

RESSALVA

Atendendo solicitação do autor, o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 09/06/2021.

**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

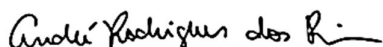
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

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

AUTOR: MATHEUS PEREIRA DE BRITO MATEUS

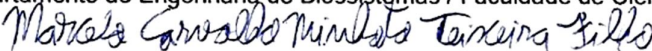
ORIENTADOR: ANDRÉ RODRIGUES DOS REIS

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



Prof. Dr. ANDRÉ RODRIGUES DOS REIS

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



Prof. Dr. MARCELO CARVALHO MINHOTO TEIXEIRA FILHO

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



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 glutational 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).

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

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

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

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>