T3 proporcionaram as maiores concentrações de clorofila a e b, além de carotenoides, indicando que o I, na ausência de Se, exerceu um efeito protetor sobre os complexos pigmentares sob estresse térmico (Riyazuddin *et al.*, 2023). Uma das justificativas para este resultado é devido o I atuar na estabilização estrutural dos tilacoides e na redução da degradação de pigmentos, com isso, auxilia na integridade dos cloroplastos em condições adversas (Rodríguez-Salinas *et al.*, 2022).

O tratamento T7 apresentou os maiores valores de TSS e sacarose, este resultado pode estar relacionado a um possível efeito osmoprotetor do Se em dose elevada quando aplicado isoladamente (Rady *et al.*, 2021). A manutenção de açúcares em níveis elevados pode favorecer a regulação osmótica e a estabilização de proteínas e membranas celulares durante o estresse térmico (Khan *et al.*, 2023). Os menores teores de sacarose foram observados no tratamento controle (T0), o que reforça o impacto negativo do estresse térmico na assimilação e distribuição de carboidratos.

No caso dos RS, o tratamento T2 apresentou um maior acúmulo, o que pode estar associado ao aumento da atividade enzimática, favorecendo a quebra da sacarose (Kiferle *et al.*, 2021). Já os tratamentos T0, T5 e T8 resultaram nos menores teores, podendo estar relacionado

com o comprometimento do metabolismo da sacarose sob estresse (Seydel *et al.*, 2022). O teor de amido foi mais elevado nos tratamentos T1, T2, T4 e T7, enquanto o T0 apresentou os menores valores, o que pode indicar que as combinações desses nutrientes favoreceram o acúmulo de reservas temporárias, com menor degradação de amido mesmo diante do estresse (Duborská *et al.*, 2022).

Em relação aos TFAA, observou-se que todos os tratamentos, com exceção de T5, mantiveram níveis elevados. A queda acentuada no TFAA em T5 pode ser pela possível inibição da biossíntese de aminoácidos ou aumento no consumo de aminoácidos para reparo celular e rotas de defesa (Trovato *et al.*, 2021). Para o acúmulo de prolina, um importante osmólito, os tratamentos T6 e T7 apresentaram os maiores valores, indicando que tanto o Se em dose moderada, combinado com I em dose alta, quanto o Se em dose elevada isoladamente, induziram a síntese dessa molécula de defesa (Golubkina *et al.*, 2021; Riyazuddin *et al.*, 2022).

No presente estudo foi observado que o teor de proteínas, nos tratamentos T2, T3, T4, T5, T7 e T9 mantiveram os maiores conteúdos, o que pode indicar menor degradação proteica e melhor estabilidade metabólica nesses grupos (Köhrle, 2023). Por outro lado, os tratamentos T0, T1, T6 e T8 apresentaram os menores níveis, podendo ser justificado por um maior dano estrutural e comprometimento da integridade celular (Pandey; Singh, 2024).

A atividade da enzima SOD, foi mais alta no tratamento T6, indicando que essa combinação foi mais eficaz na ativação da resposta antioxidante frente ao acúmulo ROS (Hassan *et al.*, 2023). Já a atividade da CAT foi maior nos tratamentos T0, T5, T6, T7 e T8, enquanto o T9 apresentou a menor atividade. A CAT é responsável pela decomposição do H_2O_2 em água e oxigênio, e sua redução em T9 demonstra uma limitação no sistema antioxidante enzimático, possivelmente devido à toxicidade excessiva do Se em dose alta associado ao I em dose elevada, levando a desbalanço redox e maior acúmulo de H_2O_2 (Eslamiparvar *et al.*, 2025).

A fluorescência da clorofila a é uma ferramenta sensível para avaliar os efeitos do estresse abiótico sobre o aparato fotossintético, especialmente no fotossistema II (PSII) (Tomaškinová *et al.*, 2025). A manutenção de valores mais elevados de Fv/Fm nos tratamentos T4, T5, T6 e T7 indica que a aplicação foliar combinada de Se e I, especialmente nas doses moderadas de Se e I, foi eficaz na preservação da integridade do PSII durante a exposição ao estresse térmico (Liu *et al.*, 2022). Essa eficiência fotossintética superior nesses tratamentos sugere um efeito protetor dos elementos aplicados, possivelmente via estabilização das membranas tilacoides e atenuação da produção de ROS (Mittal *et al.*, 2023).

A redução dos valores de F_0 nos tratamentos T4, T7 e T8 mostra esse efeito protetor, visto que aumentos em F_0 estão associados à inativação de centros de reação do PSII e à

desorganização das antenas coletoras de luz (Liu *et al.*, 2022). Por outro lado, o aumento expressivo de ΦPSII nos mesmos tratamentos indica que a energia luminosa absorvida foi eficientemente utilizada nas reações fotoquímicas, mesmo sob condição de estresse que demonstraram a mitigação de danos fotoquímicos induzidos por calor pela suplementação com Se (Lo Piccolo *et al.*, 2021). Já o tratamento T8 apresentou os maiores valores de $Y(\text{NPQ})$, q_N e NPQ , apontando uma ativação dos mecanismos de dissipação térmica regulada (Köhrle, 2023). Essa resposta pode indicar um excesso de energia luminosa absorvida não convertida em atividade fotoquímica, sendo dissipada termicamente como mecanismo de defesa para evitar danos oxidativos (Liu *et al.*, 2022; Mittal *et al.*, 2023). Embora a dissipação controlada de energia seja uma resposta adaptativa, valores muito elevados, como os observados para T8, podem sinalizar um estado de estresse fotoinibitório, o que pode estar relacionado ao excesso relativo de Se e I nesse tratamento (Trojak; Skowron, 2023).

O aumento significativo de q_P nos tratamentos T4 a T9, indica uma maior proporção de centros de reação abertos, ocorrendo uma melhor performance fotoquímica nessas combinações, enquanto os menores valores nos tratamentos T1 a T3 refletem limitação funcional do PSII, provavelmente devido à ausência de Se nas formulações (Jiang *et al.*, 2021).

Além disso, o menor valor de $Y(\text{NO})$ em T4, T7 e T8 indica que menor parte da energia foi dissipada de maneira não controlada, o que é desejável em condições de estresse (Munns; Millar, 2023). Isso sugere que os tratamentos contendo Se em combinação com doses baixas a moderadas de I, favoreceram mecanismos eficientes de fotoproteção, reduzindo a necessidade de dissipação energética não regulada (Duborská *et al.*, 2022).

Em relação à taxa de transporte de elétrons (ETR), observou-se que apenas o tratamento controle (T0) manteve valores elevados, sendo que todos os demais tratamentos apresentaram valores inferiores, reflexo do impacto negativo do estresse térmico sobre a eficiência do transporte de elétrons (Fortunato *et al.*, 2023). No entanto, entre os tratamentos submetidos ao estresse, T5, T7 e T9 apresentaram as maiores ETR, o que demonstra que mesmo sob estresse térmico, a aplicação foliar com Se e I contribuiu para preservar parcialmente o fluxo de elétrons no PSII (Liu *et al.*, 2022). De forma semelhante, o parâmetro PAR apresentou valores mais altos nesses mesmos tratamentos, indicando melhor aproveitamento da radiação fotossinteticamente ativa.

5 CONCLUSÃO

- I. A aplicação foliar combinada de Se e I demonstra ser uma estratégia eficaz para mitigar os efeitos do estresse térmico em mudas de framboesa.
- II. Doses intermediárias, especialmente 25 mg L⁻¹ de Se associadas a 50 ou 100 mg L⁻¹ de I, promovem melhorias significativas na manutenção do conteúdo relativo de água, na integridade das membranas celulares e na regulação do metabolismo oxidativo, refletidas por menores níveis de H₂O₂ e maior atividade das enzimas antioxidantes (SOD e CAT). Além disso, esses tratamentos favorecem o acúmulo de compostos osmoprotetores, como prolina, aminoácidos livres e açúcares solúveis, fundamentais para a proteção celular em condições adversas.
- III. Do ponto de vista fotossintético, os mesmos tratamentos mantêm a eficiência do fotossistema II e evitam o acúmulo excessivo de energia não fotoquímica, favorecendo a recuperação dos parâmetros após o estresse. Em contrapartida, a ausência de Se ou a combinação em doses elevadas compromete a resposta fisiológica.

REFERÊNCIAS

AGUILAR, F. et al. Increased Temperature Effects During Fruit Growth and Maturation on the Fruit Quality, Sensory and Antioxidant Properties of Raspberry (*Rubus idaeus* L.) cv. Heritage. **Foods**, v. 14, n. 7, p. 1201, 2025.

ALEXIEVA, V.; SERGIEV, I.; MAPELLI, S.; KARANOV, E. The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. **Plant Cell Environ**, v.24, p.1337–1344, 2001.

ALI, S. et al. Approaches in enhancing thermotolerance in plants: an updated review. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 39, n. 1, p. 456-480, 2020.

ARAÚJO, N. M. P. et al. Potential of Brazilian berries in developing innovative, healthy, and sustainable food products. **Sustainable Food Technology**, v. 2, n. 3, p. 506-530, 2024.

AZEVEDO, R. A. et al. Response of antioxidant enzymes to transfer from elevated carbon dioxide to air and ozone fumigation, in the leaves and roots of wild-type and a catalase-deficient mutant of barley. **Physiologia Plantarum**, v. 104, n. 2, p. 280-292, 1998.

BARRS, H. D.; WEATHERLEY, P. E. A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficits in leaves. **Australian journal of biological sciences**, v. 15, n. 3, p. 413-428, 1962.

BEAUCHAMP, C.; FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. **Analytical biochemistry**, v. 44, n. 1, p. 276-287, 1971.

BEHERA, S. R. et al. Agronomic Biofortification of Vegetable Crops with Selenium and Iodine: A Review. **Journal of Advances in Biology & Biotechnology**, v. 28, n. 2, p. 972–986, 3 mar. 2025.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical biochemistry**, v. 72, n. 1-2, p. 248-254, 1976.

CHANCE, Britton; MAEHLY, A. C. **Assay of catalases and peroxidases**. 1955.

CHOW, P. S.; LANDHÄUSSER, S. M. A method for routine measurements of total sugar and starch content in woody plant tissues. **Tree physiology**, v. 24, n. 10, p. 1129-1136, 2004.

DE MORAES FAGUNDES, C. et al. Production, quality, bioactive compounds, and phenology of raspberry cultivars under an organic cropping system in a subtropical region of Brazil. **Scientia Agricola**, v. 81, 2024.

DEBNATH, S. et al. Selenium-based drug development for antioxidant and anticancer activity. **Future Pharmacology**, v. 2, n. 4, p. 595-607, 2022.

DUBORSKÁ, E. et al. Current strategies for selenium and iodine biofortification in crop plants. **Nutrients**, v. 14, n. 22, p. 4717, 2022.

ESLAMIPARVAR, A. et al. Combined bio fortification of spinach plant through foliar spraying with iodine and selenium elements. **Scientific Reports**, v. 15, n. 1, p. 6722, 2025.

FAOSTAT. Crops and Livestock Products; **Food and Agriculture Organization of the United Nations**: Rome, Italy, 2023. Disponível em: ><https://www.fao.org/faostat/><. Acesso em 12 julho de 2025.

FORTUNATO, S. et al. Redox signaling in plant heat stress response. **Antioxidants**, v. 12, n. 3, p. 605, 2023.

GARCIA-CAPARROS, P. et al. Oxidative stress and antioxidant metabolism under adverse environmental conditions: a review. **The Botanical Review**, v. 87, n. 4, p. 421-466, 2021.

GEIGER, W. Köppen G.; KÖPPEN, W.; KÖPPEN, W. Das geographische System der Klimate. **Handbuch der Klimatologie**, 1936.

GOLUBKINA, N. et al. Joint biofortification of plants with selenium and iodine: new field of discoveries. **Plants**, v. 10, n. 7, p. 1352, 2021.

GUPTA, R.; VERMA, N.; TEWARI, R. K. Micronutrient deficiency-induced oxidative stress in plants. **Plant Cell Reports**, v. 43, n. 9, p. 213, 2024.

HEATH, R. L.; PACKER, L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. **Archives of biochemistry and biophysics**, v. 125, n. 1, p. 189-198, 1968.

HUANG, B.; JIANG, Y. Physiological and biochemical responses of plants to drought and heat stress. In: **Crop Improvement**. CRC Press, 2024. p. 287-313.

JIANG, et al. Heat-induced down-regulation of photosystem II protects photosystem I in honeysuckle (*Lonicera japonica*). **Journal of plant research**, v. 134, n. 6, p. 1311-1321, 2021.

KASSAMBARA, A.; MUNDT, F. Factoextra: extract and visualize the results of multivariate data analyses. **CRAN: Contributed Packages**, 2016.

KHAN, S. et al. Osmolytes: Wonder molecules to combat protein misfolding against stress conditions. **Int J Biol Macromol**, v. 234, n. 123662, p. 10.1016, 2023.

- KHAN, Z. et al. The role of selenium and nano selenium on physiological responses in plant: a review. **Plant Growth Regulation**, v. 100, n. 2, p. 409-433, 2023.
- KIFERLE, C. et al. Evidences for a nutritional role of iodine in plants. **Frontiers in plant science**, v. 12, p. 616868, 2021.
- KÖHRLE, J. Selenium, iodine and iron—essential trace elements for thyroid hormone synthesis and metabolism. **International journal of molecular sciences**, v. 24, n. 4, p. 3393, 2023.
- LÊ, S., JOSSE, J., HUSSON, F., 2008a. **FactoMineR** : an R package for multivariate analysis. *J Stat Softw* 25.
- LEONEL, S.; ROBERTO, S. R.; DA SILVA, S. R. Orchard Management Under Climate Change. **Horticulturae**, v. 11, n. 1, p. 98, 2025.
- LIU, H. et al. Selenium regulates antioxidant, photosynthesis, and cell permeability in plants under various abiotic stresses: A review. **Plants**, v. 12, n. 1, p. 44, 2022.
- LO PICCOLO, E. et al. Role of beneficial elements in plants: implications for the photosynthetic process. **Photosynthetica**, v. 59, p. 349-360, 2021.
- LÓPEZ-HIDALGO, C. et al. **The rainbow protocol: A sequential method for quantifying pigments, sugars, free amino acids, phenolics, flavonoids and MDA from a small amount of sample**. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd., 2021.
- LU, D. et al. Non-photochemical quenching: from light perception to photoprotective gene expression. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 2, p. 687, 2022.
- ŁYSIAK, G. P.; SZOT, I. The use of temperature based indices for estimation of fruit production conditions and risks in temperate climates. **Agriculture**, v. 13, n. 5, p. 960, 2023.
- MEDINA, R. B. et al. Cropping and Pruning Systems of Primocane Raspberries in the Subtropical Climate. **Horticulturae**, v. 10, n. 11, p. 1197, 2024.
- MENDIBURU, F.; YASEEN, M. agricolae: Statistical Procedures for Agricultural Research. R package version 1.4. 0. **R Foundation for Statistical Computing, Vienna**, 2020.
- MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical chemistry**, v. 31, n. 3, p. 426-428, 1959.
- MITTAL, U. et al. Role of beneficial elements in developing resilience to abiotic and biotic stresses in plants: present status and future prospects. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 42, n. 6, p. 3789-3813, 2023.
- MUHAMMAD, I. et al. Mechanisms regulating the dynamics of photosynthesis under abiotic stresses. **Frontiers in plant science**, v. 11, p. 615942, 2021.
- MUNNS, R.; MILLAR, A. Harvey. Seven plant capacities to adapt to abiotic stress. **Journal of experimental botany**, v. 74, n. 15, p. 4308-4323, 2023.
- NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant and cell physiology**, v. 22, n. 5, p. 867-880, 1981.
- OSORIO-MARÍN, J. et al. Climate change impacts on temperate fruit and nut production: a systematic review. **Frontiers in Plant Science**, v. 15, 2024.
- OSWALD, S. W.; AUBREY, D. P. Modeling starch dynamics from seasonal variations of photosynthesis, growth and respiration. **Tree Physiology**, v. 44, n. 13, p. 11-27, 2024.

PANDEY, V.; SINGH, S. Plant Adaptation and Tolerance to Heat Stress: Advance Approaches and Future Aspects. **Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening**, v. 27, n. 12, p. 1701-1715, 2024.

QIN, K. et al. Engineering carbon assimilation in plants. **Journal of Integrative Plant Biology**, v. 67, n. 4, p. 926-948, 2025.

QIU, Q. et al. Heat Stress Downregulates Photosystem I Redox State on Leaf Photosynthesis in Grapevine. **Agronomy**, v. 15, n. 4, p. 948, 2025.

R CORE TEAM. R: **A language and environment for statistical computing**. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2022. Disponível em: <<https://www.R-project.org/>>. Acesso em: 23 maio 2025.

RADY, M. M. et al. Foliar nourishment with nano-selenium dioxide promotes physiology, biochemistry, antioxidant defenses, and salt tolerance in *Phaseolus vulgaris*. **Plants**, v. 10, n. 6, p. 1189, 2021.

RAJPUT, V. D. et al. Recent developments in enzymatic antioxidant defence mechanism in plants with special reference to abiotic stress. **Biology**, v. 10, n. 4, p. 267, 2021.

RIYAZUDDIN, R. et al. Iodine: an emerging biostimulant of growth and stress responses in plants. **Plant and Soil**, v. 486, n. 1, p. 119-133, 2023.

RODRÍGUEZ-SALINAS, P. A. et al. Iodine increases the concentration of phenolic compounds and photosynthetic pigments in three cultivars of *Ficus carica* L. subjected to salt stress. **Revista mexicana de ciencias agrícolas**, v. 13, n. SPE28, p. 309-318, 2022.

ROUSSOS, P. A. Climate change challenges in temperate and sub-tropical fruit tree cultivation. **Encyclopedia**, v. 4, n. 1, p. 558-582, 2024.

SEYDEL, C. et al. Temperature-induced dynamics of plant carbohydrate metabolism. **Physiologia Plantarum**, v. 174, n. 1, p. e13602, 2022.

SINGHAL, R. K. et al. Beneficial elements: New Players in improving nutrient use efficiency and abiotic stress tolerance. **Plant Growth Regulation**, v. 100, n. 2, p. 237-265, 2023.

SUN, Y. et al. Research advances on the effect of high temperature stress on plant photosynthesis. **Chinese Bulletin of Botany**, v. 58, n. 3, p. 486-498, 2023.

TADEU, M. H. et al. Enraizamento de estacas caulinares e radiculares de *Rubus fruticosus* tratadas com AIB. **Revista Ceres**, v. 59, p. 881-884, 2012.

TOMAŠKINOVÁ, J. et al. The Impact of Abiotic Environmental Stressors on Fluorescence and Chlorophyll Content in *Glycine max* (L.) Merrill. **Agronomy**, v. 15, n. 2, p. 263, 2025.

TROJAK, M.; SKOWRON, E. Growth light quality influences leaf surface temperature by regulating the rate of non-photochemical quenching thermal dissipation and stomatal conductance. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 23, p. 16911, 2023.

TROVATO, M. et al. Amino acids in plants: Regulation and functions in development and stress defense. **Frontiers in plant science**, v. 12, p. 772810, 2021.

WEI, Taiyun et al. Package ‘corrplot’. **Statistician**, v. 56, n. 316, p. e24, 2017.

WU, Bingjin et al. Factors affecting the rapid changes of protein under short-term heat stress. **BMC genomics**, v. 22, n. 1, p. 263, 2021.

ZEESHAN, M. et al. Selenium nanoparticles boost the drought stress response of soybean by enhancing pigment accumulation, oxidative stress management and ultrastructural integrity. **Agronomy**, v. 14, n. 7, p. 1372, 2024.

ZHANG, K. et al. Effects of short-term heat stress on PSII and subsequent recovery for senescent leaves of *Vitis vinifera* L. cv. Red Globe. **Journal of integrative agriculture**, v. 17, n. 12, p. 2683-2693, 2018.

ZHANG, X. et al. Study on the Role of Selenium in Enhancing Stress Resistance and Quality Improvement of Strawberries. **Molecular Plant Breeding**, v. 15, 2024.

ZULFIQAR, F.; ASHRAF, M. Proline alleviates abiotic stress induced oxidative stress in plants. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 42, n. 8, p. 4629-4651, 2023.

Agradecimentos: os autores agradecem Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e INCT Segurança Solo e Alimento (Processo 406577/2022-6), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (Processo 403040/2023-0).

TERCEIRA PARTE

VI. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante dos resultados obtidos sobre os efeitos da aplicação foliar de Se e I na qualidade nutricional e funcional dos frutos e na tolerância a estresses térmicos em amora-preta (*Rubus spp.*) e framboesa (*Rubus idaeus*), o estudo partiu da constatação de que a deficiência desses micronutrientes é um problema global e da necessidade de soluções agrícolas capazes de aliar produtividade, qualidade e sustentabilidade.

Os resultados demonstraram que a aplicação foliar com Se e I promove aumentos nos teores de compostos bioativos, como antocianinas, fenólicos totais, ácido ascórbico e carotenoides, além de melhorar atributos físico-químicos e a composição mineral dos frutos. Na mitigação de estresses por frio e calor, a aplicação combinada desses micronutrientes estimula enzimas antioxidantes, favorecendo o acúmulo de osmoprotetores e preserva a eficiência fotossintética.

A pesquisa contribui para o avanço científico ao fornecer evidências do potencial da biofortificação com Se e I em frutíferas de clima temperado, área ainda pouco explorada. Do ponto de vista prático, os resultados oferecem estratégias de manejo que visem produzir frutas mais nutritivas e resistentes a estresses ambientais.

Entre as limitações, destacam-se a necessidade de validar os resultados de estresse térmico em condições de campo, avaliar aspectos sensoriais e de aceitação de mercado e quantificar a presença e a biodisponibilidade desses elementos nos frutos. Recomenda-se que estudos futuros incluam diferentes cultivares, interações com outros nutrientes, efeitos a longo prazo e análises econômicas.

Conclui-se que a aplicação foliar de Se e I é uma alternativa promissora para a fruticultura de clima temperado em regiões subtropicais, com potencial para integrar melhoria nutricional e adaptação às mudanças climáticas.

REFERÊNCIAS

- AGRAWAL, S.; KUMAR, A.; GUPTA, Y.; TRIVEDI, A. Potato biofortification: a systematic literature review on biotechnological innovations of potato for enhanced nutrition. **Horticulturae**, v. 10, n. 3, p. 292, 2024.
- ANDRADE-SIFUENTES, A.; GAUCIN-DELGADO, J. M.; FORTIS-HERNANDEZ, M.; OJEDA-BARRIOS, D. L.; RODRÍGUEZ-ORTIZ, J. C.; SÁNCHEZ-CHAVEZ, E.; PRECIADO-RANGEL, P. Iodine biofortification improves yield and bioactive compounds in melon fruits. **Horticultura Brasileira**, v. 42, p. e275325, 2024.
- AZEEM, A.; KHAN, S.; ZIA, U. I.; HAQ, M.; SHAFIQ, S.; ASLAM, M. T.; MUNIR, S.; SIKANDAR ZAMAN, M. Biofortification strategies for enhancing crop nutritional value: a review of methods, challenges, and future directions. **Discover Plants**, v. 2, n. 1, p. 185, 2025.
- BAI, S.; ZHANG, M.; TANG, S.; LI, M.; WU, R.; WAN, S.; FENG, S. Effects and impact of selenium on human health, a review. **Molecules**, v. 30, n. 1, p. 50, 2024.
- BHARDWAJ, R.L.; PARASHAR, A.; PAREWA, H.P.; VYAS, L. An alarming decline in the nutritional quality of foods: The biggest challenge for future generations' health. **Foods**, v. 13, n. 6, p. 877, 2024.
- CALCATERRA, V.; CENA, H.; SCAVONE, I. A. M.; ZAMBON, I.; TARANTO, S.; RIZZO, C. R.; ZUCCOTTI, G. Thyroid Health and Selenium: The Critical Role of Adequate Intake from Fetal Development to Adolescence. **Nutrients**, v. 17, n. 14, p. 2362, 2025.
- ČECHOVIČIENĖ, I.; VIŠKELIS, J.; VIŠKELIS, P.; HALLMAN, E.; KRUK, M.; TARASEVIČIENĖ, Ž. Potentially Bioactive Compounds and Sensory Compounds in By-Products of Several Cultivars of Blackberry (*Rubus fruticosus* L.). **Horticulturae**, v. 10, n. 8, p. 862, 2024.
- CHEN, Z.; JIANG, J.; LI, X.; XIE, Y.; JIN, Z.; WANG, X.; YANG, W. Bioactive compounds and fruit quality of Chinese raspberry, *Rubus chingii* Hu varied with genotype and phenological phase. **Scientia horticulturae**, v. 281, p. 109951, 2021.
- DANIEL, K. S.; MANGANO, K. M. Resurgence of iodine deficiency in the United States during pregnancy: potential implications for cognitive development in children. **Nutrition Reviews**, p. nuaf025, 2025.
- FELDT-RASMUSSEN, U. Importance of iodide sufficiency and normal thyroid function in fertility and during gestation. **Thyroid Research**, v. 18, n. 1, p. 22, 2025.
- GIBAS-DORNA, M.; ŻUKIEWICZ-SOBCZAK, W. Sustainable nutrition and human health as part of sustainable development. **Nutrients**, v. 16, n. 2, p. 225, 2024.
- GROTH, S.; BUDKA, C.; NEUGART, S.; ACKERMANN, S.; KAPPENSTEIN, F. S.; DAUM, D.; ROHN, S. Influence of a selenium biofortification on antioxidant properties and phenolic compounds of apples (*Malus domestica*). **Antioxidants**, v. 9, n. 2, p. 187, 2020.

IKRAM, N.A.; GHAFFAR, A.; KHAN, A.A.; NAWAZ, F.; HUSSAIN, A. Foliar iodine application: A strategy for tomato biofortification and yield optimization. **Journal of Plant nutrition**, v. 48, n. 3, p. 540-556, 2025.

KACHINSKI, W. D.; ÁVILA, F. W.; DOS REIS, A. R.; MULLER, M. M. L.; MENDES, M. C.; PETRANSKI, P. H. Agronomic biofortification increases concentrations of zinc and storage proteins in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) grains. **Food Research International**, v. 155, p. 111105, 2022.

KHAN, Z.; THOUNAOJAM, T. C.; CHOWDHURY, D.; UPADHYAYA, H. The role of selenium and nano selenium on physiological responses in plant: a review. **Plant Growth Regulation**, v. 100, n. 2, p. 409-433, 2023.

KUMAR, A.; KUMARI, A.; PAREEK, V.; VERMA, S.; BHARTY, S.K.; MOMIN, T.D.K.; KUMAR, S. Biofortification Strategies in Horticultural Crops: Addressing Micronutrient Malnutrition through Innovation. **Journal of Advances in Biology & Biotechnology**, v. 28, n. 6, p. 819-849, 2025.

KUMAR, U.; KUMARI, A.; KUMAR, H.; KAUR, J.; YADAV, M. Deciding the Targets: Crops and Nutrients. In: **Biofortification for Nutrient-Rich Crops**. CRC Press, 2024. p. 14-25

LI, J.; SHI, C.; SHEN, D.; HAN, T.; WU, W.; LYU, L.; LI, W. Composition and antioxidant activity of anthocyanins and non-anthocyanin flavonoids in blackberry from different growth stages. **Foods**, v. 11, n. 18, p. 2902, 2022.

MAGESSHEN, V. R.; SANTHY, P.; MEENA, S.; LATHA, M. R.; KALYAN, V. R. K. The Long-term Impact of Biofortified Iodine on Tomato (*Lycopersicon esculentum*) Growth, Yield and Quality. **Indian Journal of Agricultural Research**, v. 1, p. 8, 2025.

MEZEY, J.; MEZEYOVÁ, I.; SELNEKOVIČ, A.; BAJČAN, D. Foliar Selenium Biofortification in Temperate Fruit Crops: Impact on Selenium Accumulation and Nutritional Quality of Fruits and Juices. **Beverages**, v. 11, n. 2, p. 53, 2025.

MORAIS, E. G. D.; QUISPE, A. P. V.; MACHADO, G. G. L.; PRADO, D. T.; BENEVENUTE, P. A. N.; GUILHERME, L. R. G. Foliar Sprays of Multi-Nutrient Fertilizer Containing Selenium Produce Functional Tomato Fruits with Higher Shelf Life. **Plants**, v. 13, n. 16, p. 2288, 2024.

NASCIMENTO, V. L.; SOUZA, B. C.; LOPES, G.; GUILHERME, L. R. On the role of iodine in plants: A commentary on benefits of this element. **Frontiers in plant science**, v. 13, p. 836835, 2022.

OUMER, A.; JOY, E. J.; DE GROOTE, H.; BROADLEY, M. R.; GASHU, D. Burden of selenium deficiency and cost-effectiveness of selenium agronomic biofortification of staple cereals in Ethiopia. **British Journal of Nutrition**, v. 132, n. 8, p. 1110-1122, 2024.

RAJENDRAN, A.; VEERAMANI, I. Influence of Agronomic biofortification on Maize. **Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology**, v. 10, n. 2, p. 263-271, 2022.

RAM, H.; NAEEM, A.; RASHID, A.; KAUR, C.; ASHRAF, M. Y.; MALIK, S. S.; CAKMAK, I. Agronomic biofortification of genetically biofortified wheat genotypes with zinc, selenium, iodine, and iron under field conditions. **Frontiers in Plant Science**, v. 15, p. 1455901, 2024.

RAZZAQUE, M. S.; WIMALAWANSA, S. J. Minerals and human health: from deficiency to toxicity. **Nutrients**, v. 17, n. 3, p. 454, 2025.

RIYAZUDDIN, R.; SINGH, K.; IQBAL, N.; NISHA, N.; RANI, A.; KUMAR, M.; GUPTA, R. Iodine: an emerging biostimulant of growth and stress responses in plants. **Plant and Soil**, v. 486, n. 1, p. 119-133, 2023.

SADLER, R. A.; MALLARD, B. A.; SHANDILYA, R.U.; HACHEMI, M. A.; KARROW, N. A. The immunomodulatory effects of selenium: a journey from the environment to the human immune system. **Nutrients**, v. 16, n. 19, p. 3324, 2024.

SEN, H.; KUMAR, A.; JANEJA, H. S. Biofortification of major crops through conventional and modern biotechnological approaches to fight hidden hunger: An overview. **Journal of Advances in Biology & Biotechnology**, v. 27, n. 7, p. 96-113, 2024.

TALLARITA, A.V.; GOLUBKINA, N.; DE PASCALE, S.; SEKARA, A.; POKLUDA, R.; MURARIU, O.C.; CARUSO, G. Effects of selenium/iodine foliar application and seasonal conditions on yield and quality of perennial wall rocket. **Horticulturae**, v. 11, n. 2, p. 211, 2025.

TITOV, A. F.; KAZNINA, N. M.; KARAPETYAN, T. A.; DORSHAKOVA, N. V.; TARASOVA, V. N. Role of selenium in plants, animals, and humans. **Biology Bulletin Reviews**, v. 12, n. 2, p. 189-200, 2022.

VAHAPOGLU, B.; ERSKINE, E.; GULTEKIN SUBASI, B.; CAPANOGLU, E. Recent studies on berry bioactives and their health-promoting roles. **Molecules**, v. 27, n. 1, p. 108, 2021.

WÓJCIK, P. Effects of preharvest sprays of iodine, selenium and calcium on apple biofortification and their quality and storability. **PLoS One**, v. 18, n. 3, p. e0282873, 2023.

WU, Z.; LIU, Y.; WANG, W. The burden of iodine deficiency. **Archives of Medical Science: AMS**, v. 20, n. 5, p. 1484, 2024.

XUE, Y. F.; LI, X. J.; YAN, W.; MIO, Q.; ZHANG, C. Y.; HUANG, M.; CUI, Z. L. Biofortification of different maize cultivars with zinc, iron and selenium by foliar fertilizer applications. **Frontiers in Plant Science**, v. 14, p. 1144514, 2023.

YILMAZ, H.; YILMAZ, A. Hidden hunger in the age of abundance: the nutritional pitfalls of modern staple crops. **Food Science & Nutrition**, v. 13, n. 2, p. e4610, 2025.

YUAN, Y.; TIAN, Y.; GAO, S.; ZHANG, X.; GAO, X.; HE, J. Effects of environmental factors and fermentation on red raspberry anthocyanins stability. **Lwt**, v. 173, p. 114252, 2023.

ZHANG, X.; FAN, C.; ZHOU, X.; XU, S.; TANG, Z.; ZHONG, Y.; WANG, H. Study on the Role of Selenium in Enhancing Stress Resistance and Quality Improvement of Strawberries. **Molecular Plant Breeding**, v. 15, 2024.

ZULFIQAR, U.; KHOKHAR, A.; MAQSOOD, M. F.; SHAHBAZ, M.; NAZ, N.; SARA, M.; AHMAD, M. Genetic biofortification: advancing crop nutrition to tackle hidden hunger. **Functional & Integrative Genomics**, v. 24, n. 2, p. 34, 2024.