

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE ENGENHARIA
CAMPUS DE ILHA SOLTEIRA**

MATHEUS PEREIRA DE BRITO MATEUS

**EFEITO BENÉFICO E TÓXICO DA BIOFORTIFICAÇÃO AGRONÔMICA DO
CAFÉ COM SELÊNIO**

Ilha Solteira

2020



**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA – SISTEMAS DE
PRODUÇÃO**

MATHEUS PEREIRA DE BRITO MATEUS

**EFEITO BENÉFICO E TÓXICO BIOFORTIFICAÇÃO AGRONÔMICA DO CAFÉ
COM SELÊNIO**

Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira – UNESP como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Agronomia – Sistemas de Produção.

Prof. PhD. André Rodrigues dos Reis
Orientador

FICHA CATALOGRÁFICA
Desenvolvido pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação

Mateus, Matheus Pereira de Brito.
M425e Efeito benéfico e tóxico da biofortificação agrônômica do café com selênio /
Matheus Pereira de Brito Mateus. -- Ilha Solteira: [s.n.], 2020
94 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de
Engenharia de Ilha Solteira. Área de conhecimento: Sistemas de Produção, 2020

Orientador: André Rodrigues dos Reis
Inclui bibliografia

1. Biofortificação agrônômica. 2. Espécies reativas de oxigênio. 3.
Metabolismo antioxidante. 4. Selenato de sódio.

Raiane da Silva Santos
Raiane da Silva Santos
Supervisora Técnica de Seção

Seção Técnica de Referência, Atendimento ao usuário e Documentação
Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação
CRB/8 - 9999

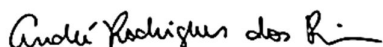
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Efeito benéfico e tóxico da biofortificação agronômica do café com selênio

AUTOR: MATHEUS PEREIRA DE BRITO MATEUS

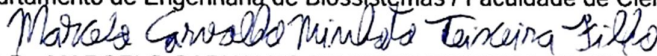
ORIENTADOR: ANDRÉ RODRIGUES DOS REIS

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em AGRONOMIA, área:
Sistemas de Produção pela Comissão Examinadora:

A handwritten signature in blue ink, reading "André Rodrigues dos Reis".

Prof. Dr. ANDRÉ RODRIGUES DOS REIS

Departamento de Engenharia de Biossistemas / Faculdade de Ciências e Engenharia de Tupã - UNESP

A handwritten signature in blue ink, reading "Marcelo Carvalho Minhoto Teixeira Filho".

Prof. Dr. MARCELO CARVALHO MINHOTO TEIXEIRA FILHO

Departamento de Fitossanidade, Engenharia Rural e Solos / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira - UNESP

A handwritten signature in blue ink, reading "Elcio Ferreira dos Santos".

Prof. Dr. ELCIO FERREIRA DOS SANTOS

Departamento de Agronomia / Instituto Federal de Mato Grosso do Sul - IFMS

Ilha Solteira, 09 de junho de 2020

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar à Deus, Jesus e Maria.

Aos meus amadíssimos pais Carlos Alberto Pereira Mateus e Maria Imaculada de Brito Mateus, e meus irmãos Felipe de Brito Mateus e Débora de Brito Mateus por todo o apoio no desenvolvimento da pesquisa.

Ao Prof. Dr. André Rodrigues dos Reis pelas orientações, amizade e por todo o conhecimento transmitido.

Aos Professores Drs. Marcelo Carvalho Minhoto Teixeira Filho e Elcio Ferreira dos Santos pela composição da banca examinadora e pelo apoio intelectual e científico na redação deste estudo.

Aos Professores Marco Eustáquio de Sá, Grace de Queiroz David, Walmor Moya Peres, Enes Furlani Júnior e a todos os demais docentes do Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira (UNESP/FEIS) pela amizade e ensinamentos que contribuíram para minha qualificação profissional.

Ao cafeicultor Francisco Simões, proprietário da Fazenda Santo Antônio onde foi realizado o presente estudo e por todo o apoio prestado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de estudos concedida, sem a qual não seria possível a condução desta pesquisa científica. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

E a todos os demais familiares, amigos e colegas que contribuíram de maneira direta ou indiretamente para condução da pesquisa, análises laboratoriais ou redação, sendo integrantes fundamentais para realização de tal estudo.

“O importante é não parar de questionar. A curiosidade tem a sua própria razão para existir”.

- Albert Einstein

RESUMO

O Brasil é o maior produtor e exportador mundial de café, sendo também o segundo maior consumidor. O café é a segunda bebida mais consumida mundialmente, após a água, e sua demanda está em crescente ascensão no mercado. Entretanto, para suprir essa demanda, são necessárias técnicas de cultivo para driblar às adversidades que acometem o desenvolvimento da planta, sendo o cafeeiro (*Coffea arabica*) muito sensível aos estresses abióticos, dentre eles a seca e alta incidência de radiação solar. Estratégias como aplicação foliar de selênio (Se) urgem como ferramentas para mitigar os estresses, melhorando o desenvolvimento da cultura e alavancando a produtividade. No entanto, o Se aplicado em altas concentrações é tóxico por atuar como pro-oxidante, formando espécies reativas de oxigênio na célula acelerando a senescência das plantas provocando redução do crescimento vegetal e produtividade. O Se em baixas concentrações atua como elemento benéfico, aumentando a concentração de clorofilas, protegendo o complexo antena e combatendo radicais livres, além de diversas outras funções como ativação de enzimas antioxidantes e promover acúmulo de biomassa vegetal. Entretanto, são escassos estudos na literatura sobre os efeitos do Se no cafeeiro, desconhecendo seu papel no sistema fisiológico da planta, bem como concentrações foliares que são toleradas. Diante disso, insere-se a biofortificação agronômica do cafeeiro como alternativa para promover melhor desempenho da cultura para melhores produtividades e aumentar o valor nutricional do grão, visando melhorar a ingestão diária de Se pela população e combinada às qualidades organolépticas e nutricionais do café, contribuir na prevenção de diversas doenças.

Palavras-chave: Biofortificação agronômica. Espécies reativas de oxigênio. Metabolismo antioxidante. Selenato de sódio.

ABSTRACT

Brazil is the world's largest producer and exporter of coffee, and is also the second largest consumer. Coffee is the second most consumed beverage worldwide, after water, and its demand is on the rise in the market. However, to meet this demand, cultivation techniques are needed to overcome the adversities that affect the development of the plant, because the coffee tree (*Coffea arabica*) is very sensitive to abiotic stresses, including drought and high incidence of solar radiation. Strategies such as foliar application of selenium (Se) are urgent as tools to mitigate stresses, improving crop development and leveraging productivity. However, Se applied in high concentrations is toxic because it acts as a pro-oxidant, forming reactive oxygen species in the cell, accelerating the senescence of plants causing reduced plant growth and productivity. Se in low concentrations acts as a beneficial element, increasing the concentration of chlorophylls, protecting the antenna complex and fighting free radicals, in addition to several other functions such as activating antioxidant enzymes and promoting the accumulation of plant biomass. However, there are few studies in the literature on the effects of Se on coffee, ignoring its role in the plant's physiological system, as well as leaf concentrations that are tolerated. Therefore, agronomic biofortification of coffee is inserted as an alternative to promote better crop performance for better yields and increase the nutritional value of the grain, aiming to improve the daily intake of Se by the population and combined with the organoleptic and nutritional qualities of coffee, contributing in the prevention of various diseases.

Keywords: Agronomic biofortification. Reactive oxygen species. Antioxidant metabolism. Sodium selenate.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

CAPÍTULO II

Figura 1	- Efeito do Se na massa seca de raiz e parte aérea em genótipos de mudas de café	40
Figura 2	- Caracterização fenotípica visual das mudas de café em resposta às concentrações de Se	41
Figura 3	- Efeito do Se nos Pigmentos Fotossintéticos	42
Figura 4	- Efeito do Se nas Proteínas de reserva	43
Figura 5	- Efeito do Se no metabolismo antioxidativo, concentração de malondialdeído e peróxido de hidrogênio	46
Figura 6	- Efeito do Se na concentração de Se nas raízes e parte aérea, acúmulo de Se nas raízes e parte aérea, e translocação de Se nas mudas	48
Figura 7	- Efeito do Se na concentração de Ca, Mg e K na parte aérea e nas raízes nas mudas de café	50
Figura 8	- Efeito do Se na Concentração de P e S nas raízes e parte aérea nas mudas de café	51
Figura 9	- Heatmap	53
Figura 10	- Efeito do Se na concentração de compostos hidrossolúveis: Sacarose, Açúcares Totais, Nitrato, Amônia e Aminoácidos	56
Figura 11	- Efeito do Se na concentração de B, Cu e Fe nas raízes e folhas em café	58

CAPÍTULO III

Figura 1	- Concentração de clorofila a, b e total, feofitinas e carotenoides	75
Figura 2	- Concentração de malondialdeído e peróxido de hidrogênio	76
Figura 3	- Atividade da catalase, superóxido dismutase, ascorbato peroxidase e glutationala redutase	77
Figura 4	- Produtividade de café beneficiado	78
Figura 5	- Concentrações de Se em folhas e grãos de café	79
Figura 6	- Concentrações de sacarose, açúcares totais, nitrato e amônia	80
Figura 7	- Heatmap	83

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	-	Concentrações foliares de macro e micronutrientes do Coffea arabica após aplicação de doses de Se via foliar	81
-----------------	---	--	----

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

CAT	Catalase
SOD	Superóxido Dismutase
APX	Ascorbato Peroxidase
GR	Glutathione Redutase
POD	Peroxidase
H ₂ O ₂	Peróxido de Hidrogênio
MDA	Malondialdeído
EROs	Espécies Reativas de Oxigênio

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	11
CAPÍTULO I – Aplicação de selênio como estratégia de biofortificação agronômica do café.	
RESUMO	13
1. A cultura do café	14
2. Selênio	17
3. Biofortificação Agronômica	19
REFERÊNCIAS	21
CAPÍTULO II – Mudanças de <i>Coffea arabica</i> apresentam tolerância ao estresse por selênio: respostas fisiológicas e bioquímicas	
RESUMO	29
4. INTRODUÇÃO	30
5. MATERIAL E MÉTODOS	32
5.1. Condição de crescimento e delineamento experimental	32
5.2. Produção de massa seca e análise química do tecido vegetal	33
5.3. Pigmentos fotossintetizantes	33
5.4. Extração de compostos nitrogenados e açúcares	34
5.4.1. Açúcares solúveis totais e sacarose	34
5.4.2. Nitrato e amônia	34
5.4.3. Aminoácidos	35
5.4.4. Proteínas de reserva	35
5.6. Análise do estresse oxidativo e enzimas antioxidantes	36
5.6.1. Peróxido de hidrogênio	36
5.6.2. Peroxidação lipídica - Malondialdeído	37
5.6.3. Proteínas solúveis	37
5.6.4. Atividade de superóxido dismutase (SOD, EC:1.15.1.1)	38
5.6.5. Atividade da catalase (CAT, EC:1.11.1.6)	38
5.6.6. Atividade da ascorbato peroxidase (APX, EC:1.11.1.11)	38
5.7. Análise estatística	38
6. RESULTADOS	40
7. DISCUSSÃO	52
8. CONCLUSÕES	59
REFERÊNCIAS	60

CAPÍTULO III – Aplicação foliar de Selênio e nano-Selênio estimula a biofortificação de grãos e respostas fisiológicas do *Coffea arabica* L.

RESUMO	65
9. INTRODUÇÃO	66
10. MATERIAL E MÉTODOS	68
10.1. Localização e caracterização da área experimental	68
10.2. Coleta de material para respostas fisiológicas e avaliação do estado nutricional.....	68
10.3. Pigmentos fotossintetizantes.....	69
10.4. Análise do estresse oxidativo e enzimas antioxidantes	69
10.4.1. <i>Peróxido de hidrogênio</i>	69
10.4.2. <i>Peroxidação lipídica – Malondialdeído</i>	70
10.4.3. <i>Atividade da superóxido dismutase (SOD, EC:1.15.1.1)</i>	70
10.4.4. <i>Atividade da catalase (CAT, EC:1.11.1.6)</i>	71
10.4.5. <i>Atividade da ascorbato peroxidase (APX, EC:1.11.1.11)</i>	71
10.4.6. <i>Atividade da glutatona redutase (GR, EC:1.8.1.7)</i>	71
10.5. Produtividade	72
10.6. Avaliação de Se e nutrientes.....	72
10.7. Análise estatística.....	73
11. RESULTADOS	74
12. DISCUSSÃO	82
13. CONCLUSÕES	86
REFERÊNCIAS	87
CONCLUSÃO	92
REFERÊNCIAS	93

1 INTRODUÇÃO

2 As formas de selênio (Se) disponíveis são dependentes de diversos fatores e sua
3 distribuição nos solos não é de maneira uniforme, resultando em baixas concentrações em
4 solos ácidos de regiões tropicais. Os solos agricultáveis são naturalmente deficientes em Se
5 com teores variando de 0,01 a 2 mg kg⁻¹ (WHITE, 2016). Além dos baixos teores naturais nos
6 solos utilizados na agricultura em países tropicais, o acúmulo de Se nas partes comestíveis
7 também é variável de acordo com a espécie. O Brasil, juntamente com países em
8 desenvolvimento possuem fortes evidências de deficiência de Se na população, no entanto,
9 ainda há poucas pesquisas em biofortificação de alimentos com Se (REIS *et al.*, 2014; REIS
10 *et al.*, 2018).

11 O Se é considerado elemento benéfico para as plantas. Pode ser absorvido em formas
12 inorgânicas (selenato ou selenito) e compostos Se-orgânicos (selenocisteína ou
13 selenometionina), com inúmeros relatos científicos de incremento no desenvolvimento e
14 sobrevivência de plantas submetidas a diversos fatores de estresse (PILON-SMITS *et al.*,
15 2009; WHITE, 2016). Dentre os aspectos benéficos, destacam-se a atenuação do estresse
16 oxidativo (SHAHID *et al.*, 2019), resistência a patógenos e herbivoria (SCHIAVON; PILON-
17 SMITS, 2017), estresse induzido por cádmio (LIMA *et al.*, 2019), e estresse por déficit
18 hídrico (ANDRADE *et al.*, 2018). Silva *et al.* (2018) observaram que aplicações foliares de
19 até 50 g ha⁻¹ de Se aplicado na fonte selenito de sódio em plantas de feijão-caupi,
20 promoveram incrementos nas atividades das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase
21 (CAT), ascorbato peroxidase (APX) e glutathione redutase (GR), com redução nas
22 concentrações de malondialdeído e peróxido de hidrogênio.

23 Por outro lado, o Se é tóxico aos vegetais quando aplicado em altas concentrações,
24 devido à sua ação pró-oxidante (REIS *et al.*, 2017; SILVA *et al.*, 2018). Os sintomas de
25 toxidez de Se em feijão-caupi foram caracterizados principalmente pela clorose da lâmina
26 foliar, progredindo para lesões necróticas com borda marrom e depósito salino rosa no
27 interior, resultando em obstrução dos vasos condutores e redução superior a 90 e 80% na
28 concentração de clorofila total e carotenoides, respectivamente (Silva *et al.*, 2018). Em
29 plantas de arroz, os sintomas são parecidos, inicialmente ocorre a clorose foliar, progredindo
30 para amarelecimento da planta e necrose, conforme aumenta-se a dose até 1,5 mM de selenato
31 de sódio em solução nutritiva, provocando drástica redução de 69 e 53% na concentração de
32 clorofila e carotenoides, reduções de 45% na altura de plantas e 39% na biomassa seca das
33 mudas (MOSTOFA *et al.*, 2017).

34 O cenário agrícola mundial do café está sempre em perspectiva de crescimento, tendo
35 em vista a crescente demanda pelo consumo da bebida e pelos seus benefícios à saúde
36 humana. A safra de café 2018/19 foi recorde com 174,6 milhões de sacas de 60 kg, sendo o
37 Brasil correspondente pela maior produção do grão (United States Department of Agriculture
38 - USDA, 2019). O cafeeiro, exerce grande influência no mercado internacional, por suas
39 qualidades organolépticas, nutricionais (BALZANO *et al.*, 2020) e medicinais (PAHLKE *et*
40 *al.*, 2019; PEREIRA *et al.*, 2020), sendo a bebida mais consumida mundialmente, tornando-se
41 uma excelente estratégia para a biofortificação. Há necessidade de estudos acerca dos fatores
42 ecotoxicológicos no cafeeiro, pois são inéditos estudos sobre toxidez de Se em café, sendo
43 necessários caracterizar os parâmetros fisiológicos e bioquímicos de genótipos modernos. Os
44 resultados de estudos ecotoxicológicos possibilitam o entendimento dos fatores fisiológicos
45 envolvidos na seleção de genótipos de café mais tolerantes ao excesso de Se.

46 Não há relatos na literatura sobre caracterização fitotoxicológica do estresse causado
47 pelo Se em mudas de cafeeiro. Esse estudo apresenta parâmetros relacionados a
48 sintomatologia visual e massa seca da planta, pigmentos fotossintéticos (clorofila total,
49 feofitina e carotenoides), antioxidantes enzimáticos (atividade de superóxido dismutase,
50 catalase e ascorbato peroxidase), concentração de espécies reativas de oxigênio (EROs),
51 peroxidação lipídica e bioindicadores importantes para compreensão dos efeitos tóxicos e
52 estratégias conferidas pela planta para mitigação da toxidez de Se. Por ser uma planta de
53 metabolismo C₃ e aclimatada para produção em ambiente tropical, está propensa à diversos
54 estresses bióticos e abióticos, afetando drasticamente a atividade fotossintética (DINH *et al.*,
55 2016) e o desenvolvimento inicial das mudas (ALMEIDA, 2018).

56 Os efeitos da aplicação foliar de Se em cafeeiro a campo são escassos na literatura.
57 Não há relatos sobre o efeito do Se nos parâmetros fisiológicos de plantas de café, tais como:
58 i) regulação das atividades específicas de enzimas antioxidantes, ii) redução da concentração
59 de espécies reativas de oxigênio, iii) qualidade nutricional dos grãos, e iv) produtividade do
60 cafeeiro. É necessário avaliar estratégias de melhoria da qualidade nutricional do grão para
61 aumentar a ingestão diária de Se, com isso a biofortificação de café com Se pode ser uma
62 estratégia muito promissora devido à alta demanda e consumo da bebida.

Capítulo I

Aplicação de selênio como estratégia de biofortificação agronômica do café

RESUMO

O Brasil é o maior produtor e exportador mundial de café, sendo também o segundo maior consumidor. O café é a segunda bebida mais consumida mundialmente, após a água, e sua demanda está em crescente ascensão no mercado. Entretanto, para suprir essa demanda, são necessárias técnicas de cultivo para driblar às adversidades que acometem o desenvolvimento da planta, sendo o cafeeiro (*Coffea arabica*) muito sensível aos estresses abióticos, dentre eles a seca e alta incidência de radiação solar. Estratégias como aplicação foliar de selênio (Se) urgem como ferramentas para mitigar os estresses, melhorando o desenvolvimento da cultura e alavancando a produtividade. No entanto, o Se aplicado em altas concentrações é tóxico por atuar como pro-oxidante, formando espécies reativas de oxigênio na célula acelerando a senescência das plantas provocando redução do crescimento vegetal e produtividade. O Se em baixas concentrações atua como elemento benéfico, aumentando a concentração de clorofilas, protegendo o complexo antena e combatendo radicais livres, além de diversas outras funções como ativação de enzimas antioxidantes e promover acúmulo de biomassa vegetal. Entretanto, são escassos estudos na literatura sobre os efeitos do Se no cafeeiro, desconhecendo seu papel no sistema fisiológico da planta, bem como concentrações foliares que são toleradas. Diante disso, insere-se a biofortificação agronômica do cafeeiro como alternativa para promover melhor desempenho da cultura para melhores produtividades e aumentar o valor nutricional do grão, visando melhorar a ingestão diária de Se pela população e combinada às qualidades organolépticas e nutricionais do café, contribuir na prevenção de diversas doenças.

Palavras-chave: Biofortificação agronômica. Espécies reativas de oxigênio. Metabolismo antioxidante. Selenato de sódio.

1 A CULTURA DO CAFÉ

O café arábica (*Coffea arabica* L.) é uma planta perene e o primeiro centro de diversidade está ao sudoeste das terras altas da Etiópia, no continente africano, com altitudes entre 1000 e 2000 metros (FERREIRA *et al.*, 2019). Essa região é caracterizada por altitude elevada e boas condições hídricas de precipitação (Ferrão, 2004). Posteriormente, o café foi levado à Arábia e então difundido mundialmente através da Europa. No Brasil o café arábica é produzido em todo o território nacional, mas desenvolve-se melhor em regiões com altitudes superiores a 1000 m, de clima ameno, temperaturas médias de 19 a 22 °C e precipitações bem distribuídas ao longo do ano (GUIMARÃES *et al.*, 2019).

O Brasil é o maior produtor e exportador mundial de café, sendo também o segundo maior consumidor, após os EUA. A área agrícola cultivada no país é de 2,2 milhões de hectares com produção equivalente a 50,9 milhões de sacas de café beneficiado e produtividade média de 27,6 sc ha⁻¹ (1656,0 kg ha⁻¹), de acordo com a Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2019). As altas produtividades do cafeeiro são sempre novos desafios para o cafeicultor, que busca diversas estratégias para minimizar os efeitos negativos do clima e driblar às adversidades bióticas que afetam o desenvolvimento da planta, acometida por diversos estresses bióticos e abióticos.

O estresse hídrico no cafeeiro é o mais severo, aumentando a resistência estomatal das folhas, reduzindo a transpiração e consequentemente impedindo a difusão de CO₂ do ambiente para realizar fotossíntese (WU *et al.*, 2018). Além disso, o teor de água do solo afeta o crescimento e o tamanho do sistema radicular, bem como a absorção de água e nutrientes por interceptação radicular (REIS *et al.*, 2011; LI *et al.*, 2013). O estresse luminoso também exerce grande influência na produção, sendo adotadas, geralmente, técnicas de cultivo sombreado para minimizar estes danos de modo que não haja redução significativa da produção (REIS *et al.*, 2009; COLTRI *et al.*, 2019). Alguns elementos como o Se, em baixas concentrações aplicadas via foliar, também podem exercer efeitos benéficos em relação ao cultivo a pleno sol, aumentando a concentração de pigmentos fotossintetizantes e reduzindo a concentração de espécies reativas de oxigênio, como o H₂O₂ (SILVA *et al.*, 2018), ou atuando no metabolismo de redução do nitrogênio, onde a aplicação de selenato via foliar foi mais eficiente na redução do nitrato por promover maior atividade das enzimas nitrato redutase e glutamina sintetase (BIAN *et al.*, 2020).

O N e o K são os nutrientes mais extraídos por diversas culturas, e dentre elas os pomares de café brasileiros de alta produtividade recebem frequentemente doses de N que

127 chegam a 600 kg ha⁻¹ ano⁻¹ (MARTINEZ *et al.*, 2019), a aplicação de N interfere diretamente
128 na sua concentração foliar, no teor de clorofila, fotossíntese e na atividade dos sistemas
129 antioxidantes (REIS *et al.*, 2015). A adubação foliar é uma prática comumente utilizada nos
130 cafezais, tendo em vista a grande capacidade de absorção de nutrientes neste órgão, deste
131 modo, é muito comum aplicação de nutrientes como zinco, boro, nitrogênio e enxofre, para
132 suprir as necessidades da cultura (SOUZA *et al.*, 2019).

133 O café é a segunda bebida mais consumida no mundo, após a água. E atualmente a
134 população mundial e a renda per capita estão aumentando, exercendo alta correlação positiva
135 com o consumo de café, assim como, o envelhecimento da população é positivo para os
136 fornecedores de café, ocasionando em acréscimo de 67,9% no consumo global de café
137 (TORGA; SPERS, 2020). Entretanto, esse aumento eleva os padrões de preferência da bebida,
138 por cafés de melhores qualidades. Para produzir misturas de cafés que atendam essas
139 demandas específicas e conservem menor preço do produto, são feitos blends entre *Coffea*
140 *arabica* e *Coffea canephora* a fim de atender à preferência do consumidor e reduzir os custos
141 de produção (COUTO *et al.*, 2019).

142 As cultivares de *C. canephora* são menos exigentes que as cultivares de *C. arabica* em
143 relação aos aspectos ecológicos como precipitação, temperatura e altitude de cultivo
144 (FARAH, 2012; OESTREICH-JANZEN, 2013). Entretanto, o café arabica é a cultivar com
145 melhor qualidade de bebida e aroma intenso, o que resulta em preferência dos consumidores
146 em relação a essa espécie e consequentemente tenha maior valor de mercado em comparação
147 ao *C. canephora* (SCHIEVANO *et al.*, 2014).

148 Fatores genéticos também influenciam a composição química do café, alterando
149 diretamente a qualidade da bebida. Desse modo, a qualidade e características do café estão
150 diretamente correlacionadas com a composição química dos grãos (Figueiredo *et al.*, 2018).
151 Os principais compostos associados a qualidade da bebida são carboidratos, proteínas,
152 lipídios, ácidos clorogênicos, taninos hidrossolúveis, cafeína e trigonelina (AGRESTI *et al.*,
153 2008; BANDEIRA *et al.*, 2009). E dentre os compostos metabolizados, a sacarose, cafeína e
154 trigonelina são governados por genes, sendo indicadores para seleção de cultivares com
155 melhor qualidade de bebida (KY *et al.*, 2001; LEROY *et al.*, 2006).

156 Além das qualidades organolépticas, o café também possui diversas qualidades
157 nutricionais, que são benéficas ao organismo humano. Estudos provam evidências do efeito
158 benéfico do consumo de café na função renal, prevenindo e inibindo a progressão de doenças
159 renais crônicas (KENNEDY *et al.*, 2020). A cafeína, principal composto do café, possui
160 propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias que podem reduzir o estresse oxidativo,

161 aumentando os níveis de GSH no plasma sanguíneo (METRO *et al.*, 2017). Os antioxidantes
162 contidos no café também protegem contra a peroxidação lipídica (DAVÌ *et al.*, 2005), e
163 exercem efeito protetor sobre o diabetes mellitus tipo 2, reduzindo a prevalência de
164 hiperglicemia recém-detectada (VAN DAM; HU, 2005). Assim como, o consumo regular da
165 bebida está associado à redução da incidência de diversas doenças como aterosclerose,
166 Alzheimer, Parkinson e câncer, devido aos efeitos benéficos de polifenóis e melanoidinas
167 (METRO *et al.*, 2017; BORRELLI *et al.*, 2002).

168

169 2 SELÊNIO

170

171 O selênio é caracterizado por ser um elemento traço que desempenha papel
172 indispensável para funcionamentos de enzimas oxiredutases em humanos e animais
173 (HATFIELD *et al.*, 2014), sendo naturalmente escasso nos solos agricultáveis, pois suas
174 formas e concentrações modificam de acordo com a geologia da rochas primárias, variando
175 entre 0,01 a 2,0 mg de Se kg⁻¹ de solo, entretanto, áreas de litoral possuem solos com maiores
176 concentrações desse mineral, sendo classificados como seleníferos aqueles que possuem
177 concentrações de 2,0 a 1200 mg Se kg⁻¹ (DHILLON; DHILLON, 2003; FORDYCE, 2013).

178 As formas de Se fitodisponíveis são interdependentes de diversos fatores, dentre eles,
179 a rocha matriz que deu origem ao solo, idade e a parte do tecido vegetal amostrado, interação
180 de antagonismo do Se com outros elementos minerais como o S durante o processo de
181 absorção e metabolismo, variação genética de acúmulo entre indivíduos de uma mesma
182 espécie vegetal, sendo a forma mais comum de absorção pelas células radiculares na forma de
183 selenato, selenito ou compostos orgânicos como Se-cisteína ou Se-metionina (Reis *et al.*,
184 2017; White, 2018). Existem 3 classes ecológicas para diferenciar as fanerógamas de acordo
185 com sua habilidade em acumular Se nos tecidos, dividindo-se em espécies não acumuladoras,
186 Se-indicadoras e Se-acumuladoras, sendo que a maioria das angiospermas são classificadas
187 como espécies não acumuladoras, não tolerando concentrações nos tecidos de 10 a 100 µg Se
188 g⁻¹ MS (DHILLON; DHILLON, 2009; Fordyce, 2013; WHITE, 2016), geralmente exibindo
189 sintomas visuais de toxidez a partir de 5 µg Se g⁻¹ MS (KOLBERT *et al.*, 2019).

190 Em plantas, a essencialidade do Se ainda não foi comprovada como nutriente, no
191 entanto, esse elemento pode exercer efeitos benéficos em diferentes espécies vegetais
192 (CARTES *et al.*, 2010; SILVA *et al.*, 2018), contribuindo para o crescimento e
193 desenvolvimento da planta sob condições de estresse bióticos ou abióticos, ou não
194 estressantes (GUPTA; GUPTA, 2017; SILVA *et al.*, 2019). Como é o caso de plantas de arroz
195 tratadas com Se que apresentaram melhor eficiência de uso da água sob condições de estresse
196 hídrico, protegendo-as de danos severos além de melhorar a atividade enzimática
197 antioxidativa (ANDRADE *et al.*, 2018). Em trigo sob estresse por frio, a aplicação de Se
198 promoveu o acúmulo de biomassa e reduziu espécies reativas de oxigênio, diminuindo a
199 peroxidação lipídica das células (CHU *et al.*, 2010). Outros estudos relatam o efeito do Se no
200 alívio de estresse ocasionado por metais pesados (PANDEY; GUPTA, 2015; ALVES *et al.*,
201 2020) e outros elementos tóxicos presentes em solos como mercúrio (KAVČIČ *et al.*, 2020),
202 cádmio (FILEK *et al.*, 2008; HUSSAIN *et al.*, 2020; WU *et al.*, 2020) e arsênio (SINGH *et*

203 *al.*, 2018; POKHREL *et al.*, 2020), em diversas espécies cultivadas. Entretanto, para o
204 cafeeiro são inéditos estudos sobre a ação do Se no metabolismo da planta sendo incipientes
205 ou escassos, não existindo relatos sobre doses toleráveis ou concentrações adequadas nos
206 tecidos foliares.

207 Em baixas concentrações o Se desencadeia diversos outros benefícios: aumentando a
208 concentração de pigmentos fotossintetizantes (GOLOB *et al.*, 2020; ISLAM *et al.*, 2020;
209 RADY *et al.*, 2020), promovendo incremento da biomassa vegetal (GOLOB *et al.*, 2017; Lara
210 *et al.*, 2019), ativando enzimas antioxidantes como catalase (CAT), ascorbato peroxidase
211 (APX), superóxido dismutase (SOD) e peroxidase (POD) ou atuando diretamente em funções
212 de oxidação e redução, combatendo espécies reativas de oxigênio e inibindo a formação de
213 compostos lipídicos oxidados como malondialdeído (WU *et al.*, 2020).

214 Há indícios também de efeitos positivos no metabolismo do nitrogênio, melhorando a
215 redistribuição de N pelas plantas e consequentemente aperfeiçoando a qualidade nutricional
216 dos grãos (REIS *et al.*, 2018; REIS *et al.*, 2020). A aplicação de Se aumentou a produção de
217 canola em relação ao tratamento controle, e associada a irrigação suplementar em
218 florescimento e enchimento de grãos, o rendimento de grãos saltou de 802 kg ha⁻¹ na
219 testemunha para 2274 kg ha⁻¹ com a aplicação de Se + irrigação suplementar
220 (MOHTASHAMI *et al.*, 2020). Em batata, além de promover incrementos em produtividade,
221 a aplicação foliar de Se também proporcionou maior percentagem de tubérculos grandes e
222 médios (ZHANG *et al.*, 2019) e em amendoim aumentou a produtividade e o teor de óleo nas
223 sementes, além de alterar a assinatura e composição de proteínas e ácidos graxos insaturados
224 (HUSSEIN *et al.*, 2019).

225 Entretanto, em altas concentrações o Se exerce efeito tóxico, o selenito é rapidamente
226 reduzido pela enzima GR em seleneto, assumindo formas não enzimáticas que induzem a
227 produção superóxidos (CHEN *et al.*, 2007; SILVA *et al.*, 2019) e consequentemente a
228 peroxidação lipídica das células, alterando a atividade redox da planta, além de induzir má
229 formação de selenoproteínas e danificar outras proteínas associadas aos estresses abióticos
230 (REIS *et al.*, 2020; KOLBERT, 2019). Alguns exemplos característicos da toxidez de Se em
231 plantas são: clorose generalizada seguida de necrose das mudas de arroz (MOSTOFA *et al.*,
232 2017; MOSTOFA *et al.*, 2020), em feijão caupi a toxidez resulta em depósitos salinos de
233 coloração rósea no interior do limbo foliar com posterior necrose da folha (SILVA *et al.*,
234 2018), outras pesquisas citam a produção de superóxidos na mitocôndria, interferindo os
235 processos do metabolismo primário.

236

237 3 BIOFORTIFICAÇÃO AGRONÔMICA

238

239 A biofortificação surgiu como ferramenta de combate à desnutrição. Segundo a FAO
240 *et al.* (2019), a desnutrição no mundo afeta atualmente 820 milhões de pessoas, sendo mais
241 agravante em países subdesenvolvidos ou em desenvolvimento. Consequência da ingestão
242 exclusiva ou na maioria por alimentos cereais básicos como, arroz, milho ou trigo, que são
243 pobres em nutrientes, minerais e vitaminas (DIBB *et al.*, 2005; ALFTHAN *et al.*, 2015), no
244 entanto, correspondem até 55% da energia nas dietas em países de baixa renda da Ásia e
245 África (PRASAD *et al.*, 2014). Além disso, aproximadamente 2 bilhões de pessoas sofrem de
246 fome oculta, apresentando quadros subclínicos de deficiência de Se, Fe, Zn, I e vitamina A no
247 organismo (OMS, 2014), levando à uma série de distúrbios nutricionais e fisiológicos que
248 comprometem o crescimento e o desenvolvimento de crianças ou mulheres em período
249 gestacional (ANDRE, 2018).

250 A fortificação de alimentos, é utilizada para melhorar a qualidade nutricional de
251 produtos pós-colheita, aumentando o conteúdo de micronutrientes (SHUBHAM *et al.*, 2020),
252 que geralmente são muito baixos em alimentos ultra processados, pois comumente perdem
253 muitos nutrientes durante as etapas de transformação (FARDET, 2018). No entanto, a
254 fortificação além de ser uma técnica de alto valor agregado em relação à biofortificação
255 agronômica, exige conhecimento prévio na administração destes alimentos ou produtos, onde
256 nem sempre estão acessíveis a todos os níveis econômicos.

257 A biofortificação entretanto, é uma técnica a qual fornece os nutrientes (e.g. Se, Fe, Zn
258 e I) durante o período de cultivo, de modo que a planta metabolize e redistribua-os para a
259 partes comestíveis, devendo então serem estabelecidas doses adequadas para cada cultura de
260 modo a atender as exigências diárias da população para esses elementos. Estudos com
261 biofortificação agronômica têm sido realizados para aumentar o valor nutricional de diversas
262 culturas, dentre elas o arroz, trigo, milho e aveia (PRASAD *et al.*, 2014). Em arroz, a
263 biofortificação com Se pode ser realizada com a aplicação foliar de selenato ou selenito de
264 sódio, tendo impacto benéfico no acúmulo de proteínas, ácidos graxos e açúcares (LIDON *et al.*,
265 2018), ao adicionar o Zn na aplicação foliar, a biofortificação de arroz foi mais eficiente
266 no grão inteiro em relação ao grão polido, tendo maior acúmulo de nutrientes na parte externa
267 do grão, independente do genótipo avaliado (MANGUEZE *et al.*, 2018), além de reduzir a
268 concentração de elementos antinutricionais nos grãos, como o ácido fítico ou fitato (SAHA *et al.*,
269 2017). Em trigo, a aplicação foliar integrada de Fe com compostos orgânicos melhorou o

270 desenvolvimento da planta, aumentando a produtividade e o acúmulo de Fe nos grãos, e
271 reduzir as concentrações de fitato e polifenóis nos grãos (RAMZANI *et al.*, 2016).

272 Outras alternativas para aplicação de elementos essenciais à saúde humana surgiu na
273 Finlândia, após décadas de estudos e monitoramento em programas de biofortificação que
274 adotaram medidas públicas de incorporação de Se nos fertilizantes NPK, sendo muito efetivo
275 e seguro para evitar a deficiência de Se em humanos e animais (Aro *et al.*, 1995), melhorando
276 a disponibilidade no solo com o passar dos anos, e consequentemente diminuindo os índices
277 de mortalidade por doenças cardíacas, câncer ou deficiência de vitamina E (ALFTHAN *et al.*,
278 2015; HAUG *et al.*, 2007). Essa adição está relacionada com a melhoria da qualidade do
279 produto após a colheita, entretanto, a associação entre Se e N melhorou a redistribuição de N
280 pela planta, fazendo com que os grãos de arroz apresentassem maior concentração de
281 proteínas de reserva e maior valor nutritivo (REIS *et al.*, 2018), atendendo as demandas
282 alimentares atuais que estão em crescente busca por alimentos mais saudáveis e naturais
283 (SAREMNEZHAD *et al.*, 2020). No Malawi, o cultivo em áreas de agricultura
284 conservacionista a longo prazo sob anos de aplicação de Se para biofortificação, foram
285 verificadas concentrações de Se nos grãos de milho superiores a 0,2 mg kg⁻¹ em todos os
286 tratamentos, correspondendo ao fornecimento de 56-64 µg Se dia⁻¹ na dieta malawi com
287 farinha de milho refinado (LIGOWE *et al.*, 2020). A ingestão diária recomendada de Se de
288 acordo com o Institute of Medicine nos EUA para adultos é de 55 µg de Se dia⁻¹ (WHITE,
289 2016), sendo que o limite máximo permitido pelo *Codex Alimentarius* da concentração de Se
290 em produtos alimentares é de 0,3 mg kg⁻¹ (CHILIMBA *et al.*, 2012).

291 A biofortificação do café no cenário atual, com crescentes demandas e consumos da
292 bebida ao redor do mundo urge como ferramenta estratégica e mais uma alternativa para
293 redução de Se na população. Além disso, poucos estudos foram realizados para estabelecer
294 uma concentração ideal nos grãos de café e os efeitos do consumo da bebida biofortificada ao
295 longo do tempo na prevenção de doenças e na saúde humana.

296

REFERÊNCIAS

- AGRESTI, P.D.C.M.; FRANCA, A.S.; OLIVEIRA, L.S.; AUGUSTI, R. Discrimination between defective and non-defective Brazilian coffee beans by their volatile profile. **Food Chemistry**, Oxford, v. 106, n. 2, p. 787-796, 2008.
- ALFTHAN, G.; EUROLA, M.; EKHOLM, P.; VENÄLÄINEN, E.; ROOT, T.; KORKALAINEN, K.; HARTIKAINEN, H.; SALMINEN, P.; HIETANIEMI, V.; ASPILA, P.; ARO, A. Effects of nationwide addition of selenium to fertilizers on foods, and animal and human health in Finland: From deficiency to optimal selenium status of the population. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, [s. l.], v. 31, p. 142-147, 2015.
- ALVES, L.R.; PRADO, E.R.; OLIVEIRA, R.; SANTOS, E.F.; SOUZA, I.L.; REIS, A.R.; AZEVEDO, R.A.; GRATÃO, P.L. Mechanisms of cadmium-stress avoidance by selenium in tomato plants. **Ecotoxicology**, [s. l.], v. 29, p. 594-606, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10646-020-02208-1>.
- ANDRADE, F.R.; DA SILVA, G.N.; GUIMARÃES, K.C.; BARRETO, H.B.F.; DE SOUZA, K.R.D.; GUILHERME, L.R.G.; FAQUIN, V.; REIS, A.R. Selenium protects rice plants from water deficit stress. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, New York, v. 164, p. 562-570, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.08.022>
- ANDRÉ, H.P.; SPERANDIO, N.; SIQUEIRA, R.L.; FRANCESCHINI, S.C.C.; PRIORE, S.E. Indicadores de insegurança alimentar e nutricional associados à anemia ferropriva em crianças brasileiras: uma revisão sistemática. **Ciência & Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 23, n. 4, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1590/1413-81232018234.16012016>.
- ARO, A.; ALFTHAN, G.; VARO, P. Effects of supplementation of fertilizers on human selenium status in Finland. **Analyst**, London, v. 120, p. 841-843, 1995.
- BANDEIRA, R.D.C.C.; TOCI, A.T.; TRUGO, L.C.; FARAH, A. Composição volátil dos defeitos intrínsecos do café por CG/EM headspace. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 2, p. 309-314, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000200008>.
- BIAN, Z-H.; LEI, B.; CHENG, R-F.; WANG, Y.; LI, T.; YANG, Q-C. Selenium distribution and nitrate metabolism in hydroponic lettuce (*Lactuca sativa* L.): Effects of selenium forms and light spectra. **Journal of Integrative Agriculture**, [s. l.], v. 19, n. 1, p. 133-144, 2020. DOI: [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(19\)62775-9](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(19)62775-9).
- BORRELLI, R.C.; VISCONTI, A.; MENNELLA, C.; ANESE, M.; FOGLIANO, V. Chemical characterization and antioxidant properties of coffee melanoidins. **Journal of agricultural and food chemistry**, [s. l.], v. 50, n. 22, p. 6527-6533, 2002.
- CARTES, P.; JARA, A.A.; PINILLA, L.; ROSAS, A.; MORA, M.L. Selenium improves the antioxidant ability against aluminium-induced oxidative stress in ryegrass roots. **Ann. Appl. Biol.**, [s. l.], v. 156, p. 297-307, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2010.00387.x>.

- CHEN, J.J.; BOYLAN, L.M.; WU, C.K.; SPALLHOLZ, J.E. Oxidation of glutathione and superoxide generation by inorganic and organic selenium compounds. **Biofactors**, [s. l.], v. 31, p. 55–66, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1002/biof.5520310106>.
- CHILIMBA, A.D.C.; YOUNG, S.D.; BLACK, C.R.; MEACHAM, M.C.; LAMMEL, J.; BROADLEY, M.R. Agronomic biofortification of maize with selenium (Se) in Malawi. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 125, p. 118-128, 2012.
- CHU, J.; YAO, X.; ZHANG, Z. Responses of wheat seedlings to exogenous selenium supply under cold stress. **Biol. Trace. Elem. Res.**, [s. l.], v. 136, p. 355-363, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12011-009-8542-3>.
- COLTRI, P.P.; PINTO, H.S.; GONÇALVES, R.R.V.; JUNIOR, J.Z.; DUBREIUL, V. Low levels of shade and climate change adaption of Arabica coffee in southeastern Brazil. **Heliyon**, [s. l.], v. 5, 27 p., 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01263>.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO – CONAB. **Acompanhamento safra brasileira de café**. 2. ed. Brasília, DF: Conab, 2019. v. 5, n. 2, p. 1-61.
- COUTO, C.C.; SANTOS, T.F.; MAMEDE, A.M.G.N.; OLIVEIRA, T.C.; SOUZA, A.M.; FREITAS-SILVA, O.; OLIVEIRA, E.M.M. *Coffea arabica* and *C. canephora* discrimination in roasted and ground coffee from reference material candidates by real-time PCR. **Food research international**, Barking, v. 115, p. 227-233, 2019.
- DAVÌ, G.; FALCO, A.; PATRONO, C. Lipid peroxidation in diabetes mellitus. **Antioxidants & redox signaling**, [s. l.], v. 7, p. 256-268, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.08.086>
- DHILLON, K.S.; DHILLON, S.K. Accumulation and distribution of selenium in some vegetable crops grown in selenate-Se treated clay loam soil. **Frontiers of Agriculture in China**, [s. l.], v. 3, p. 366–373, 2009.
- DHILLON, K.S.; DHILLON, S.K. Distribution and management of seleniferous soils. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 79, p. 119–184, 2003.
- DIBB, D.W.; ROBERTS, T.L.; WELCH, R.M. From quantity to quality: the importance of fertilizers in human nutrition. In: INTERNATIONAL PLANT NUTRITION COLLOQUIUM, v. 15, 2005, Beijing. **Proceeding** [...] Washington: USDA., 2005, p. 20-25.
- FARAH, A. Coffee Constituents. In: CHU, Y-F. (ed.). **Coffee**: emerging health effects and disease prevention. [S. l.]: Wiley-Blackwell, 2012. p. 21–58.
- FARDET, A. Chapter three: characterization of the degree of food processing in relation with its health potential and effects. Eds: Fidel Toldrá, **Advances in Food and Nutrition Research**, Academic Press, v. 85, p. 79-129, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2018.02.002>.
- FERRÃO, A. M. A. **Arquitetura do café**. Campinas: Editora da UNICAMP, 2004. 296 p.

- 394 FERREIRA, T.; SCHULER, J.; GUIMARÃES, R.; FARAH, A. Introduction to Coffee Plant
395 and Genetics. In: FARAH, A. **Coffee: production, quality and chemistry**. [S. l.]: Royal
396 Society of Chemistry, 2019. 836 p.
- 397
- 398 FIGUEIREDO, L. P.; BOREM, F. M.; RIBEIRO, F. C.; GIOMO, G. S.; MALTA, M. R.;
399 TAVEIRA, J. H.S. Sensory analysis and chemical composition of ‘bourbon’ coffees
400 cultivated in different environments. **Coffee Science**, Lavras, v. 13, n. 1, p. 122-131, 2018.
401 DOI: <https://doi.org/10.25186/cs.v13i1.1400>.
- 402
- 403 FILEK, M.; KESKINEN, R.; HARTIKAINEN, H.; SZAREJKO, I.; JANIĄK, A.;
404 MISZALSKI, Z.; GOLDA, A. The protective role of selenium in rape seedlings subjected to
405 cadmium stress. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 165, n. 8, p. 833-844, 2008. DOI:
406 <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2007.06.006>.
- 407
- 408 FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS – FAO,
409 IFAD, UNICEF, WFP, WHO. **The State of Food Security and Nutrition in the World**
410 **2019**. Safeguarding against economic slowdowns and downturns. Rome, 2019, 239 p.
- 411
- 412 FORDYCE, F.M. Selenium deficiency and toxicity in the environment. In: O, SELINUS *et*
413 *al.* (ed.) **Essentials of medical geology**. Dordrecht: Springer, 2013. p. 375–416.
- 414
- 415 GOLOB, A.; KAVČIČ, J.; STIBILJ, V.; GABERŠČIK, A.; VOGEL-MIKUŠ, K.; GERM, M.
416 The effect of selenium and UV radiation on leaf traits and biomass production in *Triticum*
417 *aestivum* L. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, New York, v. 136, p. 142-149, 2017.
418 DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.11.007>.
- 419
- 420 GOLOB, A.; NOVAK, T.; MARŠIĆ, N.K.; ŠIRCELJ, H.; STIBILJ, V.; JERŠE, A.;
421 KROFLIČ, A.; GERM, M. Biofortification with selenium and iodine changes morphological
422 properties of *Brassica oleracea* L. var. gongylodes and increases their contents in tubers.
423 **Plant Physiology and Biochemistry**, New Delhi, v. 150, p 234-243, 2020. DOI:
424 <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.02.044>.
- 425
- 426 GUIMARÃES, R.J.; BORÉM, F.M.; SHULER, J.; FARAH, A.; ROMERO, J.C.P. Coffee
427 growing and post-harvest processing. In: **Coffee: production, quality and chemistry**. Ed.
428 Royal Society of Chemistry, 2019. 836 p.
- 429
- 430 GUPTA, M.; GUPTA, S. An overview of Selenium uptake, metabolism, and toxicity in
431 plants. **Front. Plant. Sci.**, [s. l.], v. 7, 2017. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.02074>.
- 432
- 433 HATFIELD, D.L.; TSUJI, P.A.; CARLSON, B.A.; GLADYSHEV, V.N. Selenium and
434 selenocysteine: roles in cancer, health, and development. **Trends in Biochemical Sciences**,
435 Amsterdam, v. 39, n. 3, p. 112-120, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2013.12.007>.
- 436
- 437 HAUG, A.; GRAHAM, R.D.; CHRISTOPHERSEN, O.A.; LYONS, G.H. How to use the
438 world's scarce selenium resources efficiently to increase the selenium concentration in food.
439 **Microbial ecology in health and disease**, Chichester, v. 19, n. 4, p. 209-228, 2007. DOI:
440 <https://doi.org/10.1080/08910600701698986>.
- 441
- 442

- HUSSAIN, B.; LIN, Q.; HAMID, Y.; SANAULLAH, M.; DI, L.; HASHMI, M.L.R.; KHAN, M.B.; HE, Z.; YANG, X. Foliage application of selenium and silicon nanoparticles alleviates Cd and Pb toxicity in rice (*Oryza sativa* L.). **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 712, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.136497>.
- HUSSEIN, H.A.; DARWESH, O.M.; MEKKI, B.B.; EL-HALLOUTY, S. M. Evaluation of cytotoxicity, biochemical profile and yield components of groundnut plants treated with nano-selenium. **Biotechnology Reports**, [s. l.], v. 24, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.btre.2019.e00377>
- ISLAM, M.Z.; PARK, B-J.; KANG, H-M.; LEE, Y-T. Influence of selenium biofortification on the bioactive compounds and antioxidant activity of wheat microgreen extract. **Food Chemistry**, London, v. 309, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125763>.
- KAVČIČ, A.; BUDIČ, B.; VOGEL-MIKUŠ, K. The effects of selenium biofortification on mercury bioavailability and toxicity in the lettuce-slug food chain. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v. 135, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2019.110939>
- KENNEDY, O.J.; PIRASTU, N.; POOLE, R.; FALLOWFIELD, J.A.; HAYES, P.C.; GRZESZKOWIAK, E.J.; TAAL, M.W.; WILSON, J.F.; PARKES, J.; RODERICK, P.J. Coffee Consumption and Kidney Function: A Mendelian Randomization Study. **American Journal of Kidney Diseases**, New York, v. 75, n. 5, p. 753-761, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2019.08.025>.
- KOLBERT, Z.; MOLNÁR, Á.; FEIGL, G.; VAN HOEWYK, D. Plant selenium toxicity: proteome in the crosshairs. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 232, p. 291-300, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2018.11.003>
- KY, C.L.; LOUARN, J.; DUSSERT, S.; GUYOT, B.; HAMON, S.; NOIROT, M. Caffeine, trigonelline, chlorogenic acids and sucrose diversity in wild *Coffea arabica* L. and *C. Canephora*, P. accessions. **Food Chemistry**, London, v. 75, n. 2, p. 223-230, 2001.
- LARA, T.S.; LESSA, J.H.L.; SOUZA, K.R.D.; CORGUINHA, A.P.B.; MARTINS, F.A.D.; LOPES, G.; GUILHERME, L.R.G. Selenium biofortification of wheat grain via foliar application and its effect on plant metabolism. **Journal of Food Composition and Analysis**, [s. l.], v. 81, p. 10-18, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2019.05.002>.
- LEROY, T.; RIBEYRE, F.; BERTRAND, B.; CHARMETANT, P.; DUFOUR, M.; MONTAGNON, C.; MARRACCINI, P.; POT, D. Genetics of coffee quality. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Campinas, v. 18, n. 1, p. 229-242, 2006.
- LI, S.X.; WANG, Z.H.; STEWART, B.A. Responses of crop plants to ammonium and nitrate N. **Advances in agronomy**, San Diego, v. 118, p. 205-397, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-405942-9.00005-0>.
- LIDON, F.C.; OLIVEIRA, K.; RIBEIRO, M.M.; PELICA, J.; PATACO, I.; RAMALHO, J.C.; LEITÃO, A.E.; ALMEIDA, A.S.; CAMPOS, P.S.; RIBEIRO-BARROS, A.I.; PAIS, I.P.; SILVA, M.M.; PESSOA, M.F.; REBOREDO, F.H. Selenium biofortification of rice grains and implications on macronutrients quality. **Journal of Cereal Science**, London, v. 81, p. 22-29, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2018.03.010>.

- 493
494 LIGOWE, I.S.; YOUNG, S.D.; ANDER, E.L.; KABAMBE, V.; CHILIMBA, A.D.C.;
495 BAILEY, E.H.; LARK, R.M.; NALIVATA, P.C. Selenium biofortification of crops on a
496 Malawi Alfisol under conservation agriculture. **Geoderma**, Amsterdam, v. 369, 2020. DOI:
497 <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2020.114315>.
498
499 MANGUEZE, A.V.J.; PESSOA, M.F.G.; SILVA, M.J.; NDAYIRAGIJE, A.; MAGAIA,
500 H.E.; COSSA, V.S.I.; REBOREDO, F.H.; CARVALHO, M.L.; SANTOS, J.P.; GUERRA,
501 M.; RIBEIRO-BARROS, A.I. Simultaneous Zinc and selenium biofortification in rice.
502 Accumulation, localization and implications on the overall mineral content of the flour.
503 **Journal of Cereal Science**, London, v. 82, p. 34-41, 2018. DOI:
504 <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2018.05.005>.
505
506 MARTINEZ, H. E. P. *et al.* Mineral Nutrition and Fertilization. In: **Coffee**. 2019. p. 163-201.
507 METRO, D.; CERNARO, V.; SANTORO, D.; PAPA, M.; BUEMI, M.; BENVENGA, S.;
508 MANASSERI, L. Beneficial effects of oral pure caffeine on oxidative stress. **Journal of**
509 **Clinical & Translational Endocrinology**, [s. l.], v. 10, p. 22-27, 2017.
510
511 MOHTASHAMI, R.; DEHNAVI, M.M.; BALOUCHI, H.; FARAJI, H. Improving yield, oil
512 content and water productivity of dryland canola by supplementary irrigation and selenium
513 spraying. **Agricultural Water Management**, Amsterdam, v. 232, 2020. DOI:
514 <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2020.106046>
515
516 MOSTOFA, M.G.; HOSSAIN, M.A.; SIDDIQUI, M.N.; FUJITA, M.; TRAN, L-S.P.
517 Phenotypical, physiological and biochemical analyses provide insight into selenium-induced
518 phytotoxicity in rice plants. **Chemosphere**, Oxford, v. 178, p. 212-223, 2017. DOI:
519 <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.03.046>.
520
521 MOSTOFA, M.G.; RAHMAN, M.M.; SIDDIQUI, M.N.; FUJITA, M.; TRAN, L-S.P.
522 Salicylic acid antagonizes selenium phytotoxicity in rice: selenium homeostasis, oxidative
523 stress metabolism and methylglyoxal detoxification. **Journal of Hazardous Materials**,
524 Amsterdam, v. 394, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122572>.
525
526 OESTREICH-JANZEN, S. Chemistry of Coffee. In: MANDER, L., LIU, H.W. (ed.).
527 **Comprehensive Natural Products II**. Oxford: Elsevier, 2013, p. 1085-1117.
528
529 ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE – OMS. **Documento final da Segunda**
530 **Conferência Internacional sobre Nutrição**: Declaração de Roma sobre a Nutrição. Roma:
531 OMS, 2014.
532
533 PANDEY, C.; GUPTA, M. Selenium and auxin mitigates arsenic stress in rice (*Oryza sativa*
534 L.) by combining the role of stress indicators, modulators and genotoxicity assays. **J. Hazard.**
535 **Mater.**, [s. l.], v. 287, p. 384-391, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2015.01.044>.
536
537 POKHREL, G.R.; WANG, K.T.; ZHUANG, H.M.; WU, Y.C.; CHEN, W.; LAN, Y.; ZHU
538 X.; LI, Z.; FU, F.F.; YANG, G.D. Effect of selenium in soil on the toxicity and uptake of
539 arsenic in rice plant. **Chemosphere**, Oxford, v. 239, 2020. DOI:
540 <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124712>.
541

- PRASAD, R.; SHIVAY, Y.S.; KUMAR, D. Chapter Two - Agronomic Biofortification of Cereal Grains with Iron and Zinc. Eds: D.L. **Sparks, Advances in Agronomy**, San Diego, v. 125, 2014, p. 55-91. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800137-0.00002-9>.
- RADY, M.M.; BELAL, H.E.E.; GADALLAH, F.M.; SEMIDA, W.M. Selenium application in two methods promotes drought tolerance in *Solanum lycopersicum* plant by inducing the antioxidant defense system. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 266, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109290>.
- RAMZANI, P.M.A.; KHALID, M.; NAVEED, M.; AHMAD, R.; SHAHID, M. Iron biofortification of wheat grains through integrated use of organic and chemical fertilizers in pH affected calcareous soil. **Plant Physiology and Biochemistry**, New Delhi, v. 104, p. 284-293, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.04.053>.
- REIS, A.R.; FAVARIN, J.L.; GRATÃO, P.L.; CAPALDI, F.R.; AZEVEDO, R.A. Antioxidant metabolism in coffee (*Coffea arabica* L.) plants in response to nitrogen supply. **Theor. Exp. Plant. Physiol.**, [s. l.], v. 27, p. 203-213, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40626-015-0045-3>.
- REIS, A.R.; BOLETA, E.H.M.; ALVES, C.Z.; COTRIM, M.F.; BARBOSA, J.Z.; SILVA, V.M.; PORTO, R.L.; LANZA, M.G.D.B.; LAVRES, J.; GOMES, M.H.F.; CARVALHO, H.W.P. Selenium toxicity in upland field-grown rice: Seed physiology responses and nutrient distribution using the μ -XRF technique. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, New York, v. 190, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.110147>.
- REIS, A.R.; EL-RAMADY, H.; SANTOS, E.F.; GRATÃO, P.L.; SCHOMBURG, L. Overview of Selenium Deficiency and Toxicity Worldwide: Affected Areas, Selenium-Related Health Issues, and Case Studies. In: PILON-SMITS E., WINKEL L., LIN ZQ. (eds) **Selenium in plants**. Plant Ecophysiology, v. 11, 2017. Springer, Cham. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-319-56249-0_13.
- REIS, A.R.; FAVARIN, J.L.; MALAVOLTA, E.; LAVRES JÚNIOR, J.; MORAES, M.F. Photosynthesis, Chlorophylls, and SPAD Readings in Coffee Leaves in Relation to nitrogen supply. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 40, n. 9-10, p. 1512-1528, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1080/00103620902820373>.
- REIS, A.R.; FAVARIN, J.L.; GALLO, L.A.; MORAES, M.F.; TEZOTTO, T.; LAVRES JUNIOR, J. Influence of nitrogen fertilization on nickel accumulation and chemical composition of coffee plants during fruit development. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 34, n. 12, p. 1853-1866, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1080/01904167.2011.600412>
- REIS, H.P.G.; BARCELOS, J.P.Q.; FURLANI-JUNIOR, E.; SANTOS, E.F.; SILVA, V.M.; MORAES, M.F.; PUTTI, F.F.; REIS, A.R. Agronomic biofortification of upland rice with selenium and nitrogen and its relation to grain quality. **Journal of Cereal Science**, London, v. 79, p. 508-515, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2018.01.004>

- REIS, H.P.G.; BARCELOS, J.P.Q.; SILVA, V.M.; SANTOS, E.F.; TAVANTI, R.F.R.;
PUTTI, F.F.; YOUNG, S.D.; BROADLEY, M.R.; WHITE, P.J.; REIS, A.R. Agronomic
biofortification with selenium impacts storage proteins in grains of upland rice. **Journal of
the Science of Food and Agriculture**, London, v. 100, n. 5, p. 1990-1997, 2020.
- SAHA, S.; CHAKRABORTY, M.; PADHAN, D.; SAHA, B.; MURMU, S.; BATABYAL,
K.; SETH, A.; HAZRA, G.C.; MANDAL, B.; BELL, R.W. Agronomic biofortification of
zinc in rice: Influence of cultivars and zinc application methods on grain yield and zinc
bioavailability. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 210, p. 52-60, 2017. DOI:
<https://doi.org/10.1016/j.fcr.2017.05.023>.
- SAREMNEZHAD, S.; ZARGARCHI, S.; KALANTARI, Z.N. Calcium fortification of
prebiotic ice-cream, **LWT**, v. 120, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108890>.
- SCHIEVANO, E.; FINOTELLO, C.; DE ANGELIS, E.; MAMMI, S.; NAVARINI, L. Rapid
authentication of coffee blends and quantification of 16-O-Methylcafestol in roasted coffee
beans by nuclear magnetic resonance. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**,
Easton, v. 62, n.51, p. 12309–12314, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf505013d>.
- SHUBHAM, K.; ANUKIRUTHIKA, T.; DUTTA, S.; KASHYAP, A.V.; MOSES, J.A.;
ANANDHARAMAKRISHNAN, C. Iron deficiency anemia: A comprehensive review on iron
absorption, bioavailability and emerging food fortification approaches. **Trends in Food
Science & Technology**, Cambridge, v. 99, p. 58-75, 2020. DOI:
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.02.021>.
- SILVA, V.M.; BOLETA, E.H.M.; LANZA, M.G.D.B.; LAVRES, J.; MARTINS, J.T.;
SANTOS, E.F.; SANTOS, F.L.M.; PUTTI, F.F.; FURLANI JUNIOR, E.; WHITE, P.J.;
BROADLEY M.R.; CARVALHO, H.W.P.; REIS, A.R. Physiological, biochemical, and
ultrastructural characterization of selenium toxicity in cowpea plants. **Environmental and
Experimental Botany**, Elmsford, v. 150, p. 172-182, 2018. DOI:
<https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2018.03.020>.
- SILVA, V.M.; BOLETA, E.H.M.; MARTINS, J.T.; SANTOS, F.L.M.; SILVA, A.C.R.;
ALCOCK, T.D.; WILSON, L.; SÁ, M.E.; YOUNG, S.D.; BROADLEY, M.R.; WHITE, P.J.;
REIS, A.R. Agronomic biofortification of cowpea with selenium: effects of selenate and
selenite applications on selenium and phytate concentrations in seeds. **J. Sci. Food Agric.**, v.
99, p. 5969-5983, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1002/jsfa.9872>.
- SINGH, R.; UPADHYAY, A.K.; SINGH, D.P. Regulation of oxidative stress and mineral
nutrient status by selenium in arsenic treated crop plant *Oryza sativa*. **Ecotoxicology and
Environmental Safety**, New York, v. 148, p. 105-113, 2018. DOI:
<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.10.008>.
- SOUZA, J.A.B.; JUNIOR, I.P.S.; NAKAYAMA, F.T. Desenvolvimento e produtividade do
café (*Coffea arabica* L.) submetido a manejo nutricional via foliar. **Pesquisa Aplicada &
Agrotecnologia**, Guarapuava, v. 12, n. 1, p. 53-58, 2019. DOI:
<https://doi.org/10.5935/PAeT.V12.N1.05>.
- TORGA, G.N.; SPERS, E.E. Perspectives of global coffee demand. *In: Coffee Consumption
and Industry Strategies in Brazil*. [S. l.]: Woodhead Publishing, 2020. p. 21-49.

- 641
642 VAN DAM, R.M.; HU, F.B. Coffee consumption and risk of type 2 diabetes: a systematic
643 review. **Jama**, Chicago, v. 294, n. 1, p. 97-104, 2005.
644
- 645 WHITE, P.J. Selenium accumulation by plants. **Annals of Botany**, London, v. 117, p. 217–
646 235, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1093/aob/mcv180>
647
- 648 WHITE, P.J. Selenium metabolism in plants. **BBA – General Subjects**, v. 1862, p. 2333–
649 2342, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2018.05.006>
650
- 651 WU, C.; DUN, Y.; ZHANG, Z.; LI, M.; WU, G. Foliar application of selenium and zinc to
652 alleviate wheat (*Triticum aestivum* L.) cadmium toxicity and uptake from cadmium-
653 contaminated soil. **Ecotoxicology and Environmental Safety**,
654 New York, v. 190, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.110091>.
655
- 656 WU, G.; LIU, H.; HUA, L.; LUO, Q.; LIN, Y.; HE, P.; FENG, S.; LIU, L.; YE, Q.
657 Differential responses of stomata and photosynthesis to elevated temperature in two co-
658 occurring subtropical forest tree species. **Frontiers in plant science**, [s. l.], v. 9, 8 p., 2018.
659 DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00467>.
660
- 661 ZHANG, H.; ZHAO, Z.; ZHANG, X.; ZHANG, W.; HUANG, L.; ZHANG, Z.; YUAN, L.;
662 LIU, X. Effects of foliar application of selenate and selenite at different growth stages on
663 Selenium accumulation and speciation in potato (*Solanum tuberosum* L.). **Food Chemistry**,
664 London, v. 286, p. 550-556, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.01.185>

CAPÍTULO II

Mudas de *Coffea arabica* apresentam tolerância ao estresse por selênio: respostas fisiológicas e bioquímicas

RESUMO

O selênio (Se) é considerado elemento benéfico por regular o sistema antioxidativo de plantas submetidas a estresses abiótico, ou bióticos. Todavia, o limite dos efeitos fisiológicos benéficos e tóxicos é muito estreito. Neste estudo foi avaliado a performance antioxidativa, a composição nutricional, o transporte à longa distância de Se, o conteúdo de açúcares, de proteínas de reserva, pigmentos fotossintéticos e o crescimento de genótipos de *Coffea arabica* submetidos à ausência e à alta concentração de Se na solução. Foram utilizados cinco genótipos de *Coffea arabica* (Obatã, IPR99, IAC125, IPR100 e Catucaí), cultivados na ausência e presença de Se (0 e 1,0 mmol L⁻¹) em solução nutritiva, supridos com selenato de sódio durante 8 dias. A aplicação de 1 mmol L⁻¹ de Se promoveu o escurecimento das raízes de todos os genótipos. Não foi constatado sintoma visual de toxidez nas folhas, porém houve redução na concentração de fósforo e enxofre na parte aérea das plantas submetidas à alta dose de Se. Exceto para o genótipo Obatã, as mudas de cafeeiro apresentaram estratégias de regulação da absorção do Se pela redução do transporte a longa distância do Se das raízes para a parte aérea. A concentração de clorofila total, feofitina total e carotenoides foram negativamente afetadas nos genótipos Obatã, IPR99 e IAC125, quando expostas à concentração de Se de 1 mmol L⁻¹. A produção de H₂O₂ foi menor nos genótipos IPR99, IPR100 e IAC125 quando expostos ao Se, resultando em menor atividade da superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX). Esses resultados sugerem que o metabolismo antioxidante foi efetivo na regulação do estresse oxidativo nas plantas tratadas com Se. O aumento de sacarose, proteínas de reserva e regulação das enzimas SOD, CAT e APX, bem como a compartimentalização do Se nas raízes foram as principais modulações bioquímicas e fisiológicas das mudas do cafeeiro em condições de estresse, pelo excesso de Se.

Palavras-chave: Fitotoxidez. Fatores fitotoxicológicos. Resposta antioxidante. Estresse oxidativo.

697 4 INTRODUÇÃO

698

699 O selênio (Se) é um elemento essencial para a saúde humana e animal, pois participa
700 de reações antioxidantes no combate aos radicais livres (Kieliszek, 2019). Em humanos,
701 possui efeitos benéficos por reduzir as inflamações, prevenir o câncer, doenças
702 cardiovasculares e diabetes, além disso, auxilia no bom funcionamento da tireoide e do
703 sistema imunológico (BRIGELIUS-FLOHÉ, 2018).

704 O Se é considerado elemento benéfico para as plantas. Pode ser absorvido em formas
705 inorgânicas (selenato ou selenito) e compostos Se-orgânicos (selenocisteína ou
706 selenometionina), com inúmeros relatos científicos de incremento no desenvolvimento e
707 sobrevivência de plantas submetidas a diversos fatores de estresse (PILON-SMITS *et al.*,
708 2009; WHITE, 2016; SILVA *et al.*, 2019). Dentre os aspectos benéficos, destacam-se a
709 atenuação do estresse oxidativo (SHAHID *et al.*, 2019), resistência a patógenos e herbivoria
710 (SCHIAVON; PILON-SMITS, 2017), estresse induzido por cádmio (LIMA *et al.*, 2019), e
711 estresse por déficit hídrico (ANDRADE *et al.*, 2018). Silva *et al.* (2018) observaram que
712 aplicações foliares de até 50 g ha⁻¹ de Se aplicado na fonte selenito de sódio em plantas de
713 feijão-caupi, promoveram incrementos nas atividades das enzimas superóxido dismutase
714 (SOD), catalase (CAT), ascorbato peroxidase (APX) e glutathione redutase (GR), com redução
715 nas concentrações de malondialdeído e peróxido de hidrogênio.

716 Por outro lado, o Se é tóxico aos vegetais quando aplicado em altas concentrações,
717 devido à sua ação pró-oxidante (REIS *et al.*, 2017; SILVA *et al.*, 2018). Os sintomas de
718 toxidez de Se em feijão-caupi foram caracterizados principalmente pela clorose da lâmina
719 foliar, progredindo para lesões necróticas com borda marrom e depósito salino rosa no
720 interior, resultando em obstrução dos vasos condutores e redução superior a 90 e 80% na
721 concentração de clorofila total e carotenoides, respectivamente (Silva *et al.*, 2018). Em
722 plantas de arroz, os sintomas são parecidos, inicialmente ocorre a clorose foliar, progredindo
723 para amarelecimento da planta e necrose, conforme aumenta-se a dose até 1,5 mM de selenato
724 de sódio em solução nutritiva, provocando drástica redução de 69 e 53% na concentração de
725 clorofila e carotenoides, reduções de 45% na altura de plantas e 39% na biomassa seca das
726 mudas (MOSTOFA *et al.*, 2017). Há necessidade de se caracterizar as respostas fisiológicas e
727 bioquímicas das principais culturas de interesse econômico quanto ao excesso de elementos
728 benéficos como Se, pois em alta concentração podem apresentar toxidez para a planta. Os
729 resultados de estudos ecotoxicológicos possibilitam o entendimento dos fatores fisiológicos
730 envolvidos na seleção de genótipos de café mais tolerantes ao excesso de Se no solo.

731 O café arábica é uma bebida consumida mundialmente e considerada alimento
732 nutracêutico e funcional. Há necessidade de estudos acerca dos fatores ecotoxicológicos no
733 cafeeiro, pois são inéditos estudos sobre toxidez de Se em café, sendo necessários caracterizar
734 os parâmetros fisiológicos e bioquímicos de genótipos modernos.

735 Não há relatos na literatura sobre caracterização fitotoxicológica do estresse causado
736 pelo Se em mudas de cafeeiro. Esse estudo apresenta parâmetros relacionados a
737 sintomatologia visual e massa seca da planta, pigmentos fotossintéticos (clorofila total,
738 feofitina e carotenoides), antioxidantes enzimáticos (atividade de superóxido dismutase,
739 catalase e ascorbato peroxidase), concentração de espécies reativas de oxigênio (EROs),
740 peroxidação lipídica e bioindicadores importantes para compreensão dos efeitos tóxicos e
741 estratégias conferidas pela planta para mitigação da toxidez de Se. Por ser uma planta de
742 metabolismo C₃ e aclimatada para produção em ambiente tropical, está propensa à diversos
743 estresses bióticos e abióticos, afetando drasticamente a atividade fotossintética (Dinh *et al.*,
744 2016) e o desenvolvimento inicial das mudas (ALMEIDA, 2018). Nesse sentido, o objetivo
745 desse estudo foi avaliar respostas fisiológicas, bioquímicas e nutricionais de genótipos de
746 *Coffea arabica* submetidos ao estresse induzido por Se em solução nutritiva.

747

748 5 MATERIAL E MÉTODOS

749

750 5.1. Condições de crescimento e delineamento experimental

751

752 Mudanças de genótipos de café arábica ('Obatã', 'IPR99', 'IAC125', 'IPR100' e
753 'Catucaí') com 5 meses de idade (4 a 5 pares de folhas totalmente desenvolvidas) foram
754 colocadas em recipientes de polietileno de 8 L contendo solução nutritiva adaptada de
755 Johnson *et al.* (1957), com força iônica de 40% e composição de KNO_3 1 mol L^{-1} , $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$
756 1 mol L^{-1} , NH_4NO_3 1 mol L^{-1} , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1 mol L^{-1} , CaCl_2 1 mol L^{-1} , $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 1
757 mol L^{-1} , KCl 1 mol L^{-1} , KH_2PO_4 1 mol L^{-1} , $\text{NaSO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ 1 mol L^{-1} , $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 1 mol L^{-1} ,
758 Fe-EDTA (25 g de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ + 54 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de EDTA), KCl 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$, H_3BO_3 25 μmol
759 L^{-1} , MnSO_4 2 $\mu\text{mol L}^{-1}$, ZnSO_4 2 $\mu\text{mol L}^{-1}$, CuSO_4 0,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$, H_2MoO_4 0,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$. A
760 oxigenação da solução durante todo o experimento foi feita através de tubos plásticos
761 conectados a um compressor de ar. O pH da solução foi monitorado diariamente nos períodos
762 matutino e vespertino, sendo corrigido para $5,5 \pm 0,1$, adicionando-se NaOH 0,1 mol L^{-1} ou
763 HCl 0,1 mol L^{-1} sempre que necessário.

764 O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 5×2 ,
765 sendo cinco genótipos de *Coffea arabica* cultivados na ausência e presença de Se (0 e 1,0
766 mmol L^{-1}), utilizando como fonte o selenato de sódio, com quatro repetições. Após cinco dias
767 de adaptação das plantas na solução nutritiva, aumentou-se a força iônica da solução nutritiva
768 para 100% e aplicaram-se os tratamentos com Se. As plantas foram cultivadas por oito dias
769 nos tratamentos com ou sem Se.

770 No final do experimento, as plantas foram levadas ao laboratório para extração dos
771 compostos, sendo uma parte separada em raiz e parte aérea para quantificação de massa seca e
772 análise nutricional dos tecidos, e outra parte foram coletadas as folhas maduras
773 completamente desenvolvidas macerando-as em nitrogênio líquido para extração de
774 pigmentos fotossintéticos (clorofila total, feofitina total e carotenoides), perfil de metabólitos
775 hidrossolúveis (açúcares solúveis totais, sacarose, nitrato, amônia e aminoácidos), proteínas
776 de reserva (albumina, globulina, prolamina e glutelina), enzimas antioxidantes (CAT, SOD,
777 APX), peróxido de hidrogênio e peroxidação lipídica.

778

779

780

781

5.2. Produção de massa seca e análise química do tecido vegetal

Após a separação da raiz e da parte aérea, o material vegetal foi acondicionado em embalagem de papel, identificado e seco em estufa com circulação de ar forçado à 60 ± 5 °C durante 48 horas até atingirem peso constante, com posterior mensuração da massa seca em planta⁻¹. Posteriormente, o material foi moído em moinho de facas tipo Wiley de aço inox e 0,20 g de peso seco de folhas e raízes foram colocadas em vasos de digestão de perfluoroalcoxis (PFA) adicionando-se 6 mL de HNO₃ PA 65% (merch). A digestão foi realizada em sistema de micro-ondas compreendendo uma plataforma Multiwave GO com rotor de 12 vasos (Anton Paar, Graz, Áustria). As configurações para a digestão foram: Temp = 195 °C, tempo = 45 min de rampa e 20 min de holding, dois espaços em branco operacionais foram incluídos, e duas réplicas de material de referência certificado (CRM) para Se foram incluídas a cada três corridas. O CRM utilizado foi folhas de tomate (SRM 1573a, NIST, Gaithersburg, MD, EUA) com recuperação de Se de 99%. Após digestão, 9 mL de água milli-Q foram adicionados a cada tubo (volume final de 15 mL) e armazenados à temperatura ambiente. Antes da análise elementar, os digeridos foram diluídos 1:5 usando água milli-Q. A análise dos elementos foi realizada por espectroscopia de massa de plasma indutivamente acoplada (ICP-MS) (Agilent 7500ce, Agilent Technologies®, Tóquio, Japão), como descrito anteriormente por Silva *et al.* (2018).

Após obtenção dos resultados, calculou-se o índice de translocação Se, de acordo com Abichequer e Bohnen (1998), conforme equação:

$$\text{Translocação de Se raiz/PA (\%)} = \frac{\text{Concentração de Se na parte aérea (mg kg}^{-1}\text{)}}{\text{Concentração de Se na raiz (mg kg}^{-1}\text{)}} \times 100 \quad (1)$$

O acúmulo de Se foi obtido pela multiplicação da massa seca de raízes e parte aérea das plantas pelos seus respectivos teores de Se nesses órgãos.

5.3. Pigmentos fotossintetizantes

A concentração de clorofila total, carotenoides e feofitina total foram quantificados pelo método espectrofotométrico proposto por Lichtenthaler (1987), utilizando 0,50 g de material vegetal fresco armazenado em 5 mL de acetona a 80%, com alíquota de 100 µL de extrato diluído em 2 mL de acetona 80%. Os resultados foram expressos em µg mL⁻¹.

815 **5.4. Extração de compostos nitrogenados e açúcares**

816

817 Para análise de perfil de compostos nitrogenados e açúcares o material vegetal foi
818 extraído de acordo com a metodologia descrita por Bielecki e Turner (1966). As folhas foram
819 maceradas em almofariz de porcelana com nitrogênio líquido, sendo pesado 0,5 g de material
820 vegetal fresco e macerado em 5 mL de solução MCW (60% metanol, 25% clorofórmio e 15%
821 água), a solução contendo o extrato vegetal foi armazenada em tubos *falcon* de 15 mL,
822 homogeneizada em vórtex e centrifugada à $10.000 \times g$ durante 10 minutos à 4 °C, e
823 armazenada em refrigerador durante 48 horas. Após este período, extraíram-se 4 mL do
824 sobrenadante transferindo-o para outro tubo *falcon* de 15 mL, adicionando 1,5 mL de água
825 deionizada e 1 mL de clorofórmio, e armazenado em refrigerador durante 24 horas para a
826 separação das fases lipossolúvel e hidrossolúvel, da qual foram feitas as análises de açúcares
827 solúveis totais, sacarose, nitrato, amônia e aminoácidos.

828

829 **5.4.1. Açúcares solúveis totais e sacarose**

830

831 A concentração de açúcares totais foi determinada de acordo com a metodologia de
832 DuBois *et al.* (1956), sendo adicionado 25 µL de extrato hidrossolúvel, 500 µL de fenol 5% e
833 2 mL de ácido sulfúrico concentrado, lentamente, em tubos de vidro. Esta mistura foi
834 homogeneizada em vórtex e, após resfriar em temperatura ambiente, seguiu-se a leitura no
835 espectrofotômetro em absorbância no comprimento de onda $\lambda = 490$ nm.

836 A determinação de sacarose foi realizada seguindo o método de Van Handel (1968),
837 adicionando 50 µL de extrato hidrossolúvel, 500 µL de KOH 30% e 2 mL de ácido sulfúrico
838 concentrado, lentamente, em tubos de vidro. A mistura foi homogeneizada em vórtex e
839 mantida em estufa à 100 °C durante 10 minutos, e resfriados a temperatura ambiente,
840 posteriormente procedeu-se a leitura em espectrofotômetro no comprimento de onda $\lambda = 490$
841 nm em absorbância. Ambas concentrações foram determinadas de acordo com curva padrão
842 de sacarose e os resultados expressos em mg g^{-1} de matéria fresca (MF).

843

844 **5.4.2. Nitrato e amônia**

845

846 Para a determinação de nitrato foi utilizado o método de Cataldo *et al.* (1975). Do
847 extrato da fase hidrossolúvel, foi retirado uma alíquota de 10 µL e adicionado 40 µL ácido
848 salicílico 5% em H_2SO_4 (p/v). Após 20 minutos em temperatura ambiente, foi acrescentado 1

849 mL de NaOH 2N, lentamente. Após resfriar a temperatura ambiente, foram realizadas as
850 leituras em espectrofotômetro em $\lambda = 410$ nm. A concentração de nitrato foi determinada
851 utilizando-se curva padrão de solução nitrato de cálcio. Os resultados expressos em $\mu\text{mol g}^{-1}$
852 MF.

853 A concentração de amônia foi quantificada de acordo com a metodologia descrita por
854 McCullough (1967). Adicionou-se 200 μL de extrato hidrossolúvel, 500 μL de solução fenol
855 (2,5 g de fenol e 12,5 mg de nitroprussiato de sódio em volume final de 250 mL) e 500 μL de
856 solução fosfato (1,25 g NaOH, 13,4 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ e 2,5 mL NaOCl 5%, para 250 mL). As
857 amostras foram incubadas a 37 °C durante 1 h. A leitura foi realizada por espectrometria no
858 comprimento de onda $\lambda = 630$ nm em absorbância. A concentração de amônia foi determinada
859 através de curva padrão de solução sulfato de amônio e os resultados expressos em $\mu\text{mol g}^{-1}$
860 MF.

861

862 5.4.3. *Aminoácidos*

863

864 Para quantificar a concentração de aminoácidos solúveis totais, foi utilizado o método
865 de Yemm e Cocking (1955), utilizando-se alíquota de 100 μL de extrato hidrossolúvel, 500
866 μL citrato de sódio 0,2M, 200 μL solução ninhidrina 5% em éter monometílico de
867 etilenoglicol e 1 mL de KCN 0,0002M. Esta mistura foi mantida a 100 °C durante 15 minutos
868 em estufa, em seguida foi resfriada em água corrente por 10 minutos, acrescentando-se 1 mL
869 de álcool etílico 60% e homogeneizado em vortex. A leitura foi realizada em
870 espectrofotômetro no comprimento de onda $\lambda = 570$ nm. A concentração de aminoácidos
871 solúveis totais foi determinada utilizando curva padrão de solução metionina.

872

873 5.5. *Proteínas de reserva*

874

875 Para extrações das proteínas de reserva, adotou-se o método descrito anteriormente em
876 Reis *et al.* (2018). Em tubos falcon de 15 mL foi pesado 0,25 g do material vegetal
877 previamente acondicionado em nitrogênio líquido e macerado em almofariz. Para extração de
878 albumina foram acrescentados 3 mL de água deionizada, o material foi homogeneizado em
879 vortex e em seguida centrifugado à $5.000 \times g$ à 4 °C durante 20 minutos para separação de
880 fases. O sobrenadante foi retirado para a quantificação da fração albumina. O precipitado foi
881 submetido a extração com 5 mL NaCl a 5% com processos idem ao anterior, e o sobrenadante
882 coletado para a determinação da fração globulina. O precipitado foi ressuspendido com 2,5

883 mL de etanol 60%, e o sobrenadante foi retirado para a quantificação da fração prolamina. Por
884 último, foi extraída a fração glutelina, quantificada a partir da extração com 5 mL NaOH
885 0,4%.

886 As concentrações de albumina, globulina, prolamina e glutelina foram determinadas
887 segundo o método de Bradford (1976). Foram pipetados separadamente em tubos de ensaio
888 20 μ L das alíquotas de albumina, globulina, prolamina e glutelina e 1 mL do reagente
889 Bradford. As leituras da absorbância foram realizadas em espectrofotômetro a $\lambda = 595$ nm. A
890 concentração de proteínas no tecido foliar (albumina, globulina, prolamina e glutelina) foi
891 determinada utilizando curva padrão de solução BSA (“Bovine Serum Albumin”) e os
892 resultados expressos em mg g^{-1} MF.

893

894 **5.6. Análise do estresse oxidativo e enzimas antioxidantes**

895

896 As folhas das plantas foram coletadas e armazenadas em nitrogênio líquido,
897 posteriormente acondicionadas em freezer -80°C até serem processadas para análises de
898 conteúdo de peróxido de hidrogênio (H_2O_2), malondialdeído (MDA), atividade de superóxido
899 dismutase (SOD), atividade de catalase (CAT) e atividade de ascorbato peroxidase (APX).

900 Para a determinação de proteínas totais, superóxido dismutase (SOD, EC:1.15.1.1),
901 catalase (CAT, EC:1.11.1.6) e ascorbato peroxidase (APX, EC:1.11.1.11) foram pesados
902 aproximadamente 1,5 g do material vegetal congelado, que foi macerado em almofariz de
903 porcelana com nitrogênio líquido. No material macerado foram adicionados 4 mL de solução
904 tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 7,5) contendo 7% de sacarose, 14 mM β -
905 mercaptoetanol, 250 mM ácido ascórbico, 20 mM ditioneitol, 20 mM metabissulfito de sódio,
906 20 mM tetraborato de sódio e 10 mM KCl. Os extratos homogeneizados foram centrifugados
907 a $10.000 \times g$ por 30 minutos à 4°C , o sobrenadante (sempre no gelo) foi coletado e passado
908 por coluna Sephadex PD10, usando tampão fosfato de potássio 100mM contendo EDTA 1
909 mM e DTT 3 mM. O flow through recolhido foi transferido para *eppendorfs* e armazenado em
910 freezer -80°C .

911

912 **5.6.1. Peróxido de hidrogênio**

913

914 A concentração de H_2O_2 foi determinada segundo Alexieva *et al.* (2001). Para isso
915 foram pesados aproximadamente 0,4 g do material vegetal congelado, que foi macerado em
916 almofariz de porcelana com nitrogênio líquido. No material macerado foi adicionado 4 mL de

917 ácido tricloroacético (TCA) 0,1% (p/v) em tubo falcon de 15 mL, o material foi
918 homogeneizado em vortex e centrifugado a $10.000 \times g$ por 15 minutos a 4 °C. Em seguida foi
919 feita extração de 80 µL de sobrenadante, no qual foram adicionados 200 µL de tampão fosfato
920 de potássio, pH 7,5 (100 mM) e 800 µL de 1 M solução de iodeto de potássio. As amostras
921 foram mantidas em gelo durante uma hora. E posteriormente mantidas em temperatura
922 ambiente por 20 minutos para estabilização da reação, foram realizadas leituras de
923 absorbância a $\lambda = 390$ nm em espectrofotômetro. A concentração de peróxido de hidrogênio
924 no tecido foliar foi calculada com base na curva padrão de H_2O_2 e os resultados expressos em
925 $\mu\text{mol g}^{-1}$ MF.

926

927 **5.6.2. *Peroxidação lipídica – Malondialdeído***

928

929 A peroxidação lipídica, ou MDA, foi mensurada segundo metodologia de Heath e
930 Packer (1968). Foi macerado em almofariz de porcelana com nitrogênio líquido 0,4 g do
931 material vegetal. No material macerado foram adicionados 4 mL de TCA 0,1% (p/v) +
932 polivinilpolipirrolidona (PVPP) 20% em tubo falcon de 15 mL. O material foi
933 homogeneizado em vortex e centrifugado a $10000 \times g$ por 10 minutos a 4 °C. A reação foi
934 realizada pela adição de 250 µL do sobrenadante em 1 mL de solução de ácido tricloroacético
935 20% + 0,5% de ácido tiobarbitúrico. As amostras foram mantidas em banho-seco a 95 °C
936 durante 30 minutos, posteriormente, resfriadas em gelo por 10 minutos e homogeneizadas em
937 vortex. Foram realizadas leituras das amostras em $\lambda = 535$ e 600 nm. Os resultados foram
938 expressos em nmol MDA g^{-1} MF.

939

940 **5.6.3. *Proteínas solúveis***

941

942 A concentração das proteínas solúveis totais foi determinada segundo o método de
943 Bradford (1976), para o cálculo da atividade específica da SOD, CAT e APX. A determinação
944 foi feita pela adição de 10 µL de sobrenadante e 1 mL de reagente Bradford. Após 10 minutos
945 de espera, foi realizada leitura de absorbância em $\lambda = 595$ nm em espectrofotômetro e os
946 resultados foram expressos em mg g^{-1} MF. Como descrito anteriormente para proteínas de
947 reserva, a curva padrão foi determinada utilizando-se o BSA.

948

949

950

951 **5.6.4. Atividade da superóxido dismutase (SOD, EC:1.15.1.1)**

952

953 A atividade da SOD foi determinada de acordo com Giannopolitis e Ries (1977).
 954 Utilizou-se uma câmara de reação sob iluminação de lâmpada fluorescente de 15 W a 25 °C.
 955 Foi adicionado 50 µL da amostra em 2 mL da solução tampão fosfato de potássio pH 7,8 (50
 956 mmol L⁻¹) + 200 µL de nitroblue tetrazolium (NBT) (75 mmol L⁻¹), 200 µL de EDTA (0,1
 957 mmol L⁻¹), 250 µL de metionina (13 mmol L⁻¹) e 250 µL de riboflavina (2 µmol L⁻¹). As
 958 amostras foram homogeneizadas em vortex, acondicionadas na caixa, tampada e livre de
 959 qualquer luz exterior, e mantidas sob a iluminação da caixa por 20 minutos. Em seguida, as
 960 amostras foram homogeneizadas e submetidas a leitura de absorbância a $\lambda = 560$ nm em
 961 espectrofotômetro, os resultados foram expressos em U SOD mg⁻¹ proteína.

962

963 **5.6.5. Atividade da catalase (CAT, EC:1.11.1.6)**

964

965 A atividade da CAT foi determinada pelo monitoramento da degradação de H₂O₂
 966 conforme método descrito por Reis *et al.* (2015). Em 1 mL de tampão fosfato de potássio pH
 967 7,5 (100 mM) foram adicionados 25 µL H₂O₂ (30%) e 10 µL do extrato vegetal. O material
 968 foi imediatamente homogeneizado em vortex e a determinação da decomposição do H₂O₂ foi
 969 realizada durante 1 minuto com intervalos de 10 segundos a 25 °C em espectrofotômetro a $\lambda =$
 970 240 nm. Os resultados foram expressos em µmol H₂O₂ min⁻¹ mg⁻¹ proteína.

971

972 **5.6.6. Atividade da ascorbato peroxidase (APX, EC:1.11.1.11)**

973

974 A atividade da APX foi determinada segundo Moldes *et al.* (2008). Em 10 µL do
 975 extrato vegetal foram adicionados 690 µL de tampão fosfato de potássio 80 mM, pH 7,0 +
 976 100 µL de ascorbato 5 mM + 100 µL de EDTA 1 mM com posterior incubação em banho-
 977 maria a 30°C por 5 minutos no escuro, em seguida, adicionou-se 100 µL de H₂O₂ 1 mM com
 978 imediata leitura de absorbância a $\lambda = 290$ nm durante 1 minuto. Os resultados foram expressos
 979 em µmol H₂O₂ min⁻¹ mg⁻¹ proteína.

980

981 **5.7. Análise estatística**

982

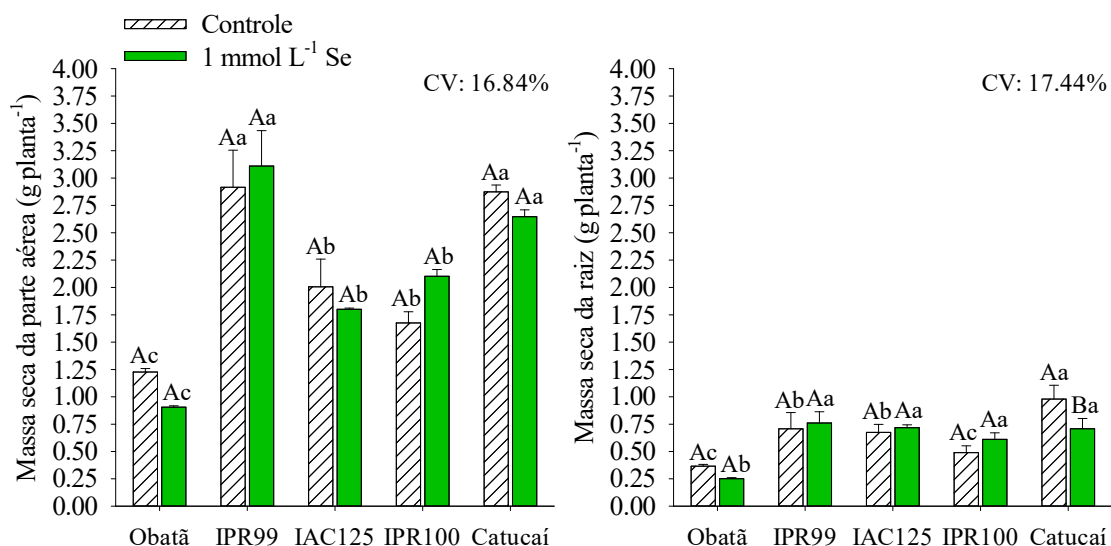
983 Por meio do Software R (R Development Core Team 2015, v. 3.6), os dados foram
 984 submetidos aos testes de normalidade proposto por Shapiro e Wilk (1965) e

985 homocedasticidade de Levene, ambos a 5% de significância ($p \geq 0,05$). Posteriormente, os
986 dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F ($p \leq 0,05$), e quando significativos,
987 as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância ($p \leq 0,05$). A análise
988 de correlação de Pearson ($p \leq 0,05$) também foi realizada para identificar variáveis
989 dependentes que são diretamente correlacionadas com os tratamentos. O pacote “corrplot” foi
990 utilizado para criar o Heatmap, com funções “cor” e “cor.mtest” para criar os coeficientes e
991 matrizes de p-valores. Para facilitar a visualização de correlações significativas, foram
992 inseridos asteriscos nas células do Heatmap.
993

6 RESULTADOS

Os acúmulos de massa seca de parte aérea e raízes da maioria dos genótipos de café não diferiram entre os tratamentos (Figura 1a, b). Apenas o cultivar Catucaí apresentou redução de 27,6% no acúmulo de massa seca de raízes quando exposto a 1 mmol L⁻¹ de Se. Os cultivares IPR99 e Catucaí destacaram-se dos demais por apresentarem os maiores acúmulos de massa seca de raízes e parte aérea, enquanto que no genótipo Obatã verificou-se menor massa seca de parte aérea e raiz, tanto na ausência (1,23 e 0,37 g plant⁻¹) quanto na presença de Se (0,91 e 0,25 g plant⁻¹).

Figura 1 - Efeitos do Se na massa seca da parte aérea (A) e na massa seca da raiz (B) dos genótipos de mudas de café. O erro padrão da média (n = 4) é indicado por barras de erro. Letras diferentes indicam diferença entre as médias de acordo com o teste de Tukey ($P \leq 0,05$). Letras maiúsculas correspondem à concentração de Se na solução nutritiva dentro de cada genótipo e letras minúsculas correspondem aos genótipos do café dentro de cada concentração de Se.



Fonte: Próprio autor.

Evidenciou-se que as mudas de café expostas ao Se apresentaram raízes mais escuras, sendo este um provável indicativo de oxidação (Figura 2). Além disso, os genótipos Obatã e Catucaí também apresentaram drástica redução nas estruturas de parte aérea, dada pelo menor comprimento da haste principal e internódios curtos, quando comparados ao tratamento controle. Ao contrário do que se esperava, a exposição ao Se não causou a clorose ou amarelecimento nas folhas dos genótipos de café nesta concentração testada.

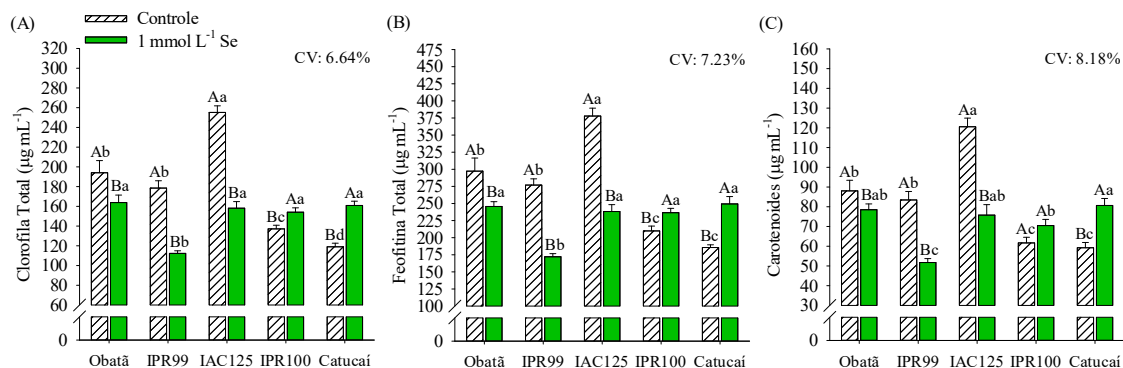
1019 **Figura 2** - Caracterização fenotípica visual das mudas de genótipos de café em resposta à
 1020 concentração de Se, onde (a) Obatã, (b) IPR-99, (c) IAC 125, (d) IPR-100, and (e) Catucaí
 1021 25L.
 1022



1023
 1024 Fonte: Próprio autor.
 1025

1026 Quanto aos pigmentos fotossintetizantes, os genótipos de café Obatã, IPR99 e IAC125
 1027 apresentaram redução nos teores de clorofila total quando expostos à 1 mmol L^{-1} de Se, sendo
 1028 15,6, 37,1 e 38,0%, respectivamente, menores em comparação ao tratamento controle (Figura
 1029 3a). Em contrapartida, os genótipos IPR100 e Catucaí tiveram aumento dos teores de clorofila
 1030 total em 12,3 e 35,2%, respectivamente, quando expostos ao Se. As concentrações de feofitina
 1031 total e carotenoides acompanham tais resultados de clorofila, indicando que a exposição ao Se
 1032 foi prejudicial aos genótipos Obatã, IPR99 e IAC125 (Figura 3b, c). A redução de
 1033 carotenoides nesses genótipos foi na ordem de 10,8, 38,0 e 37,1%, respectivamente, em
 1034 relação ao tratamento controle.

Figura 3 - Efeitos do Se nos pigmentos fotossintéticos, (A) clorofila total, (B) feofitina total e (C) carotenoides nas folhas dos genótipos de mudas de café. O erro padrão da média ($n = 4$) é indicado por barras de erro. Letras diferentes indicam diferença entre as médias de acordo com o teste de Tukey ($P \leq 0,05$). Letras maiúsculas correspondem à concentração de Se na solução nutritiva dentro de cada genótipo e letras minúsculas correspondem aos genótipos do café dentro de cada concentração de Se.



1041

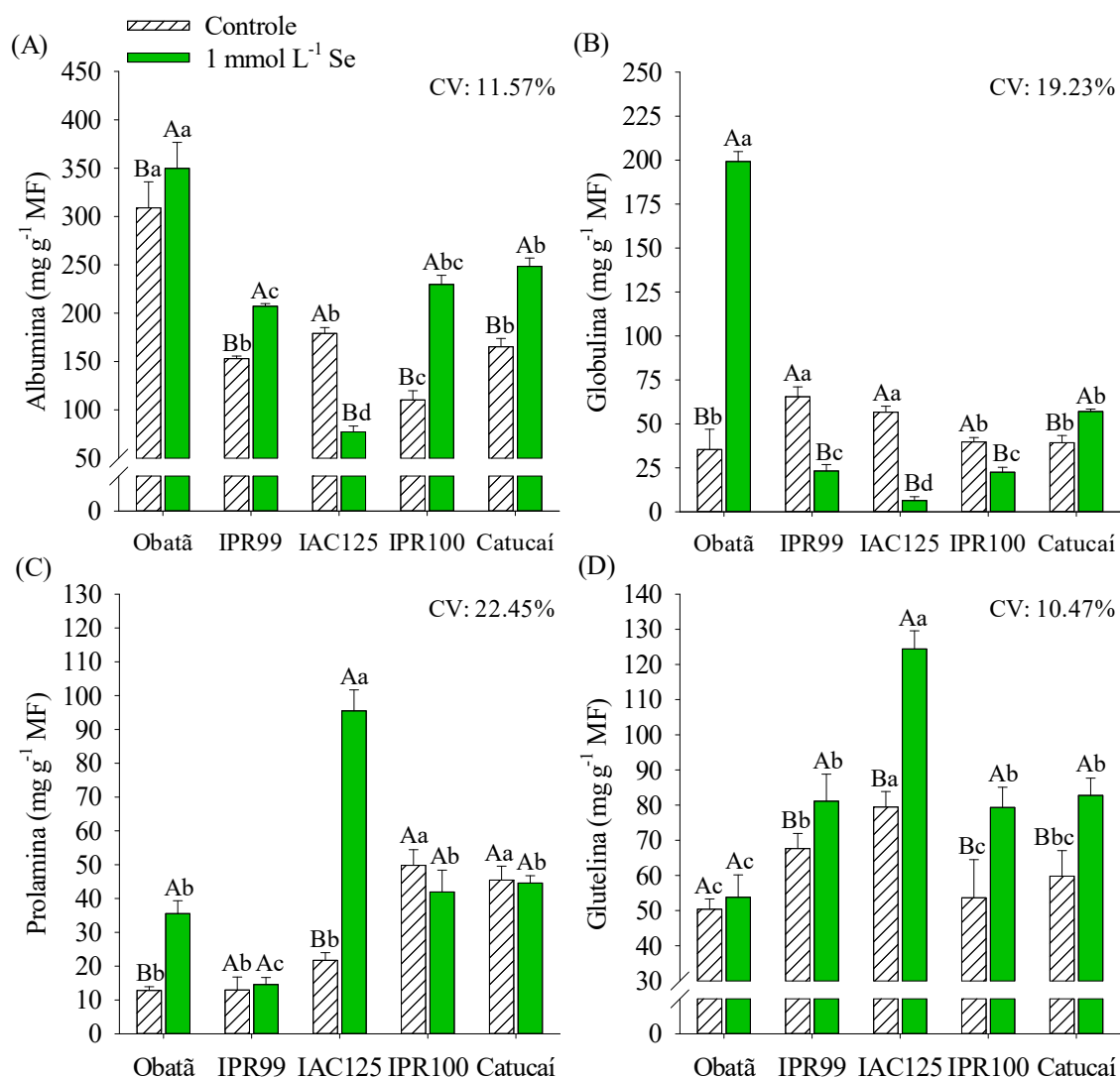
1042 Fonte: Próprio autor.

1043

1044 Em relação as proteínas de reserva, observou-se aumento das concentrações de
 1045 albumina nos genótipos Obatã, IPR99, IPR100 e Catucaí, quando expostos ao Se (Figura 4a).
 1046 Este aumento foi até 13,2, 35,4, 108,2 e 50,3%, respectivamente, em relação as plantas do
 1047 tratamento controle. Apenas o genótipo IAC125, apresentou comportamento distinto, com
 1048 maior concentração de albumina quando submetido ao tratamento controle, sendo este
 1049 131,9% maior que o tratamento de 1 mmol L⁻¹ de Se. Dentre os genótipos, o Obatã se
 1050 destacou com a maior concentração de albumina nas folhas (308,9 mg g⁻¹ MF no tratamento
 1051 controle e 349,8 mg g⁻¹ MF em exposição ao Se), independente do tratamento aplicado.

1052

1053 **Figura 4.** Efeitos do Se na concentração de proteínas de reserva, (A) albumina, (B) globulina,
 1054 (C) prolamina e (D) glutelina nas folhas dos genótipos de mudas de café. O erro padrão da
 1055 média ($n = 4$) é indicado por barras de erro. Letras diferentes indicam diferença entre as
 1056 médias de acordo com o teste de Tukey ($P \leq 0,05$). Letras maiúsculas correspondem à
 1057 concentração de Se na solução nutritiva dentro de cada genótipo e letras minúsculas
 1058 correspondem aos genótipos do café dentro de cada concentração de Se.
 1059



1060 Fonte: Próprio autor.
 1061
 1062

1063 O genótipo Obatã também se caracterizou pelo aumento da concentração de globulina
 1064 ($199,2 \text{ mg g}^{-1} \text{ MF}$) quando exposto a 1 mmol L^{-1} de Se (Figura 4b). Este aumento
 1065 correspondeu a 462,7%, quando comparado ao tratamento controle. De modo similar, o
 1066 genótipo Catucaí apresentou aumento da fração globulina (45,3%) quando exposto ao Se. Os
 1067 demais genótipos IPR99, IAC125 e IPR100 apresentaram comportamento contrário aos

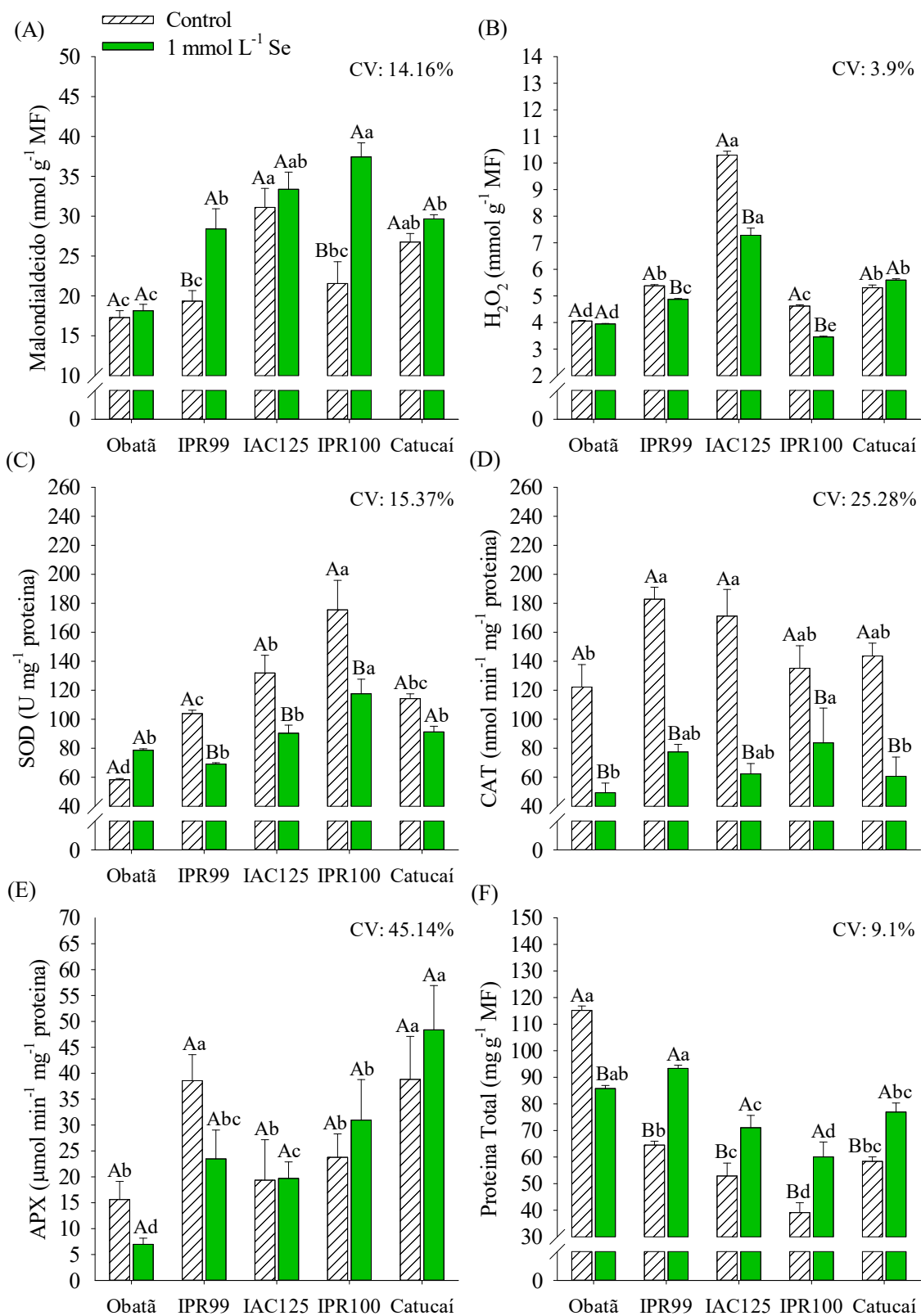
1068 demais, com reduções na concentração de globulina (64,5, 88,7 e 43,4%, respectivamente),
1069 quando expostos ao tratamento com Se.

1070 As maiores concentrações de prolamina e glutelina foram observadas no cultivar
1071 IAC125 submetido a 1 mmol L⁻¹ de Se (Figura 4c, d). Neste tratamento, observou-se aumento
1072 de 339,4% na concentração de prolamina e, 56,6% na concentração de glutelina, quando
1073 comparados aos tratamentos controle. O genótipo Obatã apresentou aumento da fração
1074 prolamina (177,1%) quando submetido ao Se. Os demais genótipos IPR99, IPR100 e Catucaí
1075 não diferiram quanto a concentração de prolamina frente aos tratamentos propostos. Todavia,
1076 esses mesmos genótipos incrementaram a concentração de glutelina quando expostos ao Se
1077 (19,9, 47,9 e 38,4%, respectivamente).

1078 O efeito da concentração de Se adicionada a solução nutritiva se deu principalmente
1079 pelo aumento da concentração de MDA em dois dos cinco genótipos avaliados (Figura 5a).
1080 Os genótipos IPR99 e IPR100 apresentaram aumento na concentração de MDA de até 46,8 e
1081 73,6%, respectivamente, em relação ao tratamento controle. Apesar desses resultados, houve
1082 uma tendência de aumento na concentração de H₂O₂ nos genótipos IPR99, IAC125 e IPR100,
1083 cultivados no tratamento controle (Figura 5b). Esse efeito se deu em até 10,5% no genótipo
1084 IPR99, 41,5% no IAC 125 e 33,5% no IPR100. Com isso, a atividade das enzimas do sistema
1085 antioxidativo – SOD e CAT – foi maior nas plantas cultivadas no tratamento controle (Figura
1086 5c, d). Apenas para os genótipos Obatã e Catucaí, a atividade de SOD não diferiu entre
1087 tratamentos. Nos demais genótipos IPR99, IAC125 e IPR100, houve maior atividade de SOD
1088 com 50,3, 45,9 e 49,3% de diferença, quando cultivados no tratamento controle.
1089 Semelhantemente, a maior atividade de CAT nas plantas cultivadas no tratamento controle foi
1090 de até 147,6% para o genótipo Obatã, 136,0% para IPR99, 174,7% para IAC125, 61,3% para
1091 IPR100 e 136,8% para Catucaí. A atividade de APX não foi alterada frente aos tratamentos
1092 controle e 1 mmol L⁻¹ de Se.

1093

1094 **Figura 5.** Efeitos do Se no metabolismo antioxidante, (A) concentração de malondialdeído,
1095 (B) concentração de peróxido de hidrogênio, (C) atividade de superóxido dismutase, (D)
1096 atividade de catalase, (E) atividade de ascorbato peroxidase e (F) concentração de proteína
1097 solúvel em folhas de genótipos de mudas de café. O erro padrão da média ($n = 4$) é indicado
1098 por barras de erro. Letras diferentes indicam diferença entre as médias de acordo com o teste
1099 de Tukey ($P \leq 0,05$). Letras maiúsculas correspondem à concentração de Se na solução
1100 nutritiva dentro de cada genótipo e letras minúsculas correspondem aos genótipos do café
1101 dentro de cada concentração de Se.



1102

1103

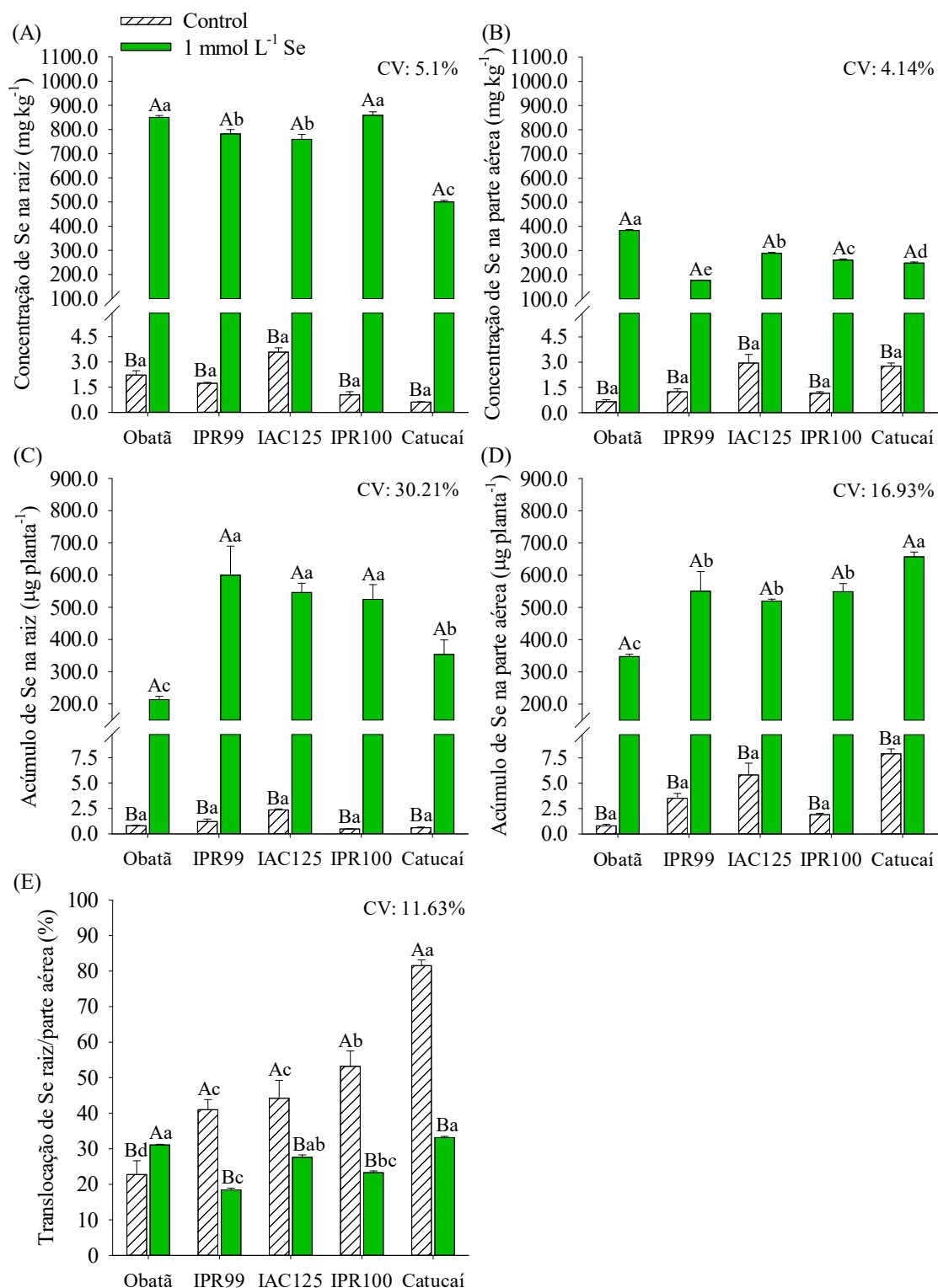
1104 Fonte: próprio autor.

Em relação as concentrações e acúmulos de Se nas raízes e parte aérea das plantas, foi observado um padrão similar entre os genótipos (Figura 6a, b). Considerando-se uma média de todos os genótipos, a dose de 1 mmol L⁻¹ de Se aumentou em mais de 400 vezes a concentração de Se nas raízes e 100 vezes a concentração de Se na parte aérea. O genótipo Obatã apresentou a maior concentração de Se em estruturas de raízes e parte aérea, 849,92 e 383,27 mg kg⁻¹, respectivamente, quando submetidos ao tratamento com Se. O genótipo IPR100 não diferiu de Obatã em concentração de Se nas raízes. Os demais genótipos IPR99 e IAC125, submetidos ao tratamento com Se, apresentaram a mesma capacidade de absorção desse elemento benéfico, com concentrações nas raízes entre 782,1 e 759,4 mg kg⁻¹ de Se.

Em relação ao acúmulo de Se na planta, os genótipos IPR99, IAC125 e IPR100 destacam-se dos demais com médias de 599,7, 545,9 e 524,5 µg planta⁻¹ em estruturas de raízes e, o genótipo Catucaí se destaca dos demais com média de 657,1 µg planta⁻¹ em estruturas de parte aérea (Figura 6c, d). Seguidos pelo genótipo Catucaí, os demais genótipos IPR99, IAC125 e IPR100 apresentaram padrão similar de acúmulo de Se em estruturas de parte aérea, com médias alternando entre 519,9 e 550,4 µg planta⁻¹ de Se.

Os resultados de translocação de Se das raízes para parte aérea das plantas indicaram que o genótipo Obatã não apresenta mecanismos de compartimentação do elemento (Figura 6e). Quando este foi submetido a 1 mmol L⁻¹ de Se em solução nutritiva, houve aumento da translocação de Se em 36,6%, em relação ao tratamento controle. Os demais genótipos, mesmo apresentando elevado acúmulo e concentração de Se nas raízes e parte aérea das plantas, indicaram apresentar restrição à translocação do elemento. Os genótipos Catucaí e IAC125 apresentaram redução de 59,3 e 37,6%, respectivamente, na translocação de Se quando expostos ao tratamento de 1 mmol L⁻¹ de Se, seguidos pelos genótipos IPR100 e IPR99, que apresentaram redução de 56,0 e 55,0%, respectivamente.

Figura 6 - Efeitos de Se na (A) concentração de Se da raiz, (B) concentração de Se na parte aérea, (C) acúmulo de Se na raiz, (D) acúmulo na parte aérea e (E) translocação de Se da raiz para parte aérea em genótipos de mudas de café. O erro padrão da média (n = 4) é indicado por barras de erro. Letras diferentes indicam diferença entre as médias de acordo com o teste de Tukey ($P \leq 0,05$). Letras maiúsculas correspondem à concentração de Se na solução nutritiva dentro de cada genótipo e letras minúsculas correspondem aos genótipos do café dentro de cada concentração de Se.



1138

1139 Fonte: próprio autor.

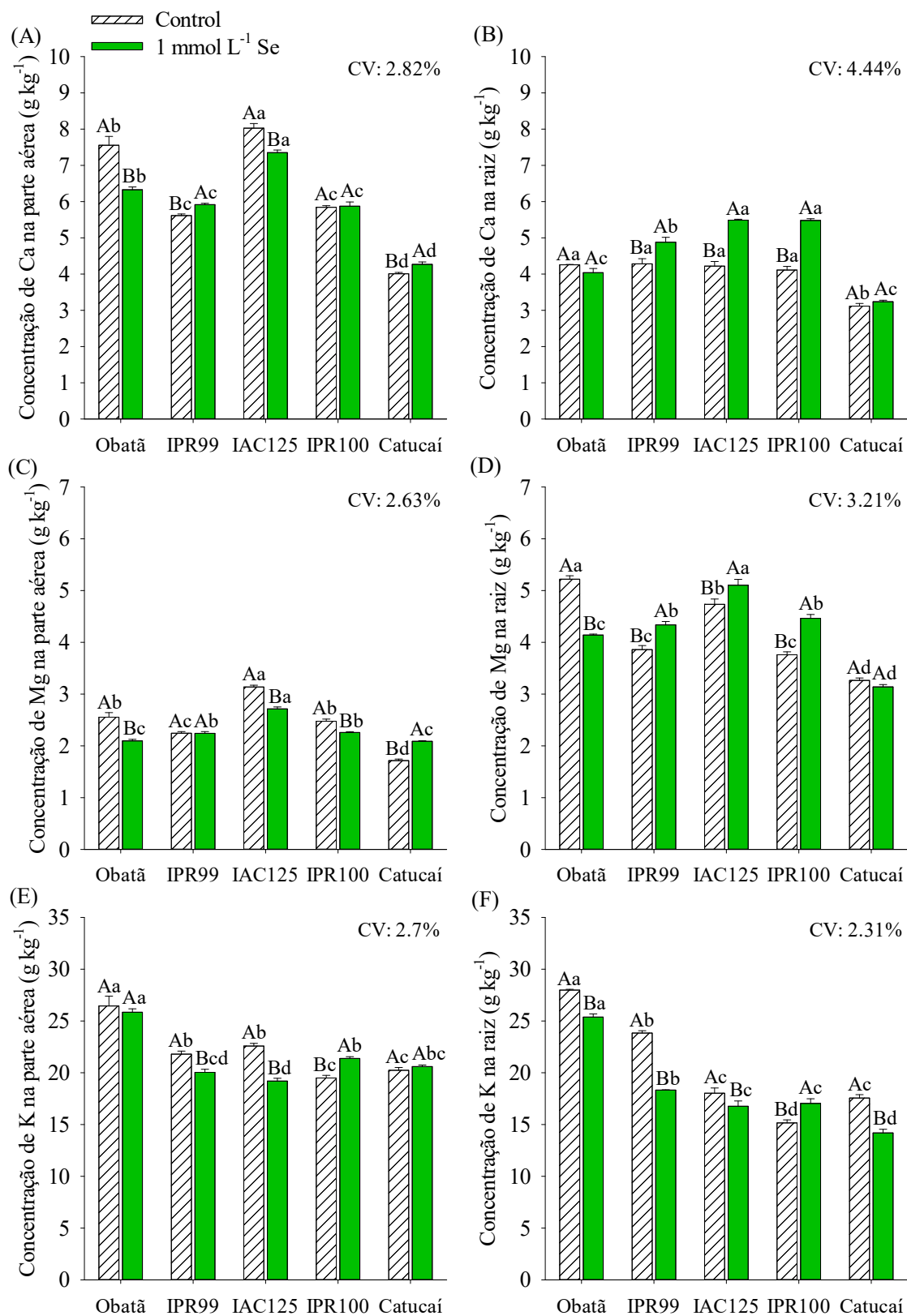
1140

1141 O fornecimento de Se propiciou maior acúmulo de Ca e Mg nas raízes dos genótipos

1142 IPR99, IAC125 e IPR100 em relação ao tratamento controle, no entanto, o genótipo Obatã foi

negativamente afetado demonstrando redução significativa destes macronutrientes na planta (Figura 7).

Figura 7 - Efeitos de Se na (A) concentração de Ca na parte aérea, (B) concentração de Ca na raiz, (C) Concentração de Mg na parte aérea, (D) Concentração de Mg na raiz, (E) Concentração de K na parte aérea, e (F) Concentração de K na raiz em genótipos de mudas de café. O erro padrão da média ($n = 4$) é indicado por barras de erro. Letras diferentes indicam diferença entre as médias de acordo com o teste de Tukey ($P \leq 0,05$). Letras maiúsculas correspondem à concentração de Se na solução nutritiva dentro de cada genótipo e letras minúsculas correspondem aos genótipos do café dentro de cada concentração de Se.



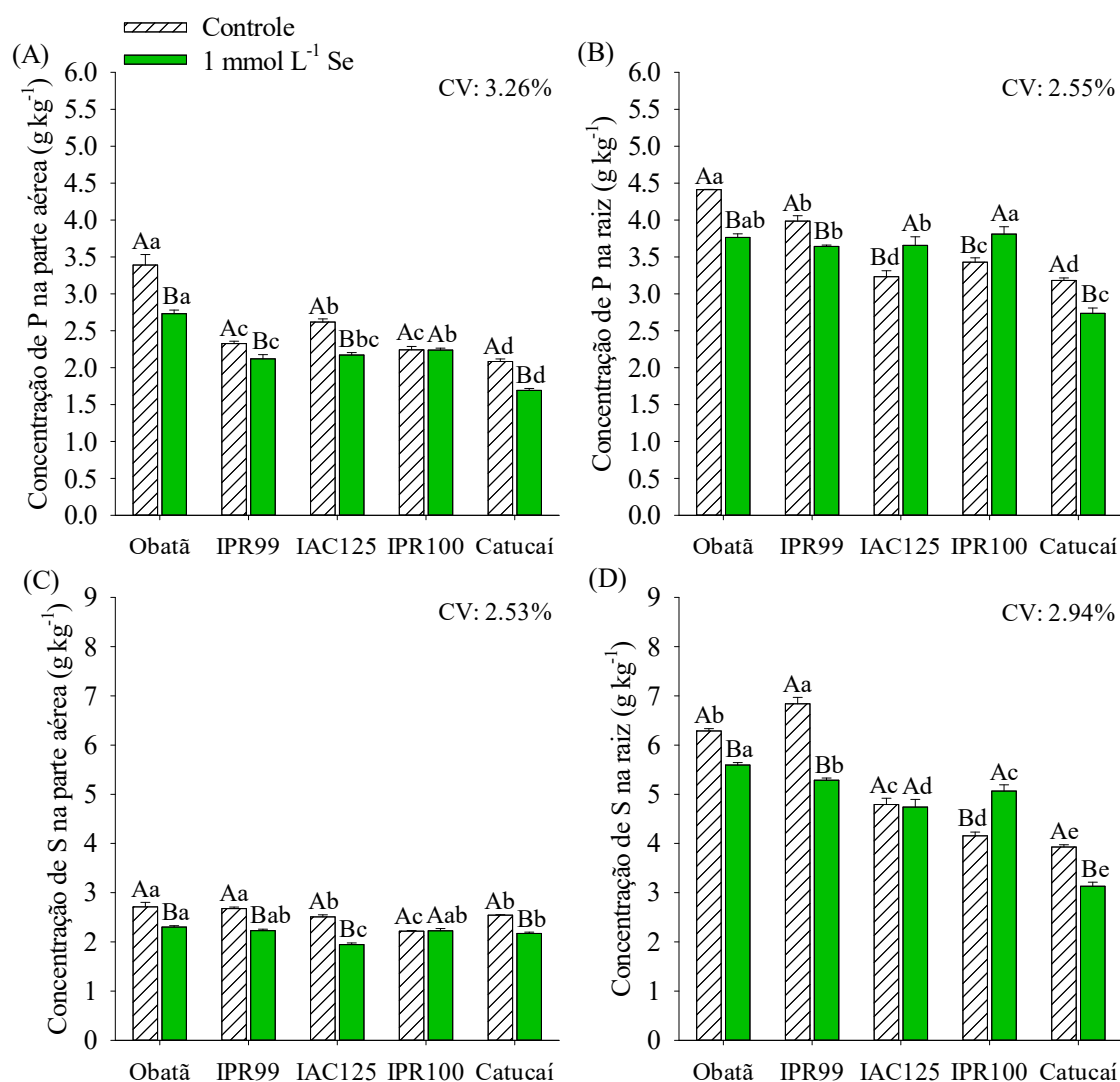
1153

1154 Fonte: próprio autor.

1155

O aumento da absorção de Se pela planta provocou efeito antagônico na absorção de S. A presença de Se nas folhas teve correlação negativa com a concentração de S nas folhas e nas raízes, e no acúmulo de S pela planta (Figura 8).

Figura 8 - Efeitos de Se na (A) concentração de P na parte aérea, (B) concentração de P na raiz, (C) Concentração de S na parte aérea, (D) Concentração de S na raiz em genótipos de mudas de café. O erro padrão da média ($n = 4$) é indicado por barras de erro. Letras diferentes indicam diferença entre as médias de acordo com o teste de Tukey ($P \leq 0,05$). Letras maiúsculas correspondem à concentração de Se na solução nutritiva dentro de cada genótipo e letras minúsculas correspondem aos genótipos do café dentro de cada concentração de Se.



Fonte: próprio autor.

1171 7 DISCUSSÃO

1172

1173 As concentrações de Se nas raízes e parte aérea dos genótipos avaliados foram
 1174 aumentadas quando expostos a dose de 1 mmol L⁻¹ de Se (Figura 6a, b). Tal condição gerou
 1175 acúmulos de Se nas respectivas estruturas (Figura 6c, d). Apesar do acúmulo observado, não
 1176 foram evidenciados sintomas de toxidez nas folhas (Figura 2). Talvez porque as
 1177 concentrações críticas de deficiência e toxicidade de Se variam amplamente entre espécies,
 1178 sendo geralmente demonstrada em concentrações superiores a 5 mg kg⁻¹ no tecido vegetal,
 1179 entretanto, para o arroz, por ser uma planta não acumuladora, a concentração de 2 mg kg⁻¹ de
 1180 Se na matéria seca evidenciou ser tóxica (KOLBERT *et al.*, 2019). Todavia, algumas plantas
 1181 toleram concentrações de até 1000 mg kg⁻¹ de Se na massa seca sem apresentarem sintomas
 1182 de toxidez (WHITE, 2018), como foi constatado nos genótipos de café nesse estudo. Também
 1183 deve-se levar em consideração o tempo de exposição dos genótipos ao elemento, que foi de
 1184 oito dias, não sendo suficiente para expressar visualmente os sintomas de toxidez nas plantas.
 1185 Acompanhando tais resultados, os acúmulos de Se não afetaram o desenvolvimento do café
 1186 no período observado, pois a produção de massa seca dos genótipos não diferiu do tratamento
 1187 controle. Coeficientes de correlação obtidos entre tais atributos biométricos, massa seca de
 1188 raízes e parte aérea × concentração e acúmulo de Se em parte aérea e raízes, não foram
 1189 significativos, confirmando tais observações (Figura 9). Constatou-se que um dos genótipos
 1190 avaliados (Obatã) aumentou a translocação de Se das raízes para parte aérea da planta, quando
 1191 exposto a 1 mmol L⁻¹ de Se. A resposta desse genótipo foi um importante indicativo de que
 1192 nem todos os genótipos apresentaram estratégias de compartimentação desse elemento
 1193 químico em estruturas de raízes.

1194

1195 **Figura 9** - Heatmap com as correlações de Pearson entre os parâmetros nutricionais e
 1196 bioquímicos analisados na parte aérea (Sh) e raízes (Rt) dos genótipos de café expostos às
 1197 condições de estresse por Se. * indica relação significativa ($P \leq 0,05$). Abreviações: clorofila
 1198 total (Chl), carotenoides (Car), feofitina total (Phe), albumina (Alb), globulina (Glob),
 1199 prolamina (Prol), glutelina (Glut), sacarose (Suc), açúcar total (Sug), nitrato (NO₃), amônia
 1200 (NH₃), aminoácidos (AA), peróxido de hidrogênio (H₂O₂), malondialdeído (MDA), atividade
 1201 de superóxido dismutase (SOD), atividade de catalase (CAT), atividade de ascorbato
 1202 peroxidase (APX), proteína total (Prot), massa seca (Rt-DW, Sh-DW), concentração de Mn
 1203 (Sh-Mn, Rt-Mn), concentração de Ca (Sh-Ca, Rt-Ca), concentração de Mg (Sh-Mg, Rt-Mg),
 1204 concentração de K (Sh-K, Rt-K), concentração de P (Sh-P, Rt-P), concentração de S (Sh-S,
 1205 Rt-S), concentração de B (Sh-B, Rt-B), concentração Cu (Sh-Cu, Rt-Cu), concentração de Fe
 1206 (Sh-Fe, Rt-Fe), concentração de Mn (Sh-Mn, Rt-Mn), concentração de Zn (Sh-Zn, Rt-Zn),

nas folhas $\times$ teores de clorofila ($r = -0,8$) e carotenoides ($r = -0,4$) confirmam tais observações (Figura 9). Os efeitos deletérios da alta concentração de Se nos pigmentos fotossintetizantes, possivelmente culminaram na degradação das moléculas de clorofila pela oxidação das moléculas e remoção de íons de Mg^{2+} (Rydzynski *et al.*, 2019). Silva *et al.* (2018) relataram a possibilidade de redução na concentração de pigmentos fotossintetizantes (clorofila total), a uma taxa superior a 90%, causada pela aplicação de Se via foliar na dose de 1600 g ha^{-1} , sendo o Se um agente pro-oxidante.

A concentração de Mg, Ca e Zn foram incrementadas após a aplicação de Se em diferentes espécies arbóreas (Drahonovsky *et al.*, 2016), assim como pode ser observado nos genótipos de café IPR99, IAC125 e IPR100 (Figura 7), promovendo maior produção de aminoácidos e metabólitos na sinalização de estresse para conferir tolerância a NaCl em trigo (Elkelish *et al.*, 2019). A concentração de Se influenciou negativamente a translocação de P e S para as folhas, assumindo valores de correlação negativos ($r = -0,4$ e $r = -0,8$) resultando em acúmulo de P e S nas raízes (Figura 8, 9). Pressupondo-se que, a alta concentração S além de reduzir a concentração de Se, pode reduzir o risco de fitotoxidez deste elemento (Cheng *et al.*, 2016) por estar envolvido na transcrição de genes citoprotetores que codificam proteínas antioxidantes e enzimas de desintoxicação (Motohashi & Akaike, 2019), onde foi observado correlação positiva entre S e atividade da catalase nas folhas dos genótipos de café (Figura 9).

A formação de moléculas MDA em dois dos cinco genótipos avaliados, IPR99 e IPR100, indicou a peroxidação lipídica de membranas celulares nas folhas após exposição ao Se. Em contrapartida, a concentração de H_2O_2 foi reduzida nesses mesmos genótipos e no genótipo IAC125 submetidos ao mesmo tratamento. Sabe-se que o Se em baixas concentrações nos tecidos, desempenha papel modulador do estresse oxidativo pelo aumento da atividade de enzimas do sistema antioxidativo (Cartes *et al.*, 2005; Silva *et al.*, 2018). Estudos comprovam tal efeito em azevém (Cartes *et al.*, 2005), alface (Hartikainen *et al.*, 1997; Xue *et al.*, 2001), trevo branco (Mora *et al.*, 2008) e soja (Djanaguiraman *et al.*, 2005), onde o Se atuou como ativador de mecanismos que aliviaram o estresse oxidativo no aparato fotossintético das plantas, melhorando seu desenvolvimento. Por outro lado, sob altas concentrações de Se nos tecidos foliares, este elemento atua como um pró-oxidante (Silva *et al.*, 2018), reduzindo a produtividade das culturas pela fitotoxidez em degradação de lipídeos, proteínas, carboidratos e ácidos nucleicos, prejudicando o metabolismo celular e levando a morte das plantas (Ślusarczyk *et al.*, 2015; Cheng *et al.*, 2016). No presente estudo, a dose de 1 mmol L^{-1} de Se não foi suficiente para causar a desordem do sistema antioxidativo das plantas de café. Observou-se redução da atividade de enzimas SOD e CAT na maioria dos

1251 genótipos submetidos ao tratamento com Se. Essa redução na atividade de enzimas
 1252 antioxidantes é claramente justificada pelo aumento da concentração de proteínas solúveis nos
 1253 genótipos IPR99, IAC125, IPR100 e Catucaí, possivelmente induzido pelo estresse de Se.
 1254 Nesses genótipos, as concentrações de proteínas solúveis foram maiores quando cultivados
 1255 em exposição ao Se, 44,8, 34,4, 53,6 e 31,8%, respectivamente, em relação ao tratamento
 1256 controle. Coeficientes de correlação negativos entre a concentração de proteínas solúveis ×
 1257 MDA ($r = -0,4$), H_2O_2 ($r = -0,4$) e SOD ($r = -0,8$) confirmam tais observações.

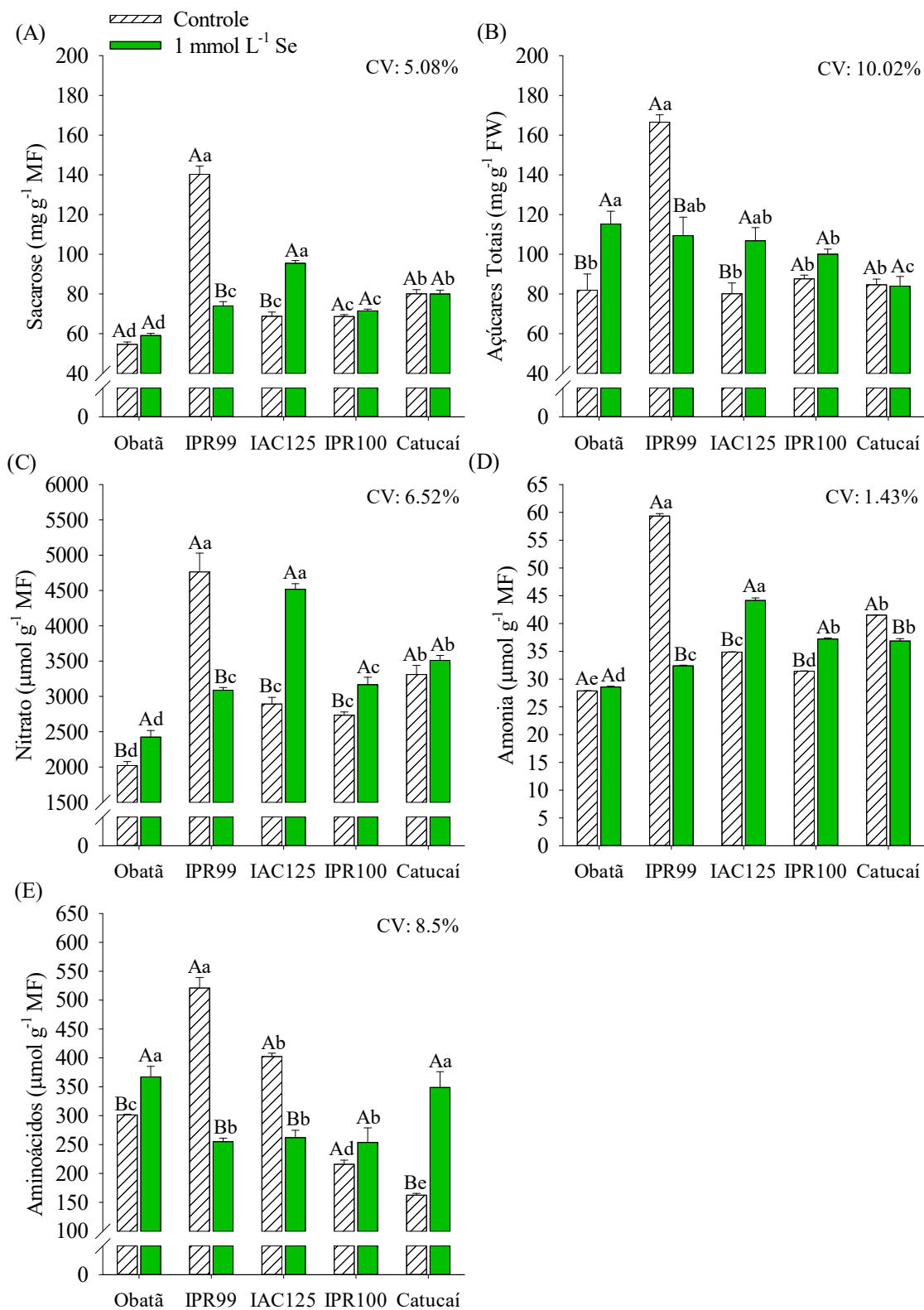
1258 Devido à similaridade química do Se com o S, o Se pode substituí-lo em compostos
 1259 contendo grupos sulfidril, como aminoácidos sulfurados, glutathione e coenzima A. Ao
 1260 substituir o S em proteínas, o Se pode modificar sua estrutura e propriedades (White, 2016).
 1261 Enzimas da classe óxido-redutase podem ser as mais sensíveis ao Se, devido às propriedades
 1262 antioxidantes do elemento. Há uma forte influência do Se sobre as atividades das enzimas
 1263 óxido-redutase, como CAT, glutathione peroxidase e SOD. Nesse sentido, ficou evidente que a
 1264 exposição a dose de 1 mmol L^{-1} de Se também causou o aumento da produção de proteínas de
 1265 reserva, dada principalmente pelas frações albumina nos genótipos Obatã, IPR99, IPR100 e
 1266 Catucaí e, glutelina nos genótipos IPR99, IAC125, IPR100 e Catucaí (Figura 4).

1267 A expressão gênica e a atividade das enzimas envolvidas no metabolismo do carbono
 1268 também são altamente associadas às respostas das plantas ao estresse (NISHIZAWA *et al.*,
 1269 2008). Para tanto, era esperado que haveria aumento nas concentrações de açúcares totais em
 1270 alguns genótipos após aplicação de 1 mmol L^{-1} de Se em solução nutritiva, como possível
 1271 estratégia para mitigar o estresse. Os genótipos Obatã e IAC125 aumentaram a produção de
 1272 açúcares solúveis totais, o que demonstra que estes genótipos foram mais sensíveis ao Se,
 1273 quando comparados aos demais (Figura 10). Os açúcares solúveis desempenham um papel
 1274 duplo contra formação de espécies reativas de oxigênio (EROs), podem estar envolvidos em
 1275 produzir rotas metabólicas, mas também podem afunilar o metabolismo produtor de NADPH,
 1276 como a via de fosfato de pentose oxidativo e assim contribuir para a eliminação de EROs
 1277 (COUÉE *et al.*, 2006; BOLOURI-MOGHADDAM *et al.*, 2010; KEUNEN *et al.*, 2013).

1278

1279 **Figura 10** - Efeitos do Se na concentração de (A) Sacarose, (B) Açúcares Totais, (C) Nitrato,
 1280 (D) Amônia e (F) Aminoácidos nas folhas dos genótipos de mudas de café. O erro padrão da
 1281 média ($n = 4$) é indicado por barras de erro. Letras diferentes indicam diferença entre as
 1282 médias de acordo com o teste de Tukey ($P \leq 0,05$). Letras maiúsculas correspondem à
 1283 concentração de Se na solução nutritiva dentro de cada genótipo e letras minúsculas

1284 correspondem aos genótipos do café dentro de cada concentração de Se.

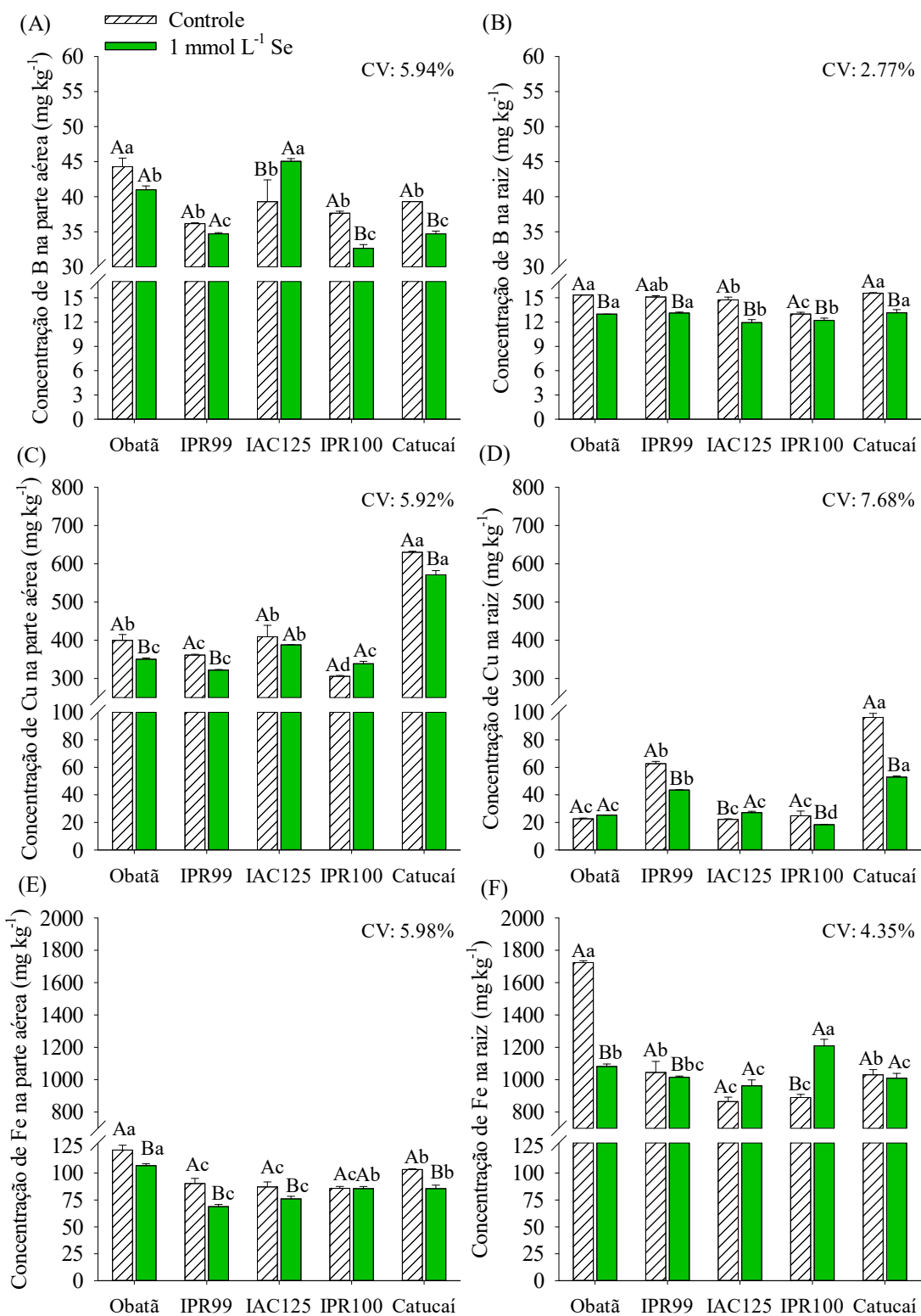


1285
1286

Fonte: Próprio autor.

Os resultados desse trabalho indicam que quatro dos cinco genótipos café possuem mecanismos de regulação na absorção de Se em condições de alta concentração na solução nutritiva. Tais mecanismos estão associados a compartimentação do Se em estruturas de raízes, bem como no aumento da produção de proteínas solúveis que regularam a atividade de enzimas do sistema antioxidante. Por sua vez, os genótipos mais responsivos ao Se (Obatã e IAC125), aumentaram a concentração de açúcares solúveis nas folhas. O acúmulo de Se nos tecidos de parte aérea e raízes também proporcionou modificação nas concentrações de B, Fe e S. Observou-se coeficientes de correlação negativos entre acúmulo de Se nas raízes e parte aérea $\times$ concentração de B nas raízes, Fe nas folhas e S nas folhas (Figura 8; 9; 11).

Figura 11 - Efeitos do Se na concentração de (A) B na parte aérea, (B) B na raiz, (C) Cu na parte aérea, (D) Cu na raiz, (E) Fe na parte aérea, e (F) Fe na raiz em genótipos de mudas de café. O erro padrão da média ($n = 4$) é indicado por barras de erro. Letras diferentes indicam diferença entre as médias de acordo com o teste de Tukey ($P \leq 0,05$). Letras maiúsculas correspondem à concentração de Se na solução nutritiva dentro de cada genótipo e letras minúsculas correspondem aos genótipos do café dentro de cada concentração de Se.



1304

1305 Fonte: Próprio autor.

1306

1307 **8 CONCLUSÕES**

1308

1309 Os genótipos de café arábica foram tolerantes à aplicação de 1 mmol L⁻¹ de Se em
1310 solução nutritiva, não exibindo sintomas visuais de fitotoxidez nas folhas. Pigmentos
1311 fotossintéticos e enzimas antioxidantes como SOD, CAT e APX reduziram em resposta a
1312 exposição a 1 mmol L⁻¹ de Se. As concentração de açúcares totais e nitrato aumentaram em
1313 plantas tratadas com Se. Exceto para o genótipo Obatã, houve redução do transporte a longa
1314 distância de Se das raízes para a parte aérea, ficando evidente o acúmulo de Se nas raízes
1315 como estratégia para maior tolerância a toxidez de Se na parte aérea, influenciando
1316 negativamente a concentração de P, S e Fe nas folhas, exercendo efeito antagonista na
1317 absorção destes nutrientes.

1318 As respostas antioxidantes, o acúmulo de açúcares totais e a alocação do Se no sistema
1319 radicular foram as principais respostas fisiológicas e bioquímicas de mudas de cafeeiro em
1320 resposta a alta concentração de Se na solução nutritiva.

1321

REFERÊNCIAS

1322

1323 ABICHEQUER, A.D.; BOHNEN, H. Eficiência de absorção, translocação e utilização de
 1324 fósforo por variedades de trigo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 22, p.
 1325 21-26, 1998. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-06831998000100003>

1326

1327 ALEXIEVA, V.; SERGIEV, I.; MAPELLI, S.; KARANOV, E. The effect of drought and
 1328 ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. **Plant, Cell &**
 1329 **Environment**, [s. l.], v. 24, p. 1337-1344, 2001. DOI: [https://doi.org/10.1046/j.1365-](https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2001.00778.x)
 1330 [3040.2001.00778.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2001.00778.x)

1331

1332 ALMEIDA, J.A.S.; AZEVEDO, M.T.V.L.G.; SALOMON, M.V.; MEDINA, P.F. Water
 1333 stress in germination, growth and development of coffee cultivars. **Journal of Seed Science**,
 1334 Londrina, v. 40, p. 82-89, 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/2317-1545v40n176667>

1335

1336 ANDRADE, F.R.; DA SILVA, G.N.; GUIMARÃES, K.C.; BARRETO, H.B.F.; DE SOUZA,
 1337 K.R.D.; GUILHERME, L.R.G.; FAQUIN, V.; REIS, A.R. Selenium protects rice plants from
 1338 water deficit stress. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, New York, v. 164, p. 562-
 1339 570, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.08.022>

1340

1341 BIELESKI, R.L.; TURNER, N.A. Separation and estimation of amino acids in crude plant
 1342 extracts by thin-layer electrophoresis and chromatography. **Analytical Biochemistry**, [s. l.],
 1343 v. 17, p. 278-293, 1966. DOI: [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(66\)90206-5](https://doi.org/10.1016/0003-2697(66)90206-5)

1344

1345 BOLOURI-MOGHADDAM, M.R.; LE ROY, K.; XIANG, L.; ROLLAND, F.; VAN DEN
 1346 ENDE, W. Sugar signalling and antioxidant network connections in plant cells. **FEBS**
 1347 **Journal**, Oxford, v. 277, p. 2022-2037, 2010. DOI: [https://doi.org/10.1111/j.1742-](https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2010.07633.x)
 1348 [4658.2010.07633.x](https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2010.07633.x)

1349

1350 BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram
 1351 quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**,
 1352 New York, v. 72, p. 248-254, 1976. DOI: [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)

1353

1354 BRIGELIUS-FLOHÉ, R. Selenium in Human Health and Disease: An Overview. In:
 1355 MICHALKE B. (eds) **Selenium**. Molecular and Integrative Toxicology. Springer, Cham,
 1356 2018. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-319-95390-8_1

1357

1358 CARTES, P.; GIANFREDA, L.; MORA, M.L. Uptake of selenium and its antioxidant
 1359 activity in ryegrass when applied as selenate and selenite forms. **Plant and Soil**, The Hague,
 1360 v. 276, p. 359-367, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11104-005-5691-9>

1361

1362 CATALDO, D.A.; MAROON, M.; SCHRADER, L.E.; YOUNGS, V.L. Rapid colorimetric
 1363 determination of nitrate in plant-tissue by nitration of salicylic-acid. **Communications in**
 1364 **Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 6, p. 71-80, 1975. DOI:
 1365 <https://doi.org/10.1080/00103627509366547>

1366

1367 CHENG, B.; LIAN, H.F.; LIU, Y.Y.; YU, X.H.; SUN, Y.L.; SUN, X.D.; SHI, Q.H.; LIU,
 1368 S.Q. Effects of selenium and sulfur on antioxidants and physiological parameters of garlic
 1369 plants during senescence. **Journal of Integrative Agriculture**, [s. l.], v. 15, p. 566-572,
 1370 2016. DOI: [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(15\)61201-1](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(15)61201-1)

- 1371
1372 COUÉE, I.; SULMON, C.; GOUESBET, G.; EL AMRANI, A. Involvement of soluble sugars
1373 in reactive oxygen species balance and responses to oxidative stress in plants. **Journal of**
1374 **Experimental Botany**, Oxford, v. 57, p. 449–459, 2006. DOI:
1375 <https://doi.org/10.1093/jxb/erj027>
1376
- 1377 DINH, S.N.; SAI, T.Z.T.; NAWAZ, G.; LEE, K.; KANG, H. Abiotic stresses affect
1378 differently the intron splicing and expression of chloroplast genes in coffee plants (*Coffea*
1379 *arabica*) and rice (*Oryza sativa*). **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 201, p. 85-94,
1380 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2016.07.004>
1381
- 1382 DJANAGUIRAMAN, M.; DURGA DEVI, D.; SHANKER, A.; SHEEBA, A.J.;
1383 SHANKER, A.K.; BANGARUSAMY, U. Selenium – an antioxidative protectant in
1384 soybean during senescence. **Plant and Soil**, The Hague, v. 272, 2005. DOI:
1385 <https://doi.org/10.1007/s11104-004-4039-1>
1386
- 1387 DRAHONOVSKY, J.; SZÁKOVA, J.; MESTEK, O.; TREMLOVA, J.; KANAB, A.;
1388 NAJMANOVA, J.; TLUSTOA, P. Selenium uptake, transformation and inter-element
1389 interactions by selected wildlife plant species after foliar selenate application.
1390 **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v. 125, p. 12-19, 2016. DOI:
1391 <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2016.01.006>
1392
- 1393 DUBOIS, M.; GILLES, K.A.; HAMILTON, J.K.; REBERS, P.A.; SMITH, F. Colorimetric
1394 method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**,
1395 Washington, v. 28, n. 3, p. 350-356, 1956. DOI: <https://doi.org/10.1021/ac60111a017>
1396
- 1397 ELKELISH, A.A.; SOLIMAN, M.H.; ALHAITHLOUL, H.A.; EL-ESAWI, M.A. Selenium
1398 protects wheat seedlings against salt stress-mediated oxidative damage by up-regulating
1399 antioxidants and osmolytes metabolism. **Plant Physiology and Biochemistry**, New Delhi, v.
1400 137, p. 144-153, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.02.004>
1401
- 1402 GIANNOPOLITIS, C.N.; RIES, S.K. Superoxide dismutase I. Occurrence in higher plants.
1403 **Plant Physiology**, Bethesda, v. 59, p. 309-314, 1977. DOI:
1404 <https://doi.org/10.1104/pp.59.2.309>
1405
- 1406 HARBORNE, J.B. Role of phenolic secondary metabolites in plants and their degradation in
1407 nature. **Driven by nature: plant litter quality and decomposition**, 1997.
1408
- 1409 HARTIKAINEN, H.; EKHOLM, P.; PIIRONEN, V.; XUE, T.; KOIVU, T.; YLI-HALLA, M.
1410 Quality of the ryegrass and lettuce yields as affected by selenium fertilization. **Agricultural**
1411 **and Food Science in Finland**, [s. l.], v. 6, p. 5-6, 1997. DOI:
1412 <https://doi.org/10.23986/afsci.72801>
1413
- 1414 HEATH, R.L.; PACKER, L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and
1415 stoichiometry of fatty acid peroxidation. **Archives in Biochemistry and Biophysics**, [s. l.], v.
1416 125, p. 189-198, 1968.
1417
- 1418 JOHNSON, C.M.; STOUT, P.R.; BROYER, T.C.; CARLTON, A.B. Comparative chlorine
1419 requirements of different plant species. **Plant and Soil**, The Hague, v. 4, p. 337-353, 1957.
1420 DOI: [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(68\)90654-1](https://doi.org/10.1016/0003-9861(68)90654-1)

- 1421
1422 KEUNEN, E.L.S.; PESHEV, D.; VANGRONSVELD, J.; VAN DEN ENDE, W.; CUYPERS,
1423 A. Plant sugars are crucial players in the oxidative challenge during abiotic stress: extending
1424 the traditional concept. **Plant, Cell and Environment**, [s. l.], v. 36, p. 1242–1255, 2013.
1425 DOI: <https://doi.org/10.1111/pce.12061>
1426
- 1427 KIELISZEK, M. Selenium-Fascinating microelement, properties and sources in food.
1428 **Molecules**, [s. l.], v. 24, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules24071298>
1429
- 1430 KOLBERT, Z.; MOLNÁR, Á.; FEIGL, G.; VAN HOEWYK, D. Plant selenium toxicity:
1431 proteome in the crosshairs. **Journal of Plant Physiology**, Bethesda, v. 232, p. 291-300, 2019.
1432 DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2018.11.003>
1433
- 1434 LICHTENTHALER, H.K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic
1435 biomembranes. **Methods in Enzimology**, v. 148, p. 350-382, 1987. DOI:
1436 [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(87\)48036-1](https://doi.org/10.1016/0076-6879(87)48036-1)
1437
- 1438 LIMA, L.W.; CHECCHIO, M.V.; REIS, A.R.; DE CÁSSIA ALVES, R.; TEZZOTO, T.;
1439 GRATÃO, P.L. Selenium restricts cadmium uptake and improve micronutrients and proline
1440 concentration in tomato fruits. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 18, 2019.
1441 DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101057>
1442
- 1443 MCCULLOUGH, H. The determination of ammonia in whole blood by a direct colorimetric
1444 method. **Clinica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 17, p. 297-304, 1967. DOI:
1445 [https://doi.org/10.1016/0009-8981\(67\)90133-7](https://doi.org/10.1016/0009-8981(67)90133-7)
1446
- 1447 MOLDES, C.A.; MEDICI, L.O.; ABRAHÃO, O.S.; TSAI, S.M.; AZEVEDO, R.A.
1448 Biochemical responses of glyphosate resistant and susceptible soybean plants exposed to
1449 glyphosate. **Acta Physiologiae Plantarum**, [s. l.], v. 30, n. 4, p. 469-479, 2008. DOI:
1450 <https://doi.org/10.1007/s11738-008-0144-8>
1451
- 1452 MORA, M...L.; PINILLA, L.; ROSAS, A.; CARTES, P. Selenium uptake and its influence on
1453 the antioxidative system of white clover as affected by lime and phosphorus fertilization.
1454 **Plant and Soil**, The Hague, v. 303, p. 139-149, 2008. DOI: [https://doi.org/10.1007/s11104-](https://doi.org/10.1007/s11104-007-9494-z)
1455 [007-9494-z](https://doi.org/10.1007/s11104-007-9494-z)
1456
- 1457 MOSTOFA, M.G.; HOSSAIN, M.A.; SIDDIQUI, M.N.; FUJITA, M.; TRAN, L.S.P.
1458 Phenotypical: physiological and biochemical analyses provide insight into selenium-induced
1459 phytotoxicity in rice plants. **Chemosphere**, Oxford, v. 178, p. 212–223, 2017. DOI:
1460 <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.03.046>
1461
- 1462 MOTOHASHI, H.; AKAIKE, T. Sulfur-utilizing cytoprotection and energy metabolism.
1463 **Current Opinion in Physiology**, [s. l.], v. 9, p. 1-8, 2019. DOI:
1464 <https://doi.org/10.1016/j.cophys.2019.03.003>
1465
- 1466 NISHIZAWA, A.; YABUTA, Y.; SHIGEOKA, S. Galactinol and raffinose constitute a novel
1467 function to protect plants from oxidative damage. **Plant physiology**, Bethesda, v. 147, p.
1468 1251-1263, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.108.122465>
1469

- PILON-SMITS, E.A.H.; QUINN, C.F.; TAPKEN, W.; MALAGOLI, M.; SCHIAVON, M. Physiological functions of beneficial elements. **Current Opinion in Plant Biology**, [s. l.], v. 12, p. 267–274, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2009.04.009>
- TEAM, R. CORE. R Foundation for statistical computing, Vienna, Austria. **R: A Language and Environment for Statistical Computing**, 2015.
- REIS, H.P.G.; BARCELOS, J.P.Q.; FURLANI-JUNIOR, E.; SANTOS, E.F.; SILVA, V.M.; MORAES, M.F.; PUTTI, F.F.; REIS, A.R. Agronomic biofortification of upland rice with selenium and nitrogen and its relation to grain quality. **Journal of Cereal Science**, London, v. 79, p. 508-515, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2018.01.004>
- REIS, A.R.; FAVARIN, J.L.; GRATÃO, P.L.; CAPALDI, F.R.; AZEVEDO, R.A. Antioxidant metabolism in coffee (*Coffea arabica* L.) plants in response to nitrogen supply. **Theoretical and Experimental Plant Physiology**, Bethesda, v. 27, p. 203-213, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40626-015-0045-3>
- RYDZYŃSKI, D.; PIOTROWICZ-CIEŚLAK, A.I.; GRAJEK, H.; WASILEWSKI, J. Investigation of chlorophyll degradation by tetracycline. **Chemosphere**, Oxford, v. 229, p. 409-417, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.05.035>
- SCHIAVON, M.; PILON-SMITS, E.A.H. The fascinating facets of plant selenium accumulation – biochemistry, physiology, evolution and ecology. **New Phytologist**, Cambridge, v. 213, p. 1582–1596, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1111/nph.14378>
- SHIRIFT, A.; ULRICH, J.M. Transport of selenate and selenite into Astragalus Roots. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 44, p. 893-896, 1969. DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.44.6.893>
- SHAHID, M.A.; BALAL, R.M.; KHAN, N.; ZOTARELLI, L.; LIU, G.D.; SARKHOSH, A.; FERNÁNDEZ-ZAPATA, J.C.; NICOLÁS, J.J.M.; GARCIA-SANCHEZ, F. Selenium impedes cadmium and arsenic toxicity in potato by modulating carbohydrate and nitrogen metabolism. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, New York, v. 180, p. 588-599, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.05.037>
- SHAPIRO, S.S.; WILK, M.B. An analysis of variance test for normality (complete samples). **Biometrika**, London, v. 52, p. 591-611, 1965. DOI: <https://doi.org/10.2307/2333709>
- ŚLUSARCZYK, J.; WIERZBICKA, M.; SUCHOCKI, P.; KURAŚ, M. Ultrastructural changes in onion (*Allium cepa* L.) root tip meristem cells treated with Selol and sodium selenate (IV). **Caryologia**, Firenze, v. 68, p. 306-316, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1080/00087114.2015.1109934>
- SILVA, V.M.; BOLETA, E.H.M.; LANZA, M.G.D.B.; LAVRES, J.; MARTINS, J.T.; SANTOS, E.F.; SANTOS, F.L.M.; PUTTI, F.F.; FURLANI JUNIOR, E.; WHITE, P.J.; BROADLEY M.R.; CARVALHO, H.W.P.; REIS, A.R. Physiological, biochemical, and ultrastructural characterization of selenium toxicity in cowpea plants. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v. 150, p. 172-182, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2018.03.020>

- 1519 VAN HANDEL, E. Direct microdetermination of sucrose. **Analytical Biochemistry**, [s. l.],
1520 v. 22, p. 280-283, 1968. DOI: [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(68\)90317-5](https://doi.org/10.1016/0003-2697(68)90317-5)
1521
- 1522 WHITE, P.J. Selenium metabolism in plants. **BBA – General Subjects**, [s. l.], v. 1862, p.
1523 2333-2342, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2018.05.006>
1524
- 1525 WHITE, P.J. Selenium accumulation by plants. **Annals of Botany**, London, v. 117, p. 217–
1526 235, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1093/aob/mcv180>
1527
- 1528 XUE, T.; PIIRONEN, V.; HARTIKAINEN, H. Antioxidative and growth-promoting effect of
1529 selenium on senescing lettuce. **Plant and Soil**, The Hague, v. 237, p. 55-61, 2001. DOI:
1530 <https://doi.org/10.1023/A:1013369804867>
1531
- 1532 YEMM, E.W.; COCKING, E.C. The determination of amino acids with ninhydrin. **Analyst**,
1533 London, v. 80, p. 209-213, 1955. DOI: <https://doi.org/10.1039/AN9558000209>

Capítulo III

Aplicação foliar de Selênio e nano-Selênio estimula a biofortificação de grãos e respostas fisiológicas do *Coffea arabica* L.

RESUMO

Há evidências conclusivas da deficiência de selênio (Se) nos solos e nos alimentos no Brasil. O Brasil é o maior produtor e consumidor de café do mundo, representando grande potencial para biofortificação da bebida. O objetivo dessa pesquisa foi avaliar respostas fisiológicas e bioquímicas de plantas de café em resposta a aplicação foliar de fontes e doses de Se para a biofortificação dos grãos. Nesse estudo foram usadas 7 doses de Se (0, 10, 20, 40, 80, 100 e 160 mg L⁻¹) aplicadas via foliar e 3 fontes de Se (nano-Se 1500, nano-Se 5000 e selenato de sódio), com 4 repetições. A aplicação de Se via foliar até a dose de 40 mg L⁻¹ aumentou a concentração de pigmentos fotossintéticos como clorofilas, feofitinas e carotenoides nas folhas. A aplicação foliar das fontes de Se na faixa de 20 a 80 mg L⁻¹ diminuiu a peroxidação lipídica e a concentração de peróxido de hidrogênio, aumentando a atividade da superóxido dismutase, ascorbato peroxidase, catalase e glutathione redutase nas folhas do café. Esses resultados indicam que a aplicação das doses e fontes de Se foram eficientes para ativar a atividade enzimática do metabolismo antioxidativo para a mitigação de espécies reativas de oxigênio. A aplicação da fonte nano-Se 5000 na concentração de 160 mg L⁻¹ aumentou a produtividade do café beneficiado em 1500 kg ha⁻¹. Os resultados desse estudo comprovam o efeito benéfico do Se no aumento de pigmentos fotossintetizantes, metabolismo antioxidativo, aumento de produtividade do cafeeiro e qualidade nutricional dos grãos. A dose de Se recomendada nesse estudo pode mitigar estresses abióticos como altas temperaturas e incidência de radiação solar direta, promover aumento de produtividade no cafeeiro e maior valor nutricional dos grãos.

Palavras-chave: Café arábica. Selenato de sódio. Metabolismo antioxidante. Nano-selenium.

1563 9 INTRODUÇÃO

1564

1565 As formas de selênio (Se) disponíveis são dependentes de diversos fatores e sua
1566 distribuição nos solos não é de maneira uniforme, resultando em baixas concentrações em
1567 solos ácidos de regiões tropicais. Os solos agricultáveis são naturalmente deficientes em Se
1568 com teores variando de 0,01 a 2 mg kg⁻¹ (WHITE, 2016). Além dos baixos teores naturais nos
1569 solos utilizados na agricultura em países tropicais, o acúmulo de Se nas partes comestíveis
1570 também é variável de acordo com a espécie. O Brasil, juntamente com países em
1571 desenvolvimento possuem fortes evidências de deficiência de Se na população, no entanto,
1572 ainda há poucas pesquisas em biofortificação de alimentos com Se (REIS *et al.*, 2014; REIS
1573 *et al.*, 2019).

1574 O cenário agrícola mundial do café está sempre em perspectiva de crescimento, tendo
1575 em vista a crescente demanda pelo consumo da bebida e pelos seus benefícios à saúde
1576 humana. A safra de café 2018/19 foi recorde com 174,6 milhões de sacas de 60 kg, sendo o
1577 Brasil correspondente pela maior produção do grão (United States Department of Agriculture
1578 - USDA, 2019). O cafeeiro, exerce grande influência no mercado internacional, por suas
1579 qualidades organolépticas, nutricionais (BALZANO *et al.*, 2020) e medicinais (PAHLKE *et al.*
1580 *et al.*, 2019; PEREIRA *et al.*, 2020), sendo a bebida mais consumida mundialmente, tornando-se
1581 uma excelente estratégia para a biofortificação.

1582 Alimentos biofortificados constituem-se de importantes estratégias para o combate à
1583 desnutrição no mundo, que afeta mais de 840 milhões de pessoas atualmente (Food and
1584 Agriculture Organization – FAO, 2019). O consumo mundial de café é de 166,4 milhões de
1585 sacas anualmente, sendo o EUA, Brasil e União Europeia os maiores consumidores da bebida
1586 (USDA, 2019). O consumo per capita de café torrado no Brasil para o ano de 2017 foi de 5,10
1587 kg ha⁻¹ ano⁻¹ com perspectivas de aumento, segundo a evolução histórica feita pela
1588 Associação Brasileira da Indústria de Café – Abic (ABIC, 2017). Sendo assim uma alternativa
1589 promissora para aumentar a ingestão diária de Se, que é um elemento essencial para a saúde
1590 humana e animal, participando de diversas reações antioxidantes no combate aos radicais
1591 livres (KIELISZEK, 2019).

1592 O Se quando aplicado em concentrações até 50 g ha⁻¹ via foliar em feijão-caupi na
1593 forma selenito de sódio exerce função antioxidante pelo aumento da atividade específica das
1594 enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), ascorbato peroxidase (APX) e
1595 glutational redutase (GR), reduzindo a concentração de peróxido de hidrogênio e
1596 malondialdeído (SILVA *et al.*, 2018). No tecido vegetal de mudas de trigo, as plantas tratadas

1597 com 5 μ M de Se obtiveram incrementos positivos na síntese de carotenoides (8,01%),
1598 pigmentos totais (13,23%), melhorando a taxa fotossintética (22,77%) e a condutância
1599 estomática (18,54%) em relação ao controle (ELKELISH, 2019). A produtividade de diversas
1600 culturas como arroz (Reis *et al.*, 2018), canola (MOHTASHAMI *et al.*, 2020), trigo (Lara *et*
1601 *al.*, 2019) e batata (ZHANG *et al.*, 2019) foram incrementadas pela aplicação de Se, tanto via
1602 solo como foliar, mostrando que além dos efeitos fisiológicos e nutricionais, há incrementos
1603 de produtividade em condições de campo.

1604 Entretanto, as formas de Se podem apresentar toxidez de acordo com sua composição
1605 química. A nanotecnologia, por sua vez, as transforma em partículas extremamente pequenas
1606 chamadas Se-NPs, melhorando sua biodisponibilidade, eficiência catalítica e diminuindo a
1607 toxidez comparada a essas fontes (ALI *et al.*, 2020; YE *et al.*, 2020). As nanopartículas
1608 induzem diversas alterações metabólicas, sendo citados por Hussein *et al.* (2019) diversos
1609 estudos com uso de nano-Se que proporcionaram efeitos benéficos no crescimento ou
1610 desenvolvimento de plantas. As nanopartículas de Se possuem coloração vermelha e são
1611 altamente estáveis, sendo comumente utilizadas para nutrição, em terapias médicas ou estudos
1612 clínicos (DJANAGUIRAMAN *et al.*, 2018; ABDEL-HAKEEN *et al.*, 2020), além disso, o
1613 nano-Se pode aumentar o rendimento e a qualidade de produtos agrícolas associando às
1614 propriedades de biossegurança nas plantas e na saúde humana (HUSSEIN *et al.*, 2019).

1615 Os efeitos da aplicação foliar de Se em cafeeiro são escassos na literatura. Não há
1616 relatos sobre o efeito do Se nos parâmetros fisiológicos de plantas de café, tais como: i)
1617 regulação das atividades específicas de enzimas antioxidantes, ii) redução da concentração de
1618 espécies reativas de oxigênio, iii) qualidade nutricional dos grãos, e iv) produtividade do
1619 cafeeiro. É necessário avaliar estratégias de melhoria da qualidade nutricional do grão para
1620 aumentar a ingestão diária de Se, com isso a biofortificação de café com Se pode ser uma
1621 estratégia muito promissora devido à alta demanda e consumo da bebida. Deste modo,
1622 objetiva-se avaliar a capacidade de biofortificação do café (*Coffea arabica* L.) com aplicação
1623 foliar de fontes e doses de Se caracterizando as respostas fisiológicas, bioquímicas e
1624 nutricionais da planta.

1625

10 MATERIAL E MÉTODOS

10.1. Localização e caracterização da área experimental

O experimento foi conduzido no ano de 2018, na propriedade particular de Francisco Simões na fazenda Santo Antônio, cidade de Herculândia-SP. O solo da região é classificado como arenoso (EMBRAPA, 2006) com baixos teores totais de Se ($< 45 \mu\text{g kg}^{-1}$). O delineamento experimental utilizado foi em blocos completos ao acaso em esquema fatorial 7×3 , com quatro repetições para cada tratamento, onde foram estudadas as combinações de sete doses de Se (0, 10, 20, 40, 80, 120 e 160 mg L^{-1}) e três fontes de selênio (selenato de sódio, microbial nano-selenium 1500 mg L^{-1} e nano-selenium 5000 mg L^{-1}) aplicados via foliar em plantas de *Coffea arabica* cultivar Itucaí vermelho, resultando em 21 tratamentos com 4 repetições, totalizando 84 parcelas experimentais.

A área de café foi implantada em 2013 sendo o experimento, portanto instalado em cafezal de produção com 5 anos de idade. A aplicação de Se foi realizada durante a antese do cafeeiro, no período vespertino com condições climáticas favoráveis (velocidade do vento entre 4 e 15 km h^{-1} , umidade relativa superior a 50% e temperatura de 30°C). Como não existe na literatura a descrição de doses de Se para café as doses escolhidas foram baseadas em testes preliminares já realizados (dados não publicados). Cada parcela foi constituída por uma fileira de plantas, com 5 plantas por fileira em 4 repetições, sendo consideradas úteis as 3 plantas em cada uma das fileiras. O espaçamento entre linhas de 3,8 m e entre plantas de 0,8 m perfazendo uma área de $15,2 \text{ m}^2$ por parcela. As plantas apresentavam altura média de 2 metros, sendo irrigadas por gotejamento durante todo seu ciclo de cultivo exceto no período anterior à colheita para uniformizar a maturação de grãos, foram adotadas práticas conservacionistas ceifando o mato nas entrelinhas e práticas agronômicas para controle de pragas e doenças de acordo com recomendações do Instituto Agrônomo de Campinas – IAC.

10.2. Coleta de material para respostas fisiológicas e avaliação do estado nutricional

As folhas diagnósticas (3º ou 4º pares de folhas do ápice do ramo plagiotrópico) foram coletadas 3 semanas após a aplicação dos tratamentos. Parte dessas folhas foram congeladas em nitrogênio líquido e armazenado em *freezer* -80°C , para posterior análises bioquímicas, pigmentos fotossintetizantes e avaliação das enzimas do estresse oxidativo. O restante do

material vegetal (folhas e grãos) foram acondicionados em embalagem de papel, identificado e submetido à secagem em estufa com circulação forçada (45 ± 5 °C) durante 72 horas até obterem peso constante, sendo em seguida moídas em moinho tipo Willey para análise de Se e nutrientes (MALAVOLTA *et al.*, 1997).

10.3. Pigmentos fotossintetizantes

A concentração de clorofila a, clorofila b, clorofila total, carotenoides e feofitina total foram quantificados pelo método espectrofotométrico proposto por Lichtenthaler (1987), utilizando 1,0 g de material vegetal fresco armazenado em 10 mL de acetona a 80%, com alíquota de 100 µL de extrato diluído em 1000 µL de acetona 80%. Os resultados foram expressos em µg g⁻¹ MF.

10.4. Análise do estresse oxidativo e enzimas antioxidantes

As folhas coletadas foram armazenadas em nitrogênio líquido, posteriormente acondicionadas em freezer -80 °C até serem processadas para análises de conteúdo de peróxido de hidrogênio (H₂O₂), malondialdeído (MDA), atividade de superóxido dismutase (SOD), atividade de catalase (CAT), atividade de ascorbato peroxidase (APX) e atividade de glutathione redutase (GR).

Para a determinação de proteínas totais, superóxido dismutase (SOD, EC:1.15.1.1), catalase (CAT, EC:1.11.1.6), ascorbato peroxidase (APX, EC:1.11.1.11) e glutathione redutase (GR, EC: 1.8.1.7) foram pesados aproximadamente 1,0 g do material vegetal congelado, que foi macerado em almofariz de porcelana com nitrogênio líquido. No material macerado foram adicionados 4 mL de solução tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 7,5) contendo 7% de sacarose, 14 mM β-mercaptoetanol, 250 mM ácido ascórbico, 20 mM ditioneitol, 20 mM metabissulfito de sódio, 20 mM tetraborato de sódio e 10 mM KCl. Os extratos homogeneizados foram centrifugados a $10.000 \times g$ por 30 minutos à 4 °C, o sobrenadante (sempre no gelo) foi coletado e passado por coluna Sephadex PD10, usando tampão fosfato de potássio 100 mM contendo EDTA 1 mM e DTT 3 mM. O flow through recolhido foi transferido para *ependorfs* e armazenado em freezer -80 °C.

10.4.1. Peróxido de hidrogênio

A concentração de H_2O_2 foi determinada segundo Alexieva *et al.* (2001). Para isso foram pesados aproximadamente 0,4 g do material vegetal congelado, que foi macerado em almofariz de porcelana com nitrogênio líquido. No material macerado foi adicionado 4 mL de ácido tricloroacético (TCA) 0,1% (p/v) em tubo falcon de 15 mL, o material foi homogeneizado em vortex e centrifugado a $10.000 \times g$ por 15 minutos a 4 °C. Em seguida foi feita extração de 200 μL de sobrenadante, no qual foram adicionados 200 μL de tampão fosfato de potássio, pH 7,5 (100 mM) e 800 μL de 1 M solução de iodeto de potássio. As amostras foram mantidas em gelo durante uma hora e posteriormente mantidas em temperatura ambiente por 20 minutos para estabilização da reação, foram realizadas leituras de absorbância a $\lambda = 390 \text{ nm}$ em espectrofotômetro. A concentração de peróxido de hidrogênio no tecido foliar foi calculada com base na curva padrão de H_2O_2 e os resultados expressos em $\mu\text{mol g}^{-1} \text{ MF}$.

10.4.2. Peroxidação lipídica – Malondialdeído

A peroxidação lipídica, ou MDA, foi mensurada segundo metodologia de Heath e Packer (1968). Foi macerado em almofariz de porcelana com nitrogênio líquido 0,4 g do material vegetal. No material macerado foram adicionados 4 mL de TCA 0,1% (p/v) + polivinilpolipirrolidona (PVPP) 20% em tubo falcon de 15 mL. O material foi homogeneizado em vortex e centrifugado a $10000 \times g$ por 10 minutos a 4 °C. A reação foi realizada pela adição de 250 μL do sobrenadante em 1 mL de solução de ácido tricloroacético 20% + 0,5% de ácido tiobarbitúrico. As amostras foram mantidas em banho-seco a 95 °C durante 30 minutos, posteriormente, resfriadas em gelo por 10 minutos e homogeneizadas em vortex. Foram realizadas leituras das amostras em $\lambda = 535$ e 600 nm. Os resultados foram expressos em $\text{nmol MDA g}^{-1} \text{ MF}$.

10.4.3. Atividade da superóxido dismutase (SOD, EC:1.15.1.1)

A atividade da superóxido dismutase (SOD) foi determinada seguindo a metodologia descrita por Giannopolitis e Ries (1977) em espectrofotômetro. Adicionou-se 50 μL de extrato da amostra já descongelada em tubo de ensaio de vidro contendo 2 mL de tampão fosfato de sódio 50 mmol L^{-1} pH 7,8, em seguida acrescentou-se 200 μL de NBT 75 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (nitroblue tretazolium), 200 μL de EDTA 0,1 mmol L^{-1} , 250 μL de metionina 13 mmol L^{-1} e 250 μL de riboflavina 2 $\mu\text{mol L}^{-1}$. O preparo dos controles seguiu-se a mesma metodologia substituindo

o extrato vegetal por tampão fosfato de sódio. Os tubos foram acondicionados no interior da câmara de reação, sob iluminação artificial por lâmpada fluorescente de 15W à 25 °C e mantidos durante 20 minutos para formação do composto blue formazana. A leitura foi realizada em espectrofotômetro UV-Vis, no comprimento de onda de 560 nm em absorbância. A atividade da SOD foi expressa em U SOD/mg de proteína.

1733

1734 **10.4.4. Atividade da catalase (CAT, EC:1.11.1.6)**

1735

A atividade da CAT foi determinada pelo monitoramento da degradação de H₂O₂ conforme método descrito por Reis *et al.* (2015). A reação ocorre à 25 °C utilizando cubeta de quartzo. Acrescentou-se 5 µL do extrato vegetal na cubeta e 3 mL do tampão A (10 mL de tampão fosfato de potássio 100 mM pH 7,5 + 25 µL de H₂O₂ 30%), para o branco substituiu-se a alíquota do extrato por tampão fosfato de potássio, acrescentando 3 mL do tampão A. Em seguida, a atividade foi monitorada durante 1 minuto com intervalos de 10 segundos em espectrofotômetro UV-Vis no comprimento de onda de 240 nm em absorbância para degradação do H₂O₂, em temperatura ambiente. O resultado foi expresso em µmol min⁻¹ mg⁻¹ de proteína.

1745

1746 **10.4.5. Atividade da ascorbato peroxidase (APX, EC:1.11.1.11)**

1747

A atividade da APX foi determinada segundo Moldes *et al.* (2008), em espectrofotômetro UV-Vis no comprimento de onda de 290 nm, à 30 °C em cubetas de quartzo. Esta reação foi monitorada durante 1 minuto com leituras a cada 10 segundos, sendo expressa a atividade em nmol minuto⁻¹ mg⁻¹ de proteína. A reação iniciou com a adição de 10 µL de extrato da amostra em cubeta de quartzo contendo 690 µL de tampão fosfato de potássio 80mM pH 7,0 + 100 µL de ascorbato 5 mM + 100 µL de EDTA 1 mM mantidos em 30 °C no escuro durante 5 minutos, em seguida adicionou-se 100 µL de H₂O₂ 1 mM com imediata leitura. A leitura foi realizada durante 1 minuto no comprimento de onda de 290 nm em absorbância e os resultados foram expressos em µmol H₂O₂ min⁻¹ mg⁻¹ proteína.

1757

1758 **10.4.6. Atividade da glutathione redutase (GR, EC: 1.8.1.7)**

1759

A atividade de GR foi determinada em espectrofotômetro seguindo metodologia descrita por Gomes-Júnior *et al.* (2006), com algumas adaptações. Em microcubeta foram

adicionados 1 mL de tampão fosfato de potássio pH 7,5 100 mM (tampão A) e 500 µL de solução DTNB 1 mM diluído em tampão A mantidos à 30 °C durante 15 minutos no escuro. A reação se iniciou com a adição de 100 µL de solução NADPH 0,1 mM, 100 µL de solução GSSG 1 mM e 2,5 µL do extrato vegetal. A atividade da GR foi estimada pela redução de glutatona oxidada acompanhada por monitoramento durante 1 minuto no comprimento de onda de 412 nm em absorbância. Os valores foram expressos em nmol minuto⁻¹ mg⁻¹ de proteína.

10.5. Produtividade

Os grãos foram colhidos no estágio cereja e passa, sendo acondicionados em sacos de juta e posteriormente secos a sombra em casa de vegetação no município de Garça – SP, de modo que a qualidade nutricional da bebida fosse preservada. Ao final da secagem de aproximadamente 7 semanas, os grãos de café com casca foram pesados para obtenção do peso em coco, cálculo do percentual de renda e de umidade, os grãos beneficiados (sem pergaminho) foram pesados para o cálculo de rendimento por hectare (produtividade). Após secagem, os grãos foram moídos em moinho tipo Willey para análise de nutrientes e Se.

10.6. Avaliação de nutrientes e Se

No tecido vegetal (folha diagnose, e grãos) concentrações de fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), enxofre (S), cobre (Cu), ferro (Fe), manganês (Mn), zinco (Zn) e selênio (Se) foram determinados foi obtida através do extrato via digestão com ácido nítrico P.A. (merch) e posterior análise em ICP-MS.

O material vegetal (folhas e grãos) foram secos em estufa à 45 ± 5 °C durante 72 h até atingirem peso constante, em seguida moídos em moinho de facas tipo Willey de aço inox e 0,20 g de peso seco foram colocadas em vasos de digestão de perfluoroalcoxis (PFA) adicionando-se 6 mL de HNO₃ PA 65% (merch). A digestão foi realizada em sistema de micro-ondas compreendendo uma plataforma Multiwave GO com rotor de 12 vasos (Anton Paar, Graz, Áustria). As configurações para a digestão foram: Temp = 195 °C, tempo = 45 min de rampa e 20 min de holding, dois vasos em branco contendo apenas ácido nítrico e duas réplicas de material de referência certificado (CRM) para Se foram incluídas a cada três corridas. O CRM utilizado foi BCR 402 (white clover) standard (Sigma-Aldrich) com recuperação de Se de 99%. Após digestão, 9 mL de água milli-Q foram adicionados a cada

1796 tubo (volume final de 15 mL) e armazenados à temperatura ambiente. Antes da análise
1797 elementar, os digeridos foram diluídos 1:5 usando água milli-Q. A análise dos elementos foi
1798 realizada por espectroscopia de massa de plasma indutivamente acoplada (ICP-MS) (Agilent
1799 7500ce, Agilent Technologies®, Tóquio, Japão), como descrito anteriormente por Silva *et al.*
1800 (2018).

1801

1802 **10.7. Análise Estatística**

1803

1804 Os dados foram submetidos à análise de variância e posteriormente analisados
1805 estatisticamente ao nível de significância 5% de probabilidade de erro. As pressuposições do
1806 modelo foram avaliadas pelo teste de Shapiro-Wilk e a homocedasticidade de variâncias pelo
1807 teste de Hartley. As interações entre as fontes e as doses de Se quando significativas foram
1808 analisadas pelo teste de Scott-Knott à 5% de significância.

1809 Procedeu-se também a análise de correlação de Pearson ($p < 0,05$), a fim de constatar
1810 as variáveis dependentes que se correlacionaram diretamente frente aos tratamentos
1811 propostos. No Software R (R Development Core Team, v. 3.6), o pacote “corrplot” foi
1812 acessado para criação do Heatmap, utilizando-se as funções “cor” e “cor.mtest” para criação
1813 de matrizes de coeficientes e p-valor para cada fonte de Se analisada, respectivamente. Para
1814 facilitar a visualização das correlações significativas foram inseridas diferentes cores dentro
1815 células do Heatmap.

1816

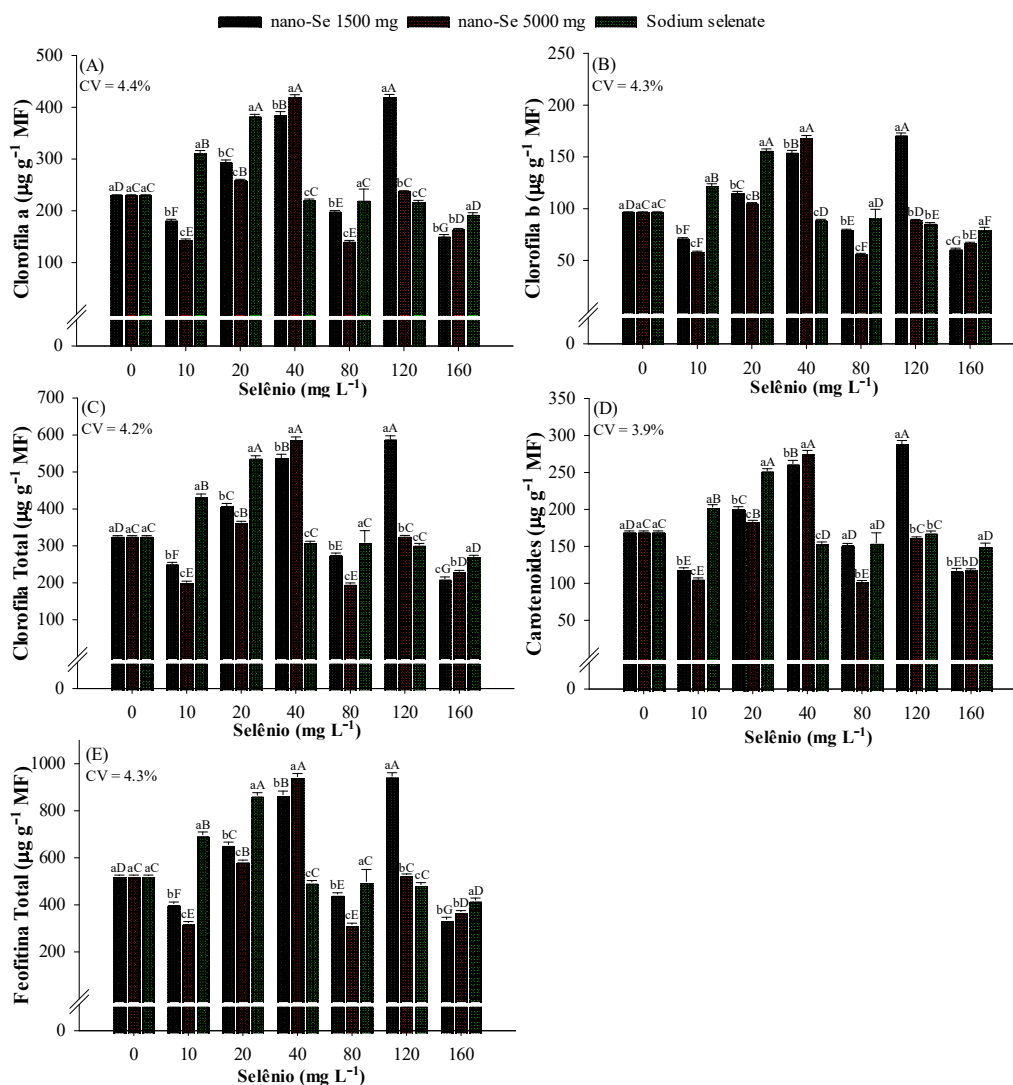
11 RESULTADOS

1818

1819 As concentrações de clorofilas a, b e total seguiram tendência de aumento em resposta
1820 a aplicação foliar de Se até 20 mg L⁻¹ da fonte selenato de sódio e até 40 mg L⁻¹ para as fontes
1821 de nano-Se, sendo essas mesmas doses as que proporcionaram maiores concentrações de
1822 pigmentos fotossintetizantes (Figura 1). A dose de 40 mg L⁻¹ das fontes nano-Se 1500 mg L⁻¹
1823 e nano-Se 5000 mg L⁻¹ proporcionou a maior concentração de clorofila a e b. Na fonte
1824 selenato de sódio a dose de 20 mg L⁻¹ foi a que proporcionou maior concentração de
1825 clorofilas, carotenoides e feofitinas (Figura 1). De modo geral, a dose de 160 mg L⁻¹ foi a que
1826 apresentou menor conteúdo destes pigmentos em relação ao tratamento controle, sendo um
1827 biomarcador fisiológico de toxidez para o cafeeiro.

1828 **Figura 1** - Concentração de clorofila a (A), clorofila b (B), clorofila total (C), carotenoides
1829 (D) e feofitina total (E) nas folhas de café em resposta a aplicação de doses e fontes de Se.
1830 Letras minúsculas diferentes indicam significância entre as fontes para cada dose e letras
1831 maiúsculas diferentes indicam significância entre doses para cada fonte de Se de acordo com
1832 o teste de Scott-Knott $P \leq 0.05$. As barras indicam o desvio padrão da média ($n = 4$).

1833



1834

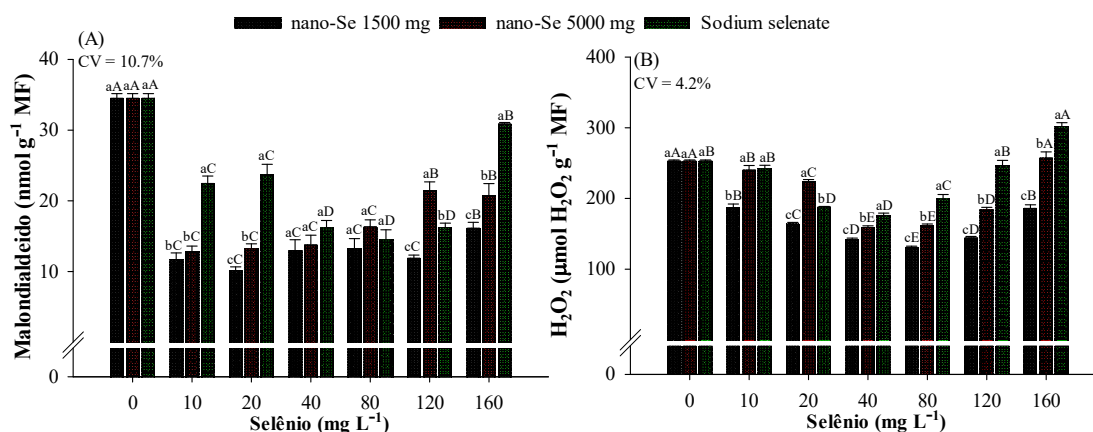
1835 Fonte: Próprio autor.

1836

1837 A maior concentração de clorofila total (Figura 1C) foi obtida com a fonte nano-Se
 1838 5000 na dose de 40 mg L^{-1} ($586,73 \mu\text{g mL}^{-1}$), que proporcionou acréscimo de 79,7% em
 1839 relação à testemunha ($326,52 \mu\text{g mL}^{-1}$) e diferença percentual de 60,6% para a dose de 160
 1840 mg L^{-1} ($231,11 \mu\text{g mL}^{-1}$). Para ambas as fontes de nano-Se, 1500 e 5000 mg, a dose de 40 mg
 1841 L^{-1} proporcionou elevada concentração de clorofila total, 538,50 e $586,73 \mu\text{g mL}^{-1}$
 1842 respectivamente, sendo observada também na dose de 20 mg L^{-1} de Se para a fonte selenato
 1843 de sódio ($537,17 \mu\text{g mL}^{-1}$) (Figura 1C). A concentração de carotenoides e feofitina total
 1844 seguiu a mesma progressão com o aumento da dose de Se até 20 mg L^{-1} na fonte selenato de
 1845 sódio e 40 mg L^{-1} para as fontes de nano-Se no cafeeiro (Figura 1D e Figura 1E).

A maior concentração de malondialdeído (MDA) foi observada na testemunha e na dose de 160 mg L⁻¹ de Se, para todas as fontes analisadas (Figura 2A). Para a dose de 20 mg L⁻¹, a menor concentração de MDA foi observada para a fonte nano-Se 1500 a qual correspondeu a concentração de 10,19 nmol g⁻¹ MF. Este mesmo resultado pode ser observado para a fonte nano-Se 5000, na qual as menores doses de Se foram as que proporcionaram a menor concentração de MDA nos tecidos. Entretanto, para a fonte selenato de sódio as doses que corresponderam a menor concentração de MDA foram de 40, 80 e 120 mg L⁻¹, resultando em 16,26, 14,51 e 16,19 nmol g⁻¹ MF, respectivamente.

Figura 2 - Concentração de malondialdeído (A) e peróxido de hidrogênio (B) em folhas de café em resposta a aplicação de doses e fontes de Se. Letras minúsculas diferentes indicam significância entre as fontes para cada dose e letras maiúsculas diferentes indicam significância entre doses para cada fonte de Se de acordo com o teste de Scott-Knott $P \leq 0.05$. As barras indicam o desvio padrão da média ($n = 4$).



Fonte: Próprio autor.

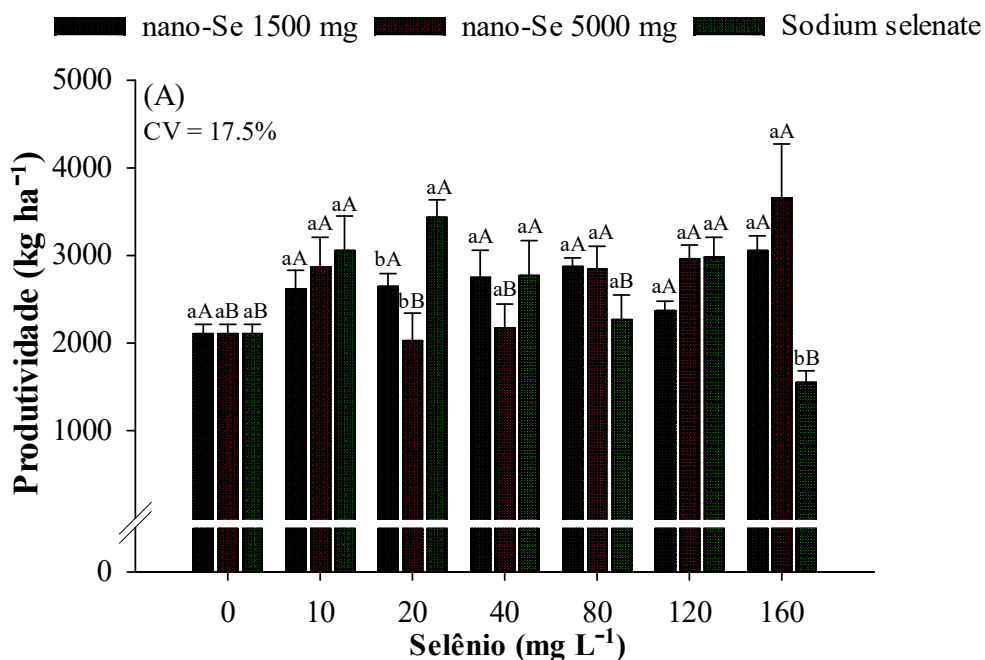
As concentrações de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) foram influenciadas assim como pode ser observado anteriormente (Figura 2A), sendo que a testemunha e a dose 160 mg L⁻¹ de Se proporcionaram as maiores concentrações de H₂O₂ nos tecidos foliares (Figura 2B). A fonte nano-Se 1500 na dose de 80 mg L⁻¹ de Se foi a que proporcionou menor concentração de H₂O₂ em relação às demais fontes (130,75 μmol H₂O₂ g⁻¹ MF), sendo estatisticamente inferior em todas as doses testadas (Figura 2B). Para as fontes nano-Se 5000 e selenato de sódio, as menores concentrações de H₂O₂ foram observadas na dose de 40 mg L⁻¹ de Se (159,36 e 175,96 μmol H₂O₂ g⁻¹ MF), respectivamente (Figura 2B).

A maior atividade específica da catalase foi observada na dose de 20 e 120 mg L⁻¹ de Se para a fonte selenato de sódio (252,53 e 230,94 nmol mg⁻¹ proteína), para as demais fontes,

maior atividade da APX em relação à dose de 160 mg L⁻¹ (Figura 3C). Para a glutathione redutase (GR) a fonte nano-Se 5000 foi a que proporcionou maior atividade dessa enzima após aplicação das doses de 40, 80 e 160 mg L⁻¹ de Se, respectivamente, sendo estatisticamente diferente das demais fontes de Se (Figura 3D). A dose recomendada para a fonte nano-Se 1500, que conferiu maior atividade GR foi 20 mg L⁻¹ de Se e para a fonte selenato de sódio, a aplicação entre 20 e 40 mg L⁻¹ de Se.

A dose de 20 mg L⁻¹ da fonte selenato de sódio proporcionou elevada produtividade, sendo 3439,3 kg ha⁻¹ de café beneficiado, correspondendo a um aumento substancial de 1324,6 kg em relação à testemunha (2115,04 kg ha⁻¹) e na maior dose de 160 mg L⁻¹ de Se ocasionou em queda no rendimento de grãos. Para as fontes nano-Se 1500 e 5000, a aplicação de 160 mg L⁻¹ de Se resultou nas maiores produtividades (3061,79 e 3663,50 kg ha⁻¹) com diferença de 946,75 e 1548,46 kg ha⁻¹ em relação ao tratamento controle, respectivamente (Figura 4).

Figura 4 - Produtividade de café beneficiado em resposta a aplicação de doses e fontes de Se. Letras minúsculas diferentes indicam significância entre as fontes para cada dose e letras maiúsculas diferentes indicam significância entre doses para cada fonte de Se de acordo com o teste de Scott-Knott $P \leq 0.05$. As barras indicam o desvio padrão da média ($n = 4$).



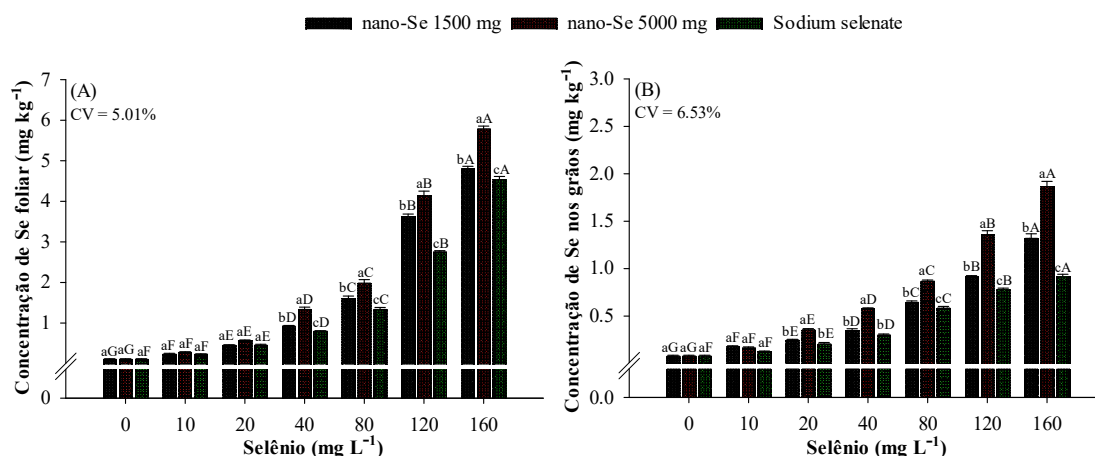
1911

1912 Fonte: próprio autor.

1913 A concentração de Se foliar aumentou significativamente com o crescimento das doses
1914 aplicadas, sendo que a aplicação de 160 mg L⁻¹ de Se apresentou maiores concentrações

foliares deste elemento para todas as fontes, entretanto, a fonte nano-Se 5000 proporcionou maiores concentrações foliares de Se ($5,78 \text{ mg kg}^{-1}$), seguida pelas fontes nano-Se 1500 e selenato de sódio ($4,80$ e $4,54 \text{ mg kg}^{-1}$), sendo estatisticamente inferiores. Para os grãos de café, houve mesma tendência de acúmulo como observado anteriormente, a fonte nano-Se 5000 foi estatisticamente superior às demais, resultando na concentração de $1,86 \text{ mg kg}^{-1}$ com a aplicação de 160 mg L^{-1} de Se. As fontes nano-Se 1500 e selenato de sódio nesta mesma dose de 160 mg L^{-1} proporcionaram concentrações de $1,32$ e $0,92 \text{ mg kg}^{-1}$ de Se nos grãos.

Figura 5 - Concentração de Se em folhas e em grãos de café arábica em resposta a aplicação de Se. Letras minúsculas diferentes indicam significância entre as fontes para cada dose e letras maiúsculas diferentes indicam significância entre doses para cada fonte de Se de acordo com o teste de Scott-Knott $P \leq 0.05$. As barras indicam o desvio padrão da média ($n = 4$).

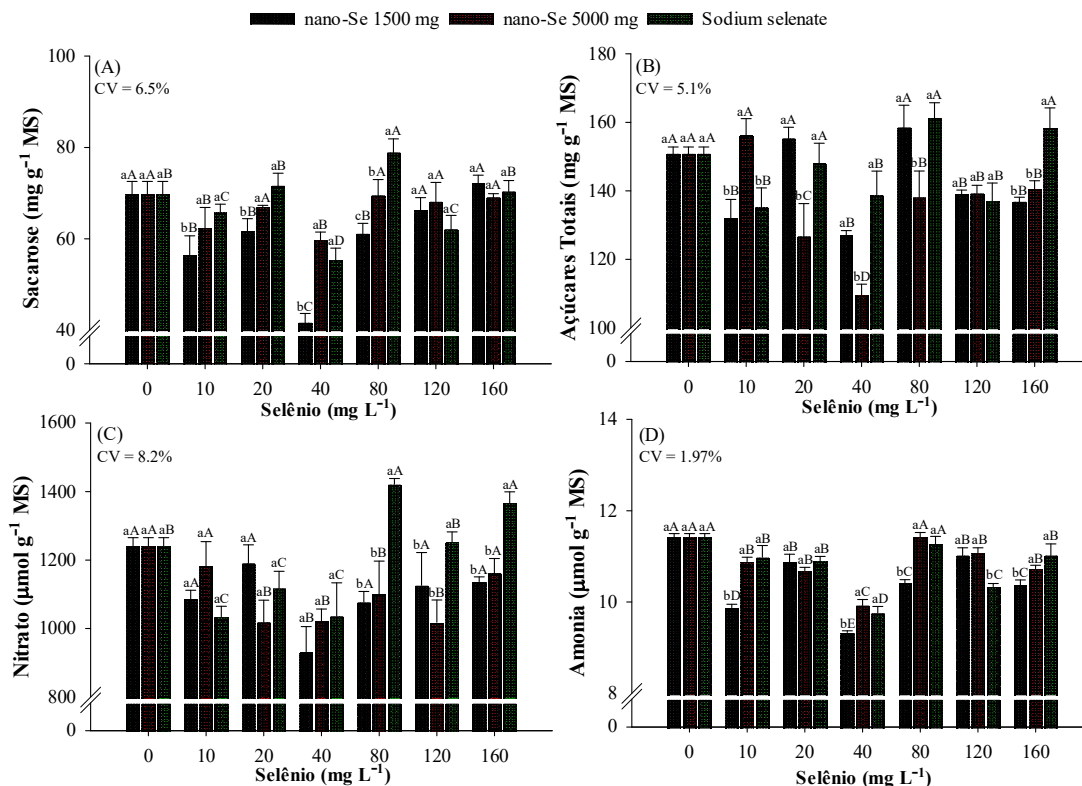


Fonte: Próprio autor.

A concentração de sacarose nos grãos aumentou 13% em resposta a aplicação de 80 mg L^{-1} de Se para a fonte selenato de sódio, diferindo estatisticamente das demais fontes de Se (Figura 5A). Já a dose de 40 mg L^{-1} de Se, apresentou a menor concentração de sacarose e açúcares totais nos grãos de café (Figura 5B). A maior concentração de nitrato nos grãos de café foi observada nos tratamentos que receberam doses de 80 e 160 mg L^{-1} de Se ($1421,45$ e $1366,58 \text{ } \mu\text{mol g}^{-1} \text{ MS}$), para a fonte selenato de sódio (Figura 5C). Enquanto que, para a amônia, a maior concentração foi observada na testemunha e na dose de 80 mg L^{-1} de Se. A dose de 40 mg L^{-1} resultou em menor acúmulo de nitrato e amônia nos grãos, para todas as fontes aplicadas, respectivamente (Figura 5D).

Figura 6 - Concentração de sacarose (A), açúcares totais (B), nitrato (C) e amônia (D) nos grãos de café arábica em resposta a aplicação de Se. Letras minúsculas diferentes indicam

1941 significância entre as fontes para cada dose e letras maiúsculas diferentes indicam
 1942 significância entre doses para cada fonte de Se de acordo com o teste de Scott-Knott $P \leq 0.05$.
 1943 As barras indicam o desvio padrão da média ($n = 4$).



1944

1945 Fonte: Próprio autor.

1946 A aplicação de 40 e 120 mg L⁻¹ de Se da fonte selenato de sódio proporcionou maiores
 1947 concentrações de K foliares, sendo estatisticamente diferente dos demais. Entretanto, notou-se
 1948 maiores acúmulos de K nessas mesmas doses para as fontes nano-Se 1500 e 5000 mesmo não
 1949 apresentando diferenças significativas entre as doses aplicadas. As fontes de nano-Se 1500 e
 1950 5000 aplicadas na dose de 160 mg L⁻¹, apresentaram pequenos incrementos nas concentrações
 1951 de Ca, Mg e B foliares, e aumentando significativamente em 88 e 122% o acúmulo de Zn nas
 1952 folhas em relação ao tratamento controle, respectivamente.

1953 Contudo, a dose de 120 mg L⁻¹ de Se da fonte nano-Se 1500 resultou em menor
 1954 concentração de Fe e Mn foliar. Para a fonte nano-Se 5000 as doses entre 40 e 80 mg L⁻¹
 1955 apresentaram menores concentrações de Mg, S, Cu, Mn e B nas folhas. A fonte selenato de
 1956 sódio propiciou aumentos significativos de: P na dose de 80 mg L⁻¹; K e S nas doses 40 e 120
 1957 mg L⁻¹; Fe e Mn na dose de 10 mg L⁻¹.

1958 Tabela 1. Médias das concentrações foliares de macros e micronutrientes do *Coffea arabica* após aplicação de doses Se via foliar em diferentes
 1959 fontes. Ilha Solteira – SP, 2018.

Fontes	Doses	P	K	Ca	Mg	S	Fe	Cu	Zn	Mn	B
-- g kg ⁻¹ --						-- mg kg ⁻¹ --					
nano-Se 1500 mg	0	1,93 aA	26,60 aA	14,72 aA	3,76 aA	2,22 aA	122,98 aA	2,93 bA	58,25 aB	364,77 aA	114,83 aA
	10	1,50 aA	20,86 aB	13,95 aA	3,14 aA	1,80 aA	124,27 bA	3,40 aA	74,76 aA	243,80 bB	117,50 aA
	20	1,81 aA	19,74 aB	15,72 aA	3,63 aA	1,96 aA	123,35 aA	3,34 aA	83,30 aA	275,74 aB	101,70 aA
	40	1,56 aA	21,16 bB	14,69 aA	3,85 aA	2,06 aA	124,36 aA	4,15 aA	51,60 bB	332,33 aA	104,41 aA
	80	1,73 bA	20,77 bB	15,40 aA	3,81 aA	2,22 aA	110,64 aA	3,90 aA	86,86 aA	352,11 aA	111,22 aA
	120	1,65 aA	21,33 bB	12,07 bB	3,64 aA	1,88 aA	87,01 aB	4,08 aA	44,37 bB	237,80 aB	104,92 aA
	160	1,74 aA	19,45 aB	15,20 aA	4,09 aA	2,00 aA	79,41 aB	3,42 aA	109,5 aA	279,06 aB	134,07 aA
nano-Se 5000 mg	0	1,59 aA	21,51 bA	13,85 aA	3,74 aA	1,92 aA	103,03 aA	4,11 aA	40,61 aB	305,58 bA	101,51 aA
	10	1,39 aA	20,40 aA	14,91 aB	3,66 aA	2,06 aA	74,16 cA	3,52 aA	77,99 aA	239,94 bB	120,20 aA
	20	1,83 aA	20,46 aA	11,82 bA	3,34 aB	1,96 aA	85,32 bA	3,30 aA	58,61 aB	238,61 aB	96,04 aA
	40	1,83 aA	22,90 bA	13,42 aA	2,99 bB	1,62 bB	66,29 bA	2,80 bB	84,95 aA	175,96 cC	76,42 aB
	80	1,75 bA	20,53 bA	11,72 bB	2,91 bB	1,71 bB	75,05 aA	2,99 aB	29,29 bB	156,74 bC	67,05 bB
	120	1,63 aA	22,18 bA	14,98 aA	4,06 aA	2,15 aA	92,38 aA	2,66 bB	50,44 bB	214,82 aB	106,27 aA
	160	1,80 aA	19,41 aA	15,95 aA	3,92 aA	1,98 aA	97,77 aA	2,13 bB	90,04 aA	250,96 aB	123,86 aA
Sodium selenate	0	1,71 aB	22,24 bC	15,26 aA	3,48 aA	1,96 aA	82,74 aB	2,17 bA	72,59 aA	288,66 bB	118,42 aA
	10	1,60 aB	19,34 aD	15,78 aA	3,25 aA	1,88 aA	157,18 aA	2,93 aA	57,15 aA	369,30 aA	129,15 aA
	20	1,43 bB	18,94 aD	13,82 aA	3,89 aA	1,80 aB	90,16 bB	2,98 aA	63,82 aA	238,09 aC	120,34 aA
	40	1,71 aB	29,69 aA	13,35 aA	3,60 aA	2,18 aA	68,33 bB	3,07 bA	77,43 aA	260,17 bC	102,95 aA
	80	2,38 aA	25,13 aB	14,15 aA	3,45 aA	1,72 bB	86,48 aB	3,47 aA	60,33 aA	318,61 aB	96,77 aA
	120	1,45 aB	29,96 aA	10,66 bB	3,16 bA	2,00 aA	60,34 aB	3,85 aA	76,25 aA	214,03 aC	94,02 aA
	160	1,86 aB	21,49 aC	12,29 bB	3,07 bA	1,60 bB	68,92 aB	3,32 aA	47,92 bA	229,82 aC	108,77 aA
CV (%)		13,02	7,57	9,94	11,01	9,68	19,74	18,06	24,18	11,79	16,87

1960 Nota: Letras minúsculas diferentes indicam significância entre as fontes para cada dose e letras maiúsculas diferentes indicam significância entre doses para cada fonte de Se
 1961 de acordo com o teste de Scott-Knott $P \leq 0.05$. As barras indicam o desvio padrão da média ($n = 4$).
 1962 Fonte: Próprio autor.

12 DISCUSSÃO

O selênio em baixas concentrações na aplicação via foliar apresenta atividade antioxidante no metabolismo vegetal (Silva *et al.*, 2018), assim como pode ser observado na Figura 1, as doses de 20 e 40 mg L⁻¹ de Se, independente da fonte aplicada proporcionaram maiores incrementos em clorofilas a e b e total. Os incrementos nos pigmentos proporcionados pela aplicação de 40 mg L⁻¹ de Se da fonte nano-Se 5000 foram de 79,7 e 62,0% para clorofila total e carotenoides, respectivamente, sendo também observados em diversas culturas como trigo (ELKELISH, 2019; ISLAM *et al.*, 2020), feijão caupi (SILVA *et al.*, 2018), canola (MOHTASHAMI *et al.*, 2020), tomate (RADY *et al.*, 2020) e alface (GOLOB *et al.*, 2020). A maior concentração de pigmentos fotossintéticos indica maior efeito fotoprotetor do Se no complexo antena, ao modo que esses pigmentos de clorofila não fossem deteriorados pelo deslocamento do próton de magnésio e convertidos em moléculas de feofitina (RYDZYŃSKI *et al.*, 2019). Em soja, este efeito foi comprovado que a aplicação foliar de 50 ppm de Se aumentou a atividade antioxidante da planta durante a senescência, protegendo-a de danos celulares (DJANAGUIRAMAN *et al.*, 2005).

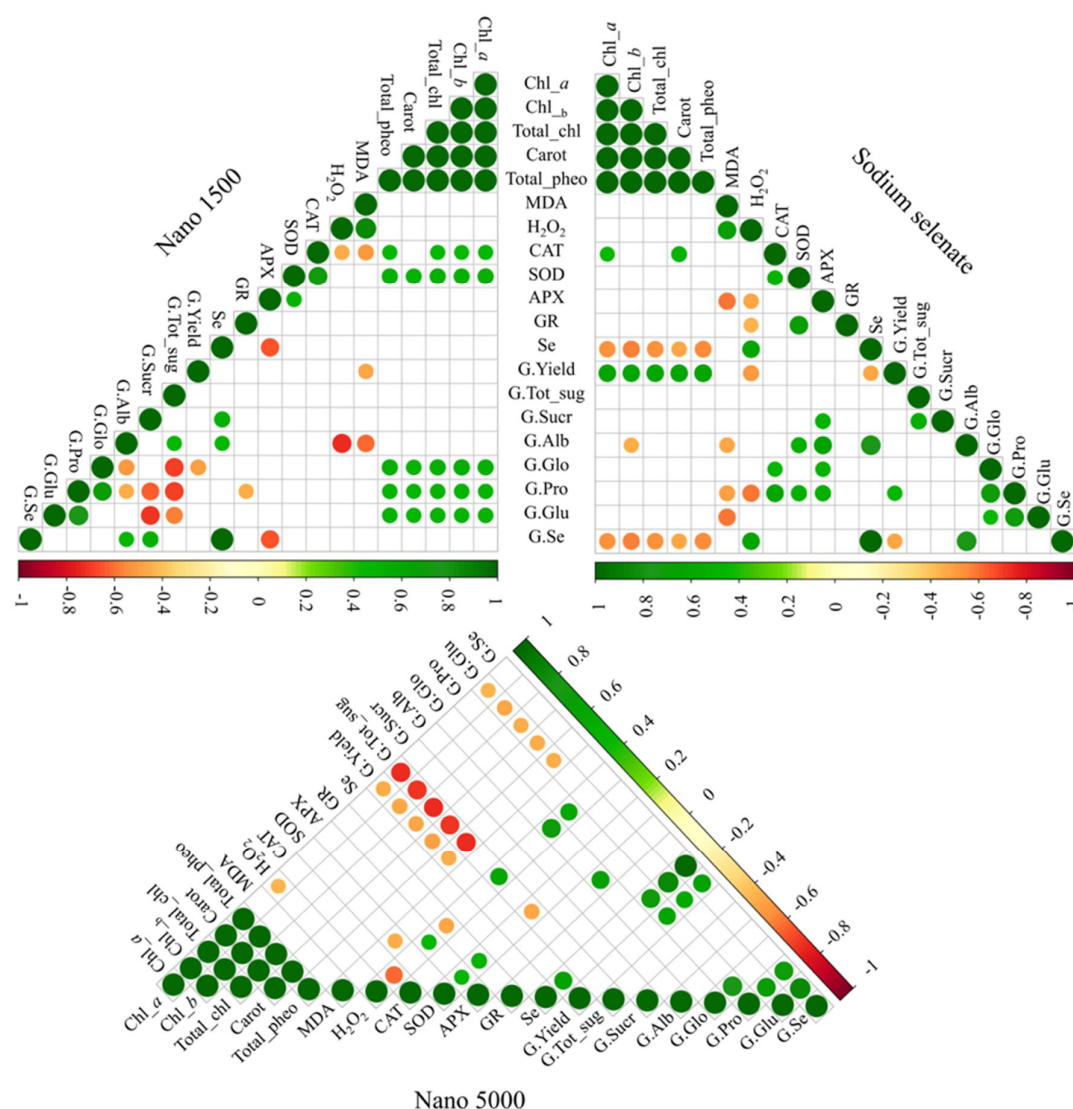
A aplicação foliar de Se até 80 mg L⁻¹ proporcionou menores concentrações de malondialdeído e H₂O₂ (Figura 2), sendo a fonte nano-Se 1500 significativamente inferior às demais, ressaltando a atividade antioxidante do Se no combate as espécies reativas de oxigênio (EROs) evitando a degradação do DNA e senescência celular. O mesmo foi observado após a aplicação de nano-Se em amendoim que proporcionou maior mitigação das EROs alterando composição de ácidos graxos e proteínas (HUSSEIN *et al.*, 2019).

A dose de 160 mg mL⁻¹ de Se da fonte selenato de sódio, além de apresentar menor concentração de clorofilas, não é recomendada para aplicação na cultura do café pois, ultrapassa os limites foliares tolerados de Se pela cultura, exercendo função pró-oxidante (figura 2B) como observado na relação antagônica entre Se e enzimas antioxidativas (Figura 7) para a fonte selenato de sódio. A queda da atividade de enzimas como SOD, CAT, APX e GR estimula a produção de EROs nas células das folhas (Reis *et al.*, 2018; Silva *et al.*, 2018), resultando na formação de compostos lipídicos oxidados como o MDA (Figuras 2A e 7). Entretanto, a atividade das enzimas CAT, SOD, APX e GR aumentaram com a aplicação de Se em baixas concentrações ocasionando em maior redução das EROs como o H₂O₂, assumindo correlação negativa (figura 7) além de reduzir a concentração de MDA celular, estimulando a atividade antioxidativa e fotossintética da planta a produzir maiores

1995 concentrações de fotoassimilados, que por ventura foram translocados para os grãos e assim
 1996 aumentado a produtividade do cafeeiro.

1997 **Figura 7** - Heatmap indicando as correlações de Person ($p < 0,005$) entre os parâmetros
 1998 fisiológicos, bioquímicos e biométrico avaliados em resposta a fontes e doses de Se aplicado
 1999 no cafeeiro. Abreviações: chl_a – clorofila a, chl_b – clorofila b, total_chl – clorofila total,
 2000 total_pheo – feofitina total, carot – carotenoides, MDA – malondialdeído, H_2O_2 – peróxido de
 2001 hidrogênio, cat – catalase, sod – superóxido dismutase, APX – ascorbato peroxidase, GR –
 2002 glutathione redutase, Se – concentração de Se nas folhas, G.yield – produtividade, G.tot-sug –
 2003 concentração de açúcares totais nos grãos, G.sucr – concentração de sacarose nos grãos, G.alb
 2004 – concentração de albumina nos grãos, G.glo – concentração de globulina nos grãos, G.pro –
 2005 concentração de prolamina nos grãos, G.glu – concentração de glutelina nos grãos, G.Se –
 2006 concentração de Se nos grãos.

2007



2008

2009 Fonte: Próprio autor.

2010 A aplicação de pequenas doses de Se (20 mg L^{-1}) da fonte selenato de sódio, aumentou
2011 o metabolismo antioxidativo resultando em plantas com maior atividade enzimática para
2012 controlar as espécies reativas de oxigênio (Figura 3). Concomitante a isso, ao prover maior
2013 resistência às plantas, o uso dessa dose também influenciou positivamente na produtividade
2014 de café, tornando-o mais produtivo (Figura 4). Em repolho chinês, a fonte nano-Se melhorou
2015 todo o aparato fisiológico da planta, beneficiando seu desenvolvimento (Dai *et al.*, 2019). A
2016 aplicação de Se em outras culturas, como a batata, aumentou a produtividade e gerou maior
2017 número de tubérculos grandes (Zhang *et al.*, 2019), em canola a aplicação de Se associada a
2018 irrigação aumentou significativamente a produtividade de grãos, com incrementos de 283,5%
2019 em relação ao tratamento controle (Mohtashami *et al.*, 2020). Em feijão caupi, a dose de Se
2020 50 g ha^{-1} na fonte selenito de sódio, aumentou a produtividade em 1,6 vezes em relação ao
2021 tratamento controle (Silva *et al.*, 2018). Para as fontes de nano-Se, os maiores rendimentos
2022 foram obtidos com a aplicação de 160 mg L^{-1} de Se via foliar. Essas fontes de Se nano
2023 particuladas (Se-NPs) possuem biodisponibilidade variável, com alta eficiência catalítica e
2024 menor toxidez em relação à outras formas químicas de Se (Ali *et al.*, 2020; Ye *et al.*, 2020).

2025 A aplicação das fontes elevou significativamente o acúmulo de Se nos tecidos foliares
2026 e nos grãos. Sintomas de estresse oxidativo e diminuição de pigmentos fotossintetizantes
2027 foram observados na maior dose em decorrência da elevada concentração de Se nos tecidos
2028 foliares que variaram entre 4,54 a $5,78 \text{ mg kg}^{-1}$ de Se (Figura 5A), ou seja, a partir deste ponto
2029 se aumentar a dose de Se via foliar, o cafeeiro pode exibir sintomas visuais característicos de
2030 toxidez ou até ocasionar morte de plantas. Segundo Kolbert (2019), os sintomas
2031 característicos de toxidez nas plantas se iniciam a partir de 5 mg kg^{-1} de Se nos tecidos, mas
2032 possui ampla variação entre as espécies vegetais. Já White (2018) relata que a maioria das
2033 plantas cultivadas não toleram concentrações de Se nos tecidos superiores a 1 mg kg^{-1} .

2034 O acúmulo de Se nos grãos aumentou de acordo com a crescente concentração
2035 aplicada via foliar, independente das fontes aplicadas (figura 5B). A dose de 160 mg L^{-1} de Se
2036 na fonte nano-Se 5000 resultou em grãos mais enriquecidos, com concentração de $1,86 \text{ mg}$
2037 kg^{-1} de Se, ultrapassando os limites máximos estabelecidos pelo *Codex Alimentarius* para
2038 produtos biofortificados de $0,3 \text{ mg kg}^{-1}$ de Se nas partes comestíveis de plantas (Chilimba *et*
2039 *al.*, 2012). Entretanto, os efeitos do Se na bebida de café ainda não estão bem elucidados, pois
2040 podem variar de acordo com o grau de torrefação do grão e sua granulometria após a
2041 moagem, sendo importante caracterizar os lotes de acordo com sua qualidade e concentração
2042 de Se.

2043 As plantas quando submetidas à condições estressantes, tendem a aumentar a
2044 concentração de prolina e açúcares solúveis (Rady *et al.*, 2020), entretanto, a aplicação de Se
2045 via foliar de 80 mg L⁻¹ da fonte selenato de sódio, resultou em grãos com maiores
2046 concentrações de sacarose, açúcares totais e nitrato (Figura 6). O acúmulo de nitrato em partes
2047 comestíveis de plantas pode representar alto risco à saúde humana, pois além de levar a
2048 metahemoglobinemia, o nitrato pode ser convertido a nitrosaminas e nitrito, que é um
2049 carcinógeno potencialmente tóxico (PRASSAD; CHETTY, 2008).

2050 Assim como o Se aumentou a concentração de açúcares nos grãos de maneira
2051 significativa (Figura 6), o aumento da concentração de B foliar também pode ter contribuído
2052 de maneira conjunta devido à uma de suas funções no metabolismo de carboidratos
2053 aumentando o transporte de açúcares (García-Sánchez *et al.*, 2020). A aplicação de Se
2054 também aumentou o acúmulo de Mn nas folhas, desse modo, o Mn pode ser metabolizado em
2055 porfirinas que são miméticas a enzima SOD no potencial redox, atuando na regulação de ERO
2056 como H₂O₂, O₂•⁻, ONOO⁻, thiols e ascorbato (Batinic-Haberle e Tome, 2019).

2057 **13 CONCLUSÕES**

2058

2059 A aplicação foliar de Se em baixas doses (10 a 80 mg L⁻¹) aumentou a concentração de
2060 pigmentos fotossintetizantes e atividade de enzimas antioxidantes mitigando EROs e
2061 peroxidação lipídica, exercendo função fotoprotetora do complexo antena. Para maior
2062 concentração de pigmentos e mitigação das EROs pelas enzimas antioxidativas a
2063 recomendação da aplicação foliar das fontes selenato de sódio é na faixa de 20 a 40 mg L⁻¹,
2064 nano-Se 1500 e nano-Se 5000 na faixa de 80 a 120 mg L⁻¹ de Se.

2065 A aplicação das fontes de Se aumentou a qualidade nutricional e bioquímica dos grãos
2066 de café pelo aumento expressivo de albumina a partir da dose 20 mg Se L⁻¹ em todas as fontes
2067 testadas. A aplicação da fonte nano-Se 5000 na concentração de 160 mg L⁻¹ aumentou a
2068 produtividade do café beneficiado em 1600 kg ha⁻¹. A aplicação de Se recomendada nesse
2069 estudo pode mitigar estresses abióticos e promover aumento de produtividade do cafeeiro.

2070

REFERÊNCIAS

- 2071
2072
- 2073 ABDEL-HAKEEM, E.A.; ABDEL-HAMID, H.A.; HAFEZ, S.M.N.A. The possible
2074 protective effect of Nano-Selenium on the endocrine and exocrine pancreatic functions in a rat
2075 model of acute pancreatitis. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, [s. l.], v.
2076 60, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2020.126480>.
2077
- 2078 ALI, H.F.H.; EL-SAYED, N.M.; KHODEER, D.M.; AHMED, A.A.M.; HANNA, P.A.;
2079 MOUSTAFA, Y.M.A. Nano selenium ameliorates oxidative stress and inflammatory
2080 response associated with cypermethrin-induced neurotoxicity in rats. **Ecotoxicology and**
2081 **Environmental Safety**, New York, v. 195, 2020. DOI:
2082 <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110479>.
2083
- 2084 ALEXIEVA, V.; SERGIEV, I; MAPELLI, S.; KARANOV, E. The effect of drought and
2085 ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. **Plant, Cell &**
2086 **Environment**, [s. l.], v. 24, p. 1337-1344, 2001. DOI: [https://doi.org/10.1046/j.1365-](https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2001.00778.x)
2087 [3040.2001.00778.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2001.00778.x)
2088
- 2089 ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DE CAFÉ – ABIC. **Indicadores da**
2090 **Indústria de Café 2017**. [S. l.: s. n.], 2020.
2091
- 2092 BALZANO, M.; LOIZZO, M.R.; TUNDIS, R.; LUCCI, P.; NUNEZ, O.; FIORINI, D.;
2093 GIARDINIERI, A.; FREGA, N.G.; PACETTI, D. Spent espresso coffee grounds as a source
2094 of anti-proliferative and antioxidant compounds. **Innovative Food Science & Emerging**
2095 **Technologies**, Amsterdam, v. 59, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2019.102254>
2096
- 2097 BATINIC-HABERLE, I.; TOME, M.E. Thiol regulation by Mn porphyrins, commonly
2098 known as SOD mimics. **Redox Biology**, [s. l.], v. 25, 2019. DOI:
2099 <https://doi.org/10.1016/j.redox.2019.101139>
2100
- 2101 BIELESKI, R.L.; TURNER, N.A. Separation and estimation of amino acids in crude plant
2102 extracts by thin-layer electrophoresis and chromatography. **Analytical Biochemistry**, New
2103 York, v. 17, p. 278-293, 1966. DOI: [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(66\)90206-5](https://doi.org/10.1016/0003-2697(66)90206-5)
2104
- 2105 BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram
2106 quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**,
2107 New York, v. 72, p. 248-254, 1976. DOI: [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
2108
- 2109 CATALDO, D.A.; MAROON, M.; SCHRADER, L.E.; YOUNGS, V.L. Rapid colorimetric
2110 determination of nitrate in plant-tissue by nitration of salicylic-acid. **Communications in**
2111 **Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 6, p. 71-80, 1975. DOI:
2112 <https://doi.org/10.1080/00103627509366547>
2113
- 2114 CHILIMBA, A.D.C; YOUNG, S.D; BLACK, C.R.; MEACHAM, M.C.; LAMMEL, J.;
2115 BROADLEY, M.R. Agronomic biofortification of maize with selenium (Se) in Malawi.
2116 **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 125, p. 118-128, 2012.
2117
- 2118 DAI, H.; WEI, S.; SKUZA, L.; JIA, G. Selenium spiked in soil promoted zinc accumulation
2119 of Chinese cabbage and improved antioxidant system and lipid peroxidation. **Ecotoxicology**

- 2120 **and Environmental Safety**, New York, v. 180, p. 179-184, 2019. DOI:
 2121 <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.05.017>
 2122
- 2123 DJANAGUIRAMAN, M.; BELLIRAJ, N.; BOSSMANN, S. H.; PRASAD, P. V. High-
 2124 temperature stress alleviation by selenium nanoparticle treatment in grain sorghum. **ACS**
 2125 **omega**, [s. l.], v. 3, n. 3, p. 2479-2491, 2018. DOI:
 2126 <https://doi.org/10.1021/acsomega.7b01934>.
 2127
- 2128 DJANAGUIRAMAN, M.; DURGA DEVI, D.; SHANKER, A.; SHEEBA, A.J.;
 2129 SHANKER, A.K.; BANGARUSAMY, U. Selenium – an antioxidative protectant in
 2130 soybean during senescence. **Plant and Soil**, The Hague, v. 272, 2005. DOI:
 2131 <https://doi.org/10.1007/s11104-004-4039-1>
 2132
- 2133 DUBOIS, M.; GILLES, K.A.; HAMILTON, J.K.; REBERS, P.A.; SMITH, F. Colorimetric
 2134 method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**,
 2135 Washington, v. 28, n. 3, p. 350-356, 1956. DOI: <https://doi.org/10.1021/ac60111a017>
 2136
- 2137 ELKELISH, A.A.; SOLIMAN, M.H.; ALHAITHLOUL, H.A.; EL-ESAWI, M.A. Selenium
 2138 protects wheat seedlings against salt stress-mediated oxidative damage by up-regulating
 2139 antioxidants and osmolytes metabolism. **Plant Physiology and Biochemistry**, New Delhi, v.
 2140 137, p. 144-153, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.02.004>
 2141
- 2142 EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. Centro
 2143 Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 2.ed. Rio de
 2144 Janeiro, 2006. 306 p.
 2145
- 2146 FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS – FAO,
 2147 IFAD, UNICEF, WFP, WHO. **The State of Food Security and Nutrition in the World**
 2148 **2019**. Rome: Safeguarding against economic slowdowns and downturns, 2019. 239 p.
 2149
- 2150 GARCÍA-SÁNCHEZ, F.; SIMÓN-GRAO, S.; MARTÍNEZ-NICOLÁS, J.J.; ALFOSEA-
 2151 SIMÓN, M.; LIU C.; CHATZISSAVVIDIS, C.; PEREZ-PEREZ, J.G.; CÁMARA-ZAPATA,
 2152 J.M. Multiple stresses occurring with boron toxicity and deficiency in plants. **Journal of**
 2153 **Hazardous Materials**, Amsterdam, v. 397, 2020. DOI:
 2154 <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122713>
 2155
- 2156 GIANNOPOLITIS, C.N.; RIES, S.K. Superoxide dismutase I. Occurrence in higher plants.
 2157 **Plant Physiology**, [s. l.], v. 59, p. 309-314, 1977. DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.59.2.309>
 2158
- 2159 GOLOB, A.; NOVAK, T.; MARŠIĆ, N.K.; ŠIRCELJ, H.; STIBILJ, V.; JERŠE, A.;
 2160 KROFLIČ, A.; GERM, M. Biofortification with selenium and iodine changes morphological
 2161 properties of *Brassica oleracea* L. var. gongylodes and increases their contents in tubers.
 2162 **Plant Physiology and Biochemistry**, [s. l.], v. 150, p 234-243, 2020. DOI:
 2163 <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.02.044>.
 2164
- 2165 GOMES-JUNIOR, R.A.; GRATÃO, P.L.; GAZIOLA, S.A.; MAZZAFERA, P.; LEA, P.J.;
 2166 AZEVEDO, R.A. Selenium-induced oxidative stress in coffee cell suspension cultures.
 2167 **Functional Plant Biology**, Victoria, v. 34, 2007.
 2168

- HEATH, R.L.; PACKER, L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. **Archives in Biochemistry and Biophysics**, [s. l.], v. 125, p. 189-198, 1968.
- HUSSEIN, H.A.; DARWESH, O.M.; MEKKI, B.B.; EL-HALLOUTY, S.M. Evaluation of cytotoxicity, biochemical profile and yield components of groundnut plants treated with nano-selenium. **Biotechnology Reports**, [s. l.], v. 24, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.btre.2019.e00377>
- ISLAM, M.Z.; PARK, B-J.; KANG, H-M.; LEE, Y-T. Influence of selenium biofortification on the bioactive compounds and antioxidant activity of wheat microgreen extract. **Food Chemistry**, London, v. 309, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125763>.
- KIELISZEK, M. Selenium-Fascinating microelement, properties and sources in food. **Molecules**, [s. l.], v. 24, n. 7, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules24071298>
- LARA, T.S.; LESSA, J.H.L.; SOUZA, K.R.D.; CORGUINHA, A.P.B.; MARTINS, F.A.D.; LOPES, G.; GUILHERME, L.R.G. Selenium biofortification of wheat grain via foliar application and its effect on plant metabolism. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v. 81, p. 10-18, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2019.05.002>
- LICHTENTHALER, H.K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. **Methods in Enzymology**, New York, v. 148, p. 350-382, 1987. DOI: [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(87\)48036-1](https://doi.org/10.1016/0076-6879(87)48036-1)
- MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional de plantas: princípios e aplicações**. 2. ed. Piracicaba: Potafós, 1997. 319 p.
- MCCULLOUGH, H. The determination of ammonia in whole blood by a direct colorimetric method. **Clinica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 17, p. 297-304, 1967. DOI: [https://doi.org/10.1016/0009-8981\(67\)90133-7](https://doi.org/10.1016/0009-8981(67)90133-7)
- MOHTASHAMI, R.; DEHNAVI, M.M.; BALOUCHI, H.; FARAJI, H. Improving yield, oil content and water productivity of dryland canola by supplementary irrigation and selenium spraying. **Agricultural Water Management**, Amsterdam, v. 232, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2020.106046>
- MOLDES, C.A.; MEDICI, L.O.; ABRAHÃO, O.S.; TSAI, S.M.; AZEVEDO, R.A. Biochemical responses of glyphosate resistant and susceptible soybean plants exposed to glyphosate. **Acta Physiologiae Plantarum**, [s. l.], v. 30, p. 469-479, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11738-008-0144-8>

- 2211 PEREIRA, G.V.M.; NETO, D.P.C.; JÚNIOR, A.I.M.; PRADO, F.G.; PAGNONCELLI,
2212 M.G.B.; KARP, S.G.; SOCCOL, C.R. Chemical composition and health properties of coffee
2213 and coffee by-products. **Advances in Food and Nutrition Research**, San Diego, v. 91, p. 65-
2214 96, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2019.10.002>
- 2215
2216 RADY, M.M.; BELAL, H.E.E.; GADALLAH, F.M.; SEMIDA, W.M. Selenium application
2217 in two methods promotes drought tolerance in *Solanum lycopersicum* plant by inducing the
2218 antioxidant defense system. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 266, 2020. DOI:
2219 <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109290>
- 2220
2221 REIS, A.R.; FURLANI JUNIOR, E.; MORAES, M.F.; MELO, S.P. Biofortificação
2222 agrônômica com selênio no Brasil como estratégia para aumentar a qualidade dos produtos
2223 agrícolas. **Revista Brasileira de Engenharia de Biosistemas**, [s. l.], v. 8, p. 128-138, 2014.
- 2224
2225 REIS, H.P.G.; BARCELOS, J.P.Q.; FURLANI-JUNIOR, E.; SANTOS, E.F.; SILVA, V.M.;
2226 MORAES, M.F.; PUTTI, F.F.; REIS, A.R. Agronomic biofortification of upland rice with
2227 selenium and nitrogen and its relation to grain quality. **Journal of Cereal Science**,
2228 London, v. 79, p. 508-515, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2018.01.004>
- 2229
2230 REIS, A.R.; FAVARIN, J.L.; GRATÃO, P.L.; CAPALDI, F.R.; AZEVEDO, R.A.
2231 Antioxidant metabolism in coffee (*Coffea arabica* L.) plants in response to nitrogen supply.
2232 **Theoretical and Experimental Plant Physiology**, [s. l.], v. 27, p. 203-213, 2015. DOI:
2233 <https://doi.org/10.1007/s40626-015-0045-3>
- 2234
2235 RYDZYŃSKI, D.; PIOTROWICZ-CIEŚLAK, A.I.; GRAJEK, H.; WASILEWSKI, J.
2236 Investigation of chlorophyll degradation by tetracycline. **Chemosphere**, Oxford, v. 229, p.
2237 409-417, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.05.035>
- 2238
2239 SILVA, V.M.; BOLETA, E.H.M.; LANZA, M.G.D.B.; LAVRES, J.; MARTINS, J.T.;
2240 SANTOS, E.F.; SANTOS, F.L.M.; PUTTI, F.F.; FURLANI JUNIOR, E.; WHITE, P.J.;
2241 BROADLEY, M.R.; CARVALHO, H.W.P.; REIS, A.R. Physiological, biochemical, and
2242 ultrastructural characterization of selenium toxicity in cowpea plants. **Environmental and**
2243 **Experimental Botany**, Elmsford, v. 150, p. 172-182, 2018. DOI:
2244 <https://doi.org/10.1016/j.envexbot.2018.03.020>
- 2245
2246 PAHLKE, G.; ATTAKPAH, E.; AICHINGER, G.; AHLBERG, K.; HOCHKOGLER, C.M.;
2247 SCHWEIGER, K.; SCHIPP, D.; SOMOZA, V.; MARKO, D. Dark coffee consumption
2248 protects human blood cells from spontaneous DNA damage. **Journal of Functional Foods**,
2249 [s. l.], v. 55, p. 285-295, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.02.008>
- 2250
2251 PRASSAD, S.; CHETTY, A.A. Nitrate-N determination in leafy vegetables: Study of effects
2252 of cooking and freezing. **Food Chemistry**, London, v. 106, p. 772-780, 2008. DOI:
2253 <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.06.005>
- 2254
2255 UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE – USDA. 2019. **Coffee: World**
2256 **Markets and Trade**. Foreign Agricultural Service. 8 p.
- 2257
2258 VAN HANDEL, E. Direct microdetermination of sucrose. **Analytical Biochemistry**, [s. l.],
2259 v. 22, p. 280-283, 1968. DOI: [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(68\)90317-5](https://doi.org/10.1016/0003-2697(68)90317-5)
- 2260

- 2261 WHITE, P.J. Selenium accumulation by plants. **Annals of Botany**, London, v. 117, p. 217–
2262 235, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1093/aob/mcv180>
2263
- 2264 YE, X.; CHEN, Z.; ZHANG, Y.; MU, J.; CHEN, L.; LI, B.; LIN, X. Construction,
2265 characterization, and bioactive evaluation of nano-selenium stabilized by green tea nano-
2266 aggregates. **LWT**, [s. l.], v. 129, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109475>.
2267
- 2268 ZHANG, H.; ZHAO, Z.; ZHANG, X.; ZHANG, W.; HUANG, L.; ZHANG, Z.; YUAN, L.;
2269 LIU, X. Effects of foliar application of selenate and selenite at different growth stages on
2270 Selenium accumulation and speciation in potato (*Solanum tuberosum* L.). **Food Chemistry**,
2271 London, v. 286, p. 550-556, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.01.185>

2272 CONCLUSÃO

2273 Os genótipos de café arábica foram tolerantes à aplicação de 1 mmol L⁻¹ de Se em
2274 solução nutritiva, não exibindo sintomas visuais de fitotoxidez nas folhas. As respostas
2275 antioxidantes, o acúmulo de açúcares totais e a alocação do Se no sistema radicular foram as
2276 principais respostas fisiológicas e bioquímicas de mudas de cafeeiro em resposta a alta
2277 concentração de Se na solução nutritiva.

2278 A aplicação foliar de Se em baixas doses aumentou a concentração de pigmentos
2279 fotossintetizantes e atividade de enzimas antioxidantes mitigando EROs e peroxidação
2280 lipídica, exercendo função fotoprotetora do complexo antena. A aplicação das fontes de Se
2281 (nano-Se 1500, nano-Se 5000 e Selenato de sódio) aumentou a qualidade nutricional e
2282 bioquímica dos grãos de café. A aplicação da fonte nano-Se 5000 aumentou a produtividade
2283 do café beneficiado em 1600 kg ha⁻¹. A aplicação de Se recomendada nesse estudo pode
2284 mitigar estresses abióticos e promover aumento de produtividade do cafeeiro.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, J.A.S.; AZEVEDO, M.T.V.L.G.; SALOMON, M.V.; MEDINA, P.F. Water stress in germination, growth and development of coffee cultivars. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 40, p. 82-89, 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/2317-1545v40n176667>
- ANDRADE, F.R.; DA SILVA, G.N.; GUIMARÃES, K.C.; BARRETO, H.B.F.; DE SOUZA, K.R.D.; GUILHERME, L.R.G.; FAQUIN, V.; REIS, A.R. Selenium protects rice plants from water deficit stress. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, New York, v. 164, p. 562-570, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.08.022>
- BALZANO, M.; LOIZZO, M.R.; TUNDIS, R.; LUCCI, P.; NUNEZ, O.; FIORINI, D.; GIARDINIERI, A.; FREGA, N.G.; PACETTI, D. Spent espresso coffee grounds as a source of anti-proliferative and antioxidant compounds. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, Amsterdam, v. 59, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2019.102254>
- DINH, S.N.; SAI, T.Z.T.; NAWAZ, G.; LEE, K.; KANG, H. Abiotic stresses affect differently the intron splicing and expression of chloroplast genes in coffee plants (*Coffea arabica*) and rice (*Oryza sativa*). **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 201, p. 85-94, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2016.07.004>
- LIMA, L.W.; CHECCHIO, M.V.; REIS, A.R.; DE CÁSSIA ALVES, R.; TEZZOTO, T.; GRATÃO, P.L. Selenium restricts cadmium uptake and improve micronutrients and proline concentration in tomato fruits. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 18, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101057>
- MOSTOFA, M.G.; HOSSAIN, M.A.; SIDDIQUI, M.N.; FUJITA, M.; TRAN, L-S.P. Phenotypical, physiological and biochemical analyses provide insight into selenium-induced phytotoxicity in rice plants. **Chemosphere**, Oxford, v. 178, p. 212-223, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.03.046>
- REIS, A.R.; EL-RAMADY, H.; SANTOS, E.F.; GRATÃO, P.L.; SCHOMBURG, L. Overview of Selenium Deficiency and Toxicity Worldwide: Affected Areas, Selenium-Related Health Issues, and Case Studies. In: PILON-SMITS E., WINKEL L., LIN ZQ. (eds) **Selenium in plants**. Plant Ecophysiology, v. 11, 2017. Springer, Cham. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-319-56249-0_13
- REIS, A.R.; FURLANI JUNIOR, E.; MORAES, M.F.; MELO, S.P. Biofortificação agrônômica com selênio no Brasil como estratégia para aumentar a qualidade dos produtos agrícolas. **Revista Brasileira de Engenharia de Biosistemas**, v. 8, p. 128-138, 2014.
- REIS, H.P.G.; BARCELOS, J.P.Q.; FURLANI-JUNIOR, E.; SANTOS, E.F.; SILVA, V.M.; MORAES, M.F.; PUTTI, F.F.; REIS, A.R. Agronomic biofortification of upland rice with selenium and nitrogen and its relation to grain quality. **Journal of Cereal Science**, v. 79, p. 508-515, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2018.01.004>
- SCHIAVON, M.; PILON-SMITS, E.A.H. The fascinating facets of plant selenium accumulation – biochemistry, physiology, evolution and ecology. **New Phytologist**, Cambridge, v. 213, p. 1582–1596, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1111/nph.14378>

- 2334 SHAHID, M.A.; BALAL, R.M.; KHAN, N.; ZOTARELLI, L.; LIU, G.D.; SARKHOSH, A.;
 2335 FERNÁNDEZ-ZAPATA, J.C.; NICOLÁS, J.J.M.; GARCIA-SANCHEZ, F. Selenium
 2336 impedes cadmium and arsenic toxicity in potato by modulating carbohydrate and nitrogen
 2337 metabolism. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, New York, v. 180, p. 588-599,
 2338 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.05.037>
 2339
- 2340 SILVA, V.M.; BOLETA, E.H.M.; LANZA, M.G.D.B.; LAVRES, J.; MARTINS, J.T.;
 2341 SANTOS, E.F.; SANTOS, F.L.M.; PUTTI, F.F.; FURLANI JUNIOR, E.; WHITE, P.J.;
 2342 BROADLEY M.R.; CARVALHO, H.W.P.; REIS, A.R. Physiological, biochemical, and
 2343 ultrastructural characterization of selenium toxicity in cowpea plants. **Environmental and**
 2344 **Experimental Botany**, Elmsford, v. 150, p. 172-182, 2018. DOI:
 2345 <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2018.03.020>
 2346
- 2347 PAHLKE, G.; ATTAKPAH, E.; AICHINGER, G.; AHLBERG, K.; HOCHKOGLER, C.M.;
 2348 SCHWEIGER, K.; SCHIPP, D.; SOMOZA, V.; MARKO, D. Dark coffee consumption
 2349 protects human blood cells from spontaneous DNA damage. **Journal of Functional Foods**,
 2350 *[s. l.]*, v. 55, p. 285-295, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.02.008>
 2351
- 2352 PEREIRA, G.V.M.; NETO, D.P.C.; JÚNIOR, A.I.M.; PRADO, F.G.; PAGNONCELLI,
 2353 M.G.B.; KARP, S.G.; SOCCOL, C.R. Chemical composition and health properties of coffee
 2354 and coffee by-products. **Advances in Food and Nutrition Research**, San Diego, v. 91, p. 65-
 2355 96, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2019.10.002>
 2356
- 2357 PILON-SMITS, E.A.H.; QUINN, C.F.; TAPKEN, W.; MALAGOLI, M.; SCHIAVON, M.
 2358 Physiological functions of beneficial elements. **Current Opinion in Plant Biology**, *[s. l.]*, v.
 2359 12, p. 267–274, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2009.04.009>
 2360
- 2361 UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE – USDA. 2019. **Coffee: World**
 2362 **Markets and Trade**. Foreign Agricultural Service. 8 p.
 2363
- 2364 WHITE, P.J. Selenium accumulation by plants. **Annals of Botany**, London, v. 117, p. 217–
 2365 235, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1093/aob/mcv180>