

RESSALVA

Atendendo solicitação do autor, o
texto completo desta tese será
disponibilizado somente a partir de
18/12/2022.

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

GERALDO CANDIDO CABRAL GOUVEIA

**CARACTERIZAÇÃO DE SINTOMAS FITOTÓXICOS DE SELÊNIO E
BIOFORTIFICAÇÃO AGRONÔMICA COM Se E Zn EM ARROZ DE TERRAS
ALTAS**

Ilha Solteira
2020

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

GERALDO CANDIDO CABRAL GOUVEIA
Engenheiro Agrônomo

**CARACTERIZAÇÃO DE SINTOMAS FITOTÓXICOS DE SELÊNIO E
BIOFORTIFICAÇÃO AGRONÔMICA COM Se E Zn EM ARROZ DE TERRAS
ALTAS**

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

André Rodrigues dos Reis
Orientador

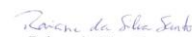
FICHA CATALOGRÁFICA
Desenvolvido pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação

G719c Gouveia, Geraldo Candido Cabral.
Caracterização de sintomas fitotóxicos de selênio e biofortificação
agronômica com Se e Zn em arroz de terras altas / Geraldo Candido Cabral
Gouveia. -- Ilha Solteira: [s.n.], 2021
110 f. : il.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia
de Ilha Solteira. Área de conhecimento: Sistemas de Produção, 2021

Orientador: André Rodrigues dos Reis
Inclui bibliografia

1. Biofortificação agronômica dupla. 2. Fitotoxidez. 3. Selênio. 4. Zinco. 5.
Arroz de terras altas.


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

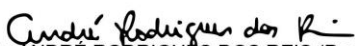
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

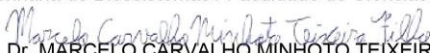
TÍTULO DA TESE: CARACTERIZAÇÃO DE SINTOMAS FITOTÓXICOS DE SELÊNIO E
BIOFORTIFICAÇÃO AGRONÔMICA COM Se E Zn EM ARROZ DE TERRAS ALTAS

AUTOR: GERALDO CANDIDO CABRAL GOUVEIA

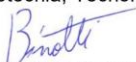
ORIENTADOR: ANDRÉ RODRIGUES DOS REIS

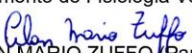
Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em AGRONOMIA, área:
Sistemas de Produção pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. ANDRÉ RODRIGUES DOS REIS (Participação Virtual)
Engenharia de Biosistemas / Faculdade de Ciências e Engenharia de Tupã - UNESP


Prof. Dr. MARCELO CARVALHO MINHOTO TEIXEIRA FILHO (Participação Virtual)
Departamento de Fitossanidade, Engenharia Rural e Solos / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira - UNESP


Prof. Dr. MARCO EUSTAQUIO DE SA (Participação Virtual)
Departamento de Fitotecnia, Tecnologia de Alimentos e Sócio Economia / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira - UNESP


Prof. Dr. FLAVIO FERREIRA DA SILVA BINOTTI (Participação Virtual)
Departamento de Fisiologia Vegetal / Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul - UEMS


Dr. ALAN MARIO ZUFFO (Participação Virtual)
Editorial / Editora Pantanal

Ilha Solteira, 18 de dezembro de 2020

DEDICATÓRIA

À minha amada esposa Andréia, por sempre estar ao meu lado, me apoiando
e se dedicando a nossa família.

Ao meu amado filho Emanuel, por ser fonte de inspiração e me proporcionar alegrias
e momentos únicos que me fizeram sempre seguir em frente.

Aos meus pais Ademir Gouveia (in memoriam) e Ádria Márcia Cabral Gouveia por
terem me mostrado o caminho correto da vida, me educando e sempre me
apoiando.

À minha querida irmã, pelo apoio e incentivo durante toda essa jornada.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, gostaria de agradecer a Deus, por me guiar e me proporcionar conquistas únicas.

Ao meu filho Emanuel, por tornar tudo mais fácil, sendo a minha fonte inspiradora.

À minha esposa Andréia, por ter me dado todo o suporte durante essa caminhada, sem ela, nada seria possível.

Aos amigos Alexandre e Gabriel, pelos momentos de companheirismo e descontração.

Ao grande amigo Eduardo Henrique Marcandalli Boleta que fiz durante o doutorado e com quem eu aprendi muito. Sua ajuda e ensinamentos foram fundamentais para o desenvolvimento da tese.

Ao professor PhD André Rodrigues dos Reis, por ter me orientado e dado todo o suporte para a conclusão do doutorado. Seus ensinamentos levarei por toda vida assim como a sua amizade.

Ao professor Dr. Marco Eustáquio de Sá, pela coorientação, pelos momentos de conversa e por todos os conselhos de vida dados durante essa trajetória.

Aos professores Dr. Orivaldo Arf, Dr. Marcelo Carvalho Minhoto Teixeira Filho, Dr. Edson Lazarini e Dr. Enes Furlani Junior pelo suporte para a execução dos experimentos.

A todos os colaboradores do DFTASE, em especial a secretária Mirian e o técnico de laboratório Fábio, pessoas que tenho grande admiração e que construí amizade durante esses anos.

Aos amigos e companheiros de doutorado, Anne, Vinícius, Eduardo, Grace, Walmor, Jailson, Amanda, Matheus, Márcio, Tauan, Renan.

Aos grandes amigos que fiz em Ilha Solteira, Izaías, Paulo Henrique e toda a sua família pelo acolhimento, apoio e momentos de conversa.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudo de doutorado – Processo número: 88882.433609/2019.

A todos que contribuíram para a realização desse trabalho, o meu muito obrigado!

“O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) – Processo número: 88882.433609/2019-Código de Financiamento 001”

“Eu tentei 99 vezes e falhei, mas na centésima tentativa eu consegui, nunca desista de seus objetivos mesmo que esses pareçam impossíveis, a próxima tentativa pode ser a vitoriosa.”
(Albert Einstein)

RESUMO

A biofortificação agronômica é uma técnica que visa aumentar a concentração de minerais funcionais para as pessoas, em partes comestíveis das plantas, cultivadas por meio do manejo da adubação. O objetivo desse estudo em um primeiro momento (experimento 1) foi avaliar as respostas fenotípicas, fisiológicas e bioquímicas de quatro cultivares de arroz (BRS Esmeralda, BRSMG Relâmpago, BRS Bonança e Bico Ganga) cultivados em solução hidropônica tratados com selenato de sódio. Em um segundo momento (experimento 2) o objetivo foi entender os mecanismos fisiológicos envolvidos na eficiência da biofortificação agronômica em plantas de arroz (BRS Esmeralda) por meio da aplicação foliar dupla de selênio (Se) e zinco (Zn) em condições a campo no cerrado brasileiro. Foi verificado no experimento 1 que o excesso de Se promoveu clorose nas folhas em plantas de arroz em decorrência da degradação dos pigmentos fotossintéticos e das proteínas solúveis afetando o crescimento da planta. As plantas tratadas com Se aumentaram a sacarose foliar, os açúcares totais, o nitrato, a amônia e a atividade de enzimas antioxidantes como SOD, CAT e APX. O acúmulo de açúcar associado ao metabolismo antioxidante é um biomarcador eficiente para o diagnóstico da toxicidade do Se em plantas de arroz. A translocação de selênio da raiz para a parte aérea diminuiu sob condição de excesso de Se. Os resultados obtidos neste estudo facilitam o entendimento dos atributos fisiológicos, bioquímicos e fenotípicos que devem ser levados em consideração para o sucesso no cultivo sustentável de arroz em ambientes com alta concentração de Se. No experimento 2, foi verificado que a aplicação associada de Se e Zn promoveu aumento nas concentrações de Se nas folhas e grãos de arroz, além de aumentar a concentração de pigmentos fotossintetizantes. Isso por sua vez resultou em uma maior síntese de carboidratos pela planta, além de aumentar a produtividade de grãos de arroz. A aplicação de Zn, promoveu maior concentração de Zn, Fe, Ca e B nas folhas e grãos de arroz. A concentração de Se e de Zn nos grãos de arroz biofortificado aumentou a níveis recomendados para a alimentação humana.

Palavras-chave: Fitotoxidez. EROs. Açúcar total. Biofortificação dupla. *Oryza sativa* L.

ABSTRACT

Biofortification agronomy is a technique that aims to increase the concentration of functional minerals for people, in edible parts of plants, cultivated through fertilization management. The objective of this study at first (experiment 1) was to evaluate the phenotypic, physiological and biochemical responses of four rice genotypes (BRS Esmeralda, BRSMG Relâmpago, BRS Bonança and Bico Ganga) used in hydroponic solution treated with sodium selenate. In a second step (experiment 2) the objective was to understand the physiological mechanisms involved in the efficiency of agronomic biofortification in rice plants (BRS Esmeralda) through the double foliar application of selenium (Se) and zinc (Zn) in field conditions in the field. Brazilian Cerrado. It was verified in the experiment¹ that the excess of Se promoted chlorosis in the leaves of rice plants due to the degradation of photosynthetic pigments and soluble proteins affecting plant growth. Plants treated with Se increased leaf sucrose, total sugars, nitrate, ammonia and the activity of antioxidant enzymes such as SOD, CAT and APX. The accumulation of sugar associated with antioxidant metabolism is an efficient biomarker for the diagnosis of Se toxicity in rice plants. The translocation of selenium from the root to the aerial part decreased under condition of excess of Se. The results obtained in this study facilitate the understanding of the physiological, biochemical and phenotypic attributes that must be taken into account for success in the sustainable cultivation of rice in environments with a high concentration of Se. In experiment 2, it was found that the associated application of Se and Zn promoted an increase in the concentrations of Se in the leaves and grains of rice, in addition to increasing the concentration of photosynthetic pigments. This in turn resulted in a greater synthesis of carbohydrates by the plant, in addition to increasing the productivity of rice grains. The application of Zn promoted a higher concentration of Zn, Fe, Ca and B in the leaves and grains of rice. The concentration of Se and Zn in biofortified rice grains increased to levels recommended for human consumption.

Keywords: Phytotoxicity. ROS. Total sugar. Double biofortification. *Oryza sativa* L.

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 2

Figura 1	- Efeitos do selenato de sódio na massa seca da parte aérea (A) e massa seca da raiz (B) em cultivares de arroz.....	48
Figura 2	- Sintomas visuais de toxicidade de Se em folhas de arroz.....	49
Figura 3	- Efeitos do selenato de sódio nos pigmentos fotossintéticos, clorofila a (A), clorofila b (B), clorofila total (C) e carotenóides (D) em cultivares de arroz.....	50
Figura 4	- Efeito do selenato de sódio no metabolismo antioxidante, concentração de malondialdeído (A), concentração de peróxido de hidrogênio (B), atividade da superóxido dismutase (C), atividade da catalase (D), atividade da ascorbato peroxidase (E) e concentração da proteína total (F) em cultivares de arroz.....	51
Figura 5	- Efeitos do selenato de sódio na concentração de Se na parte aérea (A), concentração de Se na raiz (B), acúmulo de Se na parte aérea (C), acúmulo de Se na raiz (D) e translocação de Se da raiz para a parte aérea (E) em cultivares de arroz	52
Figura 6	- Efeitos do selenato de sódio sobre a concentração de sacarose (A), concentração de açúcares totais (B), concentração de nitrato (C), concentração de amônia (D) e concentração de aminoácidos (E) em folhas de cultivares de arroz	53
Figura 7	- Heatmap das correlações de Pearson entre os parâmetros nutricionais e bioquímicos analisados na parte aérea e na raiz de cultivares de arroz expostos a condições de estresse de Se	54

Capítulo 3

Figura 1	- Efeitos da interação da aplicação foliar de doses de Se e Zn em plantas de arroz nos teores de (A) clorofila a, (B) clorofila b, (C) clorofila total e (D) carotenoides	80
Figura 2	- Efeitos da interação da aplicação foliar de doses de Se e Zn em plantas de arroz nos teores de (A) açúcar total em folhas, (B) açúcar total em grãos, (C) sacarose em folhas, (D) sacarose em grãos, (E) aminoácidos em folhas e (F) aminoácidos em grãos	81
Figura 3	- Efeitos da interação da aplicação foliar de doses de Se e Zn em plantas de arroz na concentração de (A) malondialdeído, (B) peróxido de hidrogênio, (C) atividade da superóxido dismutase, (D) atividade da catalase, (E) atividade da glutathione redutase e (F) proteína total	82
Figura 4	- Efeitos da interação da aplicação foliar de doses de Se e Zn em plantas de arroz na concentração de (A) selênio em folhas, (B) selênio em grãos, (C) zinco em folhas, (D) zinco em grãos, (E) ferro em folhas e (F) ferro em grãos	84
Figura 5	- Consumo diário recomendado de Se ($\mu\text{g dia}^{-1}$) (A) e de Zn (mg dia^{-1}) (B) de grãos de arroz cultivado em terras altas cultivar BRS Esmeralda	85
Figura 6	- Efeitos da interação da aplicação foliar de doses de Se e Zn em plantas de arroz na produtividade	86
Figura 7	- Heatmap das correlações de Pearson entre parâmetros nutricionais e bioquímicos analisados nas folhas e grãos em plantas de arroz expostas às concentrações de aplicação de Se e Zn	87

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

%	Porcento
~	Aproximadamente
<	Menor
>	Maior
°C	Grau Celsius
µg	Micro grama
µL	Micro litro
µmol	Micromol
APSR	Enzima APS redutase
APX	Ascorbato peroxidase
ATPS	Enzima ATP sulfuriase
B	Boro
BSA	Albumina de soro bovino
Ca	Cálcio
Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	Nitrato de cálcio tetrahidratado
CaCl ₂	Cloreto de cálcio
CAT	Catalase
Cis	Cisteína
Cu	Cobre
CuSO ₄	Sulfato de cobre
dia ⁻¹	Dia
dm ⁻³	Decímetro cúbico
DTT	Ditioltreitol
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
EROS	Espécies reativas de oxigênio
Fe	Ferro
GR	Glutathione redutase
GSH	Glutathione reduzida
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
H ₂ O _d	Água deionizada
H ₃ BO ₃	Ácido bórico
ha ⁻¹	Hectare
K	Potássio
KCl	Cloreto de potássio
kg ⁻¹	Quilograma
KH ₂ PO ₄	Fosfato monopotássico
KNO ₃	Nitrato de potássio
KOH	Hidróxido de potássio
L ⁻¹	Litro
MCW	Metanol, clorofórmio e água
MDA	Malondialdeído
Met	Metionina
MF	Matéria fresca
Mg	Magnésio
MgCl ₂ ·6H ₂ O	Cloreto de magnésio hexahidratado
MgSO ₄ ·7H ₂ O	Sulfato de magnésio heptahidratado

mM	Milimol
mM _c	milimol de carga
Mn	Manganês
MnSO ₄	Sulfato de manganês
MO	Matéria orgânica
N	Nitrogênio
NaOH	Hidróxido de sódio
NaSO ₄ .10H ₂ O	Sulfato de sódico decahidratado
NBT	Nitroblue de tetrazólio
NH ₄ H ₂ PO ₄	Fosfato monoamônico
NH ₄ NO ₃	Nitrato de amônio
nm	Nanômetro
nmol	Nanomol
OAS	O-acetilserina
P	Fósforo
PFA	Perfluoroalcoxi
pH	Potencial hidrogeniônico
PVPP	Polivinilpolipirrodilona
S	Enxofre
Se	Selênio
Se-Cis	Selenocisteína
Se-Met	Selenometionina
SeO ₃ ²⁻	Selenito
SeO ₄ ²⁻	Selenato
SO ₄ ²⁻	Sulfato
SOD	Superóxido dismutase
TCA	Ácido tricloroacético
U	Unidade
USDA	Departamento de agricultura dos Estados Unidos
Zn	Zinco
ZnSO ₄	Sulfato de zinco
λ	Comprimento de onda

SUMÁRIO

1	CONSIDERAÇÕES GERAIS	14
1.1	INTRODUÇÃO	14
1.2	REVISÃO DE LITERATURA	16
1.2.1	Selênio no solo	16
1.2.2	Selênio na planta – absorção, transporte e assimilação	17
1.2.3	Selênio na fotossíntese	19
1.2.4	Papel do Selênio nas espécies reativas de oxigênio (EROs) e metabolismo antioxidante	19
1.2.5	Toxidez de selênio em plantas	21
1.2.6	Papel do Se na biofortificação agronômica	23
1.2.7	O Zn nas plantas	25
1.2.8	Biofortificação agronômica com Zn	26
1.2.9	Perspectivas futuras	28
	REFERÊNCIAS	29
2	RESPOSTAS FENOTÍPICAS, BIOQUÍMICAS E FISIOLÓGICAS INDUZIDAS POR ESTRESSE POR TOXICIDADE DE SELÊNIO EM PLANTAS DE ARROZ: CARACTERIZAÇÃO DOS SINTOMAS E AJUSTE METABÓLICO DA PLANTA	38
2.1	RESUMO	38
2.2	INTRODUÇÃO	39
2.3	MATERIAL E MÉTODOS	41
2.3.1	Condições de crescimento e arranjo experimental	41
2.3.2	Avaliações da biomassa seca e análise química	42
2.3.3	Análise de estresse oxidativo e enzimas antioxidantes	42
2.3.4	Peróxido de hidrogênio	43
2.3.5	Peroxidação lipídica	43
2.3.6	Atividade da superóxido dismutase (SOD, EC: 1.15.1.1)	43
2.3.7	Atividade da catalase (CAT, EC: 1.11.1.6)	44
2.3.8	Atividade da ascorbato peroxidase (APX, EC: 1.11.1.11)	44
2.3.9	Proteínas solúveis	44
2.3.10	Pigmentos fotossintéticos	45
2.3.11	Sacarose e açúcar total	45

2.3.12	Nitrato	46
2.3.13	Amônia	46
2.3.14	Aminoácidos	46
2.3.15	Análise estatística	47
2.4	RESULTADOS	47
2.5	DISCUSSÃO	55
2.6	CONCLUSÕES	59
	REFERÊNCIAS	60
	DOCUMENTOS SUPLEMENTARES	63
 3	 BIOFORTIFICAÇÃO DO ARROZ COM SELÊNIO E ZINCO: UMA ABORDAGEM FISIOLÓGICA PARA ENTENDER O ACÚMULO DE MINERAIS EM GRÃOS	 67
3.1	RESUMO.....	67
3.2	INTRODUÇÃO	69
3.3	MATERIAL E MÉTODOS	71
3.3.1	Material vegetal	71
3.3.2	Determinação da produtividade dos grãos	72
3.3.3	Análise nutricional das folhas e grãos	73
3.3.4	Peróxido de hidrogênio	73
3.3.5	Malondialdeído	74
3.3.6	Análise de estresse oxidativo e enzimas antioxidantes	74
3.3.7	Atividade da catalase (CAT, EC: 1.11.1.6)	75
3.3.8	Atividade da glutathione redutase (GR, EC: 1.6.4.2)	75
3.3.9	Proteínas solúveis	76
3.3.10	Análise da concentração de pigmentos fotossintéticos	76
3.3.11	Açúcar total, sacarose e aminoácidos (folhas e grãos)	76
3.3.12	Cálculo da recomendação diária de arroz biofortificado com Se e Zn	78
3.3.13	Análise estatística	78
3.4	RESULTADOS	78
3.5	DISCUSSÃO	88
3.6	CONCLUSÕES	91

REFERÊNCIAS	92
DOCUMENTOS SUPLEMENTARES	98
APÊNDICE	102

1 CONSIDERAÇÕES GERAIS

1.1 INTRODUÇÃO

A principal fonte de nutriente para as pessoas, provem dos alimentos, sendo que estes apresentam demanda crescente com o aumento da população mundial. Atualmente a taxa mundial de crescimento populacional é de 1,29%, com uma população em torno de 7,6 bilhões de habitantes (WORLDMETERS, 2020). Para o ano de 2100, estima-se que a população mundial chegue a 12,3 bilhões de pessoas (GERLAND *et al.*, 2014). A população brasileira é de 208,1 milhões e, em 2050, estima-se que haverá 260 milhões de brasileiros (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATISTICA- IBGE, 2019).

Além disso, a produção de cereais tem apresentado a mesma proporção da taxa de crescimento populacional, sendo que de acordo com as previsões de Ray *et al.* (2013), até o ano de 2050, a produção de alimentos deverá aumentar de 60 a 110% para suprir a progressiva demanda global por alimentos, sendo que, de acordo com a Food and Agriculture Organization- FAO (2019), no período entre 2016/2017, o consumo estimado de arroz foi de 87,11 kg por pessoa.

Em países no apresentam alta incidência na deficiência de micronutrientes como selênio (Se) e zinco (Zn), a maior parte da dieta alimentar é a base de cereais (CAKMAK *et al.*, 2010; BOUIS *et al.*, 2011). Em relação ao Se, 1,1 bilhão de pessoas no mundo são acometidas pela ingestão inadequada do mesmo (JONES *et al.*, 2017). Após a adoção de programas visando o aumento da ingestão de Se, ocorreu grande redução dos índices de mortalidade, principalmente em relação a doenças do coração, câncer e incidência de deficiência de vitamina E (JONES *et al.*, 2017). Uma nutrição adequada em Se também ajuda a reduzir o hipertireoidismo (bócio), uma vez que Se faz parte de uma enzima chave no metabolismo da tireoide (RAYMAN, 2002).

A deficiência por Zn, foi classificada como o 5° principal fator de risco para doenças no mundo em desenvolvimento, onde um terço da população mundial é acometida devido a deficiência de Zn (HOTZ; BROWN, 2004). Sua carência contribui para o crescimento retardado, anormalidades esqueléticas, cicatrização tardia de feridas, além do aumento do risco de aborto e diarreia (MARET; SANDSTEAD, 2006). A biofortificação agrônômica de alimentos básicos, com minerais essenciais e

vitaminas, pode ser considerada a solução mais econômica para a deficiência de micronutrientes em humanos (CAKMAK, 2008).

Na literatura, são escassas as informações a respeito da biofortificação agronômica conjunta com Se e Zn e suas implicações na cultura do arroz. Dessa forma, conhecer melhor a influência do acúmulo do Se e Zn na cultura do arroz, bem como a resposta bioquímica e fisiológica do vegetal quando tratados com esses minerais em cultivo no campo, é de suma importância para se adotar estratégias de biofortificação agronômica com maior eficácia.

3.6. CONCLUSÕES

A aplicação foliar de Se e Zn, realizada em estágios distintos da planta, promoveu aumento nas concentrações de Se nas folhas e grãos de arroz, além de aumentar a concentração de pigmentos fotossintetizantes, que por sua vez resultou em uma maior síntese de carboidratos pela planta, além de aumentar a produtividade de grãos de arroz.

A aplicação de Zn, via foliar, promoveu maior concentração de Zn, Fe, Ca e B nas folhas e grãos de arroz.

As aplicações foliares de 10 g ha⁻¹ de Se e de 1000 g ha⁻¹ de Zn, propiciaram a biofortificação agrônômica de Se e Zn nos grãos de arroz.

REFERÊNCIAS

- AHMAD, R.; WARAICH, E. A.; NAWAZ, F.; ASHRAF, M. Y.; KHALID, M. Selenium (Se) improves drought tolerance in crop plants—a myth or fact? **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 96, n. 2, p. 372-380, 2016.
- ALEXIEVA, V.; SERGIEV, I.; MAPELLI, S.; KARANOV, E. The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v.24, n. 1, p. 1337-1344, 2001.
- ANTONIADIS, V.; SHAHEEN, S. M.; TSADILAS, C. D.; SELIM, M. H.; RINKLEBE, J. Zinc sorption by different soils as affected by selective removal of carbonates and hydrous oxides. **Applied Geochemistry**, Oxford, v. 88, n. 1, p. 49-58, 2018.
- ASTANEH, R. K.; BOLANDNAZAR, S.; NAHANDI, F. Z.; OUSTAN, S. The effects of selenium on some physiological traits and K, Na concentration of garlic (*Allium sativum* L.) under NaCl stress. **Information Processing in Agriculture**, Amsterdam, v. 5, n. 1, p. 156-161, 2018.
- AZEVEDO, R. A.; ALAS, R. M.; SMITH, R. J.; LEA, P.J. Response of antioxidant enzymes to transfer from elevated carbon dioxide to air and ozone fumigation, in the leaves and roots of wild type and a catalase deficient mutant of barley. **Physiologia Plantarum**, Malden, v. 104, n. 2, p. 280-292, 1998.
- BIELESKI, R. L.; TURNER, N.A. Separation and estimation of amino acids in crude plant extracts by thin-layer electrophoresis and chromatography. **Analytical Biochemistry**, New York, v. 17, n. 2, p. 278-293, 1966.
- BISWAS, J. C.; HAQUE, M. M.; KHAN, F. H.; ISLAM, M. R.; DIPTI, S. S.; AKTER, M.; AHMED, H. U. Zinc fortification: Effect of polishing on parboiled and unparboiled rice. **Current Plant Biology**, London, v. 16, n. 1, p. 22-26, 2018.
- BOLOURI-MOGHADDAM, M. R.; LE ROY, K.; XIANG, L.; ROLLAND, F.; VAN DEN ENDE W. Sugar signalling and antioxidant network connections in plant cells. **The FEBS Journal**, London, v. 277, n. 9, p. 2022-2037, 2010.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, New York, v. 72, n. 1, p.248-254, 1976.
- CAKMAK, I. Enrichment of cereal grains with zinc: agronomic or genetic biofortification? **Plant and soil**, Dordrecht, v. 302, n. 1-2, p. 1-17, 2008.
- CHATTHA, M. U.; HASSAN, M. U.; KHAN, I.; CHATTHA, M. B.; MAHMOOD, A.; CHATTHA, M. U.; NAWAZ, M.; SUBHANI, M. N.; KHARA, M.; KHAN, S. Biofortification of wheat cultivars to combat zinc deficiency. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 8, n. 2, p.281, 2017.

CHENG, B.; LIAN, H.; LIU, Y.; YU, X.; SUN, Y.; SUN, X.; LIU, S. Effects of selenium and sulfur on antioxidants and physiological parameters of garlic plants during senescence. **Journal of Integrative Agriculture**, Beijing, v. 15, n. 3, p. 566-572, 2016.

COUÉE, I.; SULMON, C.; GOUESBET, G.; EL AMRANI, A. Involvement of soluble sugars in reactive oxygen species balance and responses to oxidative stress in plants. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 57, n. 3, p. 449-459, 2006.

DAI, H.; WEI, S.; TWARDOWSKA, I. Biofortification of soybean (*Glycine max* L.) with Se and Zn, and enhancing its physiological functions by spiking these elements to soil during flowering phase. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 740, n. 2, p. 139648, 2020.

DEMATTE, J. L. I. **Levantamento detalhado dos solos do campus experimental de Ilha Solteira**. Piracicaba: Esalq/USP, p.11-31, 1980.

DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 28, n. 1, p. 350-356, 1956.

FAIRWEATHER-TAIT, S. J.; BAO, Y.; BROADLEY, M. R.; COLLINGS, R.; FORD, D.; HESKETH, J. E.; HURST, R. Selenium in human health and disease. **Antioxidants and Redox Signalling**, Larchmont, v. 14, n. 7, p. 1337-1383, 2011.

FAROOQ, M. A.; NIAZI, A. K.; AKHTAR, J.; SAIFULLAH, FAROOQ, M.; SOURI, Z.; RENGEL, Z. Acquiring control: The evolution of ROS-Induced oxidative stress and redox signaling pathways in plant stress responses. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v. 141, n. 1, p.353-369, 2019.

FENG, R.; WEI, C.; TU, S. The roles of selenium in protecting plants against abiotic stresses. **Environmental and Experimental Botany**, Amsterdam, v. 87, n. 1, p. 58-68, 2013.

FORDYCE, F. M. Selenium deficiency and toxicity in the environment. In: **Essentials of Medical Geology**. Dordrecht: Springer, 2013. p. 375-416.

FUKAI, T.; USHIO-FUKAI, M. Superoxide dismutases: role in redox signaling, vascular function, and diseases. **Antioxidants and Redox Signaling**, Larchmont, v. 15, n. 6, p. 1583-1606, 2011.

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

GARCIA MORENO, R.; BURDOCK, R.; DÍAZ ÁLVAREZ, M. C.; CRAWFORD, J. W. Managing the selenium content in soils in semiarid environments through the recycling of organic matter. **Applied and Environmental Soil Science**, London, v. 2013, n. 1, 2013.

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

GOMES-JUNIOR, R. A.; MOLDES, C. A.; DELITE, F. S.; POMPEU, G. B.; GRATÃO, P. L.; MAZZAFERA, P.; AZEVEDO, R. A. Antioxidant metabolism of coffee cell suspension cultures in response to cadmium. **Chemosphere**, Oxford, v. 65, n. 8, p. 1330-1337, 2006.

GOUVEIA, G. C. C.; GALINDO, F. S.; LANZA, M. G. D. B.; SILVA, A. C. R.; MATEUS, M. P. B.; SILVA, M. S.; TAVANTI, R. F. R.; TAVANTI, T. R.; LAVRES, J. REIS, A. R. Selenium toxicity stress-induced phenotypical, biochemical and physiological responses in rice plants: Characterization of symptoms and plant metabolic adjustment. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, London, v. 202, n. 1, p.110916, 2020.

HAASE, H.; ELLINGER, S.; LINSEISEN, J.; NEUHÄUSER-BERTHOLD, M.; RICHTER, M. Revised DA-CH-reference values for the intake of zinc. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, Stuttgart, v. 61, n. 1, p. 126536, 2020.

HEATH, R. L.; PACKER, L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, New York, v. 125, n. 1, p.189–198, 1968.

IGAMBERDIEV, A. U.; LEA, P. J. The role of peroxisomes in the integration of metabolism and evolutionary diversity of photosynthetic organisms. **Phytochemistry**, Oxford, v. 60, n. 7, p. 651-674, 2002.

KAUR, M.; SHARMA, S.; SINGH, D. Influence of selenium on carbohydrate accumulation in developing wheat grains. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 49, n. 13, p.1 650-1659, 2018.

KEUNEN, E.; PESHEV, D.; VANGRONSVELD, J.; VAN DEN ENDE, W.; CUYPERS, A. Plant sugars are crucial players in the oxidative challenge during abiotic stress: extending the traditional concept. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 36, n. 7, p. 1242-1255, 2013.

LANZA, M. G. D. B.; SILVA, V. M.; GABRIEL, S. M.; LAVRES, J.; CARVALHO, H. W. P.; REIS, A. R. Assessment of selenium spatial distribution using μ -XFR in cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) plants: Integration of physiological and biochemical responses. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, London, v. 207, n. 1, p. 111216, 2020.

LI, Z.; LIANG, D.; PENG, Q.; CUI, Z.; HUANG, J.; LIN, Z. Interaction between selenium and soil organic matter and its impact on soil selenium bioavailability: A review. **Geoderma**, Amsterdam, v. 295, n. 2, p. 69-79, 2017.

LICHTENTHALER, H. K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. **Methods in Enzymology**, New York, v. 148, n. 1, p. 350-382, 1987.

MAHMOUD SOLTANI, S.; HANAFI, M. M.; WAHID, S. A.; KHARIDAH, S. M. S. Zinc fractionation of tropical paddy soils and their relationships with selected soil

properties. **Chemical Speciation and Bioavailability**, Surrey, v. 27, n. 2, p. 53-61, 2015.

MALIK, J. A.; KUMAR, S.; THAKUR, P.; SHARMA, S.; KAUR, N.; KAUR, R.; PATHANIA, D.; BHANDHARI, K.; KAUSHAL, N.; SINGH, K.; SRIVASTAVA, A.; NAYYAR, H. Promotion of growth in mungbean (*Phaseolus aureus* Roxb.) by selenium is associated with stimulation of carbohydrate metabolism. **Biological Trace Element Research**, London, v. 143, n. 1, p. 530-539, 2011.

MANGUEZE, A. V. J.; PESSOA, M. F. G.; SILVA, M. J.; NDAYIRAGIJE, A.; MAGAIA, H. E.; COSSA, V.S. I.; RAMALHO, J. C. Simultaneous Zinc and selenium biofortification in rice. Accumulation, localization and implications on the overall mineral content of the flour. **Journal of Cereal Science**, London, v. 82, n. 1, p. 34-41, 2018.

MONTANHA, G. S.; RODRIGUES, E. S.; ROMEU, S. L. Z.; ALMEIDA, E.; REIS, A. R.; LAVRES, J.; CARVALHO, H. W. P. Zinc uptake from ZnSO₄ (aq) and Zn-EDTA (aq) and its root-to-shoot transport in soybean plants (*Glycine max*) probed by time-resolved in vivo X-ray spectroscopy. **Plant Science**, Shannon, v. 292, n. 1, p. 110370, 2020.

MOREIRA, A.; MORAES, L. A. C.; REIS, A. R. The molecular genetics of zinc uptake and utilization efficiency in crop plants. In: **Plant Micronutrient Use Efficiency**. Cambridge: Academic Press, 2018. p. 87-108.

NOCTOR, G.; MHAMDI, A.; CHAOUCH, S.; HAN, Y.; NEUKERMANS, J.; MARQUEZ-GARCIA, B.; FOYER, C. H. Glutathione in plants: an integrated overview. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 35, n. 2, p. 454-484, 2012.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **A Language and Environment for Statistical Computing**. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2019. Disponível em: <http://www.R-project.org/>. Acesso em: 20 set. 2020.

RAIJ, B. VAN; ANDRADE, J. C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A. **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: Instituto Agrônômico, 2001. 285 p.

REIS, A. R. Selenium status in Brazilian soils and crops: agronomic biofortification as a strategy to improve food quality. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON SELENIUM IN THE ENVIRONMENT AND HUMAN HEALTH GLOBAL ADVANCES IN SELENIUM RESEARCH FROM THEORY TO APPLICATION, 4., São Paulo. **Proceedings of the 4th International Conference on Selenium in the Environment and Human Health 2015**. São Paulo: CRC Press, 2015. p.179-180.

REIS, A. R.; BOLETA, E. H. M.; ALVES, C. Z.; COTRIM, M. F.; BARBOSA, J. Z.; SILVA, V.M.; 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**, London, v. 190, n. 1, p. 110147, 2020.

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. A. H.; WINKEL, L. H. E.; LIN, Z. Q. **Selenium in plants**. Cham: Springer, 2017. p. 209-230.

REIS, H. P.G.; BARCELOS, J. P.DE Q.; JUNIOR, E. F.; SANTOS, E. F.; SILVA, V.M.; MORAES, M. 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, n. 2, p. 508-515, 2018.

REIS, H. P.G.; BARCELOS, J. P. Q.; SILVA, V. M.; SANTOS, E. F.; TAVANTI, R. F. R.; PUTTI, F. F.; 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.

RIZWAN, M.; ALI, S.; ADREES, M.; IBRAHIM, M.; TSANG, D. C. W.; ZIA-UR-REHMAN, M.; OK, Y. S. A critical review on effects, tolerance mechanisms and management of cadmium in vegetables. **Chemosphere**, Oxford, v. 182, n. 1. p. 90-105, 2017.

SALTZMAN, A.; BIROL, E.; BOUIS, H. E.; BOY, E.; MOURA, F. F.; ISLAM, Y.; PFEIFFER, W. H. Biofortification: progress toward a more nourishing future. **Global Food Security**, Amsterdam, v. 2, n. 1, p. 9-17, 2013.

SILVA, V.M.; BOLETA, E. H. M.; LANZA, M. G. D. B.; LAVRES, J.; MARTINS, J. T.; SANTOS, E. F.; REIS, A. R. Physiological, biochemical, and ultrastructural characterization of selenium toxicity in cowpea plants. **Environmental and Experimental Botany**, Amsterdam, v. 150, n. 1, p. 172-182, 2018.

SILVA, V. M.; BOLETA, E. H. M.; MARTINS, J. T.; MENDES SANTOS, F. L.; SILVA, A. C. R.; ALCOCK, T. D.; REIS, A. R. Agronomic biofortification of cowpea with selenium: effects of selenate and selenite applications on selenium and phytate concentrations in seeds. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 99, n. 13, p. 5969-5983, 2019.

SILVA, V. M.; TAVANTI, R. F. R.; GRATÃO, P. L.; ALCOCK, T. D.; REIS, A. R. Selenate and selenite affect photosynthetic pigments and ROS scavenging through distinct mechanisms in cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) walp) plants. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, London, v. 201, n. 1, p. 110777, 2020.

SINGH, D.; MCLAREN, R. G.; CAMERON, K. C. Effect of pH on zinc sorption-desorption by soils. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 39, n. 19-20, p. 2971-2984, 2008.

TOLU, J.; THIRY, Y.; BUENO, M.; JOLIVET, C.; POTIN-GAUTIER, M.; LE HECHO, I. Distribution and speciation of ambient selenium in contrasted soils, from mineral to organic rich. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 479, n. 1, p. 93-101, 2014.

DEPARTMENT OF AGRICULTURE, AGRICULTURAL RESEARCH SERVICE-USDA. **National nutrient database for standard reference**. Washigton: Food Data Central, 2019.

VAN HANDEL, E. Determination of fructose and fructose-yielding carbohydrates with cold anthrone. **Analytical Biochemistry**, Orlando, v. 19, n. 1, p. 193-194, 1967.

WALTER, M.; MARCHEZAN, E.; AVILA, L. A. Rice: composition and nutritional characteristics. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 4, p. 1184-1192, 2008.

WANG, J.; LI, H.; LI, Y.; YU, J.; YANG, L.; FENG, F.; CHEN, Z. Speciation, distribution, and bioavailability of soil selenium in the Tibetan Plateau Kashin–Beck disease area—a case study in Songpan County, Sichuan Province, China. **Biological Trace Element Research**, London, v. 156, n. 1-3, p. 367-375, 2013.

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

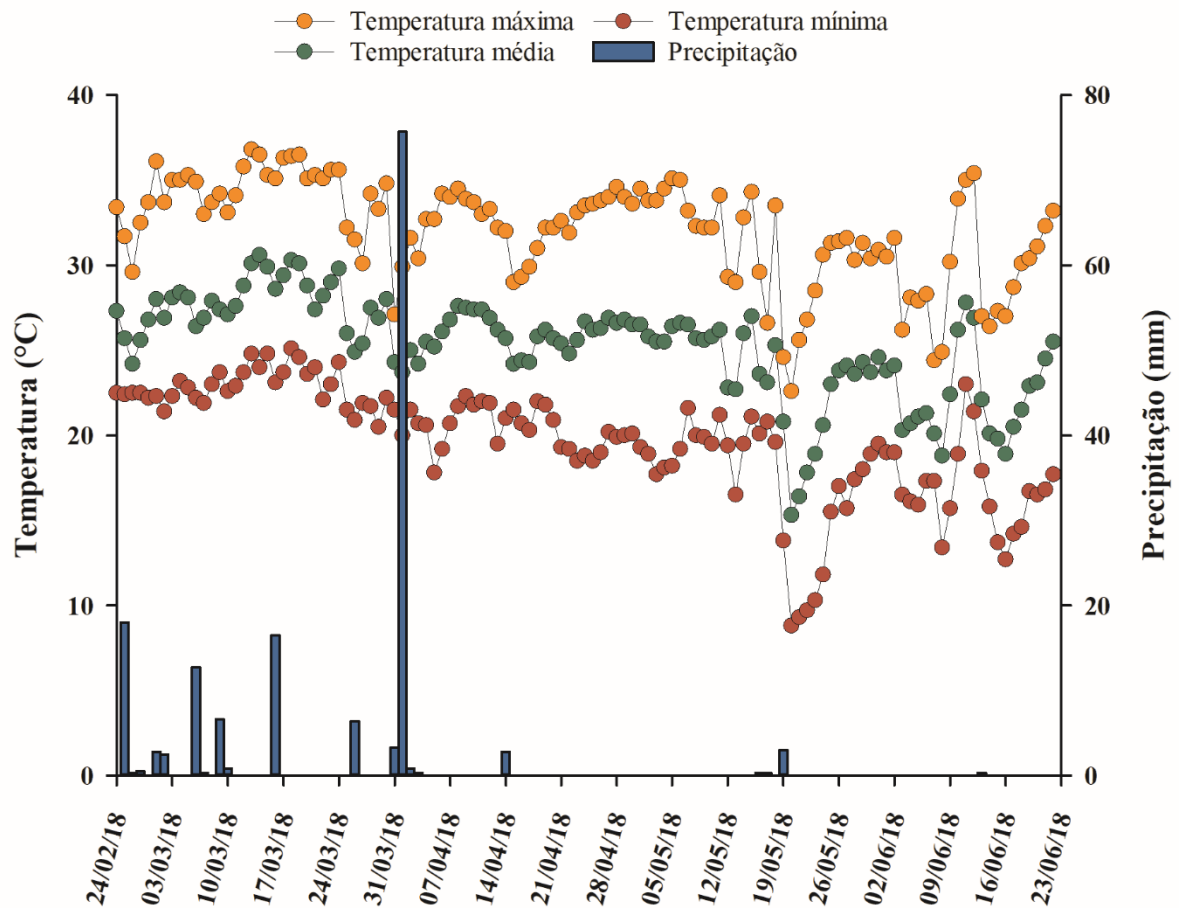
WHITE, P. J.; BROADLEY, M. R. Physiological limits to zinc biofortification of edible crops. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 2, n. 1, p. 80, 2011.

XU, Y.; LI, Y.; LI, H.; WANG, L.; LIAO, X.; WANG, J.; KONG, C. Effects of topography and soil properties on soil selenium distribution and bioavailability (phosphate extraction): A case study in Yongjia County, China. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 633, n. 1, p. 240-248, 2018.

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

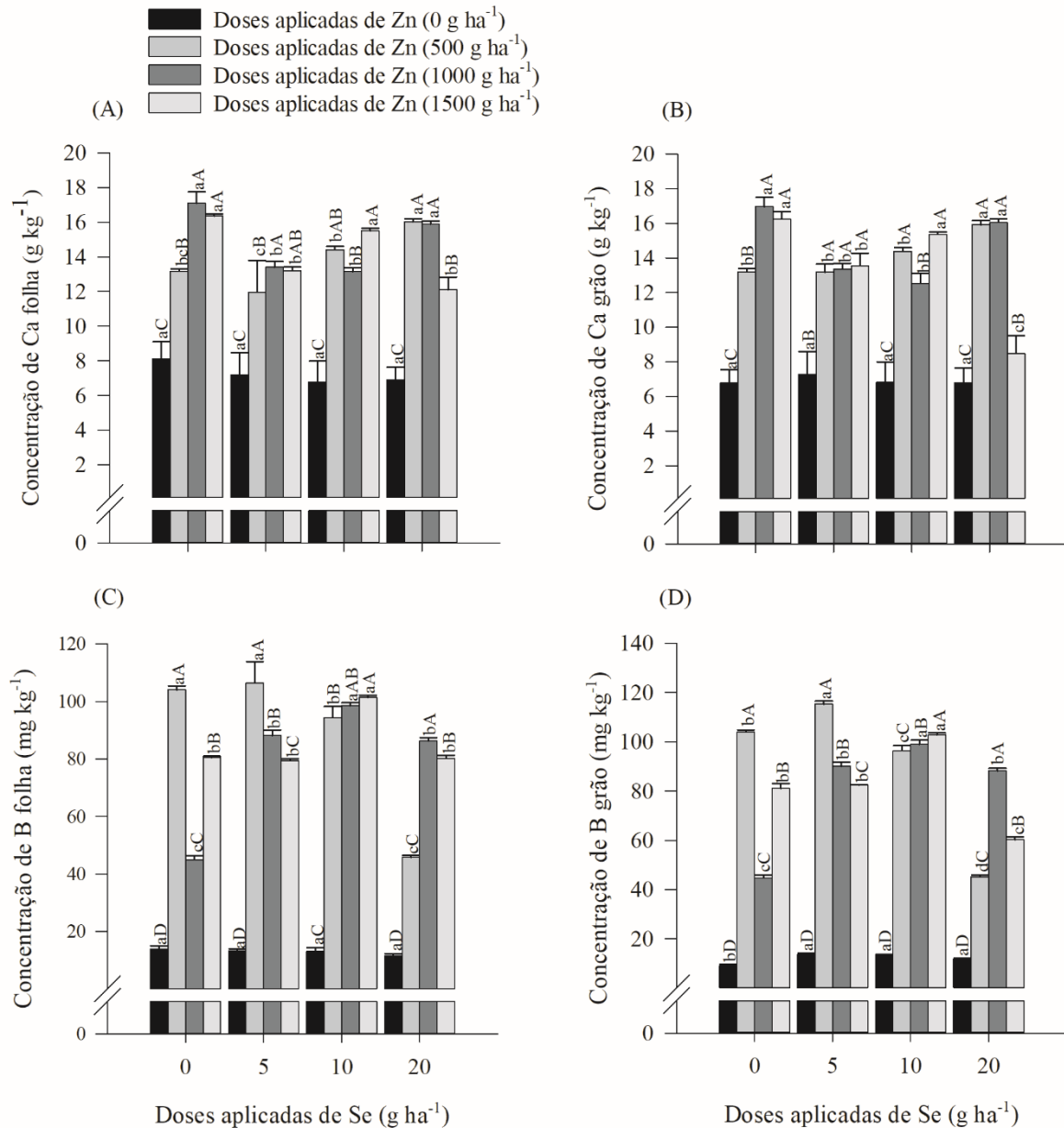
DOCUMENTOS SUPLEMENTARES

Documento complementar 1- Temperatura e precipitação do campo experimental de cultivo de arroz.



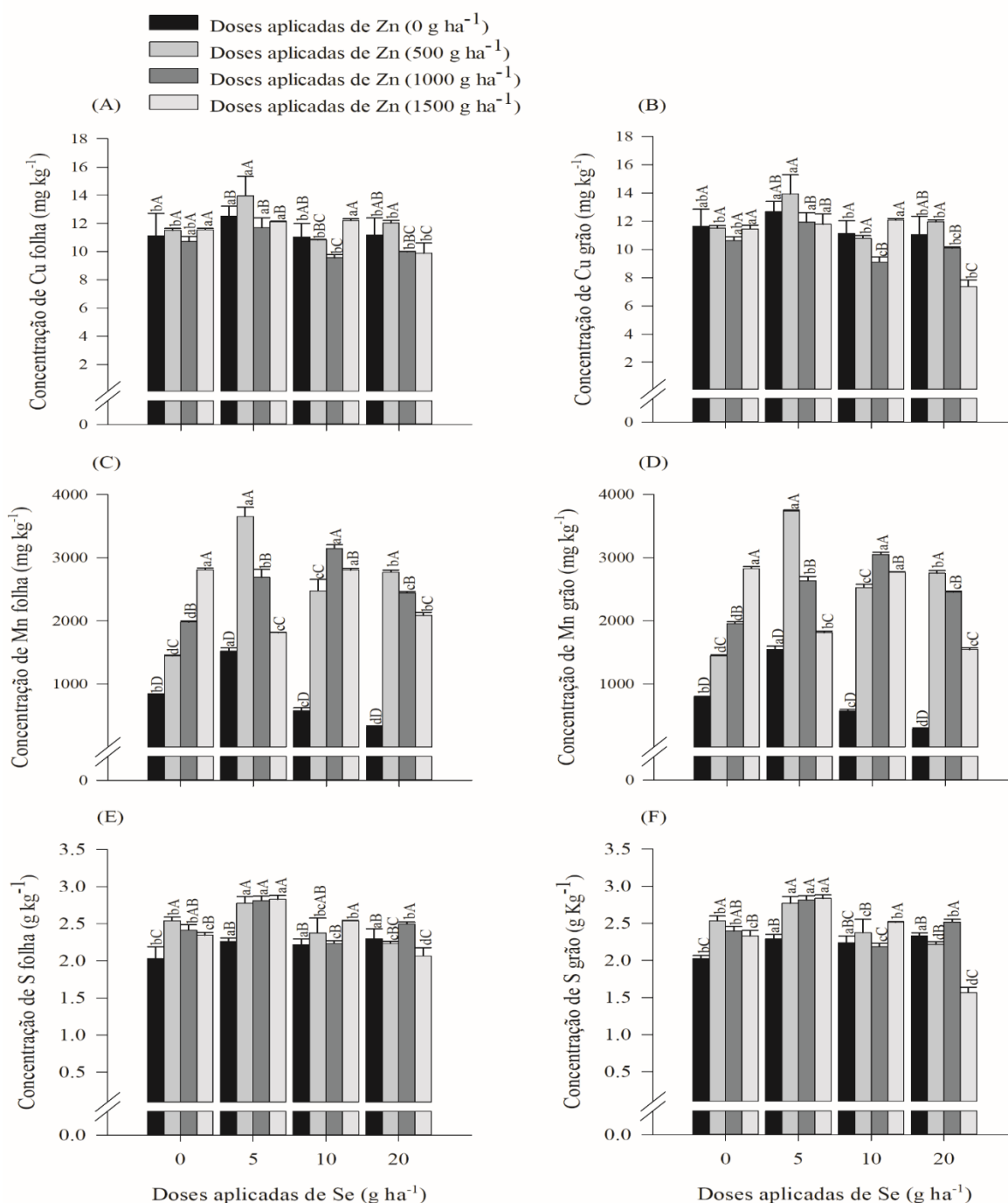
Fonte: Do próprio autor (2020).

Documento suplementar 2- Efeitos da interação da aplicação foliar de doses de Se e Zn em plantas de arroz na concentração de (A) cálcio em folhas, (B) cálcio em grãos, (C) boro em folhas e (D) boro em grãos. O erro padrão da média ($n = 4$) é indicado por barras de erro. Letras diferentes indicam a diferença entre as médias de acordo com o teste de Tukey ($P \leq 0,05$). Letras minúsculas comparam a mesma dosagem de zinco com interação nas diferentes doses de selênio e letras maiúsculas coparam as diferentes doses de zinco dentro da mesma dosagem de selênio.



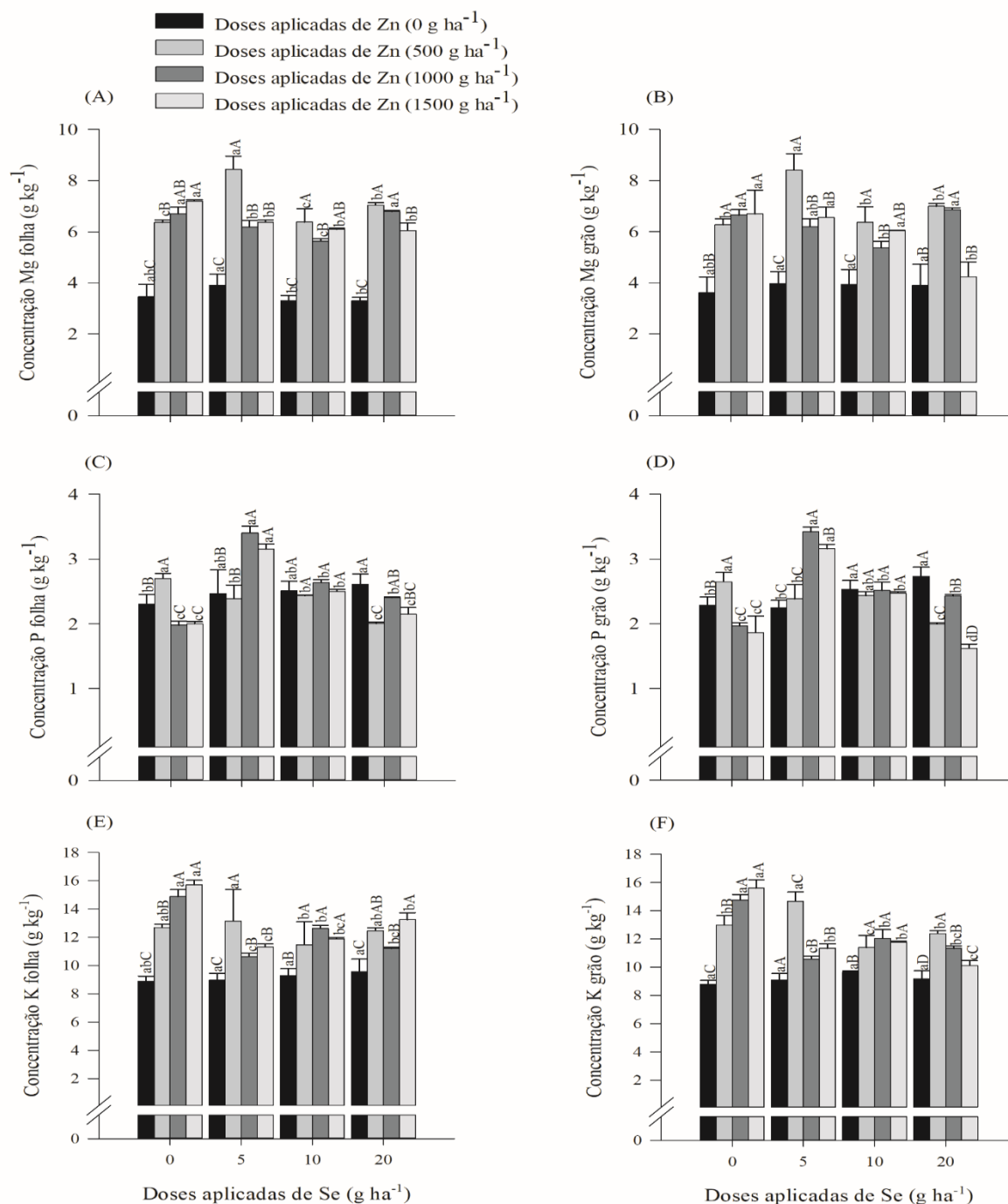
Fonte: Do próprio autor (2020).

Documento Suplementar 3- Efeitos da interação da aplicação foliar de doses de Se e Zn em plantas de arroz na concentração de (A) cobre em folhas, (B) cobre em grãos, (C) manganês em folhas, (D) manganês em grãos, (E) enxofre em folhas e (F) enxofre em grãos. O erro padrão da média ($n = 4$) é indicado por barras de erro. Letras diferentes indicam a diferença entre as médias de acordo com o teste de Tukey ($P \leq 0,05$). Letras minúsculas comparam a mesma dosagem de zinco com interação nas diferentes doses de selênio e letras maiúsculas coparam as diferentes doses de zinco dentro da mesma dosagem de selênio.



Fonte: Do próprio autor (2020).

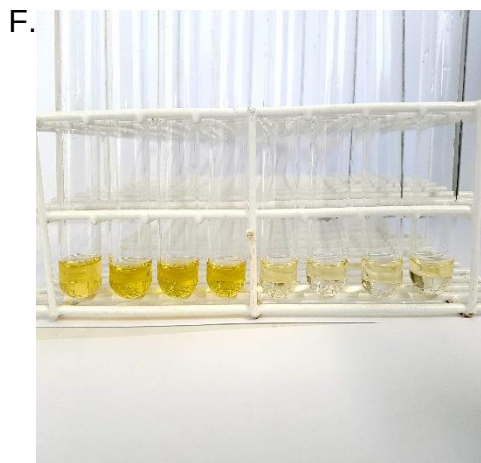
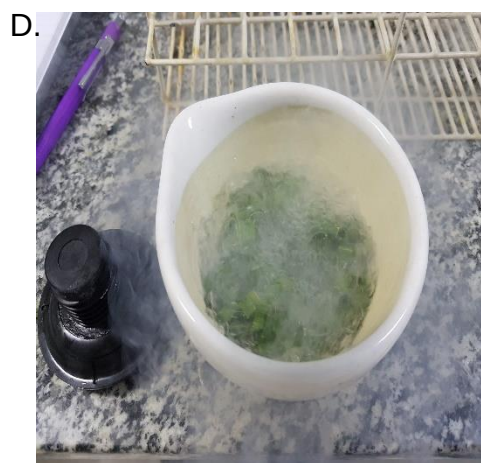
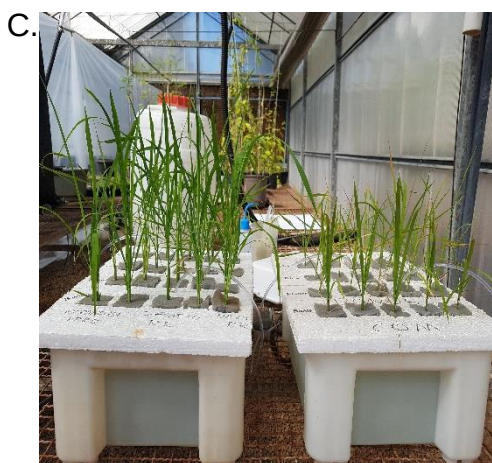
Documento Suplementar 4 - Efeitos da interação da aplicação foliar de doses de Se e Zn em plantas de arroz na concentração de (A) magnésio em folhas, (B) magnésio em grãos, (C) fósforo em folhas, (D) fósforo em grãos, (E) potássio em folhas e (F) potássio em grãos. O erro padrão da média ($n = 4$) é indicado por barras de erro. Letras diferentes indicam a diferença entre as médias de acordo com o teste de Tukey ($P \leq 0,05$). Letras minúsculas comparam a mesma dosagem de zinco com interação nas diferentes doses de selênio e letras maiúsculas comparam as diferentes doses de zinco dentro da mesma dosagem de selênio.



Fonte: Do próprio autor (2020).

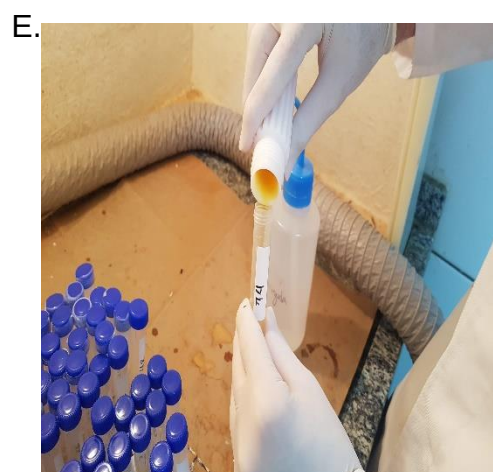
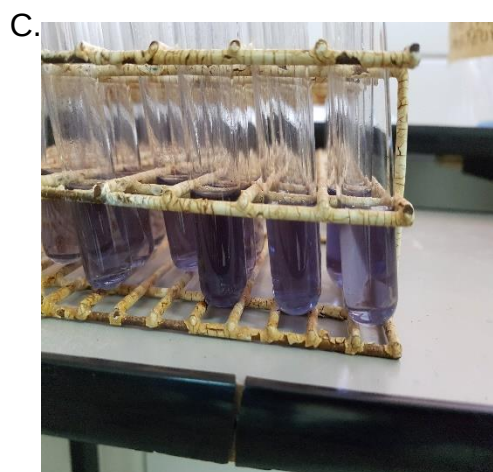
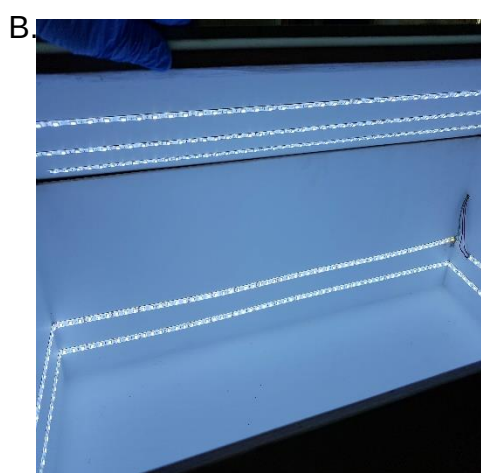
APÊNDICE – Fotos

1 - Tubetes com sementes de arroz cultivar BRS-Esmeralda para produção de mudas(A), solução nutritiva em contato com a raiz da planta (B), comparação da altura das plantas com ausência e presença de selenato de sódio (C), maceração do material vegetal em nitrogênio líquido (D), extrato do material vegetal pronto para análise bioquímica (E), e quantificação de açúcar total (F).



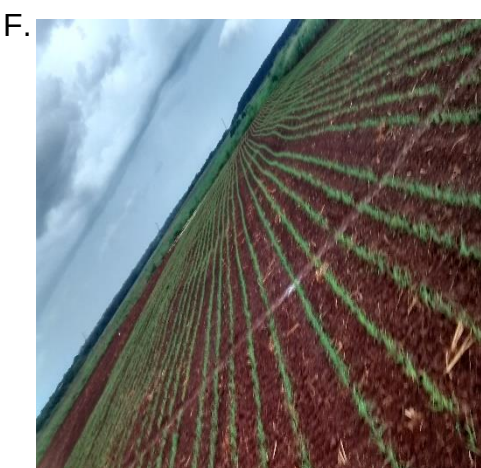
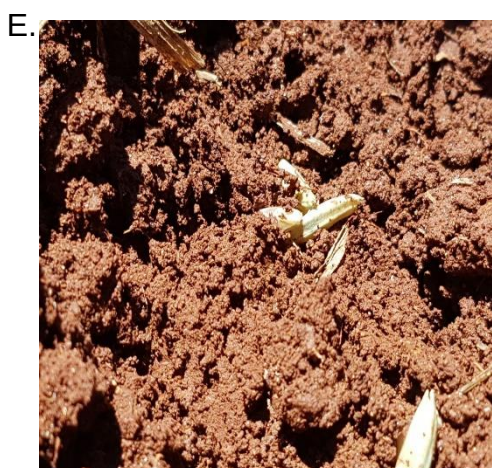
Fonte: Do próprio autor (2020).

2 - Espectrofotômetro UV/Vis para a leitura das amostras (A), caixa de luz para o banho de luz SOD (B), amostras após o banho de luz (C), tubo contendo material vegetal para a digestão em micro-ondas (D), material vegetal digerido (E), e aparelho micro-ondas para digestão fechada (F).



Fonte: Do próprio autor (2020).

3 - Sementes de arroz cultivar BRS-Esmeralda (A), tratamento das sementes (B), produto utilizado no tratamento de sementes (C), semeadura (D), verificação da distribuição das sementes no solo (E), e desenvolvimento da cultura 6 DAE (F).



Fonte: Do próprio autor (2020).

4. Desenvolvimento da cultura aos 13 DAE (A), realização da capina aos 28 DAE (B) e primeira adubação nitrogenada realizada aos 35 DAE (C).

A.



B.



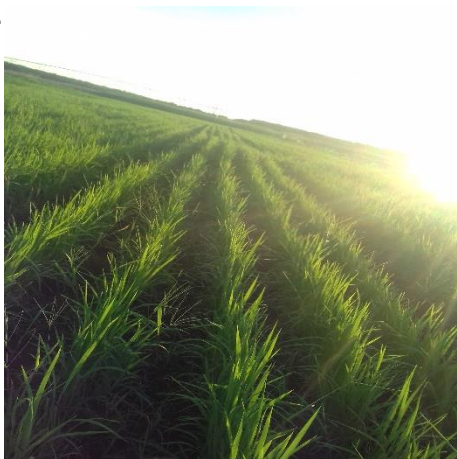
C.



Fonte: Do próprio autor (2020).

5. Desenvolvimento da cultura aos 41 DAE (A), capina aos 56 DAE (B), floração do arroz (C), aplicação foliar do Se aos 67 DAE (D), aplicação foliar do Zn aos 86 DAE (E), e colheita do arroz aos 119 DAE (F).

A.



B.



C.



D.



E.



F.



Fonte: Do próprio autor (2020).