

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

MAYCON ANDERSON DE ARAUJO

**RESPOSTAS MORFOFISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS ENVOLVIDAS NO
METABOLISMO DE NITROGÊNIO E AÇÚCARES EM VARIEDADES DE
CANA-DE-AÇÚCAR FERTILIZADAS COM SELÊNIO**

Ilha Solteira

2022

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

MAYCON ANDERSON DE ARAUJO

**RESPOSTAS MORFOFISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS ENVOLVIDAS NO
METABOLISMO DE NITROGÊNIO E AÇÚCARES EM VARIEDADES DE
CANA-DE-AÇÚCAR FERTILIZADAS COM SELÊNIO**

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

Prof. PhD. André Rodrigues dos Reis
Orientador

Ilha Solteira
2022

FICHA CATALOGRÁFICA
Desenvolvido pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação

A663r Araujo, Maycon Anderson de.
Respostas morfofisiológicas e bioquímicas envolvidas no metabolismo de nitrogênio e açúcares em variedades de cana-de-açúcar fertilizadas com selênio / Maycon Anderson de Araujo. -- Ilha Solteira: [s.n.], 2022
133 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira. Área de conhecimento: Sistemas de Produção, 2022

Orientador: André Rodrigues dos Reis
Inclui bibliografia

1. Biofortificação agrônômica. 2. Selênio. 3. Sistema antioxidativo . 4. Metabolismo de nitrogênio. 5. Metabolismo de carboidratos. 6. Morfoanatomia vegetal.


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



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Ilha Solteira

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Respostas morfofisiológicas e bioquímicas envolvidas no metabolismo de nitrogênio e açúcares em variedades de cana-de-açúcar fertilizadas com selênio

AUTOR: MAYCON ANDERSON DE ARAUJO

ORIENTADOR: ANDRÉ RODRIGUES DOS REIS

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

André Rodrigues dos Reis

Prof. Dr. ANDRÉ RODRIGUES DOS REIS (Participação Virtual)
Departamento de Engenharia de Biosistemas / FEI UNESP Tupa

Prof. Dr. JOSÉ LAVRES JUNIOR (Participação Virtual)
Departamento de Isótopos Estáveis / Centro de Energia Nuclear na Agricultura - CENA/USP

Dr. FERNANDO SHINTATE GALINDO (Participação Virtual)
Centro de Energia Nuclear na Agricultura / Universidade de São Paulo - USP

Ilha Solteira, 11 de fevereiro de 2022

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha mãe, Vera Lúcia de Araujo, uma mulher guerreira que amo muito, e à minha avó, Nair da Silva Araujo, que veio a falecer enquanto eu finalizava as correções desta dissertação.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à minha família, em especial à minha mãe pelo apoio durante toda minha vida acadêmica. Agradeço aos meus irmãos, Jhenyffer, João e Lucas, porque faço isso também por eles.

Agradeço ao Prof. André Rodrigues dos Reis pela confiança e pela orientação durante todo o Mestrado.

Agradeço aos amigos conquistados em Tupã, Lara Caroline, Matheus, Maria, Júlio, Nema e Carol pela parceria durante essa pandemia dentro e fora do laboratório.

Agradeço à Andressa pela parceria durante todo o desenvolvimento do meu trabalho, desde a instalação até as últimas análises. Agradeço por sua amizade, pelo seu companheirismo e pelo seu amor.

Agradeço também a Priscila, Yasmin e Jéssica pelo apoio técnico durante minhas atividades no laboratório em Tupã.

E por fim, ao apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001” e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo financiamento do presente trabalho junto ao processo (2020/06461-3).

EPÍGRAFE

*“...a ignorância mais frequentemente
gera confiança do que o conhecimento...”*

Charles Darwin

RESUMO GERAL

O selênio (Se) é um elemento benéfico para plantas e essencial para humanos e animais. A necessidade da fertilização com Se em plantas cultivadas é importante frente as mudanças climáticas como aumento da temperatura atmosférica e menor disponibilidade hídrica, o que induz maior estresse abiótico. O efeito benéfico do Se nas plantas está diretamente relacionado com o aumento da eficiência na assimilação do nitrogênio e seu papel como mitigador do estresse abiótico pela redução das espécies reativas de oxigênio em função da promoção do metabolismo antioxidante. O trabalho se divide em quatro capítulos. O primeiro se caracteriza por uma revisão sistemática do papel do Se sobre o metabolismo vegetal. O segundo e terceiro capítulos correspondem, respectivamente, às análises realizadas aos 45 e aos 85 após a aplicação dos tratamentos. O quarto capítulo traz as modificações morfoanatômicas nas folhas e raízes apresentadas pelas variedades de cana-de-açúcar após a fertilização com Se. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da aplicação de Se na cana-de-açúcar, avaliando-se as respostas morfofisiológicas, bioquímicas e relações com crescimento e produtividade. O experimento foi conduzido sob delineamento inteiramente casualizado, com esquema fatorial, utilizando duas variedades de cana-de-açúcar (RB96 6928 e RB86 7515) e 4 concentrações de Se (0; 5; 10 e 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$) aplicados na forma de selenato de sódio em solução nutritiva, distribuídos em quatro repetições. As avaliações fisiológicas ocorreram aos 45 e 85 dias após a aplicação do Se, e as avaliações anatômicas foram realizadas aos 60 dias após a aplicação dos tratamentos. A concentração de Se nas folhas de cana-de-açúcar aumentou com a aplicação com as doses de selenato de sódio para ambas as variedades, as quais apresentaram diferentes respostas morfofisiológicas. A partir das análises aos 45 dias e aos 85 dias, foi possível observar modificações no metabolismo de nitrogênio, de carboidratos, pigmentos e taxas fotossintéticas, controle da peroxidação lipídica e respostas antioxidativas. Apesar de respostas positivas para ambas variedades nas demais variáveis, somente a variedade RB96 6928 apresentou aumento nas concentrações de sacarose e açúcares totais no caldo. Em relação à morfoanatomia, a aplicação do Se provocou modificações na anatomia foliar e radicular das variedades de cana-de-açúcar, modificações que podem auxiliar no aumento da tolerância frente ao estresse abiótico. A aplicação de Se aumentou o metabolismo de nitrogênio e antioxidante das variedades de cana-de-açúcar. Isso desencadeou o maior crescimento e produtividade de ambas variedades. Este estudo traz importantes informações relevantes e originais sobre a aplicabilidade da fertilização com Se na cana-de-açúcar.

Palavras-chave: *Saccharum* spp; selênio; biofortificação; fotossíntese; metabolismo do nitrogênio; metabolismo de carboidrato; sistema antioxidativo; morfoanatomia.

ABSTRACT

Selenium (Se) is a beneficial element for plants and essential for humans and animals. The need for Se fertilization in cultivated plants is important in the face of climate changes such as increased atmospheric temperature and lower water availability, which induces greater abiotic stress. The beneficial effect of Se in plants is directly related to the promotion of nitrogen assimilation efficiency and its role as a mitigator of abiotic stress by reducing reactive oxygen species due to the promotion of antioxidant metabolism. The work is divided into four chapters. The first is characterized by a systematic review of the role of Se in plant metabolism. The second and third chapters correspond, respectively, to the analysis carried out at 45 and 85 after the application of the treatments. The fourth chapter brings the morphoanatomical changes in leaves and roots presented by sugarcane varieties after fertilization with Se. The objective of this study was to evaluate the effect of Se application on sugarcane, evaluating the morphophysiological and biochemical responses and relationships with growth and productivity. The experiment was carried out in a completely randomized design, with a factorial scheme, using two sugarcane varieties (RB96 6928 and RB86 7515) and 4 concentrations of Se (0; 5; 10 and 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$) applied in the form of sodium selenate in nutrient solution, distributed in four replications. Physiological evaluations were realized at 45 and 85 days after Se application, and anatomical assessments were performed at 60 days after application of treatments. Se concentration in sugarcane leaves increased with application of sodium selenate doses for both varieties, which showed different morphophysiological responses. From the analysis at 45 days and 85 days, it was possible to observe changes in nitrogen and carbohydrates metabolisms, pigments and photosynthetic rates, control of lipid peroxidation and antioxidative responses. Despite positive responses for both varieties in the other variables, only the RB96 6928 variety showed an increase in sucrose and total sugar concentrations in the juice. Regarding the morphoanatomy, the application of Se caused changes in the leaf and root anatomy of sugarcane varieties, changes that may help to increase tolerance to abiotic stress. Se application increased nitrogen and antioxidant metabolism of sugarcane varieties. This triggered the highest growth and productivity of both varieties. This study brings important relevant and original information about the applicability of Se fertilization in sugarcane.

Keywords: *Saccharum* spp; selenium; biofortification; photosynthesis; nitrogen metabolism; carbohydrate metabolism; antioxidant system; morphoanatomy.

SÚMARIO

1 INTRODUÇÃO GERAL.....	9
REFERÊNCIAS	11
CAPÍTULO I: PAPEL FISIOLÓGICO DO SELÊNIO SOBRE O METABOLISMO VEGETAL E SEUS MECANISMOS NO AUMENTO DA TOLERÂNCIA AO ESTRESSE ABIÓTICO: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA	15
1 INTRODUÇÃO	16
2 PIGMENTOS FOTOSSINTÉTICOS E TAXAS FOTOSSINTÉTICAS.....	17
3 RESPOSTAS NO SISTEMA ANTIOXIDATIVO INDUZIDAS PELO SELÊNIO	18
4 SELÊNIO NO METABOLISMO DE CARBOIDRATOS.....	20
5 SELÊNIO NO METABOLISMO DE NITROGÊNIO	23
6 CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS FUTURAS	24
REFERÊNCIAS	24
CAPÍTULO II: SELÊNIO AUMENTA O CRESCIMENTO DA CANA-DE-AÇÚCAR: RESPOSTAS FISIOLÓGICAS E ANTIOXIDANTES NA REGULAÇÃO DE DEPÓSITO DE AMIDO EM TECIDOS FOLIARES	41
1 INTRODUÇÃO	42
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	44
2.1 Instalação do experimento	44
2.2 Análise de Se nas folhas.....	44
2.3 Análise de Malondialdeído (MDA) e peróxido de hidrogênio	45
2.4 Análise do metabolismo antioxidante	45
2.5 Pigmentos fotossintéticos	45
2.6 Taxa fotossintética e determinação de trocas gasosas	45
2.7 Atividade da redutase do nitrato (EC 1.7.99.4)	46
2.8 Análises de compostos nitrogenados	46
2.9 Análise do perfil de açúcares em HPLC.....	46
2.10 Teste histoquímico para amido	47
2.11 Análises biométricas.....	47
2.12 Análises estatísticas	47
3 RESULTADOS.....	47
3.1 Análise de selênio nas folhas	47
3.2 Sistema oxidativo.....	48
3.3 Sistema antioxidante e conteúdo proteico	48
3.4 Pigmentos	49
3.5 Eficiência fotossintética	49
3.6 Compostos nitrogenados e atividade da redutase do nitrato.....	50

3.7	<i>Análise de açúcares</i>	50
3.8	<i>Teste histoquímico de Amido</i>	51
3.9	<i>Heatmap com análise de correlação e análise de componentes principais</i>	51
3.10	<i>Análises biométricas</i>	51
4	DISCUSSÃO	52
5	CONCLUSÃO	54
	REFERÊNCIAS	54
CAPÍTULO III: FERTILIZAÇÃO COM SELÊNIO AUMENTA PIGMENTOS FOTOSSINTÉTICOS, METABOLISMO ANTIOXIDANTE E CRESCIMENTO DA CANA-DE-AÇÚCAR		
1	INTRODUÇÃO	75
2.1	<i>Instalação do experimento</i>	77
2.2	<i>Análise Nutricional</i>	77
2.3	<i>Análise de Malondialdeído (MDA) e Peróxido de hidrogênio (H₂O₂)</i>	77
2.4	<i>Análise da atividade da Superóxido Dismutase (SOD - EC 1.15.1.1), Catalase (CAT - EC 1.11.1.6), Ascorbato Peroxidase (APX - EC 1.11.1.11) e Análise de proteínas solúveis totais</i>	78
2.5	<i>Pigmentos</i>	78
2.6	<i>Atividade da Redutase do nitrato (EC 1.7.99.4)</i>	78
2.7	<i>Análises de compostos nitrogenados</i>	79
2.7.1	<i>Nitrato</i>	79
2.7.2	<i>Amônia</i>	79
2.7.3	<i>Aminoácidos</i>	79
2.8	<i>Quantificação de açúcares em HPLC</i>	79
2.9	<i>Análises biométricas</i>	80
2.10	<i>Análises estatísticas</i>	80
3	RESULTADOS	80
3.1	<i>Concentração de MDA e Peróxido de hidrogênio (H₂O₂)</i>	80
3.2	<i>Enzimas antioxidantes e conteúdo proteico</i>	80
3.3	<i>Metabolismo do Nitrogênio</i>	81
3.4	<i>Pigmentos fotossintéticos</i>	81
3.5	<i>Quantificação de açúcares nas folhas e crescimento</i>	82
3.6	<i>Quantificação de açúcares no caldo</i>	82
3.7	<i>Heatmap e PCA</i>	82
3.8	<i>Análise Se em folhas</i>	83
4	DISCUSSÃO	83
5	CONCLUSÃO	85
	REFERÊNCIAS	86

CAPÍTULO IV: O SELÊNIO PROMOVE ALTERAÇÕES EM FOLHAS E RAÍZES DE CANA-DE-AÇÚCAR PROPICIANDO MAIOR CRESCIMENTO DAS PLANTAS	105
1 INTRODUÇÃO	106
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	107
2.1 Instalação e condução do experimento	107
2.2 Anatomia foliar e radicular	108
2.3 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	108
2.4 Análise nutricional.....	109
2.5 Análises estatísticas	109
3 RESULTADOS.....	109
3.1 Número de estômatos na epiderme foliar	109
3.2 Anatomia foliar e radicular	109
3.3 Crescimento e desenvolvimento	110
3.4 Concentração de Se nas folhas	111
3.5 Heatmap.....	111
4 DISCUSSÃO	111
5 CONCLUSÃO	114
REFERÊNCIAS	114
CONSIDERAÇÕES FINAIS	129

1. INTRODUÇÃO GERAL

Saccharum officinarum L. (cana-de-açúcar) é uma gramínea semi-perene pertencente à família Poaceae, sendo uma das espécies domesticada do gênero *Saccharum* (D'HONT *et al.*, 1998), com cultivo nas regiões tropicais e subtropicais do globo (JAMES, 2004) e chega a ser cultivada em aproximadamente 100 países (EL CHAMI; DACCACHE; EL MOUJABBER, 2020). Importante fonte alimentar e bioenergética, tem grande efeito na economia de vários países (MOORE; PATERSON; TEW, 2013), se destacando principalmente por sua alta produtividade, por suas respostas eficientes à aplicação de insumos agrícolas e sua versatilidade como matéria-prima (MOORE; PATERSON; TEW, 2013). A utilização da cana-de-açúcar como adoçante é referenciada em um período de aproximadamente 2500 anos atrás, tendo sido na China a região onde se iniciou a produção de açúcar tendo como matéria prima a cultura e tendo seu cultivo como um dos mais antigos do Mundo (JAMES, 2004).

O Brasil é o maior produtor de cana-de-açúcar, tendo uma área estimada de 8.3 milhões de hectares (CONAB, 2021) e teve sua produção aumentada significativamente nas últimas décadas devido a busca pela utilização de energias renováveis frente à atual situação das mudanças climáticas e à excessiva utilização de combustíveis fósseis (BORDONAL *et al.*, 2018), sendo responsável por aproximadamente 39% da produção global (ARUNA *et al.*, 2021). A produção de cana-de-açúcar, apesar de favorecer o meio ambiente pela facilitação na substituição de combustíveis fósseis (ZUURBIER; VAN DE VOOREN, 2008), sofre com as mudanças climáticas, pois a cultura é bastante afetada pelo estresse abiótico, principalmente pelo frio e pela falta de água (ALTPETER; ORABY, 2010).

O selênio (Se) é um elemento que tem papel fundamental em diversas reações metabólicas no corpo humano (TRIPPE; PILON-SMITS, 2021), sendo essencial aos animais e mamíferos, e com efeito benéfico ao metabolismo vegetal (DOS REIS *et al.*, 2017; LANZA; REIS, 2021; WHITE, 2018). A essencialidade do Se para os humanos está ligada principalmente às selenoproteínas, com 25 atualmente conhecidas, que apresentam diversas funções, como a eliminação de radicais livres do meio celular, aumento das respostas imunológicas, garantia de um funcionamento adequado da tireoide e da espermatogênese, e respostas antioxidativas nos processos de formação de células cancerígenas (RAYMAN, 2012; TRIPPE; PILON-SMITS, 2021). Uma alimentação deficiente em Se, que se mostra comum em vários países (DOS REIS *et al.*, 2017;

LANZA; REIS, 2021), pode causar desenvolvimento inadequado do cérebro, aumentar a mortalidade em pacientes com infecção avançada por HIV, diminuir a fertilidade masculina (RAYMAN, 2012; TRIPPE; PILON-SMITS, 2021), desregular o funcionamento da tireoide, tecido com maior concentração de Se no corpo humano (RAYMAN, 2012; SCHOMBURG; KÖHRLE, 2008; TRIPPE; PILON-SMITS, 2021).

Em relação ao papel benéfico que o Se desempenha no metabolismo vegetal, se destaca o aumento da tolerância ao estresse abiótico induzido pelo mineral (DOS REIS *et al.*, 2017; FENG; WEI; TU, 2013; HASANUZZAMAN *et al.*, 2020; LANZA; REIS, 2021; WHITE, 2018). Em pequenas concentrações, a aplicação de Se pode mitigar os efeitos do estresse abiótico provocado pelo frio (LIU *et al.*, 2021), calor (ANDRADE *et al.*, 2018; DJANAGUIRAMAN; PRASAD; SEPPANEN, 2010), seca (SEREGINA; NILOVSKAYA; OSTAPENKO, 2001), salinidade (DESOKY *et al.*, 2021; GHASEMIAN *et al.*, 2021) e até por metais pesados (Lin *et al.*, 2012; Saidi *et al.*, 2014; Shahid *et al.*, 2019; Wu *et al.*, 2016). Esse aumento da tolerância mediado pelo Se é explicado principalmente pela ativação do complexo antioxidativo (HASANUZZAMAN *et al.*, 2020; WHITE, 2018), por meio do aumento da atividade de enzimas como a SOD (superóxido dismutase), a CAT (catalase), a APX (ascorbato peroxidase), GR (glutathione redutase) e diminuição da peroxidação lipídica pelo controle da concentração do MDA (malondialdeído) e eliminação de ERO's (espécies reativas de oxigênio) como o H₂O₂ (peróxido de hidrogênio) e o O₂⁻ (superóxido) (LANZA; REIS, 2021).

O Se ainda induz o aumento do metabolismo de N, por meio do aumento da atividade das enzimas GS (glutamina sintase), da GOGAT (glutamato sintase) (RÍOS *et al.*, 2010) e da nitrato redutase (RÍOS *et al.*, 2010; SHAHID *et al.*, 2019), importantes enzimas no processo de assimilação do nutriente. Além disso, provoca aumento na concentração de N reduzido (aminoácidos e proteínas) em folhas e nos grãos (LIDON *et al.*, 2018; MATEUS *et al.*, 2021; RÍOS *et al.*, 2010; SILVA *et al.*, 2019, 2021). Aliados ao aumento das taxas de assimilação de N, estão as taxas de aumento de açúcares (LIU *et al.*, 2021; SHAHID *et al.*, 2019) e de pigmentos fotossintéticos (ASTANEH *et al.*, 2018; CHEN *et al.*, 2008; DONG *et al.*, 2013; LANZA *et al.*, 2021; MATEUS *et al.*, 2020; SILVA *et al.*, 2020), provocando maiores taxas de crescimento, produtividade e muitas vezes, aumento da tolerância ao estresse abiótico (LIU *et al.*, 2021; SHAHID *et al.*, 2019).

REFERÊNCIAS

- ALTPETER, F.; ORABY, H. Sugarcane. In: KEMPKEM, F.; JUNG, C. (ed.). **Genetic modification of plants**. [New York]: Springer, 2010. p. 453–472. *E-book*. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-3-642-02391-0_23.
- ANDRADE, F. R.; DA SILVA, G. N.; GUIMARÃES, K. C.; BARRETO, H. B. F.; SOUZA, K. R. D.; GUILHERME, L. R. G.; FAQUIN, V.; REIS, A. R. dos. Selenium protects rice plants from water deficit stress. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Philadelphia, v. 164, p. 562–570, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.08.022>.
- ARUNA; BAGOTIA, N.; SHARMA, A. K.; KUMAR, S. A review on modified sugarcane bagasse biosorbent for removal of dyes. **Chemosphere**, Oxford, v. 268, p. 129309, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.129309>
- 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**, Beijing, v. 5, n. 1, p. 156–161, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.inpa.2017.09.003>
- BORDONAL, R. de O.; CARVALHO, J. L. N.; LAL, R.; DE FIGUEIREDO, E. B.; DE OLIVEIRA, B. G.; LA SCALA, N. Sustainability of sugarcane production in Brazil. A review. **Agronomy for Sustainable Development**, Paris, v. 38, n. 2, p. 13, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s13593-018-0490-x>
- CHEN, T.-F.; ZHENG, W.-J.; WONG, Y.-S.; YANG, F. Selenium-induced Changes in Activities of Antioxidant Enzymes and Content of Photosynthetic Pigments in *Spirulina platensis*. **Journal of Integrative Plant Biology**, Richmond, v. 50, n. 1, p. 40–48, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1744-7909.2007.00600.x>
- CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira de cana-de-açúcar**. Brasília, DF, v. 8, n. 3, novembro 2021.
- D'HONT, A.; ISON, D.; ALIX, K.; ROUX, C.; GLASZMANN, J. C. Determination of basic chromosome numbers in the genus *Saccharum* by physical mapping of ribosomal RNA genes. **Genome**, Ottawa, v. 41, n. 2, p. 221–225, 1998. Disponível em: <https://doi.org/10.1139/g98-023>
- DESOKY, E.-S. M.; MERWAD, A.-R. M. A.; ABO EL-MAATI, M. F.; MANSOUR, E.; ARNAOUT, S. M. A. I.; AWAD, M. F.; RAMADAN, M. F.; IBRAHIM, S. A. Physiological and biochemical mechanisms of exogenously applied selenium for alleviating destructive impacts induced by salinity stress in bread wheat. **Agronomy**, Basel, v. 11, n. 5, p. 926, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/agronomy11050926>
- DIJANAGUIRAMAN, M.; PRASAD, P. V. V.; SEPPANEN, M. Selenium protects sorghum leaves from oxidative damage under high temperature stress by enhancing antioxidant defense system. **Plant Physiology and Biochemistry**, Issy les Moulineaux Cedex, v. 48, n. 12, p. 999–1007, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.09.009>
- DONG, J. Z.; WANG, Y.; WANG, S. H.; YIN, L. P.; XU, G. J.; ZHENG, C.; LEI, C.;

- ZHANG, M. Z. Selenium increases chlorogenic acid, chlorophyll and carotenoids of *Lycium chinense* leaves. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Oxford, v. 93, n. 2, p. 310–315, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jsfa.5758>
- DOS 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. (ed.). **Selenium in plants**. New York: Springer, 2017. p. 209–230. *E-book*. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-3-319-56249-0_13
- EL CHAMI, D.; DACCACHE, A.; EL MOUJABBER, M. What are the impacts of sugarcane production on ecosystem services and human well-being? A review. **Annals of Agricultural Sciences**, Hong Kong, v. 65, n. 2, p. 188–199, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aosas.2020.10.001>
- FENG, R.; WEI, C.; TU, S. The roles of selenium in protecting plants against abiotic stresses. **Environmental and Experimental Botany**, Amsterdam, v. 87, p. 58–68, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2012.09.002>
- GHASEMIAN, S.; MASOUDIAN, N.; SAEID NEMATPOUR, F.; SAFIPOUR AFSHAR, A. Selenium nanoparticles stimulate growth, physiology, and gene expression to alleviate salt stress in *Melissa officinalis*. **Biologia**, Lahore, v. 76, n. 10, p. 2879–2888, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11756-021-00854-2>
- HASANUZZAMAN, M.; BHUYAN, M. H. M. B.; RAZA, A.; HAWRYLAK-NOWAK, B.; MATRASZEK-GAWRON, R.; MAHMUD, J. Al; NAHAR, K.; FUJITA, M. Selenium in plants: boon or bane? **Environmental and Experimental Botany**, Amsterdam, v. 178, p. 104170, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2020.104170>
- JAMES, G. L. An introduction to sugarcane. In: JAMES, G. L. (ed.). **Sugarcane**. Oxford, UK: Blackwell Publishing, 2004. p. 1–19. *E-book*. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/9780470995358.ch1>
- LANZA, M. G. D. B.; REIS, A. R. dos. Roles of selenium in mineral plant nutrition: ROS scavenging responses against abiotic stresses. **Plant Physiology and Biochemistry**, Issy les Moulineaux Cedex, v. 164, p. 27–43, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.04.026>
- LANZA, M. G. D. B.; SILVA, V. M.; MONTANHA, G. S.; LAVRES, J.; PEREIRA DE CARVALHO, H. W.; REIS, A. R. dos. 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**, Philadelphia, v. 207, p. 111216, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111216>
- LIDON, F. C. *et al.* Selenium biofortification of rice grains and implications on macronutrients quality. **Journal of Cereal Science**, London, v. 81, p. 22–29, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2018.03.010>
- LIN, L.; ZHOU, W.; DAI, H.; CAO, F.; ZHANG, G.; WU, F. Selenium reduces cadmium uptake and mitigates cadmium toxicity in rice. **Journal of Hazardous Materials**, Amsterdam, v. 235–236, p. 343–351, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2012.08.012>

- LIU, K.; LI, S.; HAN, J.; ZENG, X.; LING, M.; MAO, J.; LI, Y.; JIANG, J. Effect of selenium on tea (*Camellia sinensis*) under low temperature: Changes in physiological and biochemical responses and quality. **Environmental and Experimental Botany**, Amsterdam, v. 188, p. 104475, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2021.104475>
- MATEUS, M. P. de B.; TAVANTI, R. F. R.; GALINDO, F. S.; SILVA, A. C. da R.; GOUVEIA, G. C. C.; APARECIDO, C. F. F.; CARR, N. F.; FEITOSA, Y. B.; SANTOS, E. F.; LAVRES, J.; REIS, A. R. dos. Coffea arabica seedlings genotypes are tolerant to high induced selenium stress: Evidence from physiological plant responses and antioxidative performance. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Philadelphia, v. 203, p. 111016, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111016>
- MATEUS, M. P. de B.; TAVANTI, R. F. R.; TAVANTI, T. R.; SANTOS, E. F.; JALAL, A.; REIS, A. R. dos. Selenium biofortification enhances ROS scavenge system increasing yield of coffee plants. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Philadelphia, v. 209, p. 111772, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111772>
- MOORE, P. H.; PATERSON, A. H.; TEW, T. Sugarcane: the crop, the plant, and domestication. In: MOORE, P. H.; BOTHA, F. C. (ed.). **Sugarcane: physiology, biochemistry, and functional biology**. Chichester: John Wiley & Sons, 2013. p. 1–17. *E-book*. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/9781118771280.ch1>
- RAYMAN, M. P. Selenium and human health. **The Lancet**, London, v. 379, n. 9822, p. 1256–1268, 2012. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(11\)61452-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(11)61452-9)
- RÍOS, J. J.; BLASCO, B.; ROSALES, M. A.; SANCHEZ-RODRIGUEZ, E.; LEYVA, R.; CERVILLA, L. M.; ROMERO, L.; RUIZ, J. M. Response of nitrogen metabolism in lettuce plants subjected to different doses and forms of selenium. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Oxford, v. 90, n. 11, p. 1914–1919, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jsfa.4032>
- SAIDI, I.; CHTOUROU, Y.; DJEBALI, W. Selenium alleviates cadmium toxicity by preventing oxidative stress in sunflower (*Helianthus annuus*) seedlings. **Journal of Plant Physiology**, Muenchen, v. 171, n. 5, p. 85–91, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2013.09.024>
- SCHOMBURG, L.; KÖHRLE, J. On the importance of selenium and iodine metabolism for thyroid hormone biosynthesis and human health. **Molecular Nutrition & Food Research**, Weinheim, v. 52, n. 11, p. 1235–1246, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/mnfr.200700465>
- SEREGINA, I. I.; NILOVSKAYA, N. T.; OSTAPENKO, N. O. The role of selenium in the formation of the grain yield in spring wheat. **Agrokhimiya**, Moscow, v. 1, p. 44–50, 2001.
- SHAHID, M. A.; BALAL, R. M.; KHAN, N.; ZOTARELLI, L.; LIU, G. D.; SARKHOSH, A.; FERNÁNDEZ-ZAPATA, J. C.; MARTÍNEZ NICOLÁS, J. J.; GARCIA-SANCHEZ, F. Selenium impedes cadmium and arsenic toxicity in potato by modulating carbohydrate and nitrogen metabolism. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Philadelphia, v. 180, p. 588–599, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.05.037>

SILVA, V. M. *et al.* 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**, Oxford, v. 99, n. 13, p. 5969–5983, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jsfa.9872>

SILVA, V. M.; NARDELI, A. J.; MENDES, N. A. C.; ALCOCK, T. D.; ROCHA, M. de M.; PUTTI, F. F.; WILSON, L.; YOUNG, S. D.; BROADLEY, M. R.; WHITE, P. J.; REIS, A. R. dos. Application of sodium selenate to cowpea (*Vigna unguiculata* L.) increases shoot and grain Se partitioning with strong genotypic interactions. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, Muenchen, v. 67, p. 126781, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2021.126781>

SILVA, V. M.; RIMOLDI TAVANTI, R. F.; GRATÃO, P. L.; ALCOCK, T. D.; REIS, A. R. dos. Selenate and selenite affect photosynthetic pigments and ROS scavenging through distinct mechanisms in cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) walp) plants. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Philadelphia, v. 201, p. 110777, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110777>

TRIPPE, R. C.; PILON-SMITS, E. A. H. Selenium transport and metabolism in plants: Phytoremediation and biofortification implications. **Journal of Hazardous Materials**, Amsterdam, v. 404, p. 124178, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.124178>

WHITE, P. J. Selenium metabolism in plants. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects**, Amsterdam, v. 1862, n. 11, p. 2333–2342, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2018.05.006>

WU, Z.; YIN, X.; BAÑUELOS, G. S.; LIN, Z.-Q.; LIU, Y.; LI, M.; YUAN, L. Indications of Selenium Protection against Cadmium and Lead Toxicity in Oilseed Rape (*Brassica napus* L.). **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 7, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01875>

ZUURBIER, P.; VAN DE VOOREN, J. (org.). **Sugarcane ethanol**. The Netherlands: Wageningen Academic Publishers, 2008. *E-book*. Disponível em: <https://doi.org/10.3920/978-90-8686-652-6>

CAPÍTULO I: PAPEL FISIOLÓGICO DO SELÊNIO SOBRE O METABOLISMO VEGETAL E SEUS MECANISMOS NO AUMENTO DA TOLERÂNCIA AO ESTRESSE ABIÓTICO: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA

Resumo

O selênio (Se) é essencial para humanos e animais, porém considerado elemento benéfico para plantas. Uma das principais funções fisiológicas do Se nas plantas é a ativação do sistema antioxidante enzimático (SOD, CAT, APX, GR) e não enzimático (carotenoides, tocoferol, vitamina A, antocianinas e flavonoides) para a mitigação do excesso de espécies reativas de oxigênio (ERO's), evitando assim o estresse oxidativo. Em solos tropicais a concentração de Se está abaixo de 0.6 mg kg^{-1} , o que é considerado baixo. A baixa disponibilidade de Se no solo acarreta em baixa concentração do elemento nas plantas e partes comestíveis, podendo gerar deficiência de Se em humanos e animais. A necessidade da suplementação por Se aumenta a importância de trabalhos sobre a biofortificação nas principais culturas visando alimentação humana e animal, processo que ainda é considerado desafiador. O Se é encontrado principalmente em suas formas orgânicas nos tecidos vegetais como a selenocisteína e a selenometionina, pode promover o crescimento e aumento de produtividade quando aplicado em pequenas concentrações, pode modular o estresse promovendo a síntese de enzimas antioxidantes com a SOD, a CAT e a APX e atuar na defesa contra patógenos e ainda pode reduzir o estresse abiótico provocado por frio, seca, salinidade e até mesmo por metais pesados. A aplicação de Se aumenta a síntese de enzimas do metabolismo do nitrogênio, de carboidratos, produção de biomassa e produtividade. O Se também é muito eficaz no aumento da tolerância de plantas a metais pesados como o Pb, Cd e As. Aplicações foliares e via solo de Se na dose de 50 g ha^{-1} em diversas plantas como arroz, feijão-caupi, café, soja, chá, trigo tem mostrado aumento de produtividade com maiores valores nutricionais. O aumento de produtividade dessas culturas está relacionado a maior atividade antioxidante enzimática e não-enzimática, maior eficiência fotossintética, eficiência do uso da água e alterações ultraestruturais que permitem maior crescimento e assimilação de nutrientes pelas plantas. A biofortificação agrônômica de plantas que fazem parte da dieta alimentar humana com Se é uma boa estratégia para aumentar a ingestão diária do elemento, o que pode trazer benefício para a saúde humana.

Keywords: Selênio, biofortificação, fotossíntese, nitrogênio, carboidratos, metais pesados.

1. INTRODUÇÃO

O selênio (Se) é um elemento benéfico para plantas (D'AMATO *et al.*, 2020; SCHIAVON *et al.*, 2020) e essencial para a manutenção de um funcionamento adequado do organismo humano (SCHWARZ; FOLTZ, 1957). A deficiência de Se prejudica processos celulares, respostas antioxidantes, regulação da ação e secreção da insulina (D'AMATO *et al.*, 2020) e até mesmo ser um fator que aumenta os riscos das reações provocadas pela Covid-19, pois atua no sistema imunológico contra infecções virais por meio de seleno-proteínas (MOGHADDAM *et al.*, 2020). A necessidade da suplementação por Se aumenta a importância de trabalhos sobre a biofortificação nas principais culturas produzidas, processo que ainda é considerado desafiador (D'AMATO *et al.*, 2020; LIDON *et al.*, 2018; SCHIAVON *et al.*, 2020).

O Se pode ser encontrado nas formas orgânicas (selenocisteína - Se-Cys e selenometionina - Se-Met) e inorgânica (selenato e selenito) em plantas, promover o crescimento quando aplicado em pequenas concentrações, atuando como modulador de estresse na promoção da síntese de enzimas antioxidantes e atuar na defesa contra patógenos (HASANUZZAMAN *et al.*, 2020b, 2020a). A aplicação do Se ainda pode reduzir o estresse abiótico provocado por frio, seca, salinidade e até mesmo contra metais pesados (FENG; WEI; TU, 2013).

A forma de Se mais encontrada em plantas não acumuladoras é o selenato (SeO_4^{2-}) (WHITE, 2018), o que parece coincidir com trabalhos de biofortificação que obtiveram como resultado que o selenato provoca menor grau de toxidez do que o selenito (SeO_3^{2-}) (GROTH *et al.*, 2020; LIDON *et al.*, 2018; RÍOS *et al.*, 2008, 2009, 2013). O conhecimento atual do metabolismo do Se em plantas está vinculado ao conhecimento do comportamento análogo do enxofre (S) e dentro do corpo vegetal o Se pode ser incorporado em vários metabólitos secundários derivados da Se-Cys e da Se-Met, dentre estes estão a selenoglutationa. (WHITE, 2018).

O Se pode aumentar o crescimento e melhorar o estado nutricional de plantas vasculares (GRAHAM *et al.*, 2007; TERRY *et al.*, 2000). Ainda é pouco conhecido o papel na formação de grãos, mas Seregina *et al.* (2001) comprovaram a interação de Se com nitrogênio (N) no aumento da produtividade de trigo. Os resultados, porém, foram variáveis conforme a cultivar utilizada, tal fato demonstra a importância da variação genotípica para o acúmulo de elementos como o Se. Seregina *et al.* (2001) ainda verificaram maior eficiência do Se na formação do grão de trigo quando associado a

maiores doses de N, apresentando efeito significativo na altura de plantas e maior tolerância à seca.

O aumento das taxas de assimilação do N provocados pelo Se pode estar relacionadas ao fato da absorção do elemento aumentar as taxas de absorção de Mo (HARRIS; SCHNEBERG; PILON-SMITS, 2014), aumentando assim a síntese a molibdopterina, um cofator para a nitrato redutase (WHITE, 2018), uma importante enzima do metabolismo do nitrogênio (RIOS *et al.*, 2010). Em relação aos açúcares, o elemento participa da ativação de importantes enzimas do metabolismo de carboidratos, como amilases, a sacarose sintase (SuSy), a sacarose-fosfato sintase e invertases (MALIK *et al.*, 2011) (Figura 1). A fertilização com Se pode beneficiar uma grande variedade de espécies vegetais aumentando a qualidade de importantes produtos agrícolas. A Tabela 1 apresenta uma compilação de estudos sobre fertilização de plantas com Se como colza, quinoa, café, chá, pepino, soja, girassol, alface, maçã, alfafa, arroz, pêssego, romã, batata, trigo, feijão e feijão-caupi. Os dados compilados na Tabela 1 revelaram que a maior capacidade antioxidante proporcionou o maior crescimento e desenvolvimento das plantas. Portanto, a aplicação de Se em baixas concentrações é uma medida estratégica de aumentar a tolerância das plantas aos diferentes tipos de estresses abióticos como seca, altas temperaturas e salinidade, o que pode aumentar a produtividade das culturas.

2. PIGMENTOS FOTOSSINTÉTICOS E TAXAS FOTOSSINTÉTICAS

A aplicação de baixas concentrações de Se aumenta a síntese de pigmentos fotossintéticos (LANZA; REIS, 2021), e esse efeito é significativo em organismos fotossintetizantes aquáticos (CHEN *et al.*, 2008) e terrestres (MATEUS *et al.*, 2020; SILVA *et al.*, 2020). Dong *et al.* (2013) observaram aumentos de até 400% na concentração de clorofilas e carotenoides com a aplicação de 0.05 g kg⁻¹ de selenito de sódio em *Lycium chinense*. Silva *et al.*, 2020 em seu estudo avaliando doses de Se no feijão-caupi observaram um aumento de 52% e 112% nas concentrações de clorofila a e b, respectivamente, com a aplicação de 2.5 g ha⁻¹ de selenato de sódio.

Astaneh *et al.* (2018) observaram que a aplicação de Se provocou aumento na concentração de carotenoides em folhas de alho sob estresse salino, pigmento que possui papel importantíssimo na proteção causada pelos processos de oxidação durante a fotossíntese (Figura 2) (ONG; TEE, 1992; STAHL; SIES, 2003; SWAPNIL *et al.*, 2021). O aumento na concentração de carotenoides a partir da aplicação de Se também observado

por Mateus *et al.* (2021) em seu trabalho de biofortificação com café, e por Silva *et al.* (2020) e Lanza *et al.* (2021) em trabalho com feijão-caupi.

Além do aumento da concentração de pigmentos fotossintéticos, a suplementação com Se também provoca modificações nas taxas fotossintéticas nas mais diversas espécies (LANZA; REIS, 2021). Em seu trabalho com tomate, Alves *et al.* (2020) observaram aumento nas taxas de assimilação de CO₂ (A), condutância estomática (gs) e transpiração (E) com a aplicação de selenato e de selenito. Jiang *et al.* (2015) utilizou-se de doses de selenito de sódio em seu experimento de biofortificação em plantas de tabaco e observaram modificações nas taxas fotossintéticas avaliadas. As taxas para A, gs, Ci e CE (eficiência de carboxilação) tiveram aumento significativo, além de aumento no crescimento das partes aérea e radicular, provocando maior produção de biomassa pelas plantas fertilizadas com Se.

Fontes alternativas de Se, como em uma forma quelada (EDTA-Se) também se mostrou eficiente no processo de aumento nas taxas fotossintéticas, como observado por Luo *et al.* (2020) em seu trabalho de biofortificação com arroz. A taxa de assimilação de carbono pelas cultivares estudadas foi potencializada nos dois anos analisados.

Apesar dos bons resultados a partir da biofortificação com Se, sabe-se que o efeito benéfico do elemento acontece quando a aplicação ocorre em baixas concentrações e quando esse limite é ultrapassado pode causar sintomas graves de toxidez (DOS REIS *et al.*, 2017; LANZA; REIS, 2021). Haghighi *et al.* (2016) avaliando doses que variavam entre 2 mg e 10 mg Se L⁻¹ observaram queda significativa nas taxas de gs e Ci em plantas de pepino, evidenciando a necessidade de trabalhos futuros com menores concentrações do elemento. A aplicação de 24 mg Se kg⁻¹ por Jiang *et al.* (2015) causou decréscimo nas taxas de A, gs, Ci e CE, evidenciando que tal concentração já teria passado do limite aceitável para o cultivo de pepino.

3. RESPOSTAS NO SISTEMA ANTIOXIDATIVO INDUZIDAS PELO SELÊNIO

O Se atua como promotor de enzimas antioxidantes quando utilizado em pequenas concentrações (DOS REIS *et al.*, 2017). Em concentrações adequadas, o Se pode ativar algumas enzimas como a dismutase de superóxido (SOD), catalase (CAT), redutase da glutathione (GR), peroxidase de guaiacol (GOPX) e peroxidase de ascorbato (GPX). Essas enzimas, ativadas na presença de Se, reduzem a taxa de peroxidação lipídica e a formação excessiva de espécies reativas de oxigênio (ERO) nas células de tecido vegetal, o que

resulta na redução da senescência (DJANAGUIRAMAN *et al.*, 2005), pois durante esse processo há produção significativa de ERO's e diminuição das atividades da CAT (DHINDSA; PLUMB-DHINDSA; THORPE, 1981; DHINDSA; PLUMB - DHINDSA; REID, 1982; STROTHER, 1988) e da SOD (DHINDSA; PLUMB-DHINDSA; THORPE, 1981; ZIMMERMANN; ZENTGRAF, 2005) como ilustrado na Figura 3. Sun *et al.* (2020) observaram queda na concentração de MDA após a aplicação de diferentes formas de Se (Tabela 1) em plantas de pêssigo. A diminuição da peroxidação lipídica foi também acompanhada pelo aumento do crescimento vegetativo e aumento de biomassa.

Diversos trabalhos evidenciam a eficiência do Se no combate ao estresse abiótico (ANDRADE *et al.*, 2018; DJANAGUIRAMAN; PRASAD; SEPPANEN, 2010; LIN *et al.*, 2012; WU *et al.*, 2016) (Tabela 1). Andrade *et al.* (2018) observaram aumento da atividade da SOD e decréscimo da concentração de H_2O_2 em plantas de arroz submetidas ao estresse hídrico, respostas positivas aliadas à uma maior biomassa e taxas fotossintéticas em plantas que estavam sob fertilização de Se. A aplicação foliar de 75 mg Se L^{-1} também foi responsável por aliviar o estresse provocado pela indução de altas temperaturas em plantas de sorgo em trabalho realizado por Djanaguiraman *et al.* (2010). Quando comparadas com plantas também submetidas a altas temperaturas mas sem a aplicação de Se, foi observado menores concentrações de MDA, de H_2O_2 e menores porcentagens de danos à membrana celular devido ao aumento nas atividades de SOD, CAT e POX (peroxidase).

Lin *et al.* (2012) submeteram em um sistema hidropônico plantas de arroz a doses de Cd combinadas à aplicação com $3\text{ }\mu\text{M Se}$ com o objetivo de avaliar os efeitos mitigadores do Se ao metal pesado. Após 15 dias da aplicação dos tratamentos, foi constatado que as plantas submetidas a doses combinadas de Cd e Se apresentaram menores atividades da SOD e CAT em folhas e raízes. Ao fim do experimento, os autores concluíram que o Se foi capaz além de mitigar o estresse abiótico provocado pelo elemento, também culminou em uma menor absorção do metal pesado pelas plantas. Wu *et al.* (2016), além de avaliar o potencial mitigador do Se contra o Cd, também buscou avaliar as respostas da aplicação do Se contra o estresse provocado pelo Pb. Os autores observaram um aumento significativo da atividade da SOD e GPx (glutathione peroxidase) com a aplicação de 15 mg Se kg^{-1} , resposta obtida para ambos metais pesados. Além disso, a concentração de MDA, O_2^- e H_2O_2 foram diminuídas significativamente na

presença do Se, assim como as concentrações dos metais pesados na parte aérea, decréscimo de 84.3% e 66.3% para Cd e Pb, respectivamente. Saidi *et al.* (2014) aplicaram selenato de sódio no tratamento de sementes de girassol e depois submeteram as plântulas recém germinadas à uma solução contendo doses de Cd. Os autores observaram que o Se foi responsável por aliviar o estresse sofrido pelas plantas na presença do metal pesado, e essa tolerância foi mediada pela diminuição das concentrações de MDA e H₂O₂, suplementada pelo aumento da atividade de enzimas do complexo antioxidativo, como a SOD, a CAT e a APX, e ainda, diminuição de absorção e transporte do Cd pelas plantas.

O efeito mitigador do Se sobre o estresse abiótico não está somente relacionado aos metais pesados, mas também à temperatura (LIU *et al.*, 2021) e salinidade (DESOKY *et al.*, 2021; GHASEMIAN *et al.*, 2021). Em seu trabalho avaliando baixas temperaturas sobre a cultura do chá (*Camellia sinensis*), Liu *et al.* (2021) observaram que a aplicação de 2 mg g⁻¹ de selenito de sódio provocou diminuição da peroxidação lipídica nas folhas da espécie, além da diminuição das concentrações de H₂O₂ e do aumento da atividade da SOD, CAT e APX, aumentando assim, a tolerância das plantas ao frio. Desoky *et al.* (2021) submeteram o trigo a estresse salino e observaram que os tratamentos onde houve a aplicação de 8 µM de dicloreto de Se, as plantas apresentaram menor concentração de H₂O₂, além de maiores atividades de SOD e CAT. O trabalho também relata que além da maior tolerância ao sal, as plantas também apresentaram maiores concentrações de açúcares e maior produtividade. Já Ghasemian *et al.* (2021), avaliaram uma fonte de Se que vem chamando a atenção nos últimos anos, as Se-nanopartículas. Os autores fizeram a aplicação via foliar das nanopartículas de Se em plantas de erva-cidreira submetidas a altas doses de NaCl, e apresentaram dados de aumento das atividades da SOD e CAT, além da diminuição da peroxidação lipídica, a partir da constatação da diminuição da concentração de MDA nas folhas das plantas submetidas ao estresse salino (Tabela 1).

4. SELÊNIO NO METABOLISMO DE CARBOIDRATOS

Relatos na literatura trazem a ação benéfica do Se sobre o metabolismo de carboidratos (LIDON *et al.*, 2018; SILVA *et al.*, 2019), garantindo assim maior crescimento, produtividade e em muitos casos, aumento da tolerância frente ao estresse abiótico (SHAHID *et al.*, 2019)

Lara *et al.* (2019) (Tabela 1) aplicaram doses de selenato de sódio em seu experimento a campo na cultura do trigo e observaram aumento nas taxas do metabolismo de carboidratos em plantas fertilizadas com Se. Observou-se aumento significativo nas taxas de assimilação de carbono, na concentração de amido, sacarose e de açúcares totais, parâmetros que possivelmente foram os responsáveis pela maior produtividade apresentada pelas plantas tratadas com Se. Lidon *et al.* (2018) em seu experimento buscando a biofortificação do arroz a partir da aplicação de Se nas formas de selenato e selenito observaram efeito significativo para os 4 genótipos estudados (Tabela 1). A aplicação do selenato de sódio aumentou a concentração de rafinose, sacarose, frutose, glicose e açúcares totais em todos os genótipos estudados. Khalofah *et al.* (2021) aplicaram doses de selenito de sódio sobre plântulas de quinoa (Tabela 1) afim de avaliar as respostas bioquímicas provocadas pelo elemento no desenvolvimento da espécie. A concentração de açúcares totais foi aumentada de acordo com a elevação das doses (0 – 20 mg L⁻¹), sendo o tratamento com a aplicação de 20 mg L⁻¹ o responsável pela maior concentração de açúcares nas folhas da quinoa. Em relação às concentrações de MDA, H₂O₂, e atividades da SOD, CAT e APX, as melhores respostas vieram dos tratamentos com a aplicação de 2.5 e 5 mg L⁻¹ Se.

Turakainen *et al.* (2004) avaliaram o efeito da aplicação do selenato de sódio no desenvolvimento de folhas, raízes e tubérculos de batatas (Tabela 1). Maiores concentrações de açúcares totais solúveis foram encontradas nos diferentes órgãos após tratamento com Se, e a concentração de amido foi maior significativamente somente nos tubérculos, evidenciando o papel do Se no aumento das taxas de transporte de açúcares aos principais órgãos de reserva (OWUSU-SEKYERE *et al.*, 2013)

Zahedi *et al.* (2019) estudaram a aplicação do selenito de sódio e de nano-Se como forma de biofortificação da romã (Tabela 1), avaliando a possível influência do elemento no aumento da qualidade do fruto. Os autores não só observaram aumento da produtividade e concentração de clorofila, mas também aumento na concentração de açúcares totais, de antocianinas e compostos fenólicos no suco da fruta, como consequências, cascas com maiores espessuras e diminuição das rachaduras nos frutos foram observados, problema bem recorrente na região semi-árida do Irã. Os autores explicitam também a importância do aumento da concentração do elemento no suco das plantas fertilizadas, dado o problema de deficiência do Se na alimentação humana ao redor do mundo (DOS REIS *et al.*, 2017; LANZA; REIS, 2021).

Além dos trabalhos sobre biofortificação, diversos trabalhos trazem a relação entre o aumento de açúcares e aumento da tolerância frente a um estresse abiótico (AHMAD *et al.*, 2021; DESOKY *et al.*, 2021; LIU *et al.*, 2021; NAWAZ *et al.*, 2013; SHAHID *et al.*, 2019) (Tabela 1). Ahmad *et al.* (2021) avaliaram o poder de mitigação do estresse abiótico induzido pelo Se submetendo o falso-linho (*Camelina sativa*) e a canola (*Brassica napus*) ao estresse hídrico. Ambas espécies além de apresentarem maior produtividade e atividade antioxidante, também apresentaram maior concentração de açúcares quando fertilizadas com Se. Nawaz *et al.* (2013) avaliaram a ação do estresse hídrico no desenvolvimento de plântulas de trigo que tiveram as sementes tratadas com selenato de sódio e observaram maior crescimento e biomassa em plantas das duas cultivares tratadas com Se, além do aumento da concentração de açúcares totais e proteínas solúveis. Os autores concluíram que o tempo de tratamento das sementes e a concentração de Se adequados foram cruciais para as respostas bioquímicas e aumento da tolerância das plântulas ao déficit hídrico. Também foi observado aumento na concentração de açúcares totais na cultura do trigo submetido ao estresse salino, acompanhado de aumento da concentração de pigmentos fotossintéticos, das taxas fotossintéticas e finalmente produtividade, modificações essas provocadas pela aplicação de baixas concentrações de Se na forma de dicloreto de selênio (DESOKY *et al.*, 2021).

Em relação ao estresse provocado pela temperatura, Liu *et al.* (2021) observaram aumento na síntese de açúcares pela *Camellia sinensis* submetida a baixas temperaturas e fertilizadas com selenato de sódio, e relacionaram esse aumento da concentração de açúcares à tolerância ao frio apresentada pela espécie. Já Shahid *et al.* (2019), a partir de seus resultados, acreditam que a tolerância observada em plantas de batata submetidas a doses de Cd e As foi mediada pelo aumento das atividades do metabolismo de carboidratos e do nitrogênio provocados pela aplicação de selenato de sódio. As concentrações de amido, glicose, frutose, sacarose e açúcares totais foram maiores nas plantas tratadas com Se, e a resposta foi positiva para os tratamentos com ambos os metais pesados. Além disso, a absorção e concentração dos metais pesados pelas plantas foram diminuídas.

5. SELÊNIO NO METABOLISMO DE NITROGÊNIO

Há forte relação entre os produtos da fixação de carbono durante a fotossíntese e a eficiência do uso de nitrogênio (Figura 1) (BEATTY *et al.*, 2016; HAWKESFORD, 2011). O nitrogênio é essencial para o crescimento e manutenção do desenvolvimento vegetal, aumentando a síntese de pigmentos fotossintéticos e taxas da fotossíntese durante seu processo de assimilação, processos estes que podem ser aumentados pela ação do Se (MATEUS *et al.*, 2021; SILVA *et al.*, 2020).

Ríos *et al.* (2010b) (Tabela 1) aplicaram doses de selenato e selenito de sódio na alface com objetivo de avaliar a influência do Se sobre o metabolismo e assimilação de nitrogênio. Ambas as fontes de Se aumentaram a atividade da nitrato redutase (NRA), sendo necessária uma dose maior de Se na forma de selenito ($20 \mu\text{mol Se L}^{-1}$) para conseguir a mesma atividade da enzima provocada pelo selenato ($10 \mu\text{mol Se L}^{-1}$). O Se também aumentou a atividade das enzimas GS (glutamina sintase) e da GOGAT (glutamato sintase), importantes enzimas na transformação do amônio em aminoácidos e proteínas. O aumento na eficiência na assimilação do nitrogênio (aminoácidos + proteínas) indicam a potencialização das taxas de assimilação do nitrogênio provocadas pela aplicação de Se. Ríos *et al.*, (2010a) (Tabela 1) observaram que o Se aumentou a eficiência no uso do nitrogênio (NUE) em plantas de alface. Houve diminuição da concentração de nitrato nas folhas, sendo explicado pelo aumento da atividade da redutase do nitrato (RÍOS *et al.*, 2010b). A fonte selenato apresentou maior acúmulo de nitrogênio e uma maior concentração de Se nas plantas.

Lidon *et al.* (2018) em seu trabalho com a biofortificação com arroz (Tabela 1), Mateus *et al.* (2021) aplicando Se no café (Tabela 1), e Silva *et al.* (2020, 2019) avaliando doses de Se no feijão-caupi (Tabela 1) encontraram resultados interessantíssimos mostrando não somente um aumento do acúmulo de Se, mas também aumento de concentração de proteínas nos grãos. Resultados que mostram mais uma vez a forte relação entre a aplicação do Se com o aumento da assimilação do N, e nesses casos, maior redirecionamento de compostos nitrogenados para os grãos.

Já em relação ao aumento do metabolismo de nitrogênio em plantas sob estresse abiótico, Shahid *et al.* (2019) observaram aumento da atividade da redutase do nitrato e redutase nitrito em plantas submetidas a doses de Cd e As e fertilizadas com Se. O aumento da biomassa, suplementados pelos dados de aumento das taxas fotossintéticas, maior acúmulo de açúcares e assimilação de N ajudaram no aumento da tolerância da batata aos metais pesados.

6. CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS FUTURAS

A fertilização com Se em baixas concentrações (até 50 g ha⁻¹) é responsável por uma vasta lista de modificações morfofisiológicas benéficas no metabolismo vegetal, principalmente pelo aumento dos conteúdos de pigmentos fotossintéticos, taxas de fotossíntese, acúmulo de açúcares e aumento das taxas de assimilação de N. O aumento de biomassa e acúmulo de açúcares aliados ao controle da peroxidação lipídica e concentração de ERO no meio intracelular garantem ao Se um papel benéfico na mitigação do estresse provocados por vários agentes abióticos.

Um tópico importante quando se menciona o Se, é seu status de deficiência na alimentação humana e o problema de saúde global que isso acarreta devido ao fato do elemento ser um elemento essencial ao metabolismo do ser humano. Vê-se assim a importância da continuação de trabalhos de biofortificação agrônômica com Se visando índices adequados na alimentação humana. Trabalhos com a cultura do arroz, com o café e com o feijão-caupi, culturas mundialmente consumidas, onde observou-se aumento na concentração de Se nos grãos a partir da fertilização das plantas com o elemento, mostram como a biofortificação de grandes culturas com o Se tende a ter um futuro brilhante. Informações suplementadas por outros trabalhos, como os que observaram aumento da concentração de Se em pera, no suco da romã e nos tubérculos da batata.

Assim, visando as importantes respostas bioquímicas, fisiológicas, na produtividade e no aumento da qualidade dos produtos agrícolas aliados a novas tecnologias, como a utilização de nanopartículas de Se, e o aumento de trabalhos de biofortificação, o conhecimento acerca do efeito benéfico do Se sobre as mais variadas espécies vegetais ao redor do mundo tende a aumentar visando beneficiar a saúde humana.

REFERÊNCIAS

- AHMAD, Z. *et al.* Selenium alleviates the adverse effect of drought in oilseed crops camelina (*Camelina sativa* L.) and canola (*Brassica napus* L.). **Molecules**, Basel, v. 26, n. 6, p. 1699, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules26061699>
- ALVES, L. R.; ROSSATTO, D. R.; ROSSI, M. L.; MARTINELLI, A. P.; GRATÃO, P. L. Selenium improves photosynthesis and induces ultrastructural changes but does not alleviate cadmium-stress damages in tomato plants. **Protoplasma**, Wien, v. 257, n. 2, p.

597–605, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00709-019-01469-w>

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. dos. Selenium protects rice plants from water deficit stress. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Philadelphia, v. 164, p. 562–570, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.08.022>

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**, Beijing, v. 5, n. 1, p. 156–161, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.inpa.2017.09.003>

BEATTY, P.; KLEIN, M.; FISCHER, J.; LEWIS, I.; MUENCH, D.; GOOD, A. Understanding plant nitrogen metabolism through metabolomics and computational approaches. **Plants**, Basel, v. 5, n. 4, p. 39, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/plants5040039>

CHEN, T.-F.; ZHENG, W.-J.; WONG, Y.-S.; YANG, F. Selenium-induced changes in activities of antioxidant enzymes and content of photosynthetic pigments in *Spirulina platensis*. **Journal of Integrative Plant Biology**, Richmond, v. 50, n. 1, p. 40–48, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1744-7909.2007.00600.x>

D'AMATO, R.; REGNI, L.; FALCINELLI, B.; MATTIOLI, S.; BENINCASA, P.; DAL BOSCO, A.; PACHECO, P.; PROIETTI, P.; TRONI, E.; SANTI, C.; BUSINELLI, D. Current knowledge on selenium biofortification to improve the nutraceutical profile of food: a comprehensive review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 68, n. 14, p. 4075–4097, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c00172>

DESOKY, E.-S. M.; MERWAD, A.-R. M. A.; ABO EL-MAATI, M. F.; MANSOUR, E.; ARNAOUT, S. M. A. I.; AWAD, M. F.; RAMADAN, M. F.; IBRAHIM, S. A. Physiological and biochemical mechanisms of exogenously applied selenium for alleviating destructive impacts induced by salinity stress in bread wheat. **Agronomy**, Basel, v. 11, n. 5, p. 926, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/agronomy11050926>

DHINDSA, R. S.; PLUMB-DHINDSA, P.; THORPE, T. A. Leaf Senescence: Correlated with Increased Levels of Membrane Permeability and Lipid Peroxidation, and Decreased Levels of Superoxide Dismutase and Catalase. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 32, n. 1, p. 93–101, 1981. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jxb/32.1.93>

DHINDSA, R. S.; PLUMB-DHINDSA, P. L.; REID, D. M. Leaf senescence and lipid peroxidation: Effects of some phytohormones, and scavengers of free radicals and singlet oxygen. **Physiologia Plantarum**, Hokoben, v. 56, n. 4, p. 453–457, 1982.

DJANAGUIRAMAN, M.; DEVI, D. D.; SHANKER, A. K.; SHEEBA, J. A.; BANGARUSAMY, U. Selenium – an antioxidative protectant in soybean during senescence. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 272, n. 1, p. 77–86, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11104-004-4039-1>

DJANAGUIRAMAN, M.; PRASAD, P. V. V.; SEPPANEN, M. Selenium protects sorghum leaves from oxidative damage under high temperature stress by enhancing antioxidant defense system. **Plant Physiology and Biochemistry**, Issy les Moulineaux Cedex, v. 48, n. 12, p. 999–1007, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.09.009>

DONG, J. Z.; WANG, Y.; WANG, S. H.; YIN, L. P.; XU, G. J.; ZHENG, C.; LEI, C.; ZHANG, M. Z. Selenium increases chlorogenic acid, chlorophyll and carotenoids of *Lycium chinense* leaves. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Oxford, v. 93, n. 2, p. 310–315, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jsfa.5758>

DOS 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, H. E.; LIN, Z. Q. **Selenium in plants**. New York: Springer, 2017. p. 209–230. *E-book*. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-3-319-56249-0_13

FENG, R.; WEI, C.; TU, S. The roles of selenium in protecting plants against abiotic stresses. **Environmental and Experimental Botany**, Amsterdam, v. 87, p. 58–68, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2012.09.002>

GHASEMIAN, S.; MASOUDIAN, N.; SAEID NEMATPOUR, F.; SAFIPOUR AFSHAR, A. Selenium nanoparticles stimulate growth, physiology, and gene expression to alleviate salt stress in *Melissa officinalis*. **Biologia**, Lahore, v. 76, n. 10, p. 2879–2888, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11756-021-00854-2>

GRAHAM, R. D. *et al.* Nutritious subsistence food systems. In: SPARKS, D. L. B. T.-A. (org.). **Advances in agronomy**. New York: Academic Press, 2007. v. 92, p. 1–74. *E-book*. Disponível em: [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(04\)92001-9](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0065-2113(04)92001-9)

GROTH, S.; BUDKE, C.; NEUGART, S.; ACKERMANN, S.; KAPPENSTEIN, F.-S.; DAUM, D.; ROHN, S. Influence of a selenium biofortification on antioxidant properties and phenolic compounds of apples (*Malus domestica*). **Antioxidants**, Basel, v. 9, n. 2, p. 187, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/antiox9020187>

HAGHIGHI, M.; SHEIBANIRAD, A.; PESSARAKLI, M. Effects of selenium as a beneficial element on growth and photosynthetic attributes of greenhouse cucumber. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 39, n. 10, p. 1493–1498, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/01904167.2015.1109116>

HARRIS, J.; SCHNEBERG, K. A.; PILON-SMITS, E. A. H. Sulfur–selenium–molybdenum interactions distinguish selenium hyperaccumulator *Stanleya pinnata* from non-hyperaccumulator *Brassica juncea* (Brassicaceae). **Planta**, Heidelberg, v. 239, n. 2, p. 479–491, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00425-013-1996-8>

HASANUZZAMAN, M.; BHUYAN, M. H. M. B.; RAZA, A.; HAWRYLAK-NOWAK, B.; MATRASZEK-GAWRON, R.; MAHMUD, J. Al; NAHAR, K.; FUJITA, M. Selenium in plants: Boon or bane? **Environmental and Experimental Botany**, Amsterdam, v. 178, p. 104170, 2020 a. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2020.104170>

HASANUZZAMAN, M.; BHUYAN, M. H. M. B.; ZULFIQAR, F.; RAZA, A.;

MOHSIN, S. M.; MAHMUD, J. Al; FUJITA, M.; FOTOPOULOS, V. Reactive oxygen species and antioxidant defense in plants under abiotic stress: revisiting the crucial role of a universal defense regulator. **Antioxidants**, Basel, v. 9, n. 8, p. 681, 2020 b. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/antiox9080681>

HAWKESFORD, M. J. An overview of nutrient use efficiency and strategies for crop improvement. In: HAWKESFORD, M. J.; BARRACLOUGH, P. **The molecular and physiological basis of nutrient use efficiency in crops**. Oxford: Wiley-Blackwell, 2011. p. 3–19. *E-book*. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/9780470960707.ch1>

JIANG, C.; ZU, C.; SHEN, J.; SHAO, F.; LI, T. Effects of selenium on the growth and photosynthetic characteristics of flue-cured tobacco (*Nicotiana tabacum* L.). **Acta Societatis Botanicorum Poloniae**, Warsaw, v. 84, n. 1, p. 71–77, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.5586/asbp.2015.006>

KHALOFAH, A.; MIGDADI, H.; EL-HARTY, E. Antioxidant Enzymatic Activities and Growth Response of Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) to Exogenous Selenium Application. **Plants**, Heidelberg, v. 10, n. 4, p. 719, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/plants10040719>

LANZA, M. G. D. B.; REIS, A. R. dos. Roles of selenium in mineral plant nutrition: ROS scavenging responses against abiotic stresses. **Plant Physiology and Biochemistry**, Issy les Moulineaux Cedex, v. 164, p. 27–43, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.04.026>

LANZA, M. G. D. B.; SILVA, V. M.; MONTANHA, G. S.; LAVRES, J.; PEREIRA DE CARVALHO, H. W.; REIS, A. R. dos. 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**, Philadelphia, v. 207, p. 111216, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111216>

LARA, T. S.; LESSA, J. H. de L.; DE 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**, Maryland Heights, v. 81, p. 10–18, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2019.05.002>

LIDON, F. C. *et al.* Selenium biofortification of rice grains and implications on macronutrients quality. **Journal of Cereal Science**, London, v. 81, p. 22–29, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2018.03.010>

LIN, L.; ZHOU, W.; DAI, H.; CAO, F.; ZHANG, G.; WU, F. Selenium reduces cadmium uptake and mitigates cadmium toxicity in rice. **Journal of Hazardous Materials**, Amsterdam, v. 235–236, p. 343–351, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2012.08.012>

LIU, K.; LI, S.; HAN, J.; ZENG, X.; LING, M.; MAO, J.; LI, Y.; JIANG, J. Effect of selenium on tea (*Camellia sinensis*) under low temperature: changes in physiological and biochemical responses and quality. **Environmental and Experimental Botany**, Amsterdam, v. 188, p. 104475, 2021. Disponível em:

<https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2021.104475>

LUO, H.; HE, L.; DU, B.; PAN, S.; MO, Z.; DUAN, M.; TIAN, H.; TANG, X. Biofortification with chelating selenium in fragrant rice: Effects on photosynthetic rates, aroma, grain quality and yield formation. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 255, p. 107909, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2020.107909>

MALIK, J. A. *et al.* Promotion of growth in mungbean (*Phaseolus aureus* Roxb.) by selenium is associated with stimulation of carbohydrate metabolism. **Biological Trace Element Research**, Heidelberg, v. 143, n. 1, p. 530–539, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12011-010-8872-1>

MATEUS, M. P. de B.; TAVANTI, R. F. R.; GALINDO, F. S.; SILVA, A. C. da R.; GOUVEIA, G. C. C.; APARECIDO, C. F. F.; CARR, N. F.; FEITOSA, Y. B.; SANTOS, E. F.; LAVRES, J.; REIS, A. R. dos. *Coffea arabica* seedlings genotypes are tolerant to high induced selenium stress: Evidence from physiological plant responses and antioxidative performance. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Philadelphia, v. 203, p. 111016, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111016>

MATEUS, M. P. de B.; TAVANTI, R. F. R.; TAVANTI, T. R.; SANTOS, E. F.; JALAL, A.; REIS, A. R. dos. Selenium biofortification enhances ROS scavenge system increasing yield of coffee plants. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Philadelphia, v. 209, p. 111772, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111772>

MOGHADDAM, A. *et al.* Selenium deficiency is associated with mortality risk from COVID-19. **Nutrients**, Basel, v. 12, n. 7, p. 2098, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/nu12072098>

NAWAZ, F.; ASHRAF, M. Y.; AHMAD, R.; WARAICH, E. A. Selenium (Se) seed priming induced growth and biochemical changes in wheat under water deficit conditions. **Biological Trace Element Research**, Heidelberg, v. 151, n. 2, p. 284–293, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12011-012-9556-9>

ONG, A. S. H.; TEE, E. S. [14] Natural sources of carotenoids from plants and oils. **Methods in Enzymology**, San Diego, v. 213, p. 142–167, 1992. *E-book*. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(92\)13118-H](https://doi.org/10.1016/0076-6879(92)13118-H)

OWUSU-SEKYERE, A.; KONTTURI, J.; HAJIBOLAND, R.; RAHMAT, S.; ALIASGHARZAD, N.; HARTIKAINEN, H.; SEPPÄNEN, M. M. Influence of selenium (Se) on carbohydrate metabolism, nodulation and growth in alfalfa (*Medicago sativa* L.). **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 373, n. 1–2, p. 541–552, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11104-013-1815-9>

RÍOS, J. J.; BLASCO, B.; CERVILLA, L. M.; ROSALES, M. A.; SANCHEZ-RODRIGUEZ, E.; ROMERO, L.; RUIZ, J. M. Production and detoxification of H₂O₂ in lettuce plants exposed to selenium. **Annals of Applied Biology**, Chichester, v. 154, n. 1, p. 107–116, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2008.00276.x>

RÍOS, J. J.; BLASCO, B.; CERVILLA, L. M.; RUBIO-WILHELMI, M. M.; ROSALES, M. A.; SANCHEZ-RODRIGUEZ, E.; ROMERO, L.; RUIZ, J. M.

Nitrogen-use efficiency in relation to different forms and application rates of se in lettuce plants. **Journal of Plant Growth Regulation**, New York, v. 29, n. 2, p. 164–170, 2010 a. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00344-009-9130-7>

RÍOS, J. J.; BLASCO, B.; LEYVA, R.; SANCHEZ-RODRIGUEZ, E.; RUBIO-WILHELMI, M. M.; ROMERO, L.; RUIZ, J. M. Nutritional balance changes in lettuce plant grown under different doses and forms of Selenium. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 36, n. 9, p. 1344–1354, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/01904167.2013.790427>

RIOS, J. J.; BLASCO, B.; ROSALES, M. A.; SANCHEZ-RODRIGUEZ, E.; LEYVA, R.; CERVILLA, L. M.; ROMERO, L.; RUIZ, J. M. Response of nitrogen metabolism in lettuce plants subjected to different doses and forms of selenium. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Oxford, v. 90, n. 11, p. 1914–1919, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jsfa.4032>

RÍOS, J. J.; BLASCO, B.; ROSALES, M. A.; SANCHEZ-RODRIGUEZ, E.; LEYVA, R.; CERVILLA, L. M.; ROMERO, L.; RUIZ, J. M. Response of nitrogen metabolism in lettuce plants subjected to different doses and forms of selenium. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Oxford, v. 90, n. 11, p. 1914–1919, 2010 b. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jsfa.4032>

RÍOS, J. J.; ROSALES, M. A.; BLASCO, B.; CERVILLA, L. M.; ROMERO, L.; RUIZ, J. M. Biofortification of Se and induction of the antioxidant capacity in lettuce plants. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 116, n. 3, p. 248–255, 2008. Disponível em: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scienta.2008.01.008>

SAIDI, I.; CHTOUROU, Y.; DJEBALI, W. Selenium alleviates cadmium toxicity by preventing oxidative stress in sunflower (*Helianthus annuus*) seedlings. **Journal of Plant Physiology**, Muenchem, v. 171, n. 5, p. 85–91, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2013.09.024>

SCHIAVON, M.; NARDI, S.; DALLA VECCHIA, F.; ERTANI, A. Selenium biofortification in the 21st century: status and challenges for healthy human nutrition. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 453, n. 1–2, p. 245–270, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11104-020-04635-9>

SCHWARZ, K.; FOLTZ, C. M. Selenium as an integral part of factor 3 against dietary necrotic liver degeneration. **Journal of the American Chemical Society**, Washington, v. 79, n. 12, p. 3292–3293, 1957. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/ja01569a087>

SEREGINA, I. I.; NILOVSKAYA, N. T.; OSTAPENKO, N. O. The role of selenium in the formation of the grain yield in spring wheat. **Agrokhimiya**, Moscow, v. 1, p. 44–50, 2001.

SHAHID, M. A.; BALAL, R. M.; KHAN, N.; ZOTARELLI, L.; LIU, G. D.; SARKHOSH, A.; FERNÁNDEZ-ZAPATA, J. C.; MARTÍNEZ NICOLÁS, J. J.; GARCIA-SANCHEZ, F. Selenium impedes cadmium and arsenic toxicity in potato by modulating carbohydrate and nitrogen metabolism. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Philadelphia, v. 180, p. 588–599, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.05.037>

SILVA, V. M. *et al.* 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**, Oxford, v. 99, n. 13, p. 5969–5983, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jsfa.9872>

SILVA, V. M.; RIMOLDI TAVANTI, R. F.; GRATÃO, P. L.; ALCOCK, T. D.; REIS, A. R. dos. Selenate and selenite affect photosynthetic pigments and ROS scavenging through distinct mechanisms in cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) walp) plants. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Philadelphia, v. 201, p. 110777, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110777>

STAHL, W.; SIES, H. Antioxidant activity of carotenoids. **Molecular Aspects of Medicine**, Oxford, v. 24, n. 6, p. 345–351, 2003. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0098-2997\(03\)00030-X](https://doi.org/10.1016/S0098-2997(03)00030-X)

STROTHER, S. The Role of Free Radicals in Leaf Senescence. **Gerontology**, Basel, v. 34, n. 3, p. 151–156, 1988. Disponível em: <https://doi.org/10.1159/000212945>

SUN, X.; WANG, Y.; HAN, G.; YE, S.; ZHOU, X. Effects of different selenium forms on selenium accumulation, plant growth, and physiological parameters of wild peach. **South African Journal of Botany**, Amsterdam, v. 131, p. 437–442, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.03.038>

SWAPNIL, P.; MEENA, M.; SINGH, S. K.; DHULDHAJ, U. P.; HARISH; MARWAL, A. Vital roles of carotenoids in plants and humans to deteriorate stress with its structure, biosynthesis, metabolic engineering and functional aspects. **Current Plant Biology**, Amsterdam, v. 26, p. 100203, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cpb.2021.100203>

TERRY, N.; ZAYED, A. M.; DE SOUZA, M. P.; TARUN, A. S. SELENIUM IN HIGHER PLANTS. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 51, p. 401–432, 2000. Disponível em: <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.51.1.401>

TURAKAINEN, M.; HARTIKAINEN, H.; SEPPÄNEN, M. M. Effects of selenium treatments on potato (*Solanum tuberosum* L.) growth and concentrations of soluble sugars and starch. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 52, n. 17, p. 5378–5382, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/jf040077x>

WHITE, P. J. Selenium metabolism in plants. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects**, Amsterdam, v. 1862, n. 11, p. 2333–2342, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2018.05.006>

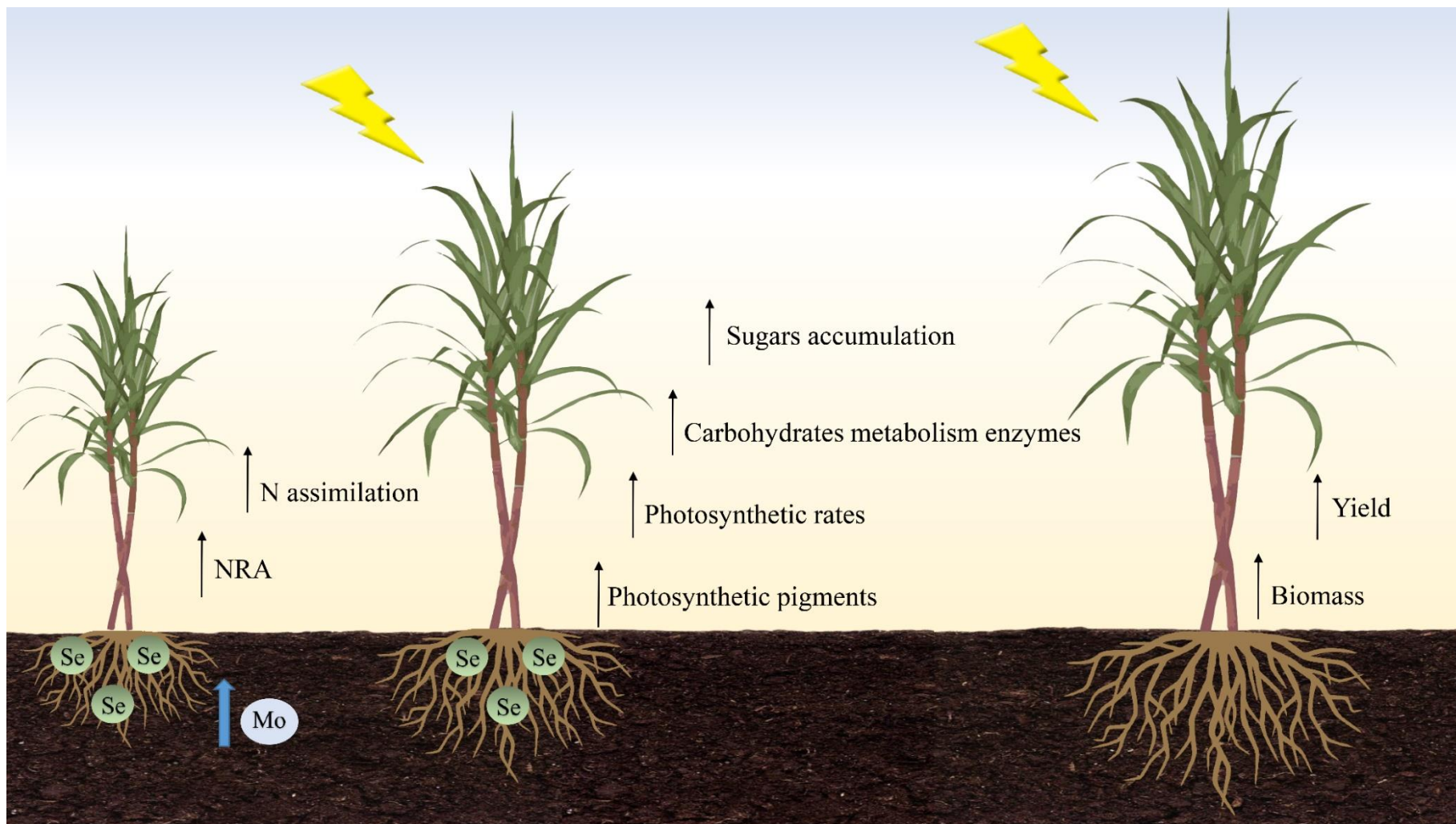
WU, Z.; YIN, X.; BAÑUELOS, G. S.; LIN, Z.-Q.; LIU, Y.; LI, M.; YUAN, L. Indications of selenium protection against cadmium and lead toxicity in oilseed rape (*Brassica napus* L.). **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 7, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01875>

ZAHEDI, S. M.; HOSSEINI, M. S.; DANESHVAR HAKIMI MEYBODI, N.; TEIXEIRA DA SILVA, J. A. Foliar application of selenium and nano-selenium affects pomegranate (*Punica granatum* cv. Malase Saveh) fruit yield and quality. **South African Journal of Botany**, Amsterdam, v. 124, p. 350–358, 2019. Disponível em:

<https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.05.019>

ZIMMERMANN, P.; ZENTGRAF, U. The correlation between oxidative stress and leaf senescence during plant development. **Cellular & Molecular Biology Letters**, London, v. 10, n. 3, p. 515–534, 2005.

Figura 1. Respostas gerais da aplicação do Se sobre o metabolismo do nitrogênio e de carboidratos.



Fonte: O próprio autor

Tabela 1: Respostas da aplicação do Se sobre diferentes fontes no desenvolvimento vegetativo, produtividade, controle da peroxidação lipídica, atividade antioxidante, metabolismo do N e de carboidratos. (continua)

Species	Source and doses of Se	Trial	Se concentration	Growth	Yield	MDA	H ₂ O ₂	SOD	CAT	APX	Protein	Sugars	Genotypes or populations	Tissue	Reference
<i>Brassicca napus</i>	75 µM seed priming and 7.06 µM foliar application	Field (under drought stress)	-	↑	↑	-	-	↑	↑	↑	↑	↑	n = 2	Colza leaves	Ahmad et al. (2021)
<i>Brassicca napus</i>	0, 2.5, 5, 10, 15 and 20 µM L ⁻¹	Greenhouse (under Cr toxicity)	6 - 18 mg kg ⁻¹ DW	↑	-	↓	↓	↑	↑	↑	-	-	n = 1	Colza leaves	Ulhasan et al. (2019)
<i>Brassicca napus</i>	0, 1, 5, 10, 15 and 20 mg kg ⁻¹ sodium selenite	Greenhouse (under Cd toxicity)	0.1 - 30 mg kg ⁻¹	-	-	↓	↓	↑	-	-	-	-	n = 1	Colza leaves	Wu et al. (2016)
<i>Brassicca napus</i>	0, 1, 5, 10, 15 and 20 mg kg ⁻¹ sodium selenite	Greenhouse (under Pb toxicity)	0.1 - 30 mg kg ⁻¹	-	-	↓	↓	↑	-	-	-	-	n = 1	Colza leaves	Wu et al. (2016)
<i>Camelina sativa</i>	75 µM seed priming and 7.06 µM foliar application	Field (under drought stress)	-	↑	↑	-	-	↑	↑	↑	↑	↑	n = 2	Camelina leaves	Ahmad et al. (2021)
<i>Camellia sinensis</i>	0 and 2 mg mL ⁻¹ sodium selenite	Hydroponics (under cold stress)	-	-	-	↓	↓	↑	↑	↑	-	↑	n = 1	Tea leaves	Liu et al. (2021)
<i>Chenopodium quinoa</i>	2.5, 5, 10 and 20 mg L ⁻¹ sodium selenite	Greenhouse	-	↑	-	↓	↓	↑	↑	↑	-	↑	n = 1	Quinoa leaves	Khalofah et al. (2021)

<i>Coffea arabica</i>	0, 10, 20, 40, 80, 120 and 160 mg L ⁻¹ sodium selenate	Greenhouse		0.5 - 5.8 mg kg ⁻¹	↑	↑	↑	↑	↓	↓	↑	↑	n = 1	Coffee leaves	Mateus et al. (2021)
<i>Coffea arabica</i>	0, 10, 20, 40, 80, 120 and 160 mg L ⁻¹ sodium selenate	Greenhouse		0.2 - 2.8 mg kg ⁻¹	↑	↑	↑	↑	-	-	-	-	n = 1	Coffee grains	Mateus et al. (2021)
<i>Coffea arabica</i>	0 and 1.0 mmol L ⁻¹	Hydroponics (Se high dosis)	1.0 - 400 mg kg ⁻¹	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	-	-	n = 5	Coffe leaves	Mateus et al. (2020)
<i>Coffea arabica</i>	0 and 1.0 mmol L ⁻¹	Hydroponics (Se high dosis)	2.0 - 850 mg kg ⁻¹	↑	-	-	-	-	-	-	-	-	n = 5	Coffe roots	Mateus et al. (2020)
<i>Cucumis sativus</i>	0, 4, 6 and 8 mg L ⁻¹ sodium selenate	Hydroponics (under Cd toxicity)	-	↑	↑	-	-	-	-	-	-	-	n = 1	Cucumber	Shekari et al. (2019)
<i>Cucumis sativus</i>	0, 4, 6 and 8 mg L ⁻¹ sodium selenate	Hydroponics (under Pb toxicity)	-	↑	↑	-	-	-	-	-	-	-	n = 1	Cucumber	Shekari et al. (2019)
<i>Glycine max</i>	0 and 50 ppm sodium selenate	Greenhouse	0.1 - 0.3 µg g ⁻¹ DW	↑	-	↓	↓	↑	ns	-	-	-	n = 1	Soybean leaves	Djanaguirama n et al. (2005)
<i>Helianthus annuus</i>	0, 5, 10 and 20 µM sodium selenate (pretreatment seeds)	Growth chamber (under Cd toxicity)	-	↑	-	↓	↓	↓	↑	↑	-	-	n = 1	Sunflower leaves	Saidi et al. (2014)
<i>Lactuca sativa</i>	5, 10, 20, 40, 60, 80 and 120 µM L ⁻¹ sodium selenate and sodium selenite	Greenhouse	-	↑	-	-	-	-	-	-	↑	-	n = 1	Lettuce leaves	Ríos et al. (2010b)
<i>Lactuca sativa</i>	5, 10, 20, 40, 60, 80 and 120	Greenhouse	0.1 - 44 mg K ⁻¹	↑	-	-	-	-	-	-	↑	-	n = 2	Lettuce leaves	Ríos et al. (2010a)

<i>Lactuca sativa</i> <i>cv. Philipus</i>	µM L ⁻¹ sodium selenate and sodium selenite 5, 10, 20, 40, 60, 80 and 120	Greenhouse	2.0 - 42 mg kg ⁻¹	↓	↓	↑	↑	↑	ns	↑	-	-	n = 1	Lettuce leaves	Ríos et al. (2009)
<i>Lactuca sativa</i> <i>cv. Philipus</i>	µM L ⁻¹ sodium selenate and sodium selenite 5, 10, 20, 40, 60, 80 and 120	Greenhouse	2.0 - 42 mg kg ⁻¹	↓	↓	↑	-	-	-	-	-	-	n = 1	Lettuce leaves	Ríos et al. (2008)
<i>Malus domestica</i>	µM L ⁻¹ sodium selenate and sodium selenite 0.075 and 0.15 kg ha ⁻¹ per m CH	Field	2.0 - 56 µg kg-1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	n = 2	Apple leaves	Groth et al. (2020)
<i>Medicago sativa</i>	sodium selenate and sodium selenite 2, 5 and 10 µM sodium selenate	Field	0.2 - 0.6 mg kg ⁻¹	↑	↑	-	-	-	-	-	-	-	n = 1	Alfafa shoot	Motesharezadeh et al. (2020)
<i>Melissa officinalis</i>	0, 50 and 100 mg L ⁻¹ nano-Se	Greenhouse (under salt stress)	-	↑	-	↓	-	↑	↑	-	-	-	n = 1	Lemon balm leaves	Ghasemian et al. (2021)
<i>Nicotiana tabacum</i>	0, 3, 6, 12, 24 mg kg ⁻¹ sodium selenite		1.76 - 179.3 mg kg ⁻¹	↑	↑	↓	-	-	-	-	-	-	n = 1	Tobacco leaves	Jiang et al. (2015)
<i>Oryza sativa</i>	0, 4, 20, 30, 60, 120, 180 and 300 g ha ⁻¹ sodium selenate	Field	0.05 - 35 mg kg ⁻¹	-	↑	-	-	-	-	↑	-	↑	n = 4	Rice grains	Lidon et al. (2018)

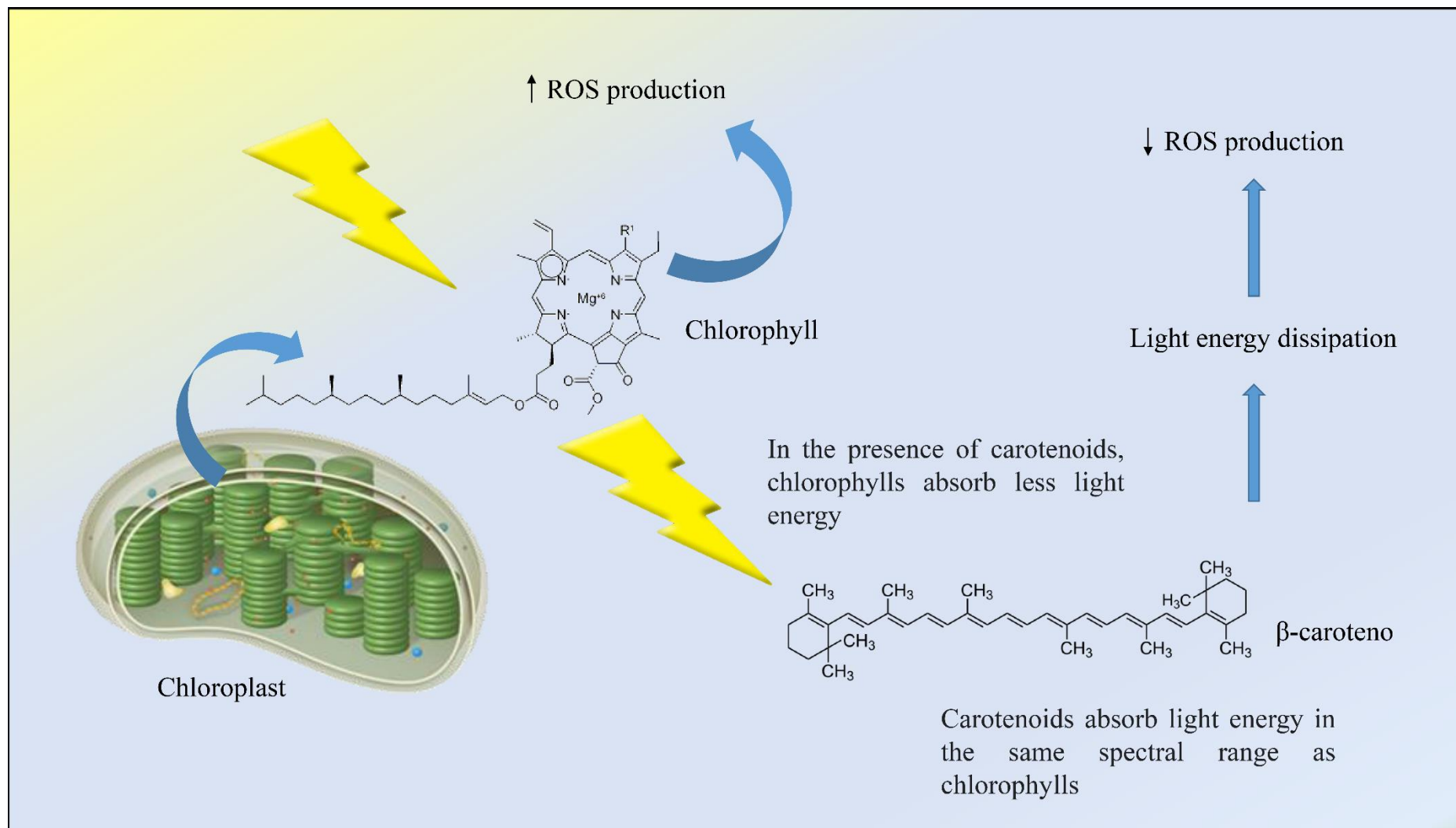
<i>Oryza sativa</i>	and sodium selenite 0 and 1.5 mM sodium selenate	Greenhouse	0.5 - 5 mg kg ⁻¹	↑	-	↑	↑	↑	↑	↑	-	↑	n = 4	Rice shoot	Cabral Gouveia et al. (2020)
<i>Oryza sativa</i>	0 and 1.5 mM sodium selenate	Greenhouse	1.0 - 12 mg kg ⁻¹	↑	-	-	-	-	-	-	-	-	n = 4	Rice root	Cabral Gouveia et al. (2020)
<i>Oryza sativa</i>	3 µM sodium selenate	Hydroponics (under Cd toxicity)	5.5 - 50 µg g ⁻¹ DW	↓	↓	-	-	↓	↑	↑	-	-	n = 1	Rice leaves	Lin et al. (2012)
<i>Oryza sativa</i>	0, 0.5, 1.0 and 2.0 mg kg ⁻¹ sodium selenate	Greenhouse (under drought stress)	-	↑	-	-	↓	↑	ns	ns	-	-	n = 1	Rice leaves	Andrade et al. (2018)
<i>Prunus persica</i>	1.0 mg kg ⁻¹ selenomethionine, powder, sodium selenate and sodium selenite	Greenhouse	0.1 - 17.5 mg kg ⁻¹	↑	↑	↓	-	-	-	-	-	ns	n = 1	Wild peach leaves	Sun et al. (2020)
<i>Punica granatum</i>	1 and 2 µM sodium selenite and nano-Se	Field	0.7 - 2.6 µg g ⁻¹ DW	↑	↑	-	-	-	-	-	-	-	n = 1	Pomegranate leaves	Zahedi and Hosseini (2019)
<i>Punica granatum</i>	1 and 2 µM sodium selenite and nano-Se	Field	0.7 - 2.6 µg g ⁻¹ DW	↑	↑	-	-	-	-	-	-	↑	n = 1	Pomegranate juice	Zahedi and Hosseini (2019)
<i>Solanum lycopersicum</i>	1; 5 and 10 µM L ⁻¹ sodium selenate	Greenhouse		↑	-	↓	↓	↑	ns	↑	-	-	n = 1	Tomato	Alves et al. (2020)
<i>Solanum tuberosum</i>	0, 0.75, 1.5, 3.0 and 5.0 mg kg ⁻¹ sodium selenate	Greenhouse	0.5 - 5.0 mg kg ⁻¹	↑	↑	-	-	↑	↑	↑	-	-	n = 1	Potato shoot	Oliveira et al (2019)

<i>Solanum tuberosum</i>	and sodium selenite 0 and 9 $\mu\text{M L}^{-1}$ sodium selenate	Greenhouse (under Cd and As toxicity)	0.2 - 0.9 $\mu\text{g g}^{-1}$ DW	-	-	↓	↓	-	-	-	-	↑	n = 1	Potato	Shahid et al. (2019)
<i>Solanum tuberosum</i>	0, 0.075, 0.3 mg kg^{-1} sodium selenate	Greenhouse	0.1 - 85 $\mu\text{g g}^{-1}$ DW	↑	-	-	-	-	-	-	-	↑	n = 1	Potato leaves	Turakainen et al. (2014)
<i>Solanum tuberosum</i>	0, 0.075, 0.3 mg kg^{-1} sodium selenate	Greenhouse	0.1 - 39 $\mu\text{g g}^{-1}$ DW	↑	↑	-	-	-	-	-	-	↑	n = 1	Potato stolons	Turakainen et al. (2014)
<i>Solanum tuberosum</i>	0, 0.075, 0.3 mg kg^{-1} sodium selenate	Greenhouse	0.1 - 32 $\mu\text{g g}^{-1}$ DW	↑	-	-	-	-	-	-	-	↑	n = 1	Potato roots	Turakainen et al. (2014)
<i>Sorghum bicolor</i>	75 mg L^{-1} sodium selenate	Greenhouse (under HT stress)	1.0 - 29 $\mu\text{g kg}^{-1}$	↑	↑	↓	↓	↑	↑	-	-	-	n = 1	Sorghum leaves	Djanaguirama n et al. (2010)
<i>Triticum aestivum</i>	0, 12, 21, 38, 68 and 120 g ha^{-1} sodium selenate	Field	0.1 - 2.3 mg kg^{-1} DW	↑	↑	ns	ns	ns	ns	↑	-	↑	n = 1	Wheat shoot	Lara et al. (2020)
<i>Triticum aestivum</i>	2, 4 and 8 μM selenium dichloride	Greenhouse (under salt stress)	-	↑	↑	-	↓	↑	↑	-	-	↑	n = 1	Wheat leaves	Desoky et al (2021)
<i>Triticum aestivum</i>	0, 25, 50, 75, and 100 μM sodium selenate	Greenhouse (under drought stress)	-	↑	-	-	-	-	-	-	-	↑	n = 4	Wheat leaves	Nawaz et al. (2013)
<i>Vigna unguiculata (L.) walp</i>	0, 2.5, 5, 10, 20, 40 and 60 g ha^{-1} sodium selenate and sodium selenite	Field	0.1 - 0.8 mg kg^{-1} DW	-	↑	-	-	-	-	-	-	-	n = 1	Bean grains	Silva et al. (2019)

<i>Vigna unguiculata (L.) walp</i>	0, 2.5, 5, 10, 20, 40 and 60 g ha ⁻¹ sodium selenate and sodium selenite	Field	0.1 - 0.5 mg kg ⁻¹ DW	-	-	-	-	-	-	-	-	-	n = 1	Cowpea leaves	Silva et al. (2019)
<i>Vigna unguiculata (L.) walp</i>	0, 2.5, 5, 10, 20, 40 and 60 g ha ⁻¹ sodium selenate and sodium selenite	Field	-	-	-	↓	↓	-	↑	↑	↑	↑	n = 1	Cowpea leaves	Silva et al. (2020)
<i>Vigna unguiculata (L.) walp</i>	0 and 12.5 µg kg ⁻¹ sodium selenate	Field	500 - 2500 µg kg ⁻¹	↑	↑	-	-	-	-	-	↑	-	n = 29	Cowpea grains	Silva et al. (2021)
<i>Vigna unguiculata (L.) walp</i>	0 and 12.5 µg kg ⁻¹ sodium selenate	Field	250 - 1250 µg kg ⁻¹	↑	-	-	-	-	-	-	-	-	n = 29	Cowpea leaves	Silva et al. (2021)
<i>Vigna unguiculata (L.) walp</i>	0, 10, 25, 50, 100 and 150 g ha ⁻¹ sodium selenate	Field	0.1 - 18 mg kg ⁻¹	-	-	-	-	-	-	-	-	-	n = 1	Cowpea grains	Lanza et al. (2021)
<i>Vigna unguiculata (L.) walp</i>	0, 10, 25, 50, 100 and 150 g ha ⁻¹ sodium selenate	Field	0.1 - 12 mg kg ⁻¹	-	-	↓	↓	-	-	-	-	-	n = 1	Cowpea leaves	Lanza et al. (2021)

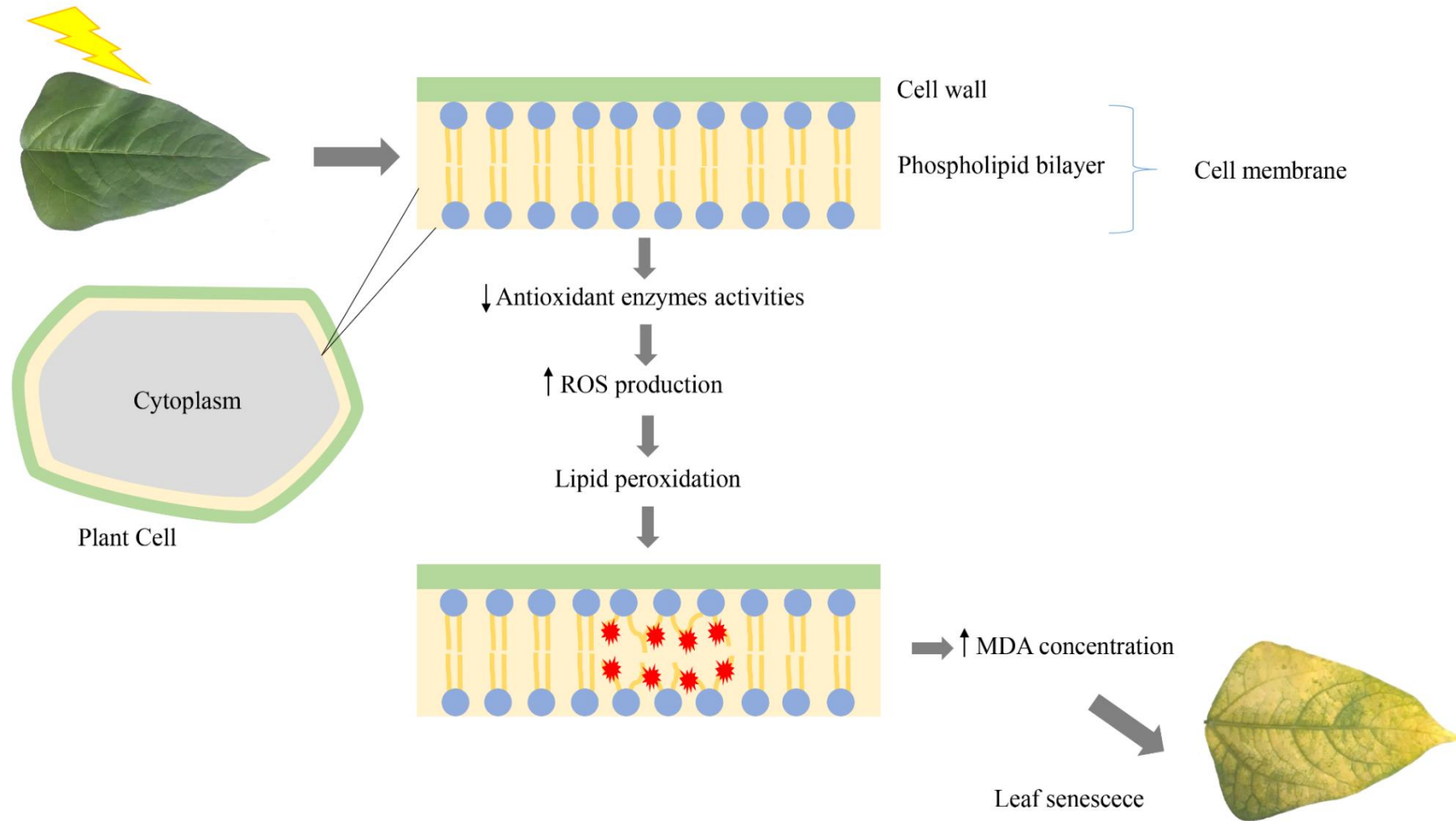
Fonte: O próprio autor.

Figura 2. Ação desempenhada pelos carotenoides no controle do estresse foto-oxidativo sofrido pelas clorofilas durante a fotossíntese.



Fonte: O próprio autor.

Figura 3. Alterações na membrana provocadas pela peroxidação lipídica durante a senescência foliar. ROS – espécies reativas de oxigênio. MDA – malondialdeído.



Fonte: O próprio autor.

CAPÍTULO II: SELÊNIO AUMENTA O CRESCIMENTO DA CANA-DE-AÇÚCAR: RESPOSTAS FISIOLÓGICAS E ANTIOXIDANTES NA REGULAÇÃO DE DEPÓSITO DE AMIDO EM TECIDOS FOLIARES

Resumo

O efeito benéfico do selênio (Se) nas plantas está diretamente relacionado com o aumento da eficiência na assimilação do nitrogênio, seu papel como mitigador do estresse abiótico pela redução das espécies reativas de oxigênio (ERO's) e promoção do metabolismo antioxidante. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito estimulante do Se no crescimento pelas respostas fotossintéticas, antioxidante e deposição de amido em plantas de cana-de-açúcar. O experimento foi conduzido sob delineamento inteiramente casualizado com 4 repetições e esquema fatorial utilizando duas variedades (RB96 6928 e RB86 7515) de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp) e 4 concentrações de Se (0; 5; 10 e 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$) aplicados na forma de selenato de sódio em solução nutritiva. A concentração de Se nas folhas aumentou com o incremento das concentrações de Se nos tratamentos para ambas as variedades. Houve aumento da atividade das enzimas SOD (EC 1.15.1.1) e APX (EC 1.11.1.11) na variedade RB96 6928. A atividade da redutase do nitrato (NRA) foi aumentada para ambas as variedades, reduziu-se a concentração de nitrato para RB86 7515 (5 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$) e aumentou-se a concentração de aminoácidos para RB96 6928 (5 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$), indicando maior assimilação do N. Isso acarretou maiores concentrações de pigmentos fotossintéticos (clorofilas e carotenóides), aumento da taxa de assimilação de CO_2 , condutância estomática e concentração interna de CO_2 . Os resultados de análises histoquímicas revelaram que o Se propiciou maior acúmulo de amido nas folhas e também maior concentração de perfil de açúcares (glicose, frutose, manitol, sorbitol e sacarose) nas folhas, o que permitiu maior crescimento das plantas. Esse trabalho apresenta informações relevantes sobre o papel estimulante do Se no crescimento, processos fotossintéticos e acúmulo de açúcares nas folhas de cana-de-açúcar, tendo apresentado a concentração de 10 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$ como a mais adequada para ambas as variedades estudadas.

Palavras-chave: *Saccharum* spp, selenato de sódio, sistema antioxidante, metabolismo do nitrogênio, metabolismo do açúcar.

1. INTRODUÇÃO

Há evidências de que os solos em várias partes do mundo apresentam baixas concentrações de Se (DOS REIS *et al.*, 2017). Em muitos países, o Se apresenta déficit na alimentação humana possivelmente devido o cultivo de plantas em solos com baixas concentrações de formas biodisponíveis de Se (LANZA; REIS, 2021; REIS *et al.*, 2020). Dessa forma, a utilização de fertilizantes contendo Se se torna uma prática fundamental para a suplementação de culturas com altas demandas de consumo na alimentação humana (ANDRADE *et al.*, 2018; CABRAL GOUVEIA *et al.*, 2020; DOS REIS *et al.*, 2017; LANZA *et al.*, 2021; LANZA; REIS, 2021; MATEUS *et al.*, 2021; SILVA *et al.*, 2019, 2020). A suplementação de Se pode ser realizada a partir da aplicação de formas biodisponíveis como o selenito e o selenato (WHITE, 2018), sendo a última fonte citada uma forma menos tóxica para as plantas e apresenta efeito estimulante de crescimento em baixas concentrações (GROTH *et al.*, 2020; LIDON *et al.*, 2018; RÍOS *et al.*, 2013).

O Se é considerado um elemento essencial para animais e humanos (MATEUS *et al.*, 2021; SCHIAVON *et al.*, 2020), tornando a deficiência e o excesso desse elemento na dieta humana, problemas de interesse global (DOS REIS *et al.*, 2017; SCHIAVON *et al.*, 2020). Para as plantas, o O Se é considerado um elemento benéfico (LANZA; REIS, 2021), podendo favorecer seu crescimento e sobrevivência em alguns ambientes (WHITE, 2018). O Se promove tolerância das plantas contra estresse abiótico provocados pelo frio, pela salinidade, pela seca e até mesmo por metais pesados (FENG; WEI; TU, 2013). A aplicação de Se em baixas concentrações promove o sistema antioxidativo a partir aumento da atividade de enzimas como a ascorbato peroxidase (APX), catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD) e glutathione redutase (GR) (LANZA; REIS, 2021; MATEUS *et al.*, 2021; SILVA *et al.*, 2020).

O Se atua na ativação do metabolismo do nitrogênio (N) (RÍOS *et al.*, 2010a, 2010b), ativando enzimas importantes na assimilação de N como a redutase do nitrato, glutamina sintase e a glutamato sintase (GOGAT) (SUNG; CHEN, 2018). A redutase do nitrato reduz o nitrato a nitrito e a glutamina sintetase a amônia em glutamato, disponibilizando maior concentração de N para o processo fotossintético, metabolismo de açúcares e crescimento vegetal (RÍOS *et al.*, 2010a). O N é essencial para a síntese da maioria das biomoléculas nas plantas e quando limitante, reduz o crescimento e produtividade das culturas (HAWKESFORD, 2011). Há forte relação entre os produtos da fixação de carbono durante a fotossíntese e a eficiência do uso de N (BEATTY *et al.*, 2016; HAWKESFORD, 2011). O N é essencial para o crescimento e manutenção do

desenvolvimento da planta, aumentando durante seu processo de assimilação a síntese de clorofila e das taxas fotossintéticas, processos estes que podem ser aumentados pela ação do Se (MATEUS *et al.*, 2021; SILVA *et al.*, 2020).

A aplicação do Se em baixas concentrações pode aumentar o metabolismo de carboidratos, elevando a concentração de açúcares em folhas e raízes, principalmente relacionado ao acúmulo amido nos órgãos vegetais (OWUSU-SEKYERE *et al.*, 2013), provocada pela ativação de enzimas-chave do metabolismo de açúcares, como amilases, sacarose sintase (SuSy), sacarose-fosfato sintase e invertases ácida e alcalina (MALIK *et al.*, 2011).

A cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) é uma cultura essencial para a manutenção da economia brasileira (HEINRICHS *et al.*, 2017) sendo uma importante fonte para a produção de açúcar e biocombustíveis (FERREIRA *et al.*, 2017; HEINRICHS *et al.*, 2017). Por possuir alta demanda de água (FERREIRA *et al.*, 2017), é altamente atingida pela seca, tendo sua produtividade fortemente reduzida. Sabendo que o estresse abiótico pode reduzir drasticamente a produtividade (BASNAYAKE *et al.*, 2012), inibindo o alongamento de partes aérea e radicular, contribuindo para a inibição da absorção de nutrientes (GENTILE *et al.*, 2013). Entre os fatores abióticos, o estresse hídrico aparece como o principal causador de perdas na produtividade e se caracteriza como uma importante preocupação dentro da agricultura ao redor do mundo (GIORDANI *et al.*, 2019; SALEHI-LISAR; BAKHSHAYESHAN-AGDAM, 2016), sendo uma de suas principais consequências o aumento na produção de ERO's e estresse oxidativo (CRUZ DE CARVALHO, 2008). A aplicação do Se na cana-de-açúcar pode aumentar o metabolismo antioxidante, fotossíntese e metabolismo de N e açúcares, tornando as mais tolerantes a estresses abióticos e promovendo maior crescimento das plantas.

A hipótese desse trabalho é que plantas de cana-de-açúcar tratadas com baixas concentrações de Se apresentam maior tolerância ao estresse oxidativo, maior taxas de assimilação de N e do metabolismo de açúcares, apresentando depósito de amido nas folhas como reserva para maior crescimento. O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito de baixas concentrações de Se nas respostas fisiológicas, bioquímicas e produção de açúcares pela cana de açúcar.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. *Instalação do experimento*

O trabalho foi realizado em casa de vegetação na Universidade Estadual Paulista (UNESP), na cidade de Tupã, estado de São Paulo (511m, 21°56'06"S; 50°30'50"W). Para avaliar o efeito das concentrações de Se no metabolismo antioxidante, fotossintético e N em variedades de cana-de-açúcar o experimento foi conduzido em solução nutritiva. Foram adquiridas mudas pré-brotadas homogêneas com 20 dias de germinadas da Estação Experimental da Syngenta das variedades RB96 6928 e RB86 7515 livres de qualquer doença ou impureza. As variedades de cana-de-açúcar foram escolhidas por serem as mais plantadas no Cerrado do Noroeste Paulista e ambas variedades apresentam alta rusticidade.

As mudas foram lavadas em água corrente para a retirada do substrato, posteriormente enxaguadas com água deionizada e submetidas à solução nutritiva de Hoagland a 50% da força iônica por 7 dias para adaptação. Após esse período, foram aplicados os tratamentos contendo concentrações de Se em solução nutritiva de Hoagland sob constante aeração à 100% da força iônica. A solução nutritiva com diferentes concentrações de Se foi renovada a cada sete dias. A aeração foi constante e o pH da solução foi mantido a 5.5 durante toda a fase experimental.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com esquema fatorial 2 x 4, sendo; 2 variedades de cana-de-açúcar (RB96 6928 e RB86 7515); 4 concentrações de Se (0; 5; 10 e 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$) aplicados na forma de selenato de sódio, com 4 repetições. O experimento foi instalado em vasos de polietileno com capacidade de 8 L de solução nutritiva. As coletas para a avaliação do metabolismo antioxidante, conteúdo de pigmentos fotossintéticos, atividade da enzima redutase do nitrato e quantificação dos compostos nitrogenados foi realizada 45 dias após aplicação dos tratamentos. A análise das taxas fotossintéticas foi realizada 58 dias após a aplicação dos tratamentos.

2.2. *Análise de Se nas folhas*

Para a determinação da concentração de Se, as folhas diagnose da cana-de-açúcar foram secas por 72 horas a 60°C. A determinação do mineral foi realizada por espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) de acordo com Thomas *et al.* (2016).

2.3. Análise de Malondialdeído (MDA) e peróxido de hidrogênio

A extração para a realização das análises de MDA e peróxido de hidrogênio foi realizada acrescentando-se 4 mL de TCA 0.1% em 0.5 g de matéria fresca. A análise de MDA foi realizada de acordo com Heath e Packer (1968). Foi adicionado 1 mL de uma solução de 20% ácido tricloroacético (TCA) + 0.5% ácido tiobarbitúrico (TBA) a 250 µL do sobrenadante da extração. As amostras foram submetidas a banho seco em estufa a 95 °C por 30 minutos, posteriormente a isso, as amostras permaneceram em gelo por 10 minutos. Após o banho de gelo as amostras foram centrifugadas por 10 minutos a 10,000 rpm. Os resultados obtidos são demonstrados em nmol MDA g⁻¹ FW. A concentração de peróxido de hidrogênio foi analisada de acordo com Alexieva *et al.* (2001). Foram adicionados 200 µL de tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 7.5) e 800 µL de iodeto de potássio 1 M a 200 µL do sobrenadante da extração. As amostras permaneceram no gelo protegidos da luz por uma hora. A concentração de é dada em µmol H₂O₂ g⁻¹ MF (massa fresca).

2.4. Análise do metabolismo antioxidante

A extração para análise das enzimas do sistema antioxidativo e conteúdo proteico foi realizada a partir da centrifugação de 1.5 g de material fresco em 4 mL de tampão fosfato de potássio (GOMES-JUNIOR *et al.*, 2006). A análise da atividade da SOD (EC 1.15.1.1) foi realizada de acordo com Giannopolitis e Ries (1977). A análise da atividade da CAT (EC 1.11.1.6), foi realizada de acordo com Azevedo *et al.* (1998). A análise da atividade da APX (EC 1.11.1.11) foi realizada de acordo com Gratão *et al.* (2008). A análise da concentração de proteínas solúveis totais foi performada como descrito por Bradford (1976).

2.5. Pigmentos fotossintéticos

A extração foi realizada adicionando 2 mL de acetona 80% a 0.06 g de material fresco. As amostras foram encubadas por 24 horas em geladeira protegidas da luz com posterior a quantificação de clorofilas e carotenóides em espectrofotômetro (LICHTENTHALER; WELLBURN, 1983).

2.6. Taxa fotossintética e determinação de trocas gasosas

Foi analisada a taxa das trocas gasosas com o aparelho portátil (Infra Red Gas Analyzer –IRGA, marca ADC BioScientific Ltd, modelo LC-Pro) de acordo com Santos *et al.* (2017) aos 58 dias após o tratamento. Determinou-se a taxa de assimilação de CO₂

($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), a condutância estomática ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), a concentração interna de CO_2 na câmara sub estomática ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$) e a taxa de transpiração ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). As condições padrões utilizadas foram: $1200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ de radiação fotossinteticamente ativa (PAR), fornecida por lâmpadas LED, 400 ppm de CO_2 e temperatura da câmara de 28°C , segundo Jiang e Xu (2001).

2.7. Atividade da redutase do nitrato (EC 1.7.99.4)

Para mensuração da atividade da redutase do nitrato, foram retirados 0.2 g de discos foliares e adicionados 2 mL de tampão fosfato de potássio + KNO_3 7.5 em tubo de ensaio. Posteriormente as amostras foram encubadas em microtubos a 30°C por 30 minutos contendo 50 μL do extrato, 500 μL sufanilamida 1% em HCL 1.5 N e 500 μL de N-naftiletilenodiamina 0,05% (REIS *et al.*, 2009). Os resultados foram expressos em $\mu\text{mol NO}_2 \cdot \text{h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ MF}$.

2.8. Análises de compostos nitrogenados

Para a extração dos compostos nitrogenados foi utilizado o método descrito por Bieleski e Turner (1966) em material triturado sob banho de N líquido. Para cada 1g de material fresco, acrescentou-se 10 mL de solução MCW (60% mL de metanol, 25% mL de clorofórmio, e 15 mL de H_2O). O material vegetal foi triturado novamente com o solvente e posteriormente levado para centrifugação. O material permaneceu 48 horas sob ação do solvente. Para separação de fases, acrescentou-se 1 mL de clorofórmio e 1,5 mL de H_2O , para cada 4 mL do sobrenadante resultante da centrifugação. Aguardou-se 24 horas para que a separação de fases ocorresse e da fase hidrossolúvel foram realizadas as análises de nitrato de acordo com Cataldo *et al.* (1975), amônia (MCCULLOUGH, 1967) e aminoácidos (YEMM; COCKING, 1955).

2.9. Análise do perfil de açúcares em HPLC

A quantificação de açúcares nas folhas foi realizada utilizando-se a técnica de High performance liquid chromatography (HPLC) (). Utilizou-se 3 mL do material derivado da fase hidrossolúvel da solução MCW. O material foi liofilizado por 24 horas e submetido a análise em HPLC, diluído em 200 μL água filtrada em sistema Milli-Q® e posteriormente filtrados em filtros de 0.22 μm . Foi utilizado um sistema de cromatografia líquida de alta eficiência da Shimadzu, modelo Prominence equipado com

detector de índice de refração diferencial, modelo RID-20^a. A detecção dos picos glicose, frutose, sacarose e sorbitol foi obtida pela injeção de 5 µL da solução padrão em diferentes concentrações, utilizando um amostrador automático modelo SIL-10AF. O sistema é equipado com uma coluna Shim-Pack GIST NH2 com dimensões de 4,6 x 250 mm e diâmetro de partícula de 5 µm, a 40°C. A fase móvel foi composta de uma solução 90% de acetonitrila. O Método foi realizado em 25 minutos em modo isocrático com fluxo de 1 mL min⁻¹.

2.10. Teste histoquímico para amido

As folhas diagnose foram coletadas e imediatamente imersas em solução de FAA 70% (JOHANSEN, 1940) para fixação e posteriormente foram armazenadas em álcool 70%. Foram realizados cortes transversais à mão-livre próximos à nervura central das folhas com o auxílio de uma lâmina de barbear e os cortes foram submetidos à uma solução de hipoclorito de sódio 10% por 10 minutos e posteriormente lavados com água destilada em 3 baterias de 10 minutos. Para a detecção do amido foi utilizado uma solução de Lugol a 10 % (BERLYN; MIKSCHE, 1976), os grânulos de amido em microscopia ótica são visíveis em tons de preto/preto azulado.

2.11. Análises biométricas

A altura e o diâmetro do colmo foram mensurados a 0 e aos 45 dias após aplicação dos tratamentos. A massa total da planta (parte aérea + raízes) foi mensurada aos 15 e 45 dias após a aplicação dos tratamentos.

2.12. Análises estatísticas

As análises estatísticas foram realizadas no software *R* versão 4.0.4 (R Core Team, 2021) Foi realizada uma análise de variância (Tabelas 3, 4, 5 e 6) para os dados seguindo modelo fatorial, e quando significativo, foi realizado teste de Tukey com $p \leq 0.05$ para analisar as diferenças entre os tratamentos. O heatmap foi criado a partir da análise de Correlação de Pearson $p < 0.05$ e juntamente com a análise de componentes principais para os dados de açúcar foram plotados no *RStudio* versão 1.4.1103. A plotagem dos gráficos foram realizadas no *SigmaPlot* versão 12.5.

3. RESULTADOS

3.1. Análise de selênio nas folhas

Foi observado que concentração de Se nas folhas de cana-de-açúcar aumentou de acordo com o aumento nas concentrações de Se aplicadas na forma de selenato de sódio.

(Figura 1). A aplicação de 20 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$ aumentou em 591.3% a concentração do elemento nas folhas na variedade RB96 6928 em relação ao controle e 756.5% na variedade RB86 7515. Os tratamentos controle, 5 e 10 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$ não apresentaram diferença significativa na concentração de Se entre as variedades, diferença esta somente foi observada no tratamento com 20 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$ (Figura 1). A variedade RB86 7515 apresentou um concentração de Se 30.39% maior que a variedade RB96 6928 no tratamento com a maior dose testada (Figura 1).

3.2. Sistema oxidativo

Houve diferença entre as variedades de cana-de-açúcar na concentração de H_2O_2 em resposta à aplicação de Se (Figura 2A). No tratamento controle a variedade RB86 7515 apresentou maior concentração de H_2O_2 , no entanto, nos demais tratamentos a variedade RB96 6928 apresentou maiores concentrações em relação à RB86 7515. Quando analisadas as concentrações dentro da mesma variedade, o tratamento controle apresentou os maiores valores para a variedade RB86 7515, e para a RB96 6928 o tratamento com 20 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$ apresentou as maiores concentrações. Em relação à concentração de MDA, a aplicação de 5 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$ provocou um decréscimo de 28.7% nas concentrações em relação ao controle para a variedade RB86 7515 (Figura 2B), e um aumento de 12.96% para a variedade RB96 6928 no tratamento com 5 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$.

3.3. Sistema antioxidante e conteúdo proteico

Em relação à atividade da enzima SOD, houve diferença entre as variedades em todas as concentrações testadas (Figura 2C). A aplicação de 5 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$ provocou um decréscimo de 65.42% na atividade da SOD para a variedade RB86 7515 e um aumento de 15.18% para a variedade RB96 6928 com a aplicação de 5 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$. A variedade RB86 7515 apresentou maiores concentrações de APX para todas as concentrações quando comparada com a variedade RB96 6928 (Figura 2D), a aplicação de 20 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$ provocou um decréscimo de na atividade da APX para RB86 7515 (52.14%) e aumento na atividade para RB96 6928 (6.52%). Para a CAT, para ambas variedades foi observada maior atividade da enzima no tratamento controle (Figura 2E), ou seja, a aplicação de Se provocou um decréscimo na atividade da catalase. Em relação ao conteúdo proteico (Figura 2F), houve diferença entre as duas variedades em todas as concentrações de Se avaliadas. As plantas da variedade RB96 6928 apresentaram uma

maior concentração no tratamento com 10 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$, aumento de 34.05% em relação a controle, enquanto a variedade RB86 7515 apresentou maiores valores para proteína solúveis totais com a dose de 5 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$, um aumento de 177.24% em relação ao tratamento controle.

3.4. Pigmentos

No tratamento controle, não foi observada diferença estatística significativa entre as duas variedades para clorofila *a* (Figura 3A). No tratamento com 5 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$, a variedade RB86 7515 apresentou maiores concentrações do pigmento, já nos tratamentos com 10 e 20 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$ a variedade RB96 6928 apresentou maiores valores em relação à RB86 7515. Os tratamentos com a maior dose de Se (20 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$) apresentaram as maiores concentrações para clorofila *a* em ambas variedades, um aumento de 41.40% para RB96 6928 e 17.33% para RB86 7515 em relação ao controle. Para clorofila *b*, com a aplicação de 20 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$ houve um aumento de 38.80% em RB96 6928 (Figura 3B) e 13.74% em RB86 7515. Em relação clorofila total (Figura 3C), plantas submetidas a dose de 20 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$ apresentaram maiores concentrações, um aumento de 40.61% e 16.22% para RB96 6928 e RB86 7515, respectivamente, em relação às plantas dos tratamentos controles. A concentração de carotenoides (Figura 3D) apresentou um aumento de 34.89% na variedade RB96 6928 e 14.50% na variedade RB86 7515 com a maior dose de Se.

3.5. Eficiência fotossintética

A taxa de assimilação de carbono (Figura 3E) apresentou influência significativa com a aplicação das concentrações de Se, os maiores valores foram observados no tratamento 20 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$, uma aumento de 12.60% em relação ao controle e a menor taxa foi observada no tratamento com 5 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$, observando um decréscimo de 11.37% em relação às plantas controle. Resultados similares foi observado em relação à condutância estomática (3F), para RB96 6928 observou-se um aumento de 34.74% com 20 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$, para RB86 7515 as plantas no tratamento com 10 e 20 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$ apresentaram maiores taxas para condutância estomática, um aumento de 26.17% e 20.40%, respectivamente. Em relação às taxas de carbono interno (Figura 3G), não foi observada diferença estatística entre as variedades em nenhum tratamento. A aplicação de 5 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$ diminui as taxas de C_i para ambas variedades, 18.92% para RB96 6928

e 18.85% para RB86 7515. Os valores obtidos para transpiração (3H) mostraram que a aplicação de Se não aumentou significativamente as taxas para tal variável.

3.6. Compostos nitrogenados e atividade da redutase do nitrato

A atividade da redutase do nitrato foi aumentada em 36.46% para RB96 6928 em relação ao controle com a aplicação 5 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$ (Figura 4A). A variedade se mostrou superior em relação a atividade da enzima em todos os tratamentos estudados quando comparada com RB86 7515, que teve sua maior atividade da redutase do nitrato em plantas que foram submetidas a 20 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$, apresentando um aumento de 178.94%. Para a variedade RB96 6928, as plantas submetidas à dose de 10 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$ apresentaram a maior concentração de nitrato nas folhas (Figura 4B), um aumento de 7.84% em relação ao controle, enquanto para a variedade RB86 7515, as plantas do tratamento com 10 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$ apresentaram os menores valores, cerca de 19.12% em relação às plantas do tratamento controle. Em relação à concentração de amônia (Figura 4C), a variedade RB96 6928 apresentou os maiores valores no tratamento com a dose máxima, e para RB86 7515, houve um decréscimo de 24.84% na concentração com a aplicação da dose máxima. A aplicação de 5 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$ provocou um aumento na concentração de aminoácidos (Figura 4D) na variedade RB96 6928 em 3.58% quando comparado com o tratamento controle.

3.7. Análise de açúcares

As variedades RB96 6928 e RB86 7515 responderam de formas diferentes em relação às concentrações aplicadas. Em relação ao tratamento controle, RB96 6928 com 5 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$ apresentou um aumento de 22.32% na concentração de frutose (Figura 5A), com 10 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$ apresentou 103.42% de aumento na concentração glicose (Figura 5B), 19.41% na concentração de sorbitol (Figura 5C), e 51.57% na concentração de sacarose (Figura 5D). A aplicação de 20 Se L^{-1} provocou um decréscimo de 43.21%, 47.5% e 6.2% nas concentrações de frutose, glicose e sorbitol, respectivamente. RB86 7515 com a aplicação de 10 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$ apresentou aumento de 45.26%, 43.15%, 24.73% nas concentrações de frutose, glicose e sacarose, respectivamente. A aplicação de 5 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$ provocou um decréscimo de 16.20% na concentração de sorbitol, enquanto 20 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$ aumentou a concentração do açúcar em 25.9%.

3.8. Teste histoquímico de Amido

A partir da análise para detectar a presença de amido observa-se que a maior parte dos grânulos de amido se encontra nas células da bainha do feixe vascular (Figura 6). Esses feixes esses que se encontram na face abaxial da folha da cana-de-açúcar nas duas variedades. Observa-se que houve um decréscimo na deposição de grânulos de amido para a variedade RB96 6928 no tratamento com aplicação de 20 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$ e para a variedade RB86 7515 no tratamento com aplicação de 5 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$.

3.9. Heatmap com análise de correlação e análise de componentes principais

A análise de Correlação de Pearson no heatmap (Figura 7A) indica correlação negativa entre proteínas totais solúveis e as enzimas do sistema oxidativo e metabolismo antioxidativo, comportamento diferente quando analisado os dados para aminoácidos, que apresenta forte correlação positiva com o sistema antioxidativo. A concentração de açúcares totais apresentou correlação negativa com a concentração de amônia, assim como a concentração de aminoácidos e os pigmentos fotossintéticos. Os resultados de fotossíntese, condutância estomática e carbono interno apresentaram forte correlação com pigmentos fotossintéticos. A análise de componentes principais demonstrou que os dois primeiros componentes explicam 92.1% da variância dos dados (Figura 7B). Os tratamentos controle e 20 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$ foram separados dos demais, demonstrando que a variedade RB96 6928 foi responsiva à aplicação na produção de açúcar, mas a dose de 20 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$ já não seria adequada. A aplicação de 10 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$ foi a melhor dose para a variedade RB96 6928. Em relação à variedade RB86 7515, a dose de 20 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$ é a que está mais relacionada com uma maior produção de glicose, sacarose e açúcares totais.

3.10. Análises biométricas

Os efeitos da aplicação do Se podem ser vistos na Figura 8. Após 45 dias de tratamento, a RB96 6928 respondeu positivamente à aplicação de 5 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$ (Figura 9), foi observado aumento significativo em altura e diâmetro do colmo para a variedade. Para RB86 7515 a aplicação de 5 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$ aumentou a altura das plantas. A variedade RB96 6928, em relação aos caracteres biométricos, apresentou uma melhor resposta em relação à variedade RB86 7515.

4. DISCUSSÃO

A concentração de H_2O_2 e MDA foram afetadas pela aplicação de Se de diferentes maneiras entre as duas variedades. RB96 6928 teve suas concentrações aumentadas, enquanto RB86 7515 diminuiu a concentração dos compostos em resposta à aplicação de Se, assim como em trabalhos onde foi constatado a ação do Se na mitigação do estresse oxidativo, a partir da diminuição da concentração desses compostos (MATEUS *et al.*, 2021; SILVA *et al.*, 2020). O H_2O_2 é um composto produzido pela oxidação do glicolato nos peroxissomos (ARORA; SAIRAM; SRIVASTAVA, 2002) e que em pequenas concentrações participam da abertura e fechamento dos estômatos em plantas sob estresse hídrico (LANZA; REIS, 2021). O MDA é uma molécula orgânica produzida pela peroxidação lipídica da membrana celular (MORALES; MUNNÉ-BOSCH, 2019), e um dos principais indicadores do estresse oxidativo em plantas (GROTTO *et al.*, 2009; KONG *et al.*, 2016; MORALES; MUNNÉ-BOSCH, 2019). As diferentes respostas às concentrações de Se pelas variedades indicam diferentes sinais de tolerância ao elemento, a RB86 7515 se mostrou mais tolerante ao aumento da concentração do selênio. A atividade da catalase é um dos dois mais importantes caminhos para controle da concentração de H_2O_2 no meio intracelular (NOCTOR; MHAMDI; FOYER, 2016), mas a enzima SOD é a responsável pela transformação do superóxido (O_2^-) em H_2O_2 (GILL; TUTEJA, 2010; HALLIWELL, 2006; KHALEGHI *et al.*, 2019), uma forma de espécie reativa de oxigênio menos nociva às células, mais estável e controlável (SMIRNOFF; ARNAUD, 2019). A concentração de SOD e H_2O_2 apresentaram comportamentos parecidos de mudanças de concentrações entre os tratamentos, quando houve aumento na concentração da SOD, também houve aumento concentração de H_2O_2 , isso se explica pela principal ação da enzima dentro do complexo antioxidativo.

Também foi observado nesse estudo o aumento da concentração de pigmentos fotossintéticos em plantas sob tratamento de Se. Diversos trabalhos com algas demonstraram aumento no conteúdo de pigmentos fotossintéticos e resposta a aplicação de Se (CHEN *et al.*, 2008; CONSTANTINESCU-ARUXANDEI *et al.*, 2019; HANDA *et al.*, 2018), assim podemos observar que o elemento parece aumentar a síntese desses pigmentos desde organismos menos derivados até organismos mais derivados. A aplicação de Se em baixas concentrações aumenta a concentração de clorofila na folha (SILVA *et al.*, 2020), assim como a concentração de carotenoides, pigmento fotoquimicamente ativo (COGDELL; GARDINER, 1993), essencial ao processo de fotossíntese (HASHIMOTO; URAGAMI; COGDELL, 2016; SIEFERMANN-HARMS,

1985) e que atua como agente na proteção contra reações prejudiciais provocadas pela luz (COGDELL; GARDINER, 1993; HASHIMOTO; URAGAMI; COGDELL, 2016; SIEFERMANN-HARMS, 1985). O complexo fotossintetizante foi positivamente modulado nas variedades de cana-de-açúcar em resposta a aplicação de selenato de sódio.

A redução do nitrato é uma das principais vias para a assimilação do N pelas plantas (GERIK; OOSTERHUIS; ALLEN TORBERT, 1998; HELDT; PIECHULLA, 2011; SRIVASTAVA, 1980). A redutase do nitrato é responsável pela transformação do nitrato em nitrito que posteriormente será assimilado em amônia pela planta. A partir disso, os aminoácidos serão formados em maior quantidade e consequentemente, proteínas para crescimento e desenvolvimento vegetal. A aplicação do Se aumentou a atividade da redutase do nitrato em ambas as variedades, acompanhados pelo aumento do peso total planta. A assimilação do nitrato deve estar positivamente relacionada à taxa de assimilação de carbono pela planta durante a fotossíntese, a fim de não exceder a concentração adequada de nitrito e aminoácidos na célula (HELDT; PIECHULLA, 2011). Como observado nesse estudo, o Se promoveu maior condutância estomática, taxa de assimilação de carbono, atividade da redutase do nitrato e consequentemente o tamanho, altura e peso das plantas, evidenciando aumento da biomassa da cana-de-açúcar.

Entende-se que testes histoquímicos não são utilizados para quantificação, mas a a partir da análise anatômica e da quantificação de açúcares pelo HPLC podemos constatar algumas relações entre as análises. A partir do teste histoquímico observa que as variedades apresentaram comportamentos diferentes na compartimentalização dos grânulos de amido. A menor concentração de Se provocou uma diminuição para a variedade RB86 7515, enquanto a dose máxima causou o mesmo efeito na variedade RB96 6928. Na folha os grânulos estão localizados nas células da bainha do feixe vascular, um conjunto de células compactas que envolvem o feixe vascular (LEEGOOD, 2007) e o separa das células do mesofilo, característica que denomina a anatomia Kranz em plantas com metabolismo C_4 (LEONARDOS; GRODZINSKI, 2017). A descarboxilação do malato e aspartato acontece nessa bainha do feixe, e o CO_2 é levado ao Ciclo de Calvin para a assimilação e conversão em açúcares (LEONARDOS; GRODZINSKI, 2017). O amido presente na bainha poderá ser convertido em açúcares menores (sacarose, glicose, frutose, manitol e sorbitol) que poderão ser exportados pelo floema. O sorbitol, um poliol com cerca de 60% da doçura da sacarose (SILVEIRA; JONAS, 2002) teve sua concentração aumentada na dose de $20 \mu\text{mol Se L}^{-1}$ para a variedade RB86 7515. A partir da avaliação do metabolismo de N, da quantificação de

açúcares, taxas e pigmentos fotossintéticos e complexo antioxidativo podemos constatar que apesar de diferentes respostas de RB96 6928 e RB8 7515 à aplicação do Se, ambas foram beneficiadas em seu desenvolvimento e crescimento.

5. CONCLUSÃO

A concentração de Se nas folhas de cana-de-açúcar aumentou de acordo com o incremento nas concentrações de Se aplicados na forma de selenato de sódio. As variedades apresentaram diferentes respostas à aplicação do Se, onde a variedade RB86 7515 foi mais responsiva ao aumento da concentração do selênio nos tratamentos. Recomenda-se que a melhor concentração para o aumento da produção de açúcar sem que submeta a planta a um excessivo estresse abiótico seja 10 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$ para ambas as variedades. O Se aumentou a eficiência do uso e assimilação do nitrogênio, acúmulo de açúcares, e conseqüentemente, crescimento e produtividade da cana-de-açúcar.

REFERÊNCIAS

- 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 & Environment**, Chichester, v. 24, n. 12, p. 1337–1344, 2001. Disponível em: <https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2001.00778.x>
- 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. dos. Selenium protects rice plants from water deficit stress. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Philadelphia, v. 164, p. 562–570, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.08.022>
- ARORA, A.; SAIRAM, R. K.; SRIVASTAVA, G. C. Oxidative stress and antioxidative system in plants. **Current Science**, Delran, v. 82, n. 10, p. 1227–1238, 2002.
- 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**, Hokoben, v. 104, n. 2, p. 280–292, 1998. Disponível em: <https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.1998.1040217.x>
- BASNAYAKE, J.; JACKSON, P. A.; INMAN-BAMBER, N. G.; LAKSHMANAN, P. Sugarcane for water-limited environments. Genetic variation in cane yield and sugar content in response to water stress. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 63, n. 16, p. 6023–6033, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jxb/ers251>
- BEATTY, P.; KLEIN, M.; FISCHER, J.; LEWIS, I.; MUENCH, D.; GOOD, A. Understanding plant nitrogen metabolism through metabolomics and computational approaches. **Plants**, Basel, v. 5, n. 4, p. 39, 2016. Disponível em:

<https://doi.org/10.3390/plants5040039>

BERLYN, G. P.; MIKSCHE, J. P. **Botanical microtechnique and cytochemistry**. Ames: Iowa State University Press, 1976.

BIELESKI, R. L.; TURNER, N. A. Separation and estimation of amino acids in crude plant extracts by thin-layer electrophoresis and chromatography. **Analytical Biochemistry**, Philadelphia, v. 17, n. 2, p. 278–293, 1966. Disponível em: [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0003-2697\(66\)90206-5](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0003-2697(66)90206-5)

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**, Philadelphia, v. 72, n. 1, p. 248–254, 1976. Disponível em: [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)

CABRAL GOUVEIA, G. C.; GALINDO, F. S.; DANTAS BERETA LANZA, M. G.; CAROLINE DA ROCHA SILVA, A.; PEREIRA DE BRITO MATEUS, M.; SOUZA DA SILVA, M.; RIMOLDI TAVANTI, R. F.; TAVANTI, T. R.; LAVRES, J.; REIS, A. R. dos. Selenium toxicity stress-induced phenotypical, biochemical and physiological responses in rice plants: Characterization of symptoms and plant metabolic adjustment. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Philadelphia, v. 202, p. 110916, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110916>

CATALDO, D. A.; MAROON, M.; SCHRADER, L. E.; YOUNGS, V. L. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 6, n. 1, p. 71–80, 1975. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/00103627509366547>

CHEN, T.-F.; ZHENG, W.-J.; WONG, Y.-S.; YANG, F. Selenium-induced Changes in Activities of Antioxidant Enzymes and Content of Photosynthetic Pigments in *Spirulina platensis*. **Journal of Integrative Plant Biology**, Richmond, v. 50, n. 1, p. 40–48, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1744-7909.2007.00600.x>

COGDELL, R. J.; GARDINER, A. T. Functions of carotenoids in photosynthesis. **Methods in Enzymology**, San Diego, v. 214, p. 185–193, 1993. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(93\)14065-Q](https://doi.org/10.1016/0076-6879(93)14065-Q)

CONSTANTINESCU-ARUXANDEI, D.; VLAICU, A.; MARINAȘ, I. C.; VINTILĂ, A. C. N.; DIMITRIU, L.; OANCEA, F. Effect of betaine and selenium on the growth and photosynthetic pigment production in *Dunaliella salina* as biostimulants. **FEMS Microbiology Letters**, Oxford, v. 366, n. 21, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/femsle/fnz257>

CRUZ DE CARVALHO, M. H. Drought stress and reactive oxygen species. **Plant Signaling & Behavior**, Philadelphia, v. 3, n. 3, p. 156–165, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.4161/psb.3.3.5536>

DOS 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, H. E.; LIN, Z. Q. **Selenium in plants**. New York: Springer, 2017. p. 209–230. *E-book*. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-3-319-56249-0_13

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

2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2012.09.002>

FERREIRA, T. H. S.; TSUNADA, M. S.; BASSI, D.; ARAÚJO, P.; MATTIELLO, L.; GUIDELLI, G. V.; RIGHETTO, G. L.; GONÇALVES, V. R.; LAKSHMANAN, P.; MENOSSI, M. Sugarcane Water Stress Tolerance Mechanisms and Its Implications on Developing Biotechnology Solutions. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 8, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01077>

GENTILE, A.; FERREIRA, T. H.; MATTOS, R. S.; DIAS, L. I.; HOSHINO, A. A.; CARNEIRO, M. S.; SOUZA, G. M.; CALSA, T.; NOGUEIRA, R. M.; ENDRES, L.; MENOSSI, M. Effects of drought on the microtranscriptome of field-grown sugarcane plants. **Planta**, Heidelberg, v. 237, n. 3, p. 783–798, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00425-012-1795-7>

GERIK, T. J.; OOSTERHUIS, D. M.; ALLEN TORBERT, H. Managing cotton nitrogen supply. **Advances in Agronomy**, Maryland Heights, v. 64, v. p. 115–147, 1998. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(08\)60503-9](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(08)60503-9)

GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxide dismutases. **Plant Physiology**, Issy les Moulineaux Cedex, v. 59, n. 2, p. 309–314, 1977. Disponível em: <https://doi.org/10.1104/pp.59.2.309>

GILL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, Issy les Moulineaux Cedex, v. 48, n. 12, p. 909–930, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.08.016>

GIORDANI, W.; GONÇALVES, L. S. A.; MORAES, L. A. C.; FERREIRA, L. C.; NEUMAIER, N.; FARIAS, J. R. B.; NEPOMUCENO, A. L.; OLIVEIRA, M. C. N. de; HENNING, L. M. M.-. Identification of agronomical and morphological traits contributing to drought stress tolerance in soybean. **Australian Journal of Crop Science**, Lismore, v. 13, n. 01, p. 35–44, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.21475/ajcs.19.13.01.p1109>

GOMES-JUNIOR, R. A.; MOLDES, C. A.; DELITE, F. S.; POMPEU, G. B.; GRATÃO, P. L.; MAZZAFERA, P.; LEA, P. J.; AZEVEDO, R. A. Antioxidant metabolism of coffee cell suspension cultures in response to cadmium. **Chemosphere**, Oxford, v. 65, n. 8, p. 1330–1337, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.04.056>

GRATÃO, P. L.; MONTEIRO, C. C.; ANTUNES, A. M.; PERES, L. E. P.; AZEVEDO, R. A. Acquired tolerance of tomato (*Lycopersicon esculentum* cv. Micro-Tom) plants to cadmium-induced stress. **Annals of Applied Biology**, Chichester, v. 153, n. 3, p. 321–333, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2008.00299.x>

GROTH, S.; BUDKE, C.; NEUGART, S.; ACKERMANN, S.; KAPPENSTEIN, F.-S.; DAUM, D.; ROHN, S. Influence of a selenium biofortification on antioxidant properties and phenolic compounds of apples (*Malus domestica*). **Antioxidants**, Basel, v. 9, n. 2, p. 187, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/antiox9020187>

GROTTO, D.; MARIA, L. S.; VALENTINI, J.; PANIZ, C.; SCHMITT, G.; GARCIA, S. C.; POMBLUM, V. J.; ROCHA, J. B. T.; FARINA, M. Importance of the lipid peroxidation biomarkers and methodological aspects FOR malondialdehyde

quantification. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 1, p. 169–174, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000100032>

HALLIWELL, B. Reactive species and antioxidants. redox biology is a fundamental theme of aerobic life. **Plant Physiology**, Rockville, v. 141, n. 2, p. 312–322, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1104/pp.106.077073>

HANDA, N.; KOHLI, S. K.; SHARMA, A.; THUKRAL, A. K.; BHARDWAJ, R.; ALYEMENI, M. N.; WIJAYA, L.; AHMAD, P. Selenium ameliorates chromium toxicity through modifications in pigment system, antioxidative capacity, osmotic system, and metal chelators in Brassica juncea seedlings. **South African Journal of Botany**, Amsterdam, v. 119, p. 1–10, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2018.08.003>

HASHIMOTO, H.; URAGAMI, C.; COGDELL, R. J. Carotenoids and Photosynthesis. p. 111–139. *E-book*. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-3-319-39126-7_4

HAWKESFORD, M. J. An overview of nutrient use efficiency and strategies for crop improvement. In: HAWKESFORD, M. J.; BARRACLOUGH, P. (ed.). **The molecular and physiological basis of nutrient use efficiency in crops**. Oxford, UK: Wiley-Blackwell, 2011. p. 3–19. *E-book*. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/9780470960707.ch1>

HEATH, R. L.; PACKER, L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, Maryland Heights, v. 125, n. 1, p. 189–198, 1968. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(68\)90654-1](https://doi.org/10.1016/0003-9861(68)90654-1)

HEINRICHS, R.; OTTO, R.; MAGALHÃES, A.; MEIRELLES, G. C. Importance of sugarcane in brazilian and world bioeconomy. In: DABBERT, S. *et al.* **Knowledge-driven developments in the bioeconomy**. New York: Springer, 2017. p. 205–217. *E-book*. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-3-319-58374-7_11

HELDT, H.-W.; PIECHULLA, B. Nitrate assimilation is essential for the synthesis of organic matter. In: HELDT, H. W.; PIECHULLA, B. **Plant Biochemistry**. New York: Elsevier, 2011. p. 273–305. *E-book*. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384986-1.00010-7>

JIANG, H.; XU, D.-Q. The cause of the difference in leaf net photosynthetic rate between two soybean cultivars. **Photosynthetica**, Prague, v. 39, n. 3, p. 453–459, 2001. Disponível em: <https://doi.org/10.1023/A:1015150931227>

JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. New York: McGraw-Hill, 1940.

KHALEGHI, A.; NADERI, R.; BRUNETTI, C.; MASERTI, B. E.; SALAMI, S. A.; BABALAR, M. Morphological, physiochemical and antioxidant responses of Maclura pomifera to drought stress. **Scientific Reports**, London, v. 9, n. 1, p. 19250, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-55889-y>

KONG, W.; LIU, F.; ZHANG, C.; ZHANG, J.; FENG, H. Non-destructive determination of Malondialdehyde (MDA) distribution in oilseed rape leaves by laboratory scale NIR hyperspectral imaging. **Scientific Reports**, London, v. 6, n. 1, p. 35393, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/srep35393>

LANZA, M. G. D. B.; REIS, A. R. dos. Roles of selenium in mineral plant nutrition: ROS scavenging responses against abiotic stresses. **Plant Physiology and**

Biochemistry, Issy les Moulineaux Cedex, v. 164, p. 27–43, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.04.026>

LANZA, M. G. D. B.; SILVA, V. M.; MONTANHA, G. S.; LAVRES, J.; PEREIRA DE CARVALHO, H. W.; REIS, A. R. dos. 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**, Philadelphia, v. 207, p. 111216, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111216>

LEEGOOD, R. C. Roles of the bundle sheath cells in leaves of C3 plants. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 59, n. 7, p. 1663–1673, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jxb/erm335>

LEONARDOS, E. D.; GRODZINSKI, B. Photosynthesis and productivity of vascular plants in controlled and field environments. In: **Reference Module in Life Sciences**. Elsevier, 2017. *E-book*. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809633-8.09199-8>

LICHTENTHALER, H. K.; WELLBURN, A. R. Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. **Biochemical Society Transactions**, London, v. 11, n. 5, p. 591–592, 1983. Disponível em: <https://doi.org/10.1042/bst0110591>

LIDON, F. C. *et al.* Selenium biofortification of rice grains and implications on macronutrients quality. **Journal of Cereal Science**, London, v. 81, p. 22–29, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2018.03.010>

MALIK, J. A. *et al.* Promotion of Growth in Mungbean (*Phaseolus aureus* Roxb.) by Selenium is Associated with Stimulation of Carbohydrate Metabolism. **Biological Trace Element Research**, Heidelberg, v. 143, n. 1, p. 530–539, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12011-010-8872-1>

MATEUS, M. P. de B.; TAVANTI, R. F. R.; TAVANTI, T. R.; SANTOS, E. F.; JALAL, A.; REIS, A. R. dos. Selenium biofortification enhances ROS scavenge system increasing yield of coffee plants. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Philadelphia, v. 209, p. 111772, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111772>

MCCULLOUGH, H. The determination of ammonia in whole blood by a direct colorimetric method. **Clinica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 17, n. 2, p. 297–304, 1967. Disponível em: [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0009-8981\(67\)90133-7](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0009-8981(67)90133-7)

MORALES, M.; MUNNÉ-BOSCH, S. Malondialdehyde: Facts and Artifacts. **Plant Physiology**, Rockville, v. 180, n. 3, p. 1246–1250, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1104/pp.19.00405>

NOCTOR, G.; MHAMDI, A.; FOYER, C. H. Oxidative stress and antioxidative systems: recipes for successful data collection and interpretation. **Plant, Cell & Environment**, Chichester, v. 39, n. 5, p. 1140–1160, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/pce.12726>

OWUSU-SEKYERE, A.; KONTTURI, J.; HAJIBOLAND, R.; RAHMAT, S.; ALIASGHARZAD, N.; HARTIKAINEN, H.; SEPPÄNEN, M. M. Influence of selenium (Se) on carbohydrate metabolism, nodulation and growth in alfalfa (*Medicago*

sativa L.). **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 373, n. 1–2, p. 541–552, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11104-013-1815-9>

REIS, A. R.; FAVARIN, J. L.; GALLO, L. A.; MALAVOLTA, E.; MORAES, M. F.; LAVRES JUNIOR, J. Nitrate reductase and glutamine synthetase activity in coffee leaves during fruit development. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 33, n. 2, p. 315–324, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-06832009000200009>

REIS, H. P. G.; QUEIROZ BARCELOS, J. P.; 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**, Oxford, v. 100, n. 5, p. 1990–1997, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jsfa.10212>

RÍOS, J. J.; BLASCO, B.; CERVILLA, L. M.; RUBIO-WILHELMI, M. M.; ROSALES, M. A.; SANCHEZ-RODRIGUEZ, E.; ROMERO, L.; RUIZ, J. M. Nitrogen-use efficiency in relation to different forms and application rates of se in lettuce plants. **Journal of Plant Growth Regulation**, New York, v. 29, n. 2, p. 164–170, 2010 a. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00344-009-9130-7>

RÍOS, J. J.; BLASCO, B.; LEYVA, R.; SANCHEZ-RODRIGUEZ, E.; RUBIO-WILHELMI, M. M.; ROMERO, L.; RUIZ, J. M. Nutritional balance changes in lettuce plant grown under different doses and forms of selenium. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 36, n. 9, p. 1344–1354, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/01904167.2013.790427>

RÍOS, J. J.; BLASCO, B.; ROSALES, M. A.; SANCHEZ-RODRIGUEZ, E.; LEYVA, R.; CERVILLA, L. M.; ROMERO, L.; RUIZ, J. M. Response of nitrogen metabolism in lettuce plants subjected to different doses and forms of selenium. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Oxford, v. 90, n. 11, p. 1914–1919, 2010 b. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jsfa.4032>

SALEHI-LISAR, S. Y.; BAKHSHAYESHAN-AGDAM, H. Drought stress in plants: causes, consequences, and tolerance. In: HOSSAIN, M. A. (ed.). *et al. Drought stress tolerance in plants*. Cham: Springer International Publishing, 2016. p. 1–16. *E-book*. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-3-319-28899-4_1

SANTOS, E. F.; KONDO SANTINI, J. M.; PAIXÃO, A. P.; JÚNIOR, E. F.; LAVRES, J.; CAMPOS, M.; REIS, A. R. dos. Physiological highlights of manganese toxicity symptoms in soybean plants: Mn toxicity responses. **Plant Physiology and Biochemistry**, Issy les Moulineaux Cedex, v. 113, p. 6–19, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.01.022>

SCHIAVON, M.; NARDI, S.; DALLA VECCHIA, F.; ERTANI, A. Selenium biofortification in the 21st century: status and challenges for healthy human nutrition. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 453, n. 1–2, p. 245–270, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11104-020-04635-9>

SIEFERMANN-HARMS, D. Carotenoids in photosynthesis. I. Location in photosynthetic membranes and light-harvesting function. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Bioenergetics**, Amsterdam, v. 811, n. 4, p. 325–355, 1985. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0304-4173\(85\)90006-0](https://doi.org/10.1016/0304-4173(85)90006-0)

- SILVA, V. M. *et al.* 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**, Oxford, v. 99, n. 13, p. 5969–5983, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jsfa.9872>
- SILVA, V. M.; RIMOLDI TAVANTI, R. F.; GRATÃO, P. L.; ALCOCK, T. D.; REIS, A. R. dos. Selenate and selenite affect photosynthetic pigments and ROS scavenging through distinct mechanisms in cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) walp) plants. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Philadelphia, v. 201, p. 110777, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110777>
- SILVEIRA, M. M.; JONAS, R. The biotechnological production of sorbitol. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Heidelberg, v. 59, n. 4–5, p. 400–408, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00253-002-1046-0>
- SMIRNOFF, N.; ARNAUD, D. Hydrogen peroxide metabolism and functions in plants. **New Phytologist**, Chichester, v. 221, n. 3, p. 1197–1214, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/nph.15488>
- SRIVASTAVA, H. S. Regulation of nitrate reductase activity in higher plants. **Phytochemistry**, Oxford, v. 19, n. 5, p. 725–733, 1980. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(80\)85100-4](https://doi.org/10.1016/0031-9422(80)85100-4)
- SUNG, Y.; CHEN, S.-W. Response of nitrogen metabolism in pak-choi plants treated with different sodium selenate (Na₂SeO₄) concentrations. **The Horticulture Journal**, Miyazaki, v. 87, n. 3, p. 349–355, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.2503/hortj.OKD-083>
- TEAM, R. C. **R: A language and environment for statistical computing**. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing, 2021. Disponível em: <https://www.r-project.org/>.
- THOMAS, C. L. *et al.* Root morphology and seed and leaf ionomic traits in a Brassica napus L. diversity panel show wide phenotypic variation and are characteristic of crop habit. **BMC Plant Biology**, London, v. 16, n. 1, p. 214, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12870-016-0902-5>
- WHITE, P. J. Selenium metabolism in plants. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects**, Amsterdam, v. 1862, n. 11, p. 2333–2342, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2018.05.006>
- YEMM, E. W.; COCKING, E. C. The determination of amino-acids with ninhydrin. **The Analyst**, Princeton, v. 80, n. 948, p. 209, 1955. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/an9558000209>

Tabela 1. Valores de F e P a partir da análise de variância (ANOVA). Fontes de variação: Variedade, Concentração e a Interação entre os fatores.

Concentração de Se nas folhas		
Fonte	F	Pr (<F)
Variedade (A)	152.0	0.000**
Concentração (B)	4398.7	0.000**
A X B	112.2	0.000**
CV% = 3.95		
H₂O₂		
Fonte	F	Pr (<F)
Variedade (A)	280.96	0.000**
Concentração (B)	102.54	0.000**
A X B	292.71	0.000**
CV% = 2.08		
MDA		
Fonte	F	Pr (<F)
Variedade (A)	153.768	0.000**
Concentração (B)	55.082	0.000**
A X B	90.565	0.000**
CV% = 3.28		
SOD		
Fonte	F	Pr (<F)
Variedade (A)	1973.9	0.000**
Concentração (B)	10270.4	0.000**
A X B	11745.3	0.000**
CV% = 0.71		
CAT		
Source	F	Pr (<F)
Variety (A)	2192.78	0.000**
Concentration (B)	540.90	0.000**
A X B	102.96	0.000**
CV% = 3.26		
APX		
Source	F	Pr (<F)
Variety (A)	1397.8	0.000**
Concentration (B)	2807.2	0.000**
A X B	2334.7	0.000**
CV% = 1.48		
Proteínas solúveis totais		
Fonte	F	Pr (<F)
Variedade (A)	3.23	0.000**
Concentração (B)	544.69	0.000**
A X B	3.22	0.000**
CV% = 0.41		

** - significativo a 1% (p≤0.01).

Fonte: O próprio autor.

Tabela 2. Valores de F e P a partir da análise de variância (ANOVA). Fontes de variação: Variedade, Concentração e a Interação entre os fatores.

Clorifila a		
Fonte	F	Pr (<F)
Variedade (A)	4.35	0.0476*
Concentração (B)	38.19	0.0000**
A X B	9.10	0.0003**
CV% = 7.75		
Clorifila b		
Fonte	F	Pr (<F)
Variedade (A)	2.16	0.1543 ^{ns}
Concentração (B)	28.53	0.0000**
A X B	9.35	0.0002**
CV% = 6.78		
Clorifila Totais (Clorifila a + b)		
Fonte	F	Pr (<F)
Variedade (A)	3.70	0.0662**
Concentração (B)	35.47	0.0000**
A X B	9.27	0.0003**
CV% = 7.4		
Carotenoides		
Fonte	F	Pr (<F)
Variedade (A)	6.04	0.0215*
Concentração (B)	27.07	0.0000**
A X B	10.32	0.0001**
CV% = 6.33		
A		
Fonte	F	Pr (<F)
Variedade (A)	19.23	0.0002**
Concentração (B)	36.96	0.0000**
A X B	1.91	0.1536 ^{ns}
CV% = 4.64		
gs		
Fonte	F	Pr (<F)
Variedade (A)	8.00	0.0093**
Concentração (B)	20.00	0.0000**
A X B	9.33	0.0003**
CV% = 10.53		
Ci		
Fonte	F	Pr (<F)
Variedade (A)	6.66	0.0163*
Concentração (B)	21.53	0.0000**
A X B	5.69	0.0043**
CV% = 8.13		
E		
Fonte	F	Pr (<F)
Variedade (A)	12.30	0.002**
Concentração (B)	5.25	0.006**
A X B	0.91	0.446 ^{ns}
CV% = 11.14		

** - significativo a 1% ($p \leq 0.01$), * - significativo a 5% ($p \leq 0.05$), ns – não significativo.

Fonte: O próprio autor.

Tabela 3. Valores de F e P a partir da análise de variância (ANOVA). Fontes de variação: Variedade, Concentração e a Interação entre os fatores.

Frutose		
Fonte	F	Pr (<F)
Variedade (A)	933.34	0.000**
Concentração (B)	91.05	0.000**
A X B	81.14	0.000**
CV% = 4.48		
Glicose		
Fonte	F	Pr (<F)
Variedade (A)	178.31	0.000**
Concentração (B)	139.93	0.000**
A X B	56.28	0.000**
CV% = 7.02		
Sorbitol		
Fonte	F	Pr (<F)
Variedade (A)	188.90	0.000**
Concentração (B)	18.45	0.000**
A X B	43.86	0.000**
CV% = 5.34		
Sacarose		
Fonte	F	Pr (<F)
Variedade (A)	29.98	0.000**
Concentração (B)	33.32	0.000**
A X B	10.41	0.000**
CV% = 6.62		
Açúcares Totais		
Fonte	F	Pr (<F)
Variedade (A)	71.99	0.000**
Concentração (B)	42.79	0.000**
A X B	16.59	0.000**
CV% = 5.47		
Ganho em altura		
Fonte	F	Pr (<F)
Variedade (A)	15.10	0.00070**
Concentração (B)	37.40	0.00000**
A X B	12.90	0.00003**
CV% = 11.08		
Ganho em diâmetro do colmo		
Fonte	F	Pr (<F)
Variedade (A)	5.38	0.029*
Concentração (B)	1.67	0.199 ^{ns}
A X B	5.11	0.007**
CV% = 22.87		
Ganho em peso total		
Fonte	F	Pr (<F)
Variedade (A)	374.93	0.000**
Concentração (B)	56.26	0.000**
A X B	50.37	0.000**
CV% = 8.26		

** - significativo a 1% ($p \leq 0.01$), * - significativo a 5% ($p \leq 0.05$), ns – não significativo.

Fonte: O próprio autor.

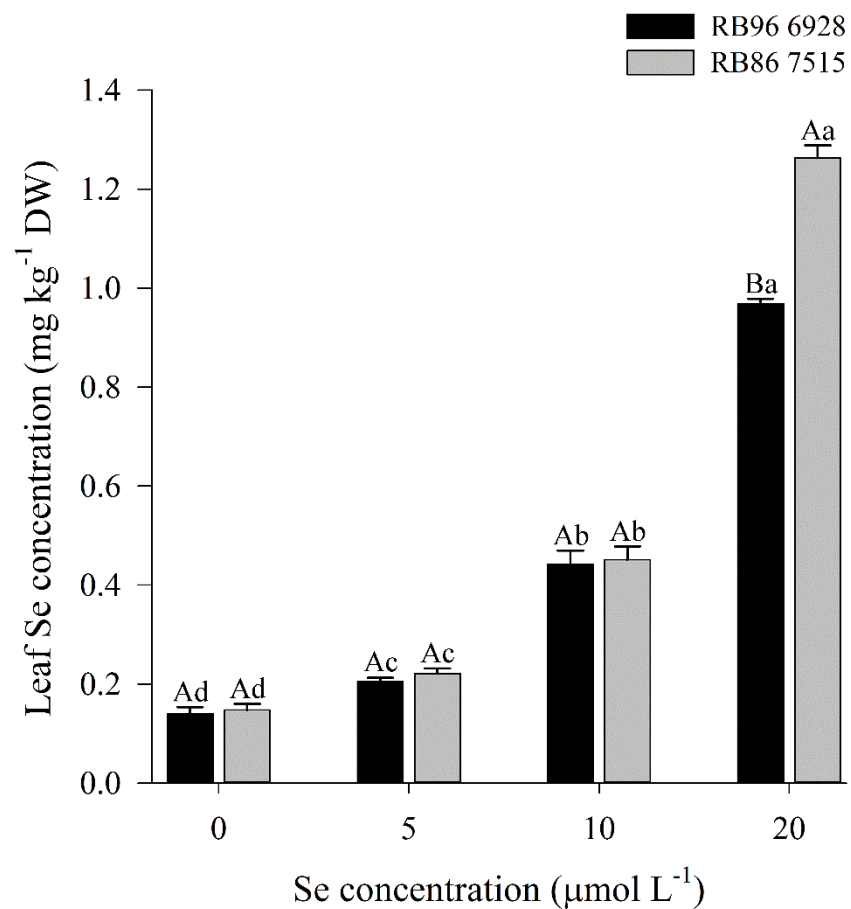
Tabela 4. Valores de F e P a partir da análise de variância (ANOVA). Fontes de variação: Variedade, Concentração e a Interação entre os fatores.

Atividade da redutase do nitrato (NRA)		
Fonte	F	Pr (<F)
Variedade (A)	24288.9	0.000**
Concentração (B)	534.0	0.000**
A X B	782.9	0.000**
CV% = 1.86		
Nitrato		
Fonte	F	Pr (<F)
Variedade (A)	121.67	0.000**
Concentração (B)	251.31	0.000**
A X B	274.54	0.000**
CV% = 1.0		
Amônia		
Fonte	F	Pr (<F)
Variedade (A)	3128.17	0.000**
Concentração (B)	102.00	0.000**
A X B	174.39	0.000**
CV% = 4.33		
Aminoácidos		
Fonte	F	Pr (<F)
Variedade (A)	67.36	0.000**
Concentração (B)	972.71	0.000**
A X B	238.40	0.000**
CV% = 1.91		

** - significativo a 1% ($p \leq 0.01$).

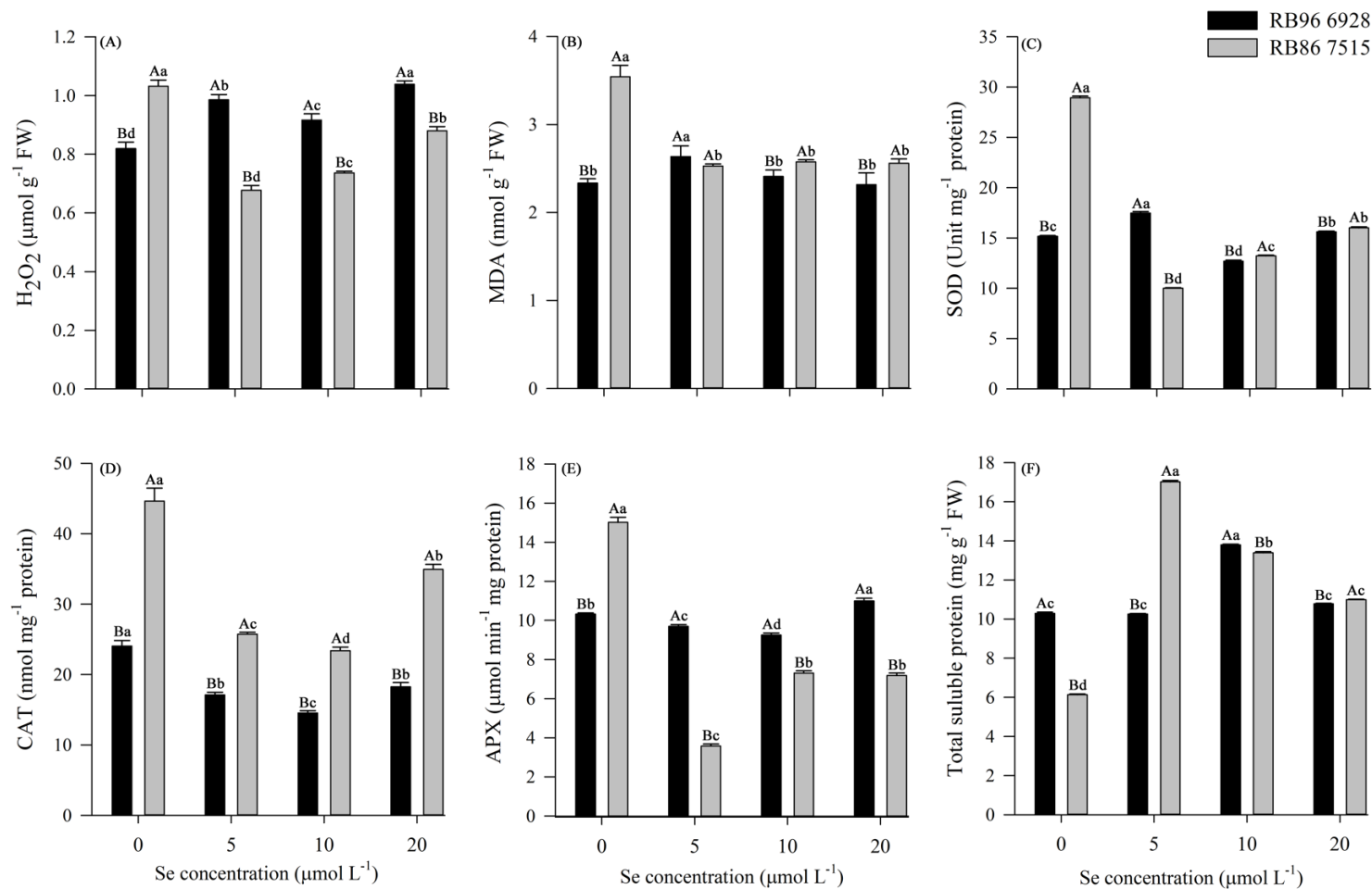
Fonte: O próprio autor.

Figura 1. Concentrações de Se em folhas de cana-de-açúcar sob o efeito da aplicação de selenato de sódio como fonte de Se. Letras maiúsculas distintas indicam diferença significativa entre as variedades em cada tratamento e letras minúsculas indicam diferença significativa na mesma variedade para cada concentração aplicada (Teste Tukey, $p \leq 0.05$).



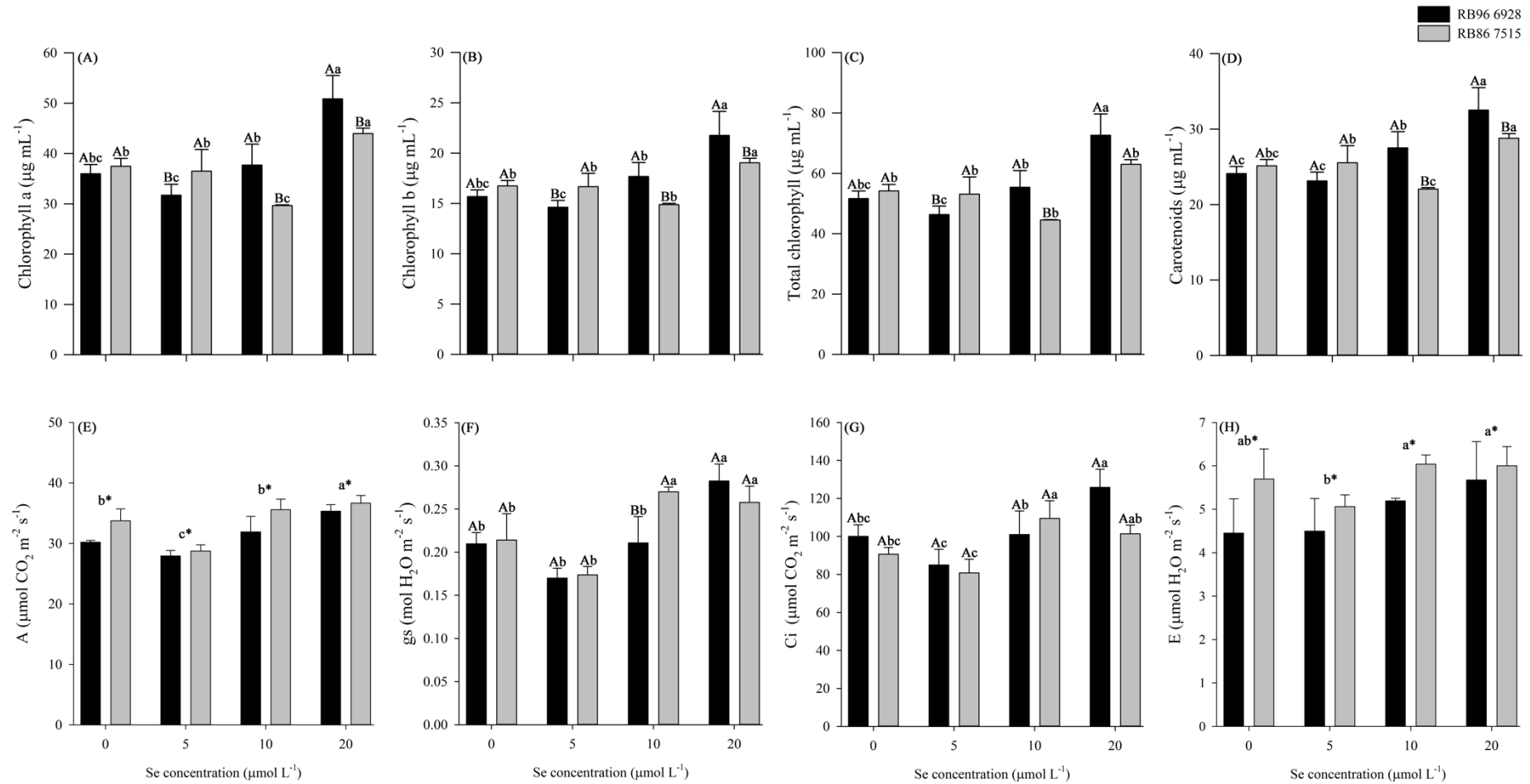
Fonte: O próprio autor.

Figura 2. Concentrações de H_2O_2 (peróxido de hidrogênio), MDA (malondialdeído), atividade das enzimas do sistema antioxidativo representado pela SOD (superóxido dismutase), CAT (catalase) e APX (ascorbato peroxidase), e concentração de proteínas solúveis totais em folhas de cana-de-açúcar sob o efeito da aplicação de selenato de sódio como fonte de Se. Letras maiúsculas distintas indicam diferença significativa entre as variedades em cada tratamento e letras minúsculas indicam diferença significativa na mesma variedade para cada dose aplicada (Teste Tukey, $p \leq 0.05$).



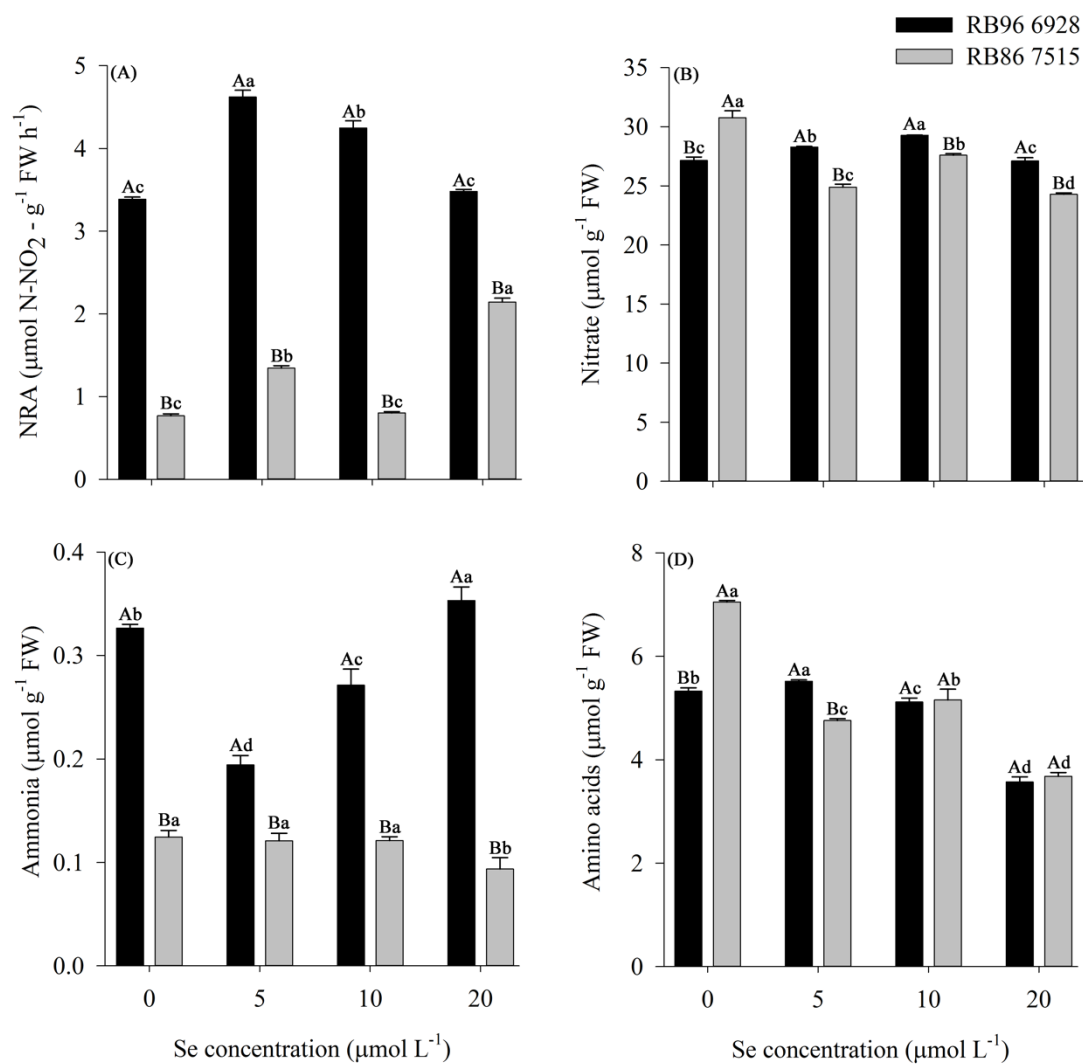
Fonte: O próprio autor.

Figura 3. Concentração de clorofila a, clorofila b, clorofila total, carotenoides, A (taxa de assimilação de carbono), gs (condutância estomática), Ci (carbono interno) e E (transpiração) em folhas de cana-de-açúcar sob efeito da aplicação de selenato de sódio como fonte de Se. Letras maiúsculas distintas indicam diferença significativa entre as variedades em cada tratamento e letras minúsculas indicam diferença significativa na mesma variedade para cada dose aplicada (Teste Tukey, $p \leq 0.05$). *sem interação significativa entre os fatores, efeito das concentrações significativo.



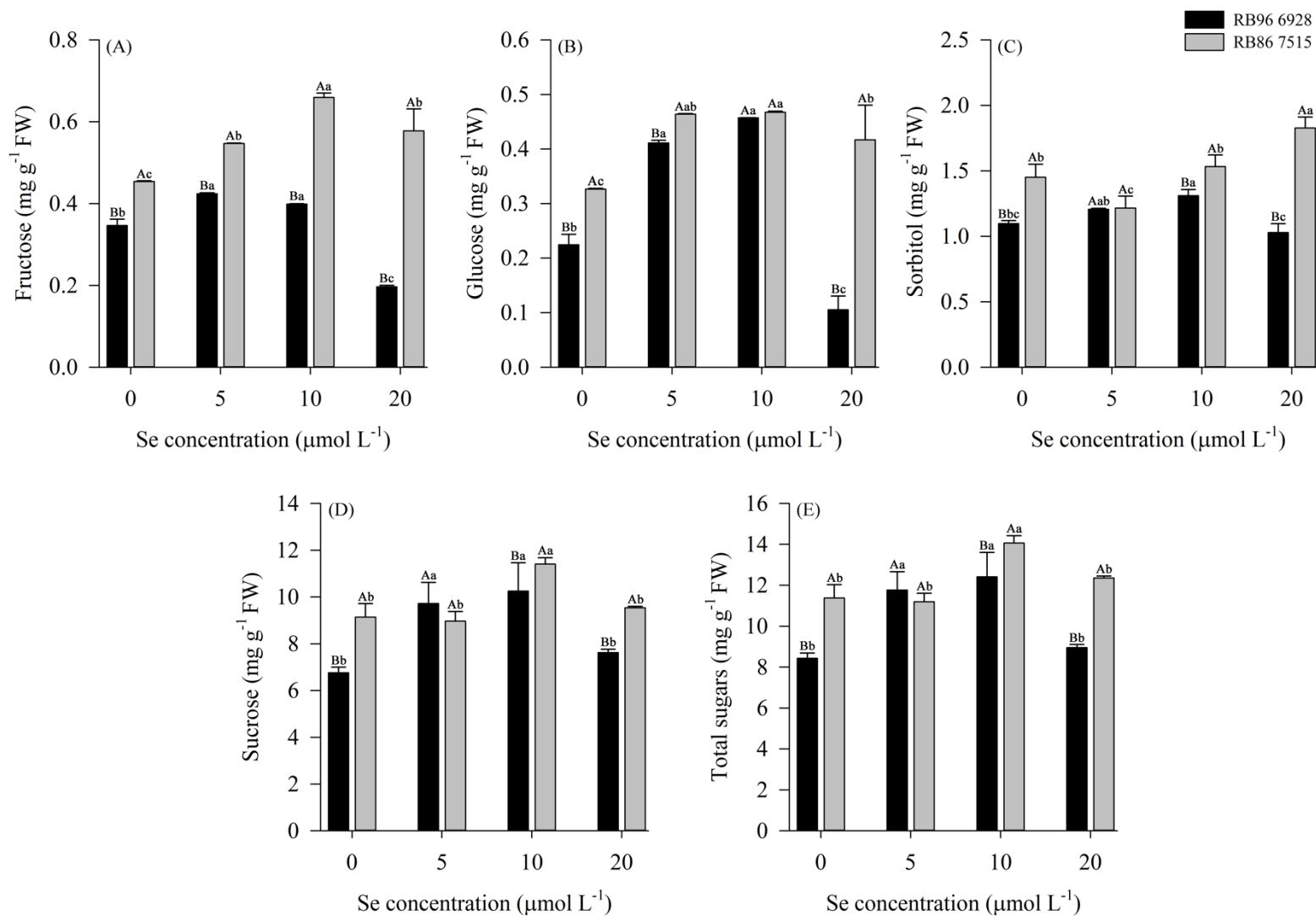
Fonte: O próprio autor.

Figura 4. Atividade da redutase do nitrato (NRA) e concentrações de nitrato, amônia e aminoácidos em folhas de cana de açúcar sob efeito da aplicação de selenato de sódio como fonte de Se. Letras maiúsculas distintas indicam diferença significativa entre as variedades em cada tratamento e letras minúsculas indicam diferença significativa na mesma variedade para cada concentração aplicada (Teste Tukey, $p \leq 0.05$).



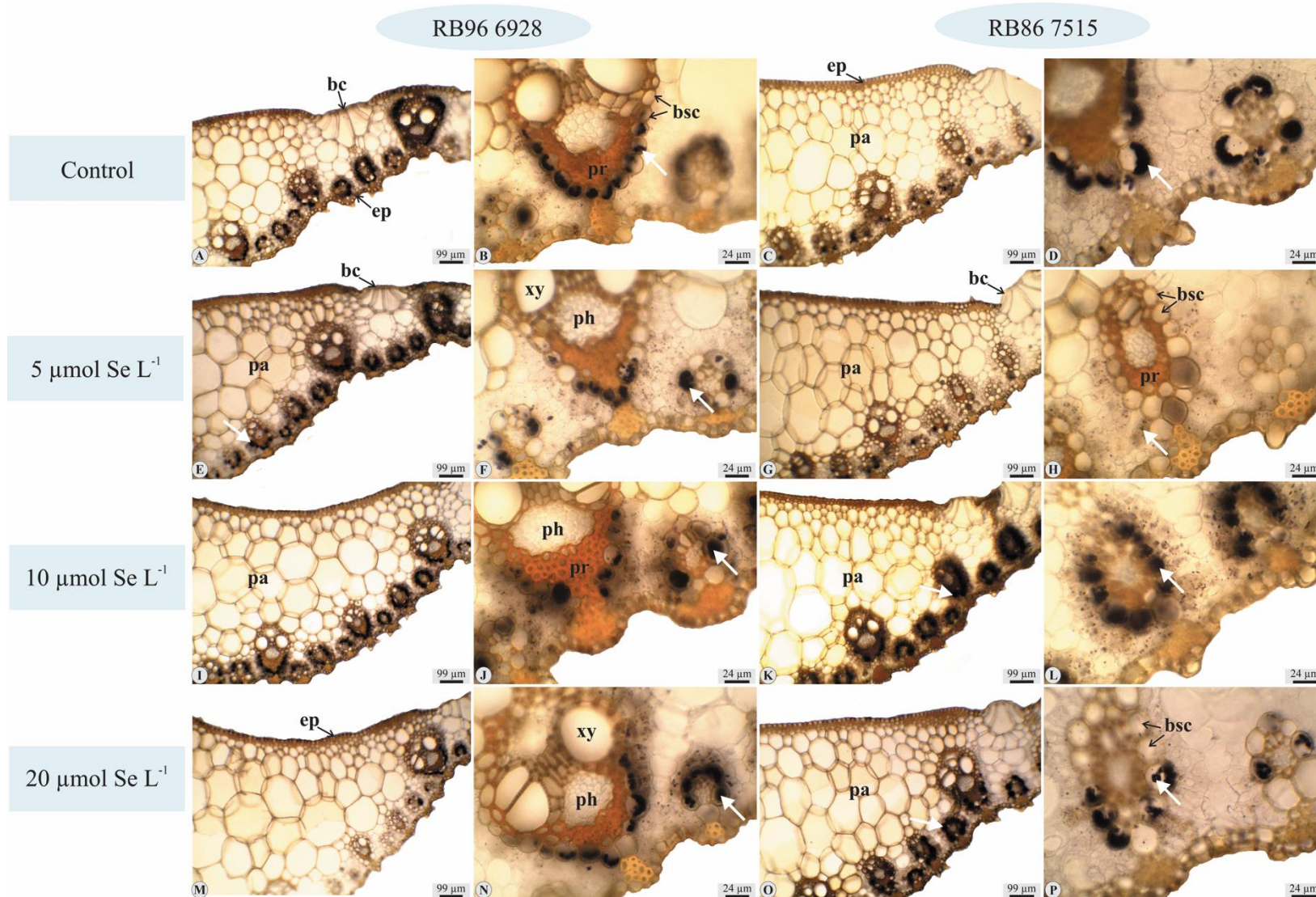
Fonte: O próprio autor.

Figura 5. Concentração de frutose, glicose, sorbitol, sacarose e açúcares totais em folhas de cana-de-açúcar sob efeito da aplicação de selenato de sódio como fonte de Se. Letras maiúsculas distintas indicam diferença significativa entre as variedades em cada tratamento e letras minúsculas indicam diferença significativa na mesma variedade para cada concentração aplicada (Teste Tukey, $p \leq 0.05$).



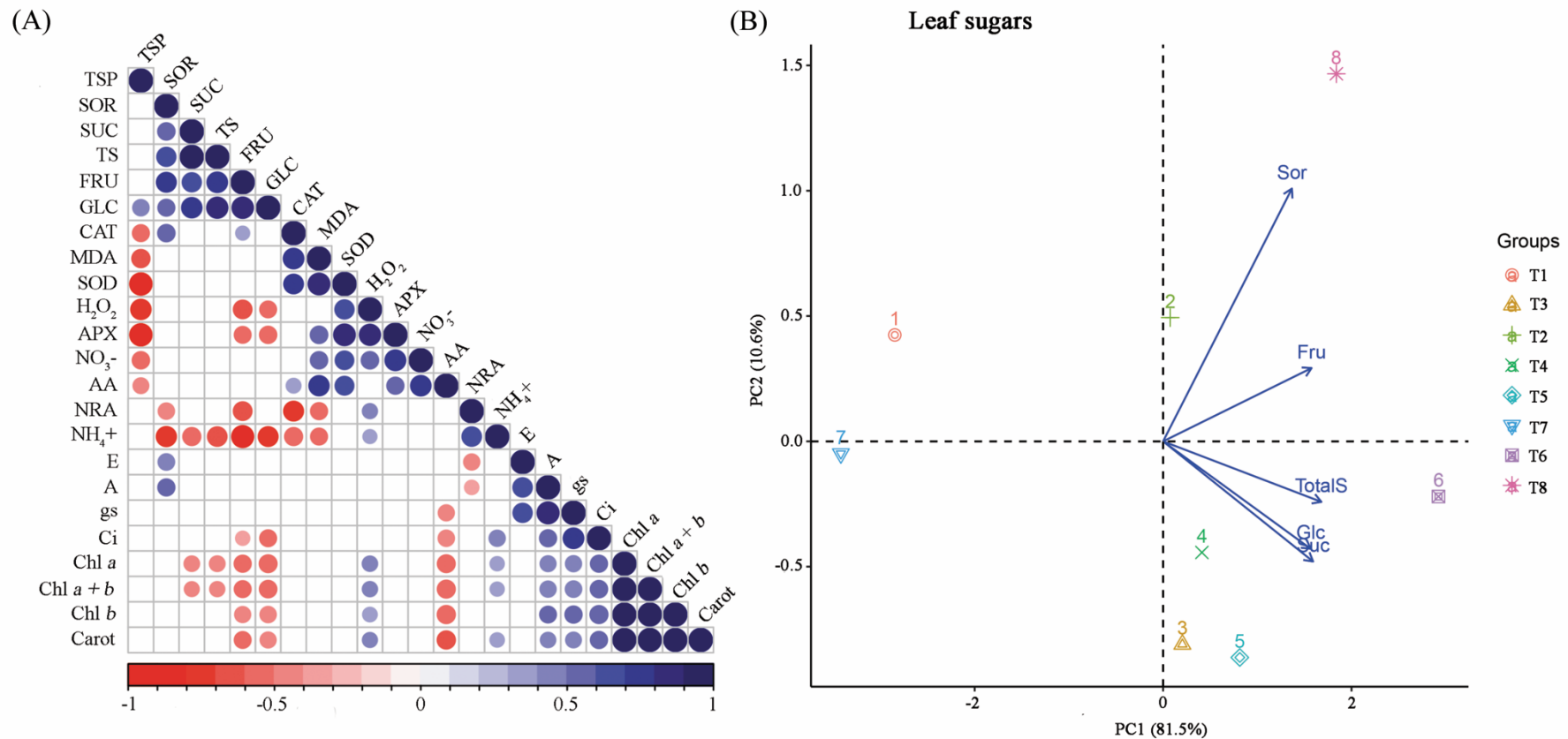
Fonte: O próprio autor.

Figura 6. Teste histoquímico em cortes transversais de folhas de cana-de-acúcar sob efeito da aplicação de selenato de sódio como fonte de Se. **bc** – células buliformes. **ep** – epiderme. **pa** – parênquima. **bsc** – células da banha do feixe vascular. **pr** – periciclo espessado. **xy** - xilema. **ph** - floema. Os grânulos de amido são indicados pela seta branca.



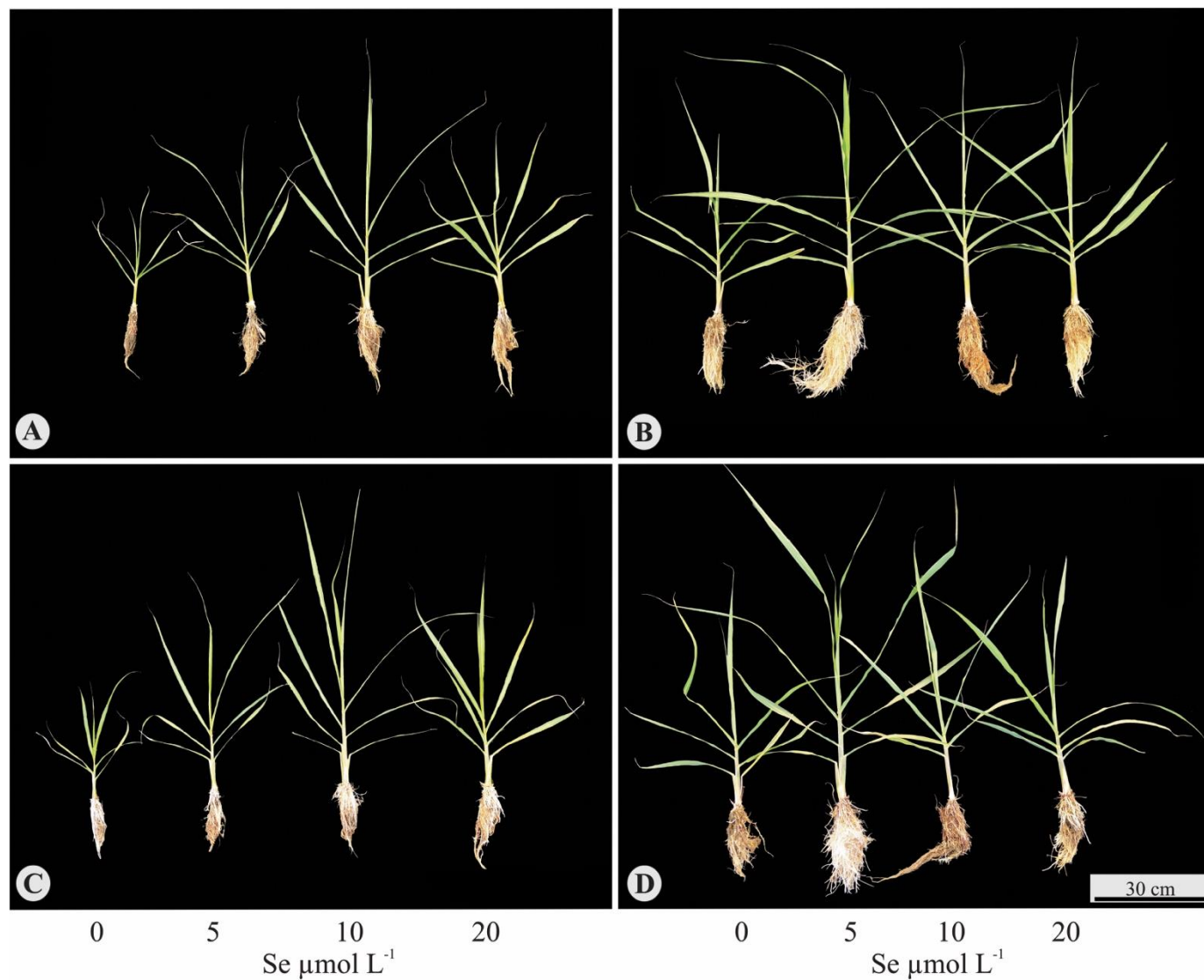
Fonte: O próprio autor.

Figura 7. A – Heatmap a partir da análise de Correlação de Pearson ($p \leq 0.05$) entre as variáveis estudadas. Espaços em branco indicam correlação não-significativa. **TSP** - proteínas solúveis totais. **SOR** – sorbitol. **SUC** - sacarose. **TS** – açúcares totais. **FRU** – frutose. **CAT** – catalase. **MDA** - malondialdeído. **SOD** – superóxido dismutase. **H₂O₂** – peróxido de hidrogênio. **APX** – ascorbato peroxidase. **NO₃⁻** - nitrato. **AA** - aminoácidos. **NRA** – atividade da redutase do nitrato. **NH₄⁺** - amônia. **TS** – açúcares totais. **E** - transpiração. **A** - fotossíntese. **gs** – condutância estomática. **Ci** – carbono interno. **Chl a** – clorofila a. **Chl a + b** – clorofila total. **Chl b** – clorofila b. **Carot** - carotenoides. **B** – Análise de componentes principais (PCA) para os dados de açúcares obtidos via sistema de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). **T1** - RB96 6928 0 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$. **T2** - RB86 7515 5 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$. **T3** - RB96 6928 5 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$. **T4** - RB86 7515 5 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$. **T5** - RB96 6928 10 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$. **T6** - RB86 7515 10 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$. **T7** - RB96 6928 20 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$. **T8** - RB86 7515 20 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$. **Fru** - frutose. **Glc** - glicose. **Sor** - sorbitol. **Suc** - sacarose. **Totals** – açúcares totais.



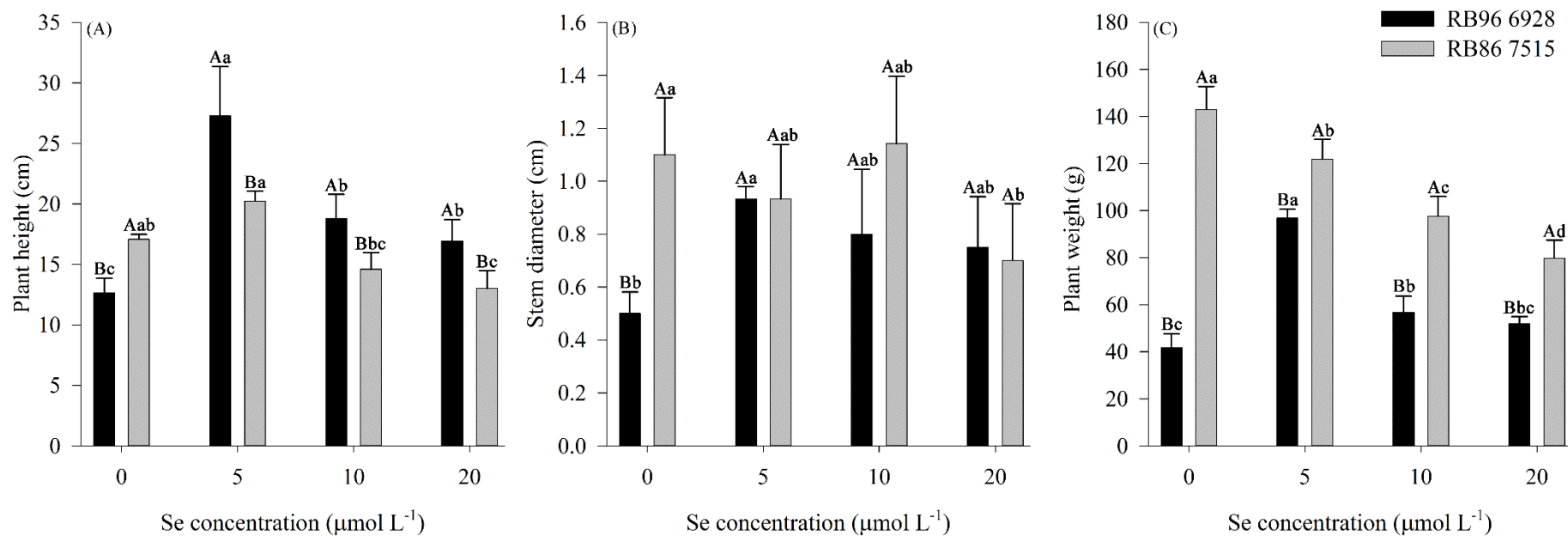
Fonte: O próprio autor.

Figura 8. Resposta de duas variedades de cana de açúcar à aplicação de selenato de sódio como fonte de Se no crescimento da parte aérea e sistema radicular. **A** e **B** – 33 dias após a aplicação dos tratamentos. **C** e **D** – 40 dias após a aplicação dos tratamentos. **A** e **C** – Variedade RB966928. **B** e **D** - Variedade RB867515.



Fonte: O próprio autor.

Figure 9. Ganho em altura (A), ganho em diâmetro do colmo (B) e ganho de peso total (parte aérea e raiz) (C) de plantas de cana-de-açúcar sob o efeito da aplicação de selenato de sódio como fonte de Se. Letras maiúsculas distintas indicam diferença significativa entre as variedades em cada tratamento e letras minúsculas indicam diferença significativa na mesma variedade para cada concentração aplicada (Teste Tukey, $p \leq 0.05$).



Fonte: O próprio autor.

CAPÍTULO III: FERTILIZAÇÃO COM SELÊNIO AUMENTA PIGMENTOS FOTOSSINTÉTICOS, METABOLISMO ANTIOXIDANTE E CRESCIMENTO DA CANA-DE-AÇÚCAR

Resumo

O efeito benéfico do selênio (Se) nas plantas se consolida pelo seu papel como mitigador do estresse abiótico pela redução das espécies reativas de oxigênio (ERO's) a partir da promoção do metabolismo antioxidante. Além disso, o Se está relacionado com o aumento da síntese de pigmentos fotossintéticos, assimilação de nitrogênio (N) e metabolismo de açúcares. O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito de concentrações de Se nas respostas fisiológicas, bioquímicas e produção de açúcares por duas variedades de cana-de-açúcar. O experimento foi conduzido sob delineamento inteiramente casualizado, utilizando-se 4 repetições e um esquema fatorial com duas variedades de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp) (RB96 6928 e RB86 7515) e 4 concentrações de Se (0; 5; 10 e 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$) aplicados na forma de selenato de sódio em um sistema hidropônico. Em ambas as variedades, a concentração de Se nas folhas aumentou com a aplicação das concentrações de selenato de sódio. A partir da aplicação das concentrações de Se houve mitigação das ERO's pela redução da concentração de MDA e H_2O_2 , e aumento da atividade da SOD, CAT e APX. A atividade da redutase do nitrato e da concentração de aminoácidos aumentaram em resposta a aplicação de Se. Foi observado aumento nas concentrações de pigmentos fotossintéticos (clorofilas, carotenoides e feofitinas). Houve aumento na concentração de açúcares totais nas folhas em resposta a aplicação de Se. Foi observado aumento nas concentrações de sorbitol, sacarose e açúcares totais para a variedade RB96 6928 no caldo extraído do colmo da planta. A aplicação de Se aumentou a altura e o peso total das plantas indicando maior crescimento de produtividade da cana-de-açúcar. Esses resultados sugerem que a fertilização de cana-de-açúcar com Se pode aumentar a tolerância das plantas em resposta ao estresse abiótico, podendo aumentar a produtividade em condições de campo.

Palavras-chave: *Saccharum* spp, selênio, atividade antioxidante, metabolismo do nitrogênio, metabolismo de carboidratos.

1. INTRODUÇÃO

A concentração de Se nos solos pelo mundo tem grande variação devido principalmente ao seu material de origem, e em geral, excetuando algumas regiões nos Estados Unidos e Índia, apresentam baixas concentrações, que levariam à uma alimentação deficiente em Se (GUPTA; GUPTA, 2000). A concentração de Se na alimentação humana depende das concentrações do mineral em uma forma biodisponível para plantas em solos cultiváveis e as taxas de absorção do elemento por essas (DOS REIS *et al.*, 2017). As baixas concentrações de Se nos solos ao redor do mundo, e consequentemente uma alimentação deficiente, acarreta problemas de saúde ligados à essencialidade do elemento para os seres humanos em vários países (DOS REIS *et al.*, 2017; LANZA; REIS, 2021).

A necessidade da suplementação de Se na alimentação humana torna-se uma questão de saúde pública de importância global (DOS REIS *et al.*, 2017; SCHIAVON *et al.*, 2020). A utilização de fertilizantes tendo o mineral como fonte, uma das maneiras encontradas hoje para tal suplementação e tendo sucesso no aumento de sua concentração em culturas mundialmente consumidas (ANDRADE *et al.*, 2018; CABRAL GOUVEIA *et al.*, 2020; DOS REIS *et al.*, 2017; LANZA *et al.*, 2021; LANZA; REIS, 2021; MATEUS *et al.*, 2021; SILVA *et al.*, 2019, 2020).

O Se é um elemento essencial para humanos e animais (MATEUS *et al.*, 2021; SCHIAVON *et al.*, 2020) e atua principalmente nos mecanismos de defesa contra o estresse oxidativo (DOS REIS *et al.*, 2017), nos processos de atenuação dos efeitos da peroxidação lipídica, na reparação do DNA, no controle de enzimas ativadoras de substâncias carcinogênicas e também contra alguns efeitos tóxicos produzidos por metais pesados, como o cobre, o mercúrio e o cádmio (FORDYCE, 2013). Para as plantas, o Se é atualmente considerado um elemento benéfico (LANZA; REIS, 2021), atuando principalmente no aumento da tolerância ao estresse abiótico (DOS REIS *et al.*, 2017; FENG; WEI; TU, 2013; LANZA; REIS, 2021; WHITE, 2018) provocados pelo frio, salinidade, estresse hídrico e também metais pesados (FENG; WEI; TU, 2013), e assim como para os animais, os limiares entre taxas benéficas e tóxicas são pequenas (DOS REIS *et al.*, 2017).

As formas biodisponíveis mais utilizadas na suplementação de Se estão na forma de selenito e selenato (SILVA *et al.*, 2020; WHITE, 2018), sendo o selenato uma fonte menos tóxica e que traz mais benefícios quando utilizada em pequenas concentrações (GROTH *et al.*, 2020; LIDON *et al.*, 2018; RÍOS *et al.*, 2013; SILVA *et al.*, 2020). Em

baixas concentrações, o Se atua na ativação do sistema antioxidante das plantas quando estas estão sob estresse, aumentando a atividade de enzimas do complexo que atua na defesa antioxidante como a APX (ascorbato peroxidase), SOD (superóxido dismutase), CAT (catalase) e a GR (glutathione redutase) (LANZA; REIS, 2021; MATEUS *et al.*, 2021; SILVA *et al.*, 2020), diminuindo a concentração de ERO's como o H₂O₂ (peróxido de hidrogênio) (MATEUS *et al.*, 2021; SILVA *et al.*, 2020) e do MDA, importante indicador da peroxidação lipídica (GROTTO *et al.*, 2009; KONG *et al.*, 2016; MORALES; MUNNÉ-BOSCH, 2019).

O Se pode aumentar a síntese de pigmentos fotossintetizantes em uma grande faixa de organismos fotossintetizantes, desde algas (CHEN *et al.*, 2008; CONSTANTINESCU-ARUXANDEI *et al.*, 2019; HANDA *et al.*, 2018) e até mesmo no feijão-caupi (LANZA *et al.*, 2021; SILVA *et al.*, 2020) e no café (MATEUS *et al.*, 2021). O aumento da concentração de pigmentos fotossintetizantes provocado pela aplicação de Se pode aumentar também as taxas fotossintéticas, como a taxa de assimilação de carbono, a condutância estomática e taxas de transpiração (ANDRADE *et al.*, 2018; SILVA *et al.*, 2020) provocando aumento nas taxas de crescimento e produtividade. Outro efeito do Se que pode explicar o aumento das taxas de crescimento e produtividade é seu papel na ativação de enzimas-chave do metabolismo de açúcar como amilases, a sacarose sintase (SuSy), e a sacarose-fosfato sintase e invertases (MALIK *et al.*, 2011) e ainda, provocar um maior acúmulo de amido e sacarose nos órgãos vegetais (OWUSU-SEKYERE *et al.*, 2013).

A cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) é uma cultura mundialmente importante para a produção de açúcar e bioenergia (ZHAO; LI, 2015) e tem o Brasil como seu principal produtor (BORDONAL *et al.*, 2018). O aumento da [CO₂] na atmosfera e as mudanças climáticas observadas ao longo do tempo tendem a beneficiar algumas plantas com metabolismo C₃ em determinados locais, e plantas C₄ como a cana-de-açúcar, têm sua produtividade fortemente afetada por essas mudanças, principalmente o estresse hídrico (ZHAO; LI, 2015), principal fator limitante para o cultivo da cultura (SILVA *et al.*, 2008). A aplicação de baixas concentrações de Se poderia aumentar o metabolismo antioxidante, a concentração de pigmentos fotossintéticos e as taxas do metabolismo de N e açúcares, tornando as plantas mais tolerantes a potenciais estresses abióticos e promovendo, consequentemente, maior crescimento das plantas.

A hipótese desse trabalho é que plantas de cana-de-açúcar fertilizadas com pequenas concentrações de Se apresentam maior tolerância ao estresse oxidativo, maior

taxa de assimilação do N e acúmulo de açúcares no caldo. O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito de concentrações de Se nas respostas fisiológicas, bioquímicas e produção de açúcares por duas variedades de cana-de-açúcar.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Instalação do experimento

Para avaliar o efeito de concentrações de Se no metabolismo antioxidante, nas taxas fotossintéticas e assimilação de N em variedades de cana-de-açúcar o experimento foi conduzido em solução nutritiva. Mudanças pré-brotadas de RB96 6928 e RB86 7515 livres de qualquer doença ou impureza com 20 dias de germinação foram adquiridas na Estação Experimental da Syngenta das variedades RB96 6928 e RB86 7515. As variedades de cana-de-açúcar foram escolhidas por serem as variedades mais plantadas no Cerrado do Noroeste Paulista. As variedades apresentam alta rusticidade, sendo a RB96 6928 uma variedade que apresenta baixa concentração de sacarose em relação à RB86 7515.

As mudas foram lavadas em água corrente para a retirada do substrato, posteriormente enxaguadas com água deionizada e submetidas à solução nutritiva de Hoagland a 50% da força iônica por 7 dias para adaptação. Após esse período, foram aplicados os tratamentos contendo concentrações de Se em solução nutritiva de Hoagland sob constante aeração. A solução nutritiva foi constantemente monitorada e mantida a pH 5.5 durante toda a fase experimental.

O delineamento experimental utilizado foi um fatorial 2 x 4, sendo; 2 variedades de cana-de-açúcar (RB96 6928 e RB86 7515); 4 concentrações de Se (0; 5; 10 e 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$) aplicados na forma de selenato de sódio, com 4 repetições em vasos de polietileno com capacidade de 8 L de solução nutritiva cada. As coletas para a avaliação do metabolismo antioxidante, conteúdo de pigmentos fotossintéticos, atividade da redutase do nitrato e quantificação dos compostos nitrogenados foram realizadas 85 dias após aplicação dos tratamentos.

2.2. Análise Nutricional

Para a determinação da concentração de Se, as folhas últimas folhas totalmente desenvolvidas da cana-de-açúcar foram secas por 72 horas a 60°C. A determinação do mineral foi realizada por espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) de acordo com Thomas *et al.* (2016).

2.3. Análise de Malondialdeído (MDA) e Peróxido de hidrogênio (H_2O_2)

O conteúdo a ser analisado para avaliação das concentrações de MDA e peróxido de hidrogênio foi obtido após extração de material fresco acrescentando-se 4 mL de TCA

0.1% em 0.5 g de folhas. A análise de MDA seguiu de acordo com Heath e Packer (1968). A 300 µL do sobrenadante da extração foi adicionado 1 mL de uma solução contendo de Ácido tricloroacético (TCA) 20% e Ácido tiobarbitúrico (TBA) 0.5%. Por 30 minutos as amostras permaneceram sob banho seco em estufa a 95 °C e posteriormente 10 minutos sob banho de gelo. As amostras seguiram para centrífuga onde permaneceram por 10 minutos a 10,000rpm. A análise do H₂O₂ foi realizada de acordo com Alexieva *et al.* (2001). A 200 µL do material extraído foram adicionados 200 µL de tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 7.5) e 800 µL de iodeto de potássio 1 M. As amostras permaneceram sob banho de gelo sem luz por uma hora.

2.4. Análise de Atividade da Superóxido Dismutase (SOD - EC 1.15.1.1), Catalase (CAT - EC 1.11.1.6), Ascorbato Peroxidase (APX - EC 1.11.1.11) e Análise de proteínas solúveis totais

A análise da atividade das enzimas do sistema antioxidativo e do conteúdo proteico foram realizadas a partir da extração de 1.5 g de folhas frescas em 4 mL de tampão fosfato de potássio (GOMES-JUNIOR *et al.*, 2006). A análise da atividade da SOD foi conduzida de acordo com Giannopolitis e Ries (1977). A análise da atividade da CAT foi realizada segundo Azevedo *et al.* (1998). A atividade da APX foi mensurada de acordo com Gratão *et al.* (2008) A concentração de proteínas totais solúveis foi obtida assim como descrito por Bradford (1976).

2.5. Pigmentos

A extração para análise dos pigmentos fotossintetizantes foi realizada adicionando 2 mL de acetona 80% em 0.06 g de folhas frescas. As amostras foram encubadas por 24 horas em geladeira protegidas da luz (LICHTENTHALER; WELLBURN, 1983). De tal análise podemos quantificar a concentração de Clorofila a, clorofila b, clorofila total, carotenoides, feofitina a e feofitina total.

2.6. Atividade da Redutase do nitrato (EC 1.7.99.4)

Pequenos discos foliares totalizando 0.2 g foram coletados de folhas frescas e a esse material foram adicionados 2 mL de tampão fosfato de potássio + KNO₃ 7.5. As amostras foram encubadas em microtubos a 30 °C por 30 minutos. A 50 µL do extrato foram adicionados 500 µL sufamilamida 1% em HCL 1.5 N e 500 µL de naftiletinodiamino 0,05% (REIS *et al.*, 2009).

2.7. Análises de compostos nitrogenados

A extração dos compostos nitrogenados foi realizada como descrito por Bielecki e Turner (1966). Folhas frescas foram trituradas sob banho de nitrogênio líquido e depois adicionado a solução extratora. Para cada 1g de material fresco, acrescentou-se 10 mL de solução MCW (60% mL de Metanol, 25% mL de Clorofórmio, e 15 mL de H₂O). O material permaneceu sob refrigeração por 48 horas para ação do solvente e posteriormente submetido à centrifugação. Seguiu-se então para a separação de fases, acrescentando-se 1 mL de Clorofórmio e 1,5 mL de H₂O para cada 4 mL do sobrenadante resultante da centrifugação. Foram esperadas 24 horas para que a separação de fases ocorresse e da fase hidrossolúvel foram realizadas as análises de nitrato, amônia e aminoácidos.

2.7.1 Nitrato

Foram utilizados 100 µL do sobrenadante, adicionados 40 µL de ácido salicílico 5% diluído em H₂SO₄. Após 20 minutos, foram adicionados 2 mL de NaOH 2N às amostras (CATALDO *et al.*, 1975).

2.7.2 Amônia

A quantificação de amônia foi realizada de acordo com (MCCULLOUGH, 1967). A 75 µL do sobrenadante foram acrescentados 500 µL de solução fenol (fenol + nitroprusiato de sódio) e 500 µL de solução fosfato (NaOH + nitroprusiato de sódio + hipoclorito de sódio). Por uma hora as amostras foram submetidas a banho seco a 37°C

2.7.3 Aminoácidos

A 300 µL de sobrenadante foram adicionados 500 µL de citrato de sódio 0.2 M, 200 µL de ninhidrina 5% e 1 mL de cianeto de potássio 0.0002 M. As amostras foram submetidas a banho seco a 100 °C por 20 minutos e posteriormente a um banho com água corrente por 10 minutos (YEMM; COCKING, 1955). Após esse tempo, foi adicionado 1 mL de álcool 60%.

2.8. Quantificação de açúcares em HPLC

A quantificação e separação açúcares no caldo foi realizada utilizando o HPLC (High performance liquid chromatography). O caldo foi filtrado em filtros de 0.22 µm. Utilizou-se um sistema de HPLC da Shimadzu, modelo Prominence equipado com detector de índice de refração diferencial, modelo RID-20^a. Para se detectar os picos de glicose, frutose, sacarose e sorbitol foram injetados 5 µL da solução padrão em diferentes concentrações, utilizando um amostrador automático modelo SIL-10AF. O sistema é equipado com uma coluna Shim-Pack GIST NH2 com dimensões de 4,6 x 250 mm e diâmetro de partícula de 5 µm, a 40°C. A fase móvel foi composta de uma solução 90%

de acetonitrila. O Método foi realizado em 25 minutos em modo socrático com fluxo de 1 mL min⁻¹.

2.9. Análises biométricas

A altura e o diâmetro do colmo foram mensurados a 0 e aos 60 dias após aplicação dos tratamentos. A massa total da planta foi mensurada aos 15 e 60 dias após a aplicação dos tratamentos.

2.10. Análises estatísticas

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software *R* versão 4.0.4. Foi realizada uma análise de variância (Tabelas 1, 2, 3 e 4) para os dados seguindo modelo fatorial, e quando significativo, foi realizado teste de Tukey com $p \leq 0.05$ para analisar as diferenças e efeitos dos tratamentos. A plotagem dos gráficos foi realizada no *SigmaPlot* versão 12.5. O heatmap foi criado a partir da análise de Correlação de Pearson $p < 0.05$ e juntamente com a análise de componentes principais para os dados de açúcar foram plotados no *RStudio* versão 1.4.1103.

3. RESULTADOS

3.1. Concentração de MDA e Peróxido de hidrogênio (H₂O₂)

A aplicação das concentrações de Se diminuiu a concentração de MDA (Figura 1A) e H₂O₂ (Figura 1B) nas folhas de ambas as variedades de cana-de-açúcar. Em relação às concentrações de H₂O₂, plantas de ambas variedades sob o tratamento de 5 µmol Se L⁻¹ apresentaram a menor concentração, a variedade RB96 6928 apresentou um decréscimo de 5.73% e a variedade de RB86 7515 13.95%. Quando comparadas as concentrações de MDA, para a variedade RB96 6928 dose de 5 µmol Se L⁻¹ foi o melhor tratamento, provocou um decréscimo de 37.32% na concentração do composto e para a variedade RB86 7515 a dose de 10 µmol Se L⁻¹ foi o tratamento onde as plantas apresentaram a menor concentração do composto, um decréscimo de 17.75% em relação ao controle.

3.2. Enzimas antioxidantes e conteúdo proteico

Para a variedade RB96 6928 a dose de 5 µmol Se L⁻¹ foi o tratamento que apresentou as maiores atividades para Superóxido dismutase (SOD) (Figura 1C), Catalase (CAT) (Figura 1D) e Ascorbato peroxidase (APX) (Figura 1E), aumento de 51.05%, 4.90% e 62.74%, respectivamente, em relação ao controle. Para a variedade RB86 7515 as maiores atividade para SOD e CAT, assim como para a RB96928, foram nos tratamentos com a aplicação de 5 µmol Se L⁻¹, aumento de 30.46% para a atividade de

SOD e de 9.79% para a atividade da CAT. Em relação à atividade da APX, a maior atividade foi observada com a aplicação de 20 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$, aumento de 22.98%. Quando analisado o conteúdo proteico (Figura 1F) foi observado que a dose de 20 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$ foi para RB96 6928 o tratamento com a maior concentração para proteínas totais, um aumento de 15.40%, enquanto para RB8 7515 isso foi observado com a aplicação de 10 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$, apresentando aumento de 9.32% em relação ao controle.

3.3. Metabolismo do Nitrogênio

Em relação à atividade da redutase do nitrato (NRA) (Figura 2A) as variedades apresentaram diferentes respostas. A aplicação de 5 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$ provocou uma queda de 28.56% na atividade da enzima para a variedade RB96 6928, enquanto para RB86 7515 o tratamento com 20 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$ apresentou os maiores valores para tal atividade, um aumento de 18.75% em relação ao tratamento controle. A concentração de nitrato (Figura 2B) decresceu 13.61% para a variedade RB86 7515 com a aplicação de 5 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$, enquanto que para a variedade RB96 6928 todos os tratamentos onde foi aplicado selenato de sódio foi observado maiores concentração de nitrato em relação ao tratamento controle, o tratamento com a aplicação de 20 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$ apresentou um aumento de 28.69%. Para ambas variedades as concentrações de amônia (Figura 2C) e aminoácidos (Figura 2D) foram aumentadas. Para RB96 6928 a maior concentração de amônia foi observada no tratamento com 5 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$, um aumento de 74.07%, e para aminoácidos, o tratamento com 10 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$ aumentou em 15.91% em relação ao controle. Em relação à variedade RB86 7515, os tratamentos com a aplicação de 10 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$ foram os que apresentaram as maiores concentrações de amônia e aminoácidos, aumentos de 94.24% e 6.42%, respectivamente.

3.4. Pigmentos fotossintéticos

Foi observado efeito positivo para todas as variáveis estudadas. A aplicação de Se na forma de selenato de sódio provocou aumento significativo na concentração de clorofila *a* (Figura 3A), clorofila *b* (Figura 3B), clorofila total (Figura 3C), carotenoides (Figura 3D), feofitina *a* (Figura 3E) e feofitina total (Figura 3F). A dose de 20 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$ foi o tratamento que apresentou as maiores concentrações para todas as variáveis para a variedade RB86 7515, tendo havido aumentos em relação ao tratamento controle de 115.2%, 110.33%, 114.42%, 88.80%, 115.12% e 115.25% para concentração de clorofila *a*, clorofila *b*, clorofila total, carotenoides, feofitina *a* e feofitina total, respectivamente. Em relação à variedade RB86 6928, foram observados aumento nas concentrações para todas as variáveis com aplicação de Se.

3.5. Quantificação de açúcares nas folhas e crescimento

Com a aplicação Se, houve um aumento na concentração de açúcares totais (Figura 4A) nas folhas para ambas as variedades. Para RB96 6928 a aplicação de 10 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$ aumentou em 8.21% a concentração de açúcares em relação ao controle e para RB86 7515, esse aumento foi de 8.82%. Em relação ao crescimento e desenvolvimento não foi observado diferença significativa para ganho no diâmetro de colmo (Figura 4B) com a aplicação das concentrações de Se. Quando analisados o ganho em altura (Figura 4C) e ganho de peso (Figura 4D) após os 60 dias de tratamento, a variedade RB96 6928 apresentou melhores respostas, a aplicação de 5 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$ foi o tratamento que apresentou os maiores valores médios para tais variedades. Para RB86 7515, a aplicação de 10 e 20 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$ provocaram decréscimo no ganho em altura e peso.

3.6. Quantificação de açúcares no caldo

Em relação à variedade RB86 6928 a aplicação de Se causou decréscimo na concentração de frutose (23.88%) (Figura 6A) e glicose (45.77%) (Figura 6B) com a aplicação de 5 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$, já a concentração de sorbitol (Figura 6C) aumentou em 119.6%. Com a aplicação de 10 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$ a concentração de sacarose (Figura 6D) aumentou em 36.87%. Em relação à RB86 7515, houve decréscimo na concentração de frutose (36.84%), glicose (53.52%), sorbitol (54.53%) e sacarose (42.31%) com a aplicação de 5 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$. Em relação ao açúcares totais (Figura 6E), RB86 6928 teve sua concentração aumentada em 24.05% com a aplicação de 10 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$. Para RB86 7515 a dose de 10 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$ foi o tratamento que causou a menor queda na produção de açúcares no caldo.

3.7. Heatmap e PCA

O heatmap (Figura 7A) produzido a partir da Correlação de Pearson demonstrou haver correlação positiva significativa entre Proteínas totais solúveis com os valores de H_2O_2 , MDA, frutose, glucose, nitrato e atividade da redutase do nitrato. Os dados de sacarose possuem relação de correlação positiva com proteínas solúveis totais e H_2O_2 . Os pigmentos fotossintetizantes apresentaram correlação negativa com a atividade da CAT. Sacarose e açúcares totais possuem correlação negativa com as enzimas do sistema antioxidativo, CAT, SOD e APX. A análise de PCA (Figura 7B) demonstrou que os 2 primeiros componentes principais abrangem 88.4% da variação dos dados de concentração de açúcares no caldo. Em relação à variedade RB96 6928, podemos observar que o tratamento com 10 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$ apresentou a melhor resposta para sacarose

e açúcares totais, enquanto o tratamento controle foi o melhor para a variedade RB86 7515.

3.8. Análise Se em folhas

Foi observado um aumento na concentração de Se nas folhas a partir das doses aplicadas (Figura 8). A aplicação de 20 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$ aumentou em 591.3% a concentração do mineral nas folhas na variedade RB96 6928 em relação ao controle e 756.5% na variedade RB86 7515. Os tratamentos controle, 5 e 10 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$ não apresentaram diferença significativa na concentração de Se entre as variedades, diferença esta somente foi observada no tratamento com 20 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$. A variedade RB86 7515 apresentou um concentração de Se 30.39% maior que a variedade RB96 6928 no tratamento com a maior dose testada.

4. DISCUSSÃO

As concentrações de MDA, um dos principais indicativos de estresse oxidativo em plantas (KONG *et al.*, 2016; MORALES; MUNNÉ-BOSCH, 2019) e de H_2O_2 , ERO resultante da transformação do superóxido (O_2^-) pela SOD (GILL; TUTEJA, 2010; HALLIWELL, 2006; KHALEGHI *et al.*, 2019) apresentaram queda após a aplicação de Se assim como observado por Mateus *et al.* (2021) e Silva *et al.* (2020). A aplicação de Se em plantas sob estresse abiótico se mostra bem sucedida no controle das concentrações intracelulares de MDA, principal indicativo de peroxidação lipídica (FENG; WEI; TU, 2013). A ação do Se como mitigador do estresse abiótico é resultado principalmente do aumento da atividade enzimática antioxidativa que o elemento provoca (DOS REIS *et al.*, 2017; LANZA; REIS, 2021). SOD, CAT e APX tiveram suas atividades aumentadas no presente trabalho para ambas as variedades assim como em trabalhos anteriormente realizados com aplicação do elemento (MATEUS *et al.*, 2021; RÍOS *et al.*, 2008, 2009; SILVA *et al.*, 2020). A ação mitigadora do Se parece acontecer sobre os mais variados tipos de estresse abiótico (DOS REIS *et al.*, 2017; WHITE, 2018), chegando a ter ação sobre os efeitos de metais pesados (SHAHID *et al.*, 2019; ULHASSAN *et al.*, 2019) e de altas temperaturas (DJANAGUIRAMAN; PRASAD; SEPPANEN, 2010) sobre o metabolismo vegetal.

O aumento da síntese de pigmentos fotossintéticos pela ação do Se é observada desde organismos menos derivados, como algas (CONSTANTINESCU-ARUXANDEI *et al.*, 2019; HANDA *et al.*, 2018), até organismos mais derivados (CABRAL GOUVEIA *et al.*, 2020; SILVA *et al.*, 2020), assim como observado no presente estudo. O aumento da concentração de carotenoides, pigmentos que atuam na defesa contra estresse luminoso

(COGDELL; GARDINER, 1993; HASHIMOTO; URAGAMI; COGDELL, 2016) e da feofitona, molécula receptora primária de elétrons no PII (KLIMOV, 2003) também foram observados. Os carotenoides desempenham papel acessório na fotossíntese absorvendo a luz em uma faixa de comprimento de onda entre 450–570–nm (HAVAUX, 2014), aumentando a capacidade de absorbância entre os espectro azul e verde pelas plantas e aumentando proteção às clorofilas em situações de excesso de luz, pelo fato de possuir a capacidade de destruir moléculas de ERO como o oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$) durante o momento que a planta estiver sobre estresse abiótico (HAVAUX, 2014; HEATH; CIPOLLINI; STIREMAN III, 2013; SWAPNIL *et al.*, 2021). O aumento das concentrações de pigmentos fotossintéticos a partir da fertilização com Se já foi observado em diversos trabalhos e culturas, como nos trabalhos de Mateus *et al.* (2021) avaliando os efeitos da biofortificação na cultura do café, de Silva *et al.* (2020) e Lanza *et al.* (2021) em análises em feijão-caupi, e até mesmo em microalgas (CONSTANTINESCU-ARUXANDEI *et al.*, 2019). O Se se mostrou como um potencializador da síntese de pigmentos também no presente trabalho, ambas as variedades apresentaram maiores concentrações de clorofilas, carotenoides e feofitinas com a aplicação do mineral.

Em relação ao metabolismo de nitrogênio, podemos observar que a melhor resposta foi apresentada pela variedade RB86 7515, além de aumentar as taxas da atividade da redutase do nitrato, uma das principais via de assimilação de nitrogênio para as plantas (HELDT; PIECHULLA, 2011), também demonstrou queda na concentração de NO_3^- nas folhas, ión tóxico em grandes quantidades (RÍOS *et al.*, 2010), aumento na concentração de amônia, aminoácidos e proteínas. A variedade teve suas taxas de assimilação de N aumentadas pela aplicação de Se. A variedade RB96 6928 apesar de apresentar aumento na concentração de NO_3^- , também aumento na concentração de amônia e proteína. A relação positiva observada no metabolismo do N para a variedade RB86 7515 já pode ser observada a partir dos dados de NRA. A enzima teve sua atividade aumentada a partir da aplicação de Se assim como em trabalhos de (BIAN *et al.*, 2020; RÍOS *et al.*, 2010; SUNG; CHEN, 2018). A relação positiva entre a aplicação do Se e aumento da RNA se dá ao fato da absorção do mineral provocar aumento na absorção do molibdênio (HARRIS; SCHNEBERG; PILON-SMITS, 2014), aumentando a síntese da molibdopterina, um cofator para a enzima nitrato redutase (WHITE, 2018).

Como podemos observar, a variedade RB96 6928 teve sua concentração de sacarose e açúcares totais aumentadas com a aplicação das concentrações de Se. A ação

benéfica do Se parece também estar ligada na ativação de enzimas-chave do metabolismo de açúcares como, como amilases, sacarose sintase (SuSy), sacarose-fosfato sintase e invertase (MALIK *et al.*, 2011). Trabalhos ainda demonstram que o Se provoca aumento do acúmulo de carboidratos em órgãos vegetativos (HAJIBOLAND *et al.*, 2015; HASANUZZAM; HOSSAIN; FUJITA, 2010; OWUSU-SEKYERE *et al.*, 2013), aumentando o crescimento dos mesmos.

Os mecanismos e efeitos principais do Se no metabolismo vegetal estão demonstrados na Figura 9. A partir da observação do aumento da concentração de açúcares totais nas folhas, da altura da planta, do peso total, aliados ao aumento de sorbitol, sacarose e de açúcares totais no caldo, aumento da síntese de pigmentos fotossintéticos, taxas de assimilação de N e atividade enzimática antioxidativa podemos determinar que a variedade RB96 6928 apresenta a melhor resposta à aplicação das concentrações de Se. A RB86 7515 demonstra respostas positivas em relação ao combate da peroxidação lipídica, aumento da atividade enzimática antioxidativa e queda nas concentrações de açúcares no caldo, e apesar disso, apresenta aumento na concentração de pigmentos fotossintéticos e açúcares totais nas folhas, podendo assim ser um indicativo de que a máxima translocação dos açúcares produzidos nas folhas ainda não estivesse acontecendo.

5. CONCLUSÃO

A aplicação de 5 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$ diminui as concentração de MDA para ambas as variedades e de H_2O_2 para a RB96 6928. A aplicação de Se aumentou a atividade da SOD, CAT e APX, mostrando o papel promotor do complexo antioxidativo causado nas plantas de cana-de-açúcar. O Se aumentou a concentração de pigmentos fotossintetizantes (clorofilas, carotenoides e feofitina) em ambas variedades. A taxa de assimilação de N foi aumentada principalmente para a variedade RB96 6928, apresentando aumento nas taxas da atividade da redutase do nitrato, queda na concentração de nitrato nas folhas e aumento da concentração de proteínas solúveis totais. A variedade RB96 6928 respondeu de forma positiva na produção de açúcares, tendo as concentrações de sorbitol, sacarose e açúcares totais aumentadas.

O Se mitigou as ERO's pela ativação do metabolismo antioxidante, aumentou a concentração de pigmentos fotossintéticos e metabolismo de açúcares. Esses resultados sugerem que o Se pode ser uma importante ferramenta no manejo de canavial em

condições de campo para aumentar a tolerância de estresses abióticos e possível aumento de produtividade.

REFERÊNCIAS

- 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 & Environment**, Chichester, v. 24, n. 12, p. 1337–1344, 2001. Disponível em: <https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2001.00778.x>
- 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. dos. Selenium protects rice plants from water deficit stress. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Philadelphia, v. 164, p. 562–570, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.08.022>
- 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**, Hokoben, v. 104, n. 2, p. 280–292, 1998. Disponível em: <https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.1998.1040217.x>
- BIAN, Z.; LEI, B.; CHENG, R.; WANG, Y.; LI, T.; YANG, Q. Selenium distribution and nitrate metabolism in hydroponic lettuce (*Lactuca sativa* L.): Effects of selenium forms and light spectra. **Journal of Integrative Agriculture**, v. 19, n. 1, p. 133–144, 2020. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(19\)62775-9](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(19)62775-9)
- BIELESKI, R. L.; TURNER, N. A. Separation and estimation of amino acids in crude plant extracts by thin-layer electrophoresis and chromatography. **Analytical Biochemistry**, Philadelphia, v. 17, n. 2, p. 278–293, 1966. Disponível em: [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0003-2697\(66\)90206-5](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0003-2697(66)90206-5)
- BORDONAL, R. de O.; CARVALHO, J. L. N.; LAL, R.; DE FIGUEIREDO, E. B.; DE OLIVEIRA, B. G.; LA SCALA, N. Sustainability of sugarcane production in Brazil. A review. **Agronomy for Sustainable Development**, Paris, v. 38, n. 2, p. 13, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s13593-018-0490-x>
- BRADFORD, M. A Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, Philadelphia, v. 72, n. 1–2, p. 248–254, 1976. Disponível em: <https://doi.org/10.1006/abio.1976.9999>
- CABRAL GOUVEIA, G. C.; GALINDO, F. S.; DANTAS BERETA LANZA, M. G.; CAROLINE DA ROCHA SILVA, A.; PEREIRA DE BRITO MATEUS, M.; SOUZA DA SILVA, M.; RIMOLDI TAVANTI, R. F.; TAVANTI, T. R.; LAVRES, J.; REIS, A. R. dos. Selenium toxicity stress-induced phenotypical, biochemical and physiological responses in rice plants: Characterization of symptoms and plant metabolic adjustment. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Philadelphia, v. 202, p. 110916, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110916>
- CATALDO, D. A.; MAROON, M.; SCHRADER, L. E.; YOUNGS, V. L. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 6, n. 1, p. 71–80,

1975. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/00103627509366547>

CHEN, T.-F.; ZHENG, W.-J.; WONG, Y.-S.; YANG, F. Selenium-induced Changes in Activities of Antioxidant Enzymes and Content of Photosynthetic Pigments in *Spirulina platensis*. **Journal of Integrative Plant Biology**, Richmond, v. 50, n. 1, p. 40–48, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1744-7909.2007.00600.x>

COGDELL, R. J.; GARDINER, A. T. [18] Functions of carotenoids in photosynthesis. p. 185–193. *E-book*. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(93\)14065-Q](https://doi.org/10.1016/0076-6879(93)14065-Q)

CONSTANTINESCU-ARUXANDEI, D.; VLAICU, A.; MARINAȘ, I. C.; VINTILĂ, A. C. N.; DIMITRIU, L.; OANCEA, F. Effect of betaine and selenium on the growth and photosynthetic pigment production in *Dunaliella salina* as biostimulants. **FEMS Microbiology Letters**, Oxford, v. 366, n. 21, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/femsle/fnz257>

DJANAGUIRAMAN, M.; PRASAD, P. V. V.; SEPPANEN, M. Selenium protects sorghum leaves from oxidative damage under high temperature stress by enhancing antioxidant defense system. **Plant Physiology and Biochemistry**, Issy les Moulineaux Cedex, v. 48, n. 12, p. 999–1007, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.09.009>

DOS 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, H. E.; LIN, Z. Q. **Selenium in plants**. New York: Springer, 2017. p. 209–230. *E-book*. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-3-319-56249-0_13

FENG, R.; WEI, C.; TU, S. The roles of selenium in protecting plants against abiotic stresses. **Environmental and Experimental Botany**, Amsterdam, v. 87, p. 58–68, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2012.09.002>

FORDYCE, F. M. Selenium deficiency and toxicity in the environment. In: SELINUS, O. (ed.). **Essentials of medical geology**. Dordrecht: Springer Netherlands, 2013. p. 375–416. *E-book*. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-94-007-4375-5_16

GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxide Dismutases. **Plant Physiology**, Rockville, v. 59, n. 2, p. 309–314, 1977. Disponível em: <https://doi.org/10.1104/pp.59.2.309>

GILL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, Issy les Moulineaux Cedex, v. 48, n. 12, p. 909–930, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.08.016>

GOMES-JUNIOR, R. A.; MOLDES, C. A.; DELITE, F. S.; POMPEU, G. B.; GRATÃO, P. L.; MAZZAFERA, P.; LEA, P. J.; AZEVEDO, R. A. Antioxidant metabolism of coffee cell suspension cultures in response to cadmium. **Chemosphere**, Oxford, v. 65, n. 8, p. 1330–1337, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.04.056>

GRATÃO, P. L.; MONTEIRO, C. C.; ANTUNES, A. M.; PERES, L. E. P.; AZEVEDO, R. A. Acquired tolerance of tomato (*Lycopersicon esculentum* cv. Micro-Tom) plants to cadmium-induced stress. **Annals of Applied Biology**, Chichester, v. 153, n. 3, p. 321–333, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1744->

7348.2008.00299.x

GROTH, S.; BUDKE, C.; NEUGART, S.; ACKERMANN, S.; KAPPENSTEIN, F.-S.; DAUM, D.; ROHN, S. Influence of a selenium biofortification on antioxidant properties and phenolic compounds of apples (*Malus domestica*). **Antioxidants**, Basel, v. 9, n. 2, p. 187, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/antiox9020187>

GROTTO, D.; MARIA, L. S.; VALENTINI, J.; PANIZ, C.; SCHMITT, G.; GARCIA, S. C.; POMBLUM, V. J.; ROCHA, J. B. T.; FARINA, M. Importance of the lipid peroxidation biomarkers and methodological aspects for malondialdehyde quantification. **Química Nova**, v. 32, n. 1, p. 169–174, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000100032>

GUPTA, U. C.; GUPTA, S. C. Selenium in soils and crops, its deficiencies in livestock and humans: implications for management. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 31, n. 11–14, p. 1791–1807, 2000. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/00103620009370538>

HAJIBOLAND, R.; RAHMAT, S.; ALIASGHARZAD, N.; HARTIKAINEN, H. Selenium-induced enhancement in carbohydrate metabolism in nodulated alfalfa (*Medicago sativa* L.) as related to the glutathione redox state. **Soil Science and Plant Nutrition**, v. 61, n. 4, p. 676–687, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/00380768.2015.1032181>

HALLIWELL, B. Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. **Plant Physiology**, Rockville, v. 141, n. 2, p. 312–322, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1104/pp.106.077073>

HANDA, N.; KOHLI, S. K.; SHARMA, A.; THUKRAL, A. K.; BHARDWAJ, R.; ALYEMENI, M. N.; WIJAYA, L.; AHMAD, P. Selenium ameliorates chromium toxicity through modifications in pigment system, antioxidative capacity, osmotic system, and metal chelators in *Brassica juncea* seedlings. **South African Journal of Botany**, Amsterdam, v. 119, p. 1–10, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2018.08.003>

HARRIS, J.; SCHNEBERG, K. A.; PILON-SMITS, E. A. H. Sulfur–selenium–molybdenum interactions distinguish selenium hyperaccumulator *Stanleya pinnata* from non-hyperaccumulator *Brassica juncea* (Brassicaceae). **Planta**, v. 239, n. 2, p. 479–491, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00425-013-1996-8>

HASANUZZAM, M.; HOSSAIN, M. A.; FUJITA, M. Selenium in Higher Plants: Physiological Role, Antioxidant Metabolism and Abiotic Stress Tolerance. **Journal of Plant Sciences**, v. 5, n. 4, p. 354–375, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.3923/jps.2010.354.375>

HASHIMOTO, H.; URAGAMI, C.; COGDELL, R. J. Carotenoids and Photosynthesis. p. 111–139. *E-book*. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-3-319-39126-7_4

HAVAUX, M. Carotenoid oxidation products as stress signals in plants. **The Plant Journal**, v. 79, n. 4, p. 597–606, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/tpj.12386>

HEATH, J. J.; CIPOLLINI, D. F.; STIREMAN III, J. O. The role of carotenoids and their derivatives in mediating interactions between insects and their environment. **Arthropod-Plant Interactions**, v. 7, n. 1, p. 1–20, 2013. Disponível em:

<https://doi.org/10.1007/s11829-012-9239-7>

HEATH, R. L.; PACKER, L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 125, n. 1, p. 189–198, 1968. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(68\)90654-1](https://doi.org/10.1016/0003-9861(68)90654-1)

HELDT, H.-W.; PIECHULLA, B. Nitrate assimilation is essential for the synthesis of organic matter. In: **Plant Biochemistry**. Elsevier, 2011. p. 273–305. *E-book*. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384986-1.00010-7>

KHALEGHI, A.; NADERI, R.; BRUNETTI, C.; MASERTI, B. E.; SALAMI, S. A.; BABALAR, M. Morphological, physiochemical and antioxidant responses of *Maclura pomifera* to drought stress. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 19250, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-55889-y>

KLIMOV, V. V. Discovery of pheophytin function in the photosynthetic energy conversion as the primary electron acceptor of Photosystem II. **Photosynthesis Research**, v. 76, n. 1, p. 247–253, 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1023.A:1024990408747>

KONG, W.; LIU, F.; ZHANG, C.; ZHANG, J.; FENG, H. Non-destructive determination of Malondialdehyde (MDA) distribution in oilseed rape leaves by laboratory scale NIR hyperspectral imaging. **Scientific Reports**, v. 6, n. 1, p. 35393, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/srep35393>

LANZA, M. G. D. B.; REIS, A. R. dos. Roles of selenium in mineral plant nutrition: ROS scavenging responses against abiotic stresses. **Plant Physiology and Biochemistry**, Issy les Moulineaux Cedex, v. 164, p. 27–43, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.04.026>

LANZA, M. G. D. B.; SILVA, V. M.; MONTANHA, G. S.; LAVRES, J.; PEREIRA DE CARVALHO, H. W.; REIS, A. R. dos. 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**, Philadelphia, v. 207, p. 111216, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111216>

LICHTENTHALER, H. K.; WELLBURN, A. R. Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. **Biochemical Society Transactions**, v. 11, n. 5, p. 591–592, 1983. Disponível em: <https://doi.org/10.1042/bst0110591>

LIDON, F. C. *et al.* Selenium biofortification of rice grains and implications on macronutrients quality. **Journal of Cereal Science**, London, v. 81, p. 22–29, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2018.03.010>

MALIK, J. A. *et al.* Promotion of Growth in Mungbean (*Phaseolus aureus* Roxb.) by Selenium is Associated with Stimulation of Carbohydrate Metabolism. **Biological Trace Element Research**, v. 143, n. 1, p. 530–539, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12011-010-8872-1>

MATEUS, M. P. de B.; TAVANTI, R. F. R.; TAVANTI, T. R.; SANTOS, E. F.; JALAL, A.; REIS, A. R. dos. Selenium biofortification enhances ROS scavenge system increasing yield of coffee plants. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Philadelphia, v. 209, p. 111772, 2021. Disponível em:

<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111772>

MCCULLOUGH, H. The determination of ammonia in whole blood by a direct colorimetric method. **Clinica Chimica Acta**, v. 17, n. 2, p. 297–304, 1967. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0009-8981\(67\)90133-7](https://doi.org/10.1016/0009-8981(67)90133-7)

MORALES, M.; MUNNÉ-BOSCH, S. Malondialdehyde: Facts and Artifacts. **Plant Physiology**, Rockville, v. 180, n. 3, p. 1246–1250, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1104/pp.19.00405>

OWUSU-SEKYERE, A.; KONTTURI, J.; HAJIBOLAND, R.; RAHMAT, S.; ALIASGHARZAD, N.; HARTIKAINEN, H.; SEPPÄNEN, M. M. Influence of selenium (Se) on carbohydrate metabolism, nodulation and growth in alfalfa (*Medicago sativa* L.). **Plant and Soil**, v. 373, n. 1–2, p. 541–552, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11104-013-1815-9>

REIS, A. R.; FAVARIN, J. L.; GALLO, L. A.; MALAVOLTA, E.; MORAES, M. F.; LAVRES JUNIOR, J. Nitrate reductase and glutamine synthetase activity in coffee leaves during fruit development. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 33, n. 2, p. 315–324, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-06832009000200009>

RÍOS, J. J.; BLASCO, B.; CERVILLA, L. M.; ROSALES, M. A.; SANCHEZ-RODRIGUEZ, E.; ROMERO, L.; RUIZ, J. M. Production and detoxification of H₂O₂ in lettuce plants exposed to selenium. **Annals of Applied Biology**, Chichester, v. 154, n. 1, p. 107–116, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2008.00276.x>

RÍOS, J. J.; BLASCO, B.; LEYVA, R.; SANCHEZ-RODRIGUEZ, E.; RUBIO-WILHELMI, M. M.; ROMERO, L.; RUIZ, J. M. Nutritional balance changes in lettuce plant grown under different doses and forms of Selenium. **Journal of Plant Nutrition**, v. 36, n. 9, p. 1344–1354, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/01904167.2013.790427>

RÍOS, J. J.; BLASCO, B.; ROSALES, M. A.; SANCHEZ-RODRIGUEZ, E.; LEYVA, R.; CERVILLA, L. M.; ROMERO, L.; RUIZ, J. M. Response of nitrogen metabolism in lettuce plants subjected to different doses and forms of selenium. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Oxford, v. 90, n. 11, p. 1914–1919, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jsfa.4032>

RÍOS, J. J.; ROSALES, M. A.; BLASCO, B.; CERVILLA, L. M.; ROMERO, L.; RUIZ, J. M. Biofortification of Se and induction of the antioxidant capacity in lettuce plants. **Scientia Horticulturae**, v. 116, n. 3, p. 248–255, 2008. Disponível em: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scienta.2008.01.008>

SCHIAVON, M.; NARDI, S.; DALLA VECCHIA, F.; ERTANI, A. Selenium biofortification in the 21st century: status and challenges for healthy human nutrition. **Plant and Soil**, v. 453, n. 1–2, p. 245–270, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11104-020-04635-9>

SHAHID, M. A.; BALAL, R. M.; KHAN, N.; ZOTARELLI, L.; LIU, G. D.; SARKHOSH, A.; FERNÁNDEZ-ZAPATA, J. C.; MARTÍNEZ NICOLÁS, J. J.; GARCIA-SANCHEZ, F. Selenium impedes cadmium and arsenic toxicity in potato by modulating carbohydrate and nitrogen metabolism. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Philadelphia, v. 180, p. 588–599, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.05.037>

SILVA, M. de A.; SILVA, J. A. G. da; ENCISO, J.; SHARMA, V.; JIFON, J. Yield components as indicators of drought tolerance of sugarcane. **Scientia Agricola**, v. 65, n. 6, p. 620–627, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0103-90162008000600008>

SILVA, V. M. *et al.* 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**, Oxford, v. 99, n. 13, p. 5969–5983, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jsfa.9872>

SILVA, V. M.; RIMOLDI TAVANTI, R. F.; GRATÃO, P. L.; ALCOCK, T. D.; REIS, A. R. dos. Selenate and selenite affect photosynthetic pigments and ROS scavenging through distinct mechanisms in cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) walp) plants. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Philadelphia, v. 201, p. 110777, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110777>

SUNG, Y.; CHEN, S.-W. Response of Nitrogen Metabolism in Pak-choi Plants Treated with Different Sodium Selenate (Na₂SeO₄) Concentrations. **The Horticulture Journal**, v. 87, n. 3, p. 349–355, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.2503/hortj.OKD-083>

SWAPNIL, P.; MEENA, M.; SINGH, S. K.; DHULDHAJ, U. P.; HARISH; MARWAL, A. Vital roles of carotenoids in plants and humans to deteriorate stress with its structure, biosynthesis, metabolic engineering and functional aspects. **Current Plant Biology**, Amsterdam, v. 26, p. 100203, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cpb.2021.100203>

THOMAS, C. L. *et al.* Root morphology and seed and leaf ionomic traits in a Brassica napus L. diversity panel show wide phenotypic variation and are characteristic of crop habit. **BMC Plant Biology**, London, v. 16, n. 1, p. 214, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12870-016-0902-5>

ULHASSAN, Z.; GILL, R. A.; HUANG, H.; ALI, S.; MWAMBA, T. M.; ALI, B.; HUANG, Q.; HAMID, Y.; KHAN, A. R.; WANG, J.; ZHOU, W. Selenium mitigates the chromium toxicity in *Brassicca napus* L. by ameliorating nutrients uptake, amino acids metabolism and antioxidant defense system. **Plant Physiology and Biochemistry**, Issy les Moulineaux Cedex, v. 145, p. 142–152, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.10.035>

WHITE, P. J. Selenium metabolism in plants. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects**, Amsterdam, v. 1862, n. 11, p. 2333–2342, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2018.05.006>

YEMM, E. W.; COCKING, E. C. The determination of amino-acids with ninhydrin. **The Analyst**, Princeton, v. 80, n. 948, p. 209, 1955. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/an9558000209>

ZHAO, D.; LI, Y.-R. Climate change and sugarcane production: potential impact and mitigation strategies. **International Journal of Agronomy**, London, v. 2015, p. 1–10, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2015/547386>

Tabela 1. Valores de F e P a partir da análise de variância (ANOVA). Fontes de variação: Variedade, Concentração e a Interação entre os fatores.

Concentração de Se nas folhas		
Fonte	F	Pr (<F)
Variedade (A)	152.0	0.00**
Concentração (B)	4398.7	0.00**
A X B	112.2	0.00**
CV% = 3.95		
H₂O₂		
Fonte	F	Pr (<F)
Variedade (A)	32.85	0.00**
Concentração (B)	229.53	0.00**
A X B	10.96	0.00**
CV% = 1.65		
MDA		
Fonte	F	Pr (<F)
Variedade (A)	20.108	0.00**
Concentração (B)	13.544	0.00**
A X B	94.902	0.00**
CV% = 5.25		
SOD		
Fonte	F	Pr (<F)
Variedade (A)	1018.7	0.00**
Concentração (B)	4585.2	0.00**
A X B	821.8	0.00**
CV% = 0.98		
CAT		
Fonte	F	Pr (<F)
Variedade (A)	229.86	0.00**
Concentração (B)	103.66	0.00**
A X B	13.15	0.00**
CV% = 3.25		
APX		
Fonte	F	Pr (<F)
Variedade (A)	2058.8	0.00**
Concentração (B)	2131.5	0.00**
A X B	1978.0	0.00**
CV% = 1.7		
Proteínas totais solúveis		
Fonte	F	Pr (<F)
Variedade (A)	2244.2	0.000**
Concentração (B)	1708.4	0.000**
A X B	539.2	0.000**
CV% = 1.13		

** - significativo 1% ($p \leq 0.01$).

Fonte: O próprio autor.

Tabela 2. Valores de F e P a partir da análise de variância (ANOVA). Fontes de variação: Variedade, Concentração e a Interação entre os fatores.

Clorofila a		
Fonte	F	Pr (<F)
Variedade (A)	4.35	0.0476*
Concentração (B)	38.19	0.0000**
A X B	9.10	0.0003**
CV% = 7.75		
Clorofila b		
Fonte	F	Pr (<F)
Variedade (A)	2.16	0.1543 ^{ns}
Concentração (B)	28.53	0.0000**
A X B	9.35	0.0002**
CV% = 6.78		
Clorofilas Totais (Clorofila a + b)		
Fonte	F	Pr (<F)
Variedade (A)	3.70	0.0662**
Concentração (B)	35.47	0.0000**
A X B	9.27	0.0003**
CV% = 7.4		
Carotenoides		
Fonte	F	Pr (<F)
Variedade (A)	6.04	0.0215*
Concentração (B)	27.07	0.0000**
A X B	10.32	0.0001**
CV% = 6.33		
Feofitina a		
Fonte	F ratio	Pr (<F)
Variedade (A)	19.23	0.0002**
Concentração (B)	36.96	0.0000**
A X B	1.91	0.1536 ^{ns}
CV% = 4.64		
Feofitinas Totais		
Fonte	F	Pr (<F)
Variedade (A)	8.00	0.0093**
Concentração (B)	20.00	0.0000**
A X B	9.33	0.0003**
CV% = 10.53		

** - significativo a 1% ($p \leq 0.01$), * - significativo a 5% ($p \leq 0.05$), ns – não significativo.

Fonte: O próprio autor.

Tabela 3. Valores de F e P a partir da análise de variância (ANOVA). Fontes de variação: Variedade, Concentração e a Interação entre os fatores.

Frutose no caldo		
Fonte	F	Pr (<F)
Variedade (A)	6.14	0.02*
Concentração (B)	25.64	0.000**
A X B	4.91	0.008**
CV% = 8.63		
Glicose no caldo		
Fonte	F	Pr (<F)
Variedade (A)	0.67	0.41 ^{ns}
Concentração (B)	62.85	0.000**
A X B	8.28	0.0005**
CV% = 9.36		
Sorbitol no caldo		
Fonte	F	Pr (<F)
Variedade (A)	9.50	0.005**
Concentração (B)	8.02	0.0007**
A X B	31.85	0.000**
CV% = 18.54		
Sacarose no caldo		
Fonte	F	Pr (<F)
Variedade (A)	357.90	0.000**
Concentração (B)	386.58	0.000**
A X B	282.55	0.000**
CV% = 2.55		
Açúcares totais no caldo		
Fonte	F	Pr (<F)
Variedade (A)	190.79	0.000**
Concentração (B)	256.87	0.000**
A X B	151.96	0.000**
CV% = 2.95		
Ganho em altura		
Fonte	F	Pr (<F)
Variedade (A)	74.63	0.00070**
Concentração (B)	20.28	0.00000**
A X B	34.02	0.00003**
CV% = 7.62		
Ganho em diâmetro do colmo		
Fonte	F	Pr (<F)
Variedade (A)	2.19	0.15 ^{ns}
Concentração (B)	0.38	0.76 ^{ns}
A X B	2.17	0.11 ^{ns}
CV% = 14.73		
Ganho em peso total		
Fonte	F	Pr (<F)
Variedade (A)	101.39	0.000**
Concentração (B)	20.02	0.000**
A X B	33.98	0.000**
CV% = 9.09		

** - significativo a 1% ($p \leq 0.01$), * - significativo a 5% ($p \leq 0.05$), ns – não significativo.

Fonte: O próprio autor.

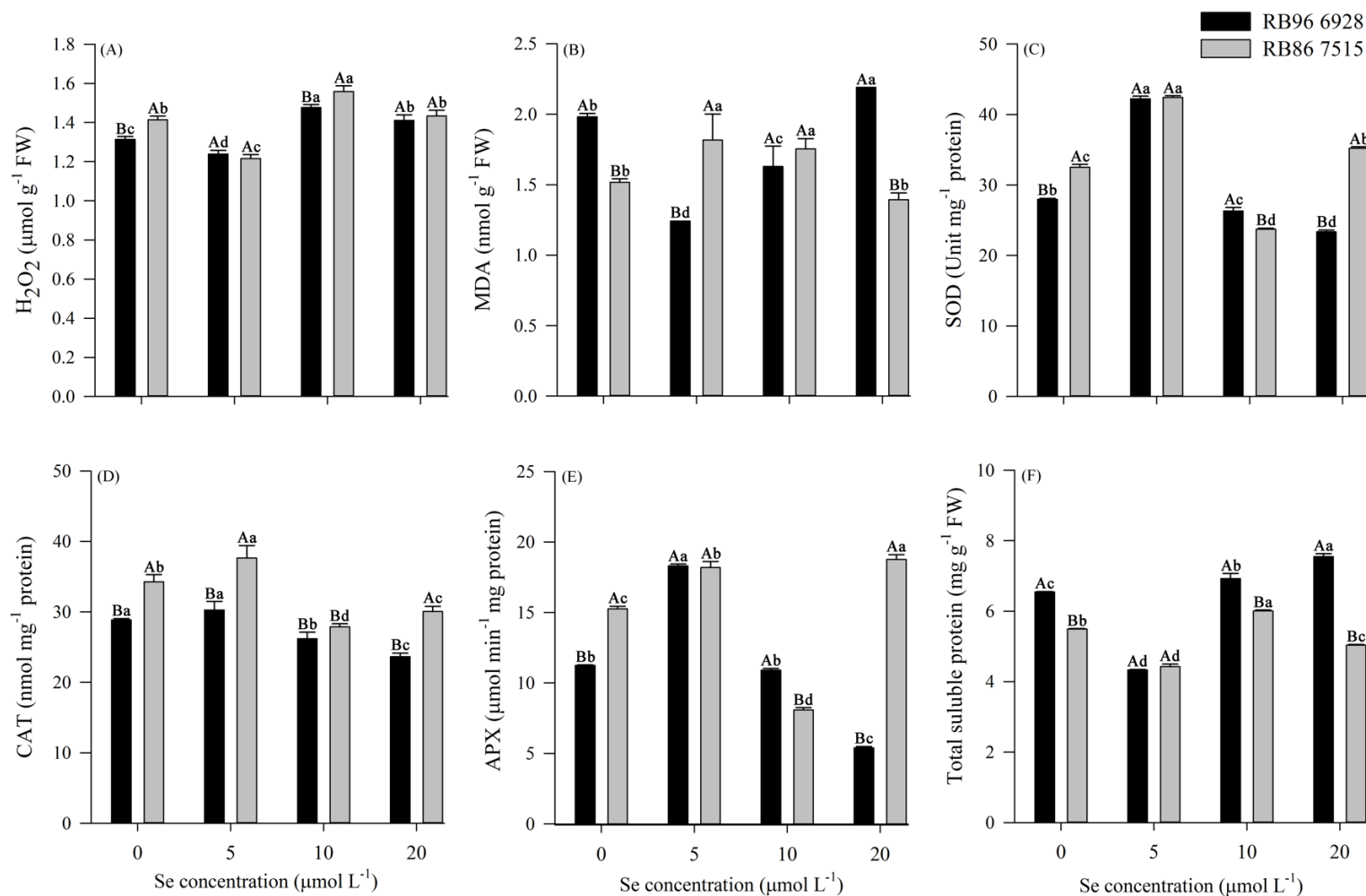
Tabela 4. Valores de F e P a partir da análise de variância (ANOVA). Fontes de variação: Variedade, Concentração e a Interação entre os fatores.

Atividade da redutase do nitrato(NRA)		
Fonte	F	Pr (<F)
Variedade (A)	1477.56	0.000**
Concentração (B)	224.37	0.000**
A X B	115.58	0.000**
CV% = 2.39		
Nitrato		
Fonte	F	Pr (<F)
Variedade (A)	61.74	0.000**
Concentração (B)	92.71	0.000**
A X B	62.98	0.000**
CV% = 2.13		
Amônia		
Fonte	F	Pr (<F)
Variedade (A)	570.43	0.000**
Concentração (B)	355.99	0.000**
A X B	600.04	0.000**
CV% = 3.24		
Aminoácidos		
Fonte	F	Pr (<F)
Variedade (A)	39.32	0.000**
Concentração (B)	79.47	0.000**
A X B	6.61	0.002**
CV% = 2.27		

** - significativo 1% ($p \leq 0.01$).

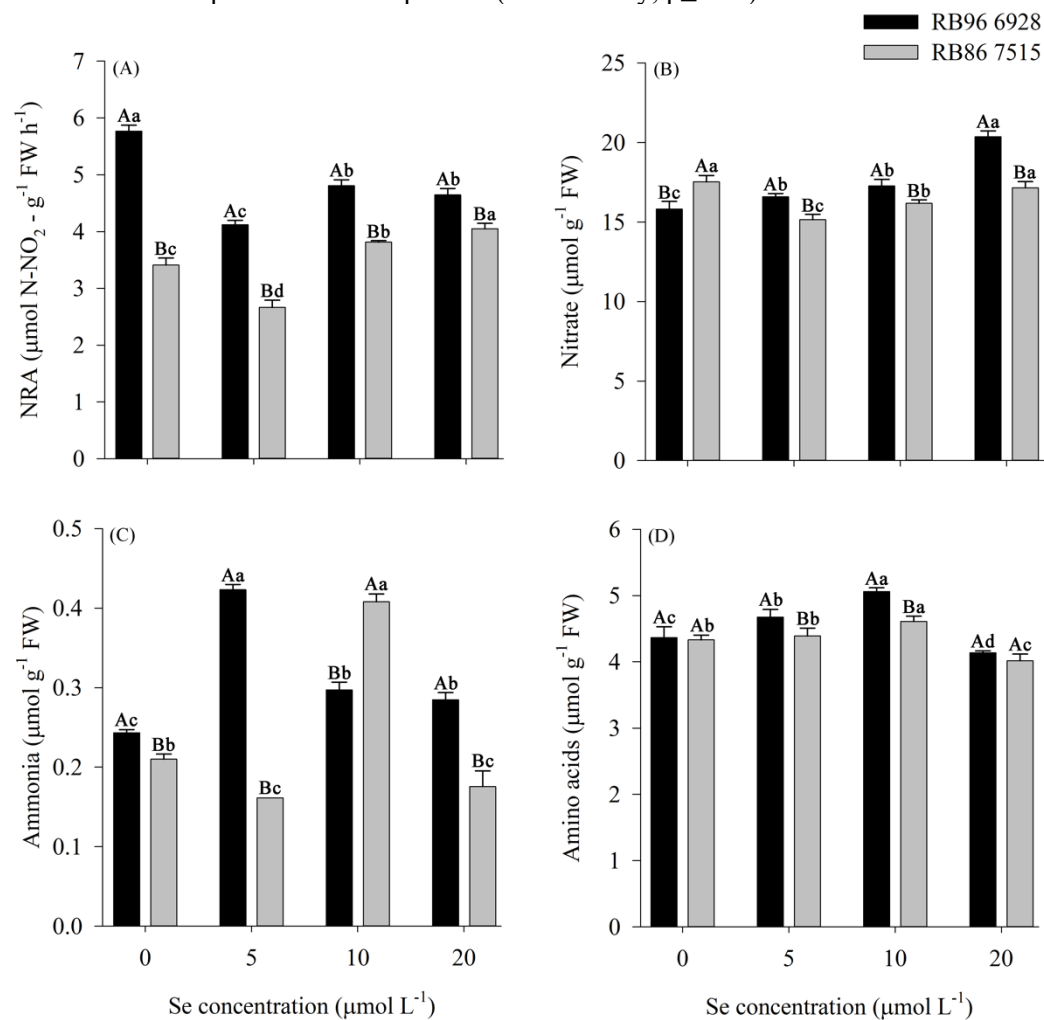
Fonte: O próprio autor.

Figura 1. Concentrações de H_2O_2 (peróxido de hidrogênio), MDA (malondialdeído), atividade das enzimas do sistema antioxidativo representado pela SOD (superóxido dismutase), CAT (catalase) e APX (ascorbato peroxidase), e concentração de proteínas solúveis totais em folhas de cana-de-açúcar sob o efeito da aplicação de selenato de sódio como fonte de Se. Letras maiúsculas distintas indicam diferença significativa entre as variedades em cada tratamento e letras minúsculas indicam diferença significativa na mesma variedade para cada dose aplicada (Teste Tukey, $p \leq 0.05$).



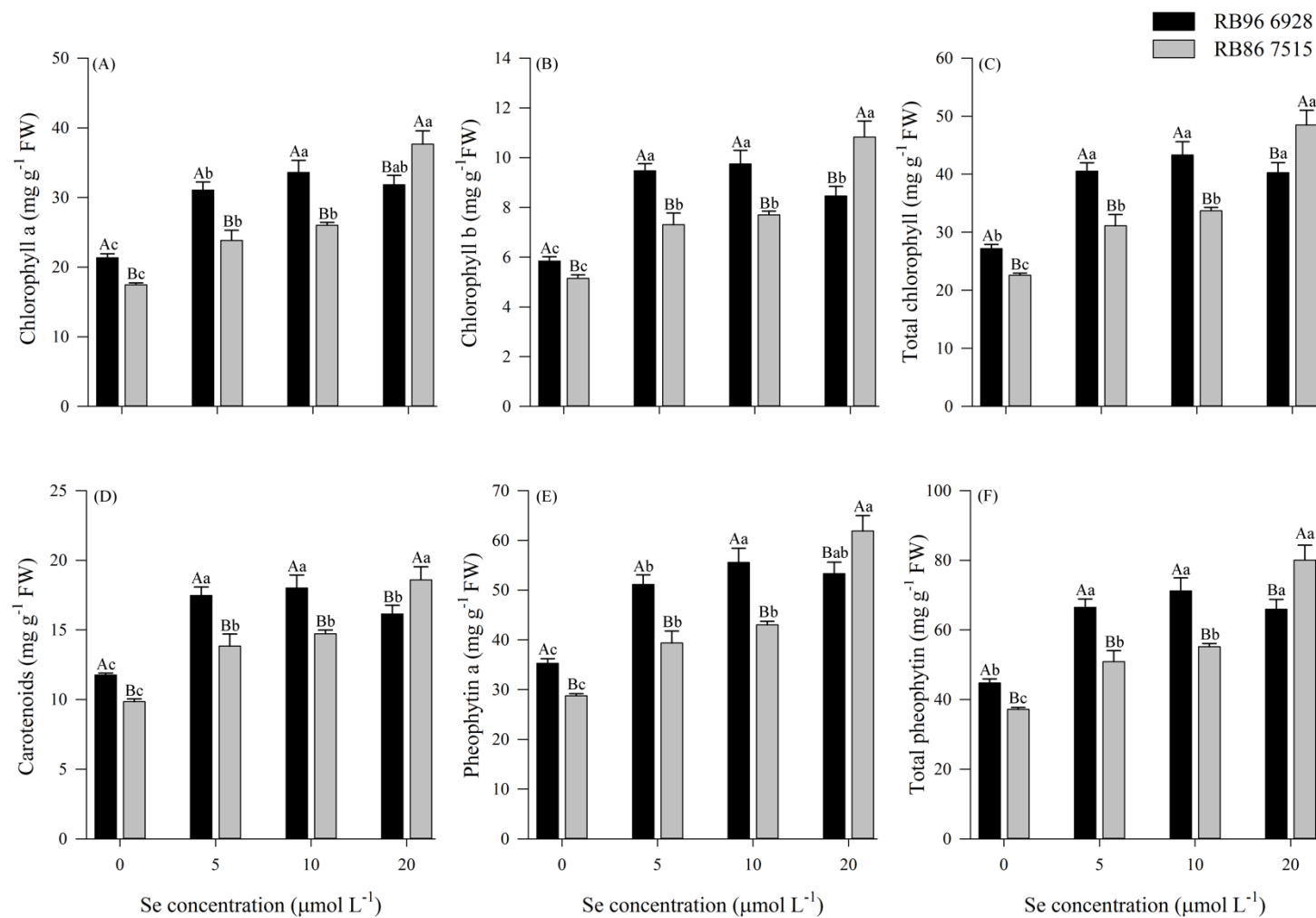
Fonte: O próprio autor.

Figura 2. Atividade da redutase do nitrato (NRA) e concentrações de nitrato, amônia e aminoácidos em folhas de cana de açúcar sob efeito da aplicação de selenato de sódio como fonte de Se. Letras maiúsculas distintas indicam diferença significativa entre as variedades em cada tratamento e letras minúsculas indicam diferença significativa na mesma variedade para cada dose aplicada (Teste Tukey, $p \leq 0.05$).



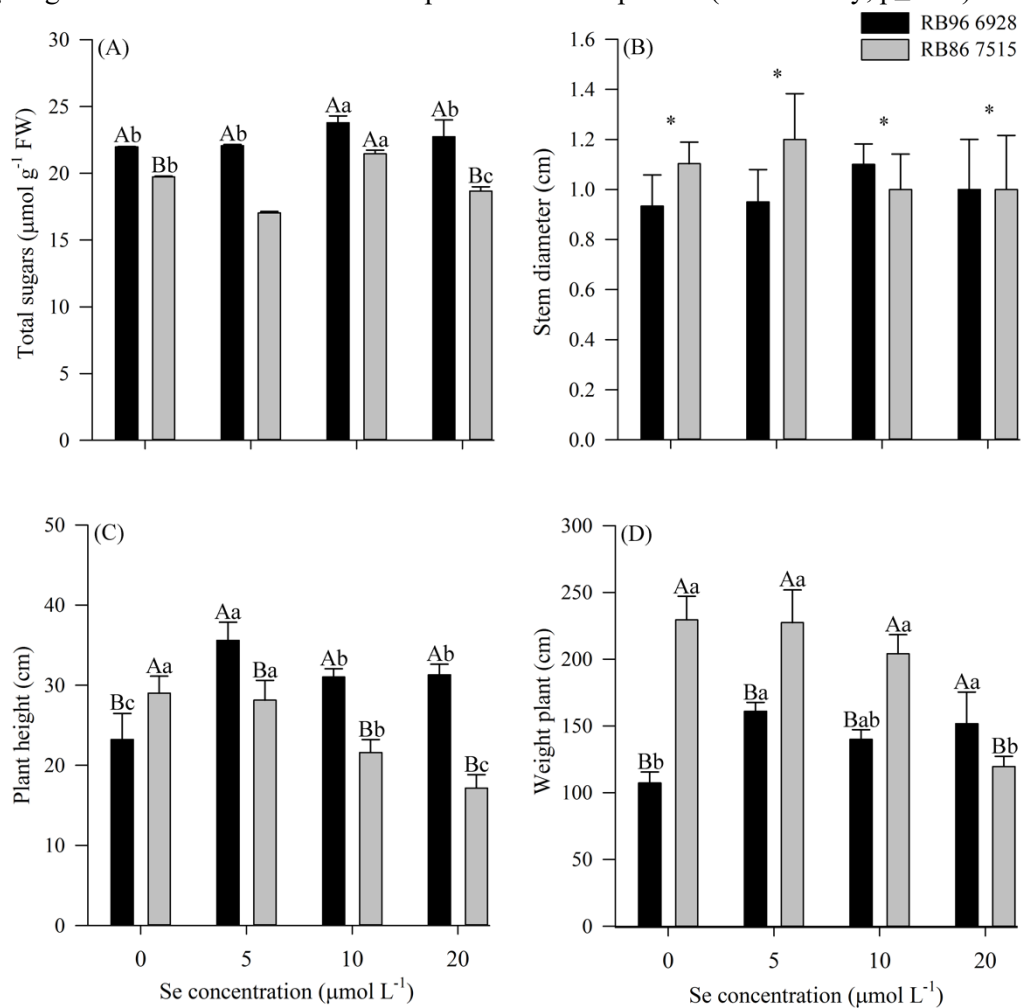
Fonte: O próprio autor.

Figura 3. Concentração de clorofila a, clorofila b, clorofila total, carotenoides, feofitina a e feofitina total em folhas de cana-de-açúcar sob efeito da aplicação de selenato de sódio como fonte de Se. Letras maiúsculas distintas indicam diferença significativa entre as variedades em cada tratamento e letras minúsculas indicam diferença significativa na mesma variedade para cada dose aplicada (Teste Tukey, $p \leq 0.05$).



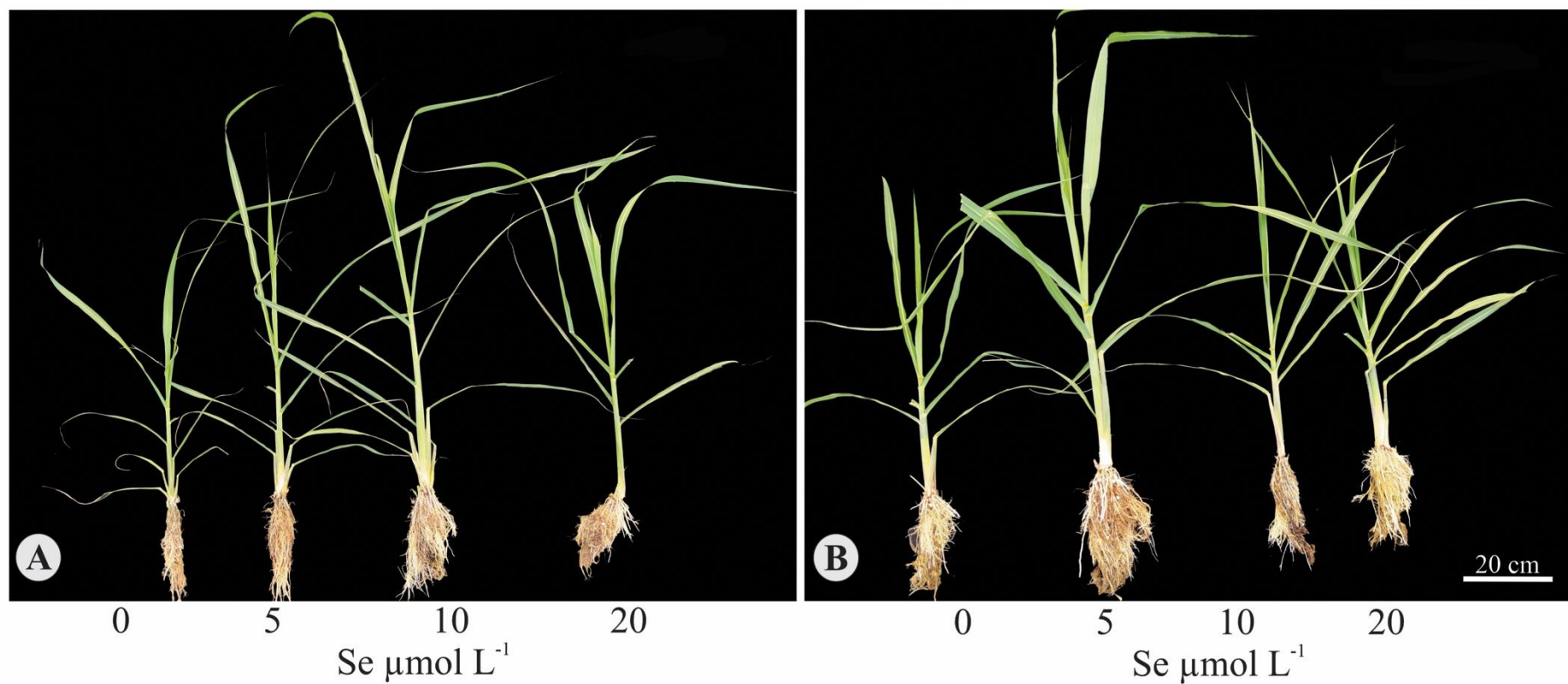
Fonte: O próprio autor.

Figura 4. Açúcares totais em folhas (A), ganho em altura (B), ganho no diâmetro do colmo (C) e ganho no peso total (C) de plantas de cana-de-açúcar sob o efeito da aplicação de selenato de sódio como fonte de Se. Letras maiúsculas distintas indicam diferença significativa entre as variedades em cada tratamento e letras minúsculas indicam diferença significativa na mesma variedade para cada dose aplicada (Teste Tukey, $p \leq 0.05$).



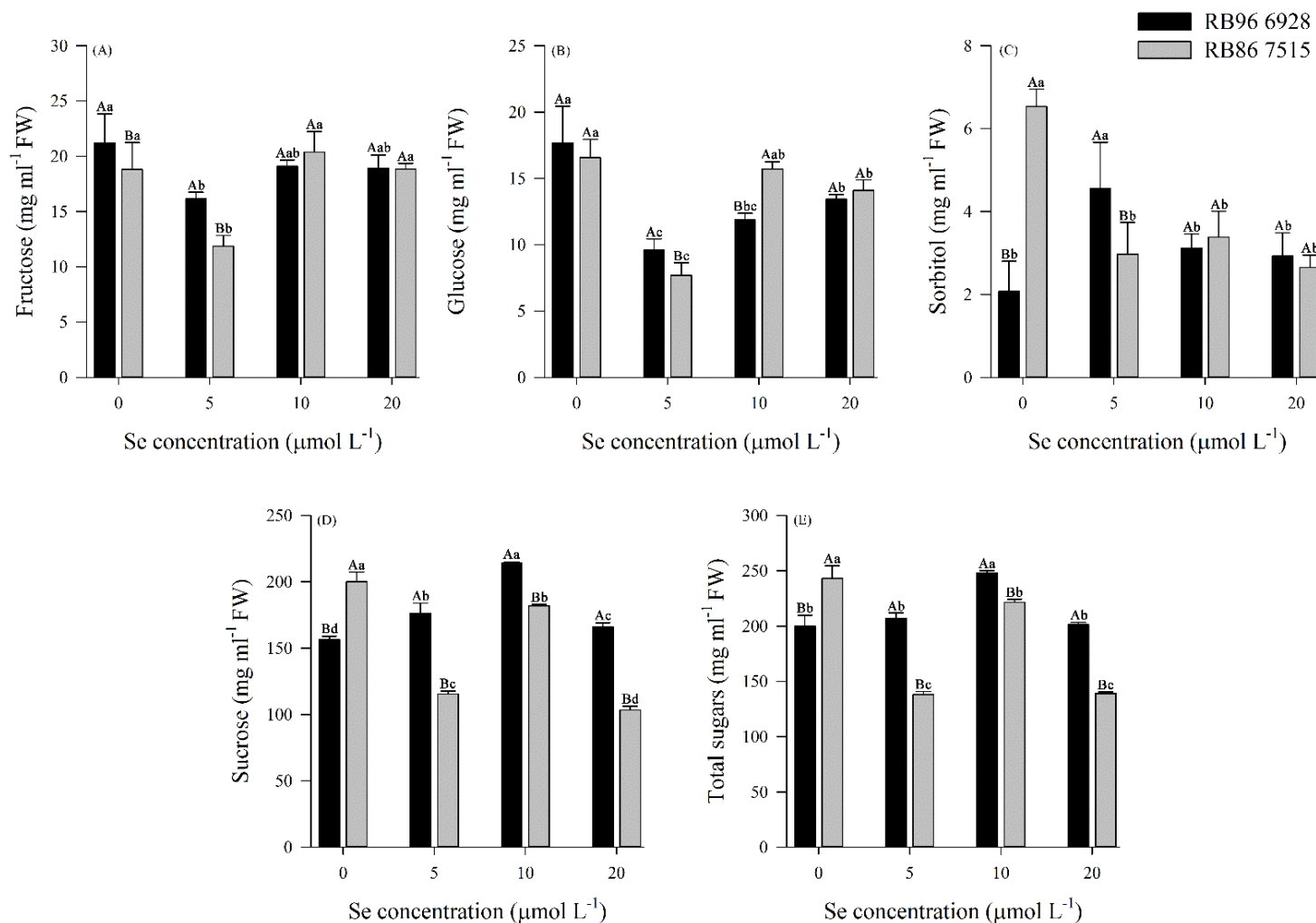
Fonte: O próprio autor.

Figura 5. Resposta das variedades de cana-deaçúcar à aplicação de selenato de sódio como fonte de Se no crescimento da parte aérea e sistema radicular 52 dias após a aplicação dos tratamentos. **A** - Variedade RB966928. **B** - Variedade RB867515.



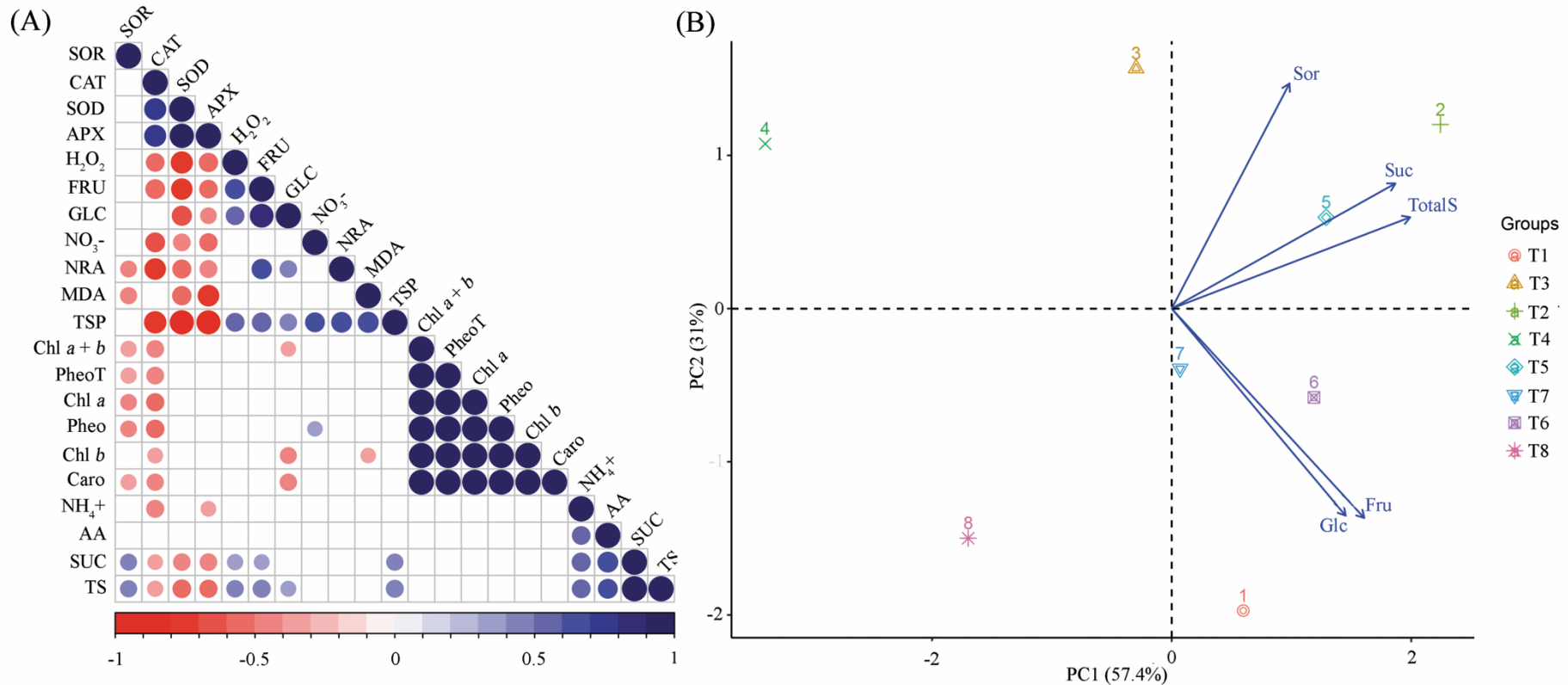
Fonte: O próprio autor.

Figura 6. Concentração de frutose, glicose, sorbitol, sacarose e açúcares totais no caldo em plantas de cana-de-açúcar sob efeito da aplicação de selenato de sódio como fonte de Se. Letras maiúsculas distintas indicam diferença significativa entre as variedades em cada tratamento e letras minúsculas indicam diferença significativa na mesma variedade para cada dose aplicada (Teste Tukey, $p \leq 0.05$).



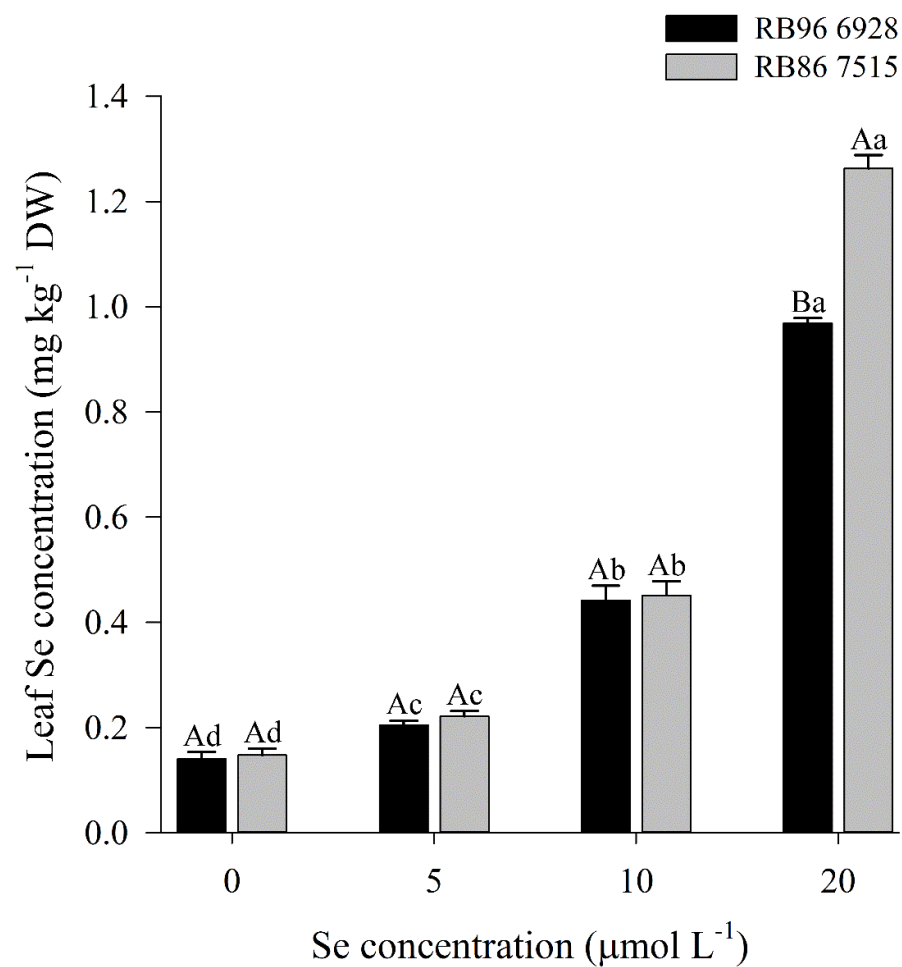
Fonte: O próprio autor.

Figura 7. A – Heatmap a partir da análise de Correlação de Pearson ($p \leq 0.05$) entre as variáveis estudadas. Espaços em branco indicam correlação não-significativa. **SOR** – sorbitol. **CAT** – catalase. **SOD** – superóxido dismutase. **APX** – ascorbato peroxidase. **H₂O₂** – peróxido de hidrogênio. **FRU** – frutose. **GLC** – glicose. **NO₃⁻** – nitrato. **NRA** – atividade da redutase do nitrato. **MDA** – malondialdeído. **TSP** – proteínas solúveis totais. **Chl a + b** – clorofila total. **PheoT** – feofitina total. **Chl a** – clorofila a. **Pheo** – feofitina total. **Chl b** – clorofila b. **Caro** – carotenoides. **NH₄⁺** – amônia. **AA** – aminoácidos. **SUC** – sacarose. **TS** – açúcares totais. **B** – Análise de componentes principais (PCA) para os dados de açúcares no caldo obtidos via sistema de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). **T1** - RB96 6928 0 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$. **T2** - RB86 7515 5 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$. **T3** - RB96 6928 5 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$. **T4** - RB86 7515 5 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$. **T5** - RB96 6928 10 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$. **T6** - RB86 7515 10 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$. **T7** - RB96 6928 20 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$. **T8** - RB86 7515 20 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$. **Glc** – glucose. **Fru** – frutose. **Sor** – sorbitol. **Suc** – sacarose. **Totals** – açúcares totais.



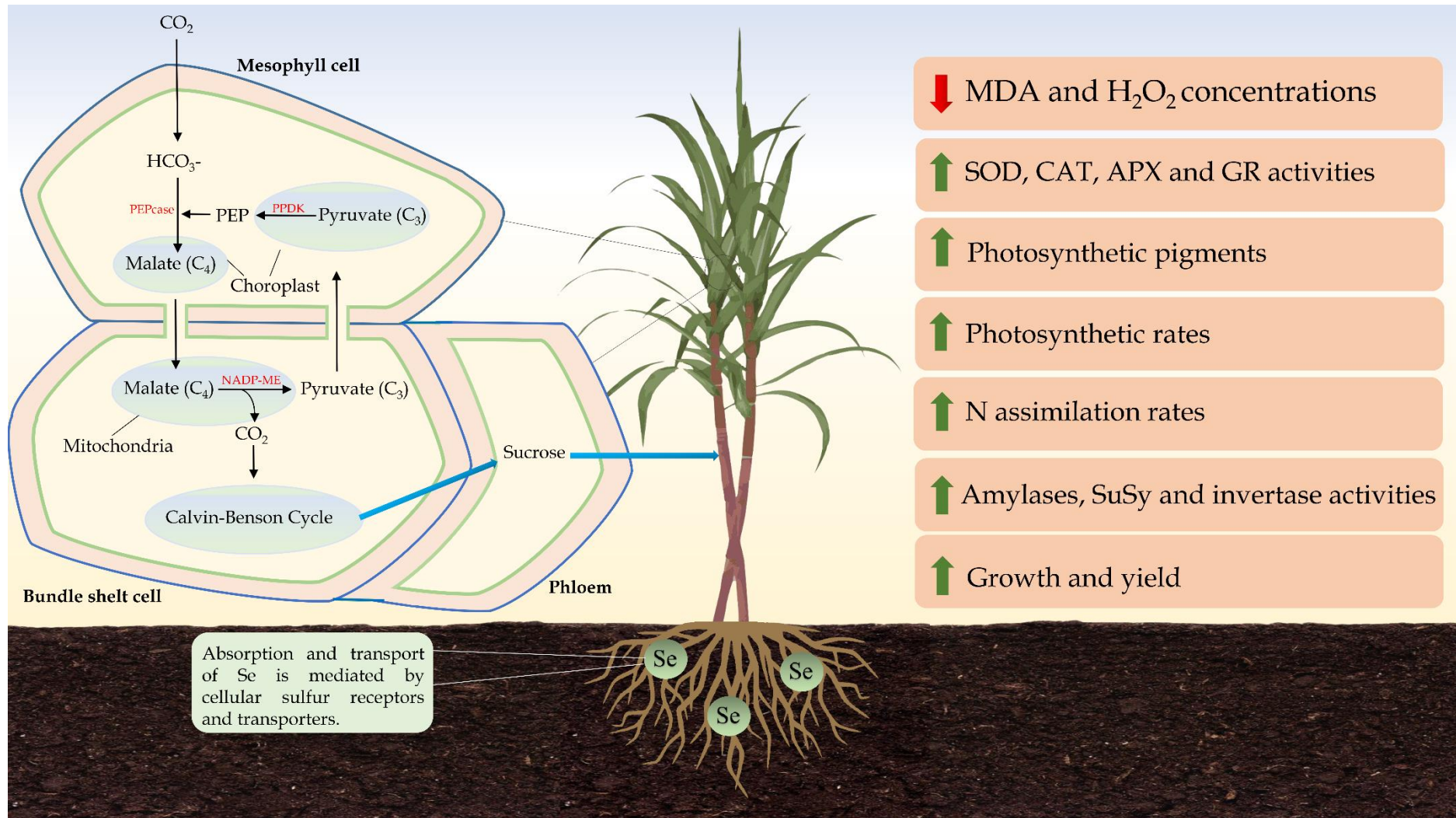
Fonte: O próprio autor.

Figura 8. Concentrações de Se em folhas de cana-de-açúcar sob o efeito da aplicação de selenato de sódio como fonte de Se. Letras maiúsculas distintas indicam diferença significativa entre as variedades em cada tratamento e letras minúsculas indicam diferença significativa na mesma variedade para cada dose aplicada (Teste Tukey, $p \leq 0.05$).



Fonte: O próprio autor.

Figura 9. Efeitos gerais da ação do Se no metabolismo vegetal.



Fonte: O próprio autor.

CAPÍTULO IV: O SELÊNIO PROMOVE ALTERAÇÕES EM FOLHAS E RAÍZES DE CANA-DE-AÇÚCAR PROPICIANDO MAIOR CRESCIMENTO DAS PLANTAS

Resumo

O Se é um elemento que se apresenta essencial aos homens e a outros animais e tem efeito benéfico ao metabolismo vegetal, tendo papel mitigador do estresse oxidativo frente ao estresse abiótico. O trabalho teve como objetivo avaliar as modificações morfoanatômicas em folhas e raízes de duas variedades de cana-de-açúcar sob baixas concentrações de Se em um sistema hidropônico. O trabalho foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com esquema fatorial 2x4, sendo duas variedades de cana-de-açúcar (RB96 6928 e RB86 7515) e quatro doses de Se na forma de selenato de sódio (0, 5, 10 e 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$), sendo utilizadas quatro repetições. Nas folhas foram avaliados a densidade estomática, a espessura da epiderme adaxial, espessura da epiderme abaxial e a altura do feixe vascular da internervura, e nas raízes, o diâmetro do elemento de vaso e a proporção da medula. A densidade estomática na epiderme adaxial apresentou decréscimo para RB86 7515 e aumento para RB96 6928. Foi observado aumento da altura do feixe vascular em ambas as variedades e aumento do diâmetro do elemento de vaso para RB96 6928. Em relação à proporção da medula, ambas variedades apresentaram aumento com a aplicação de 5 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Se. Foi observado decréscimo na densidade estomática da epiderme adaxial da RB86 7515. Em relação à correlação entre as variáveis estudadas, a concentração de Se nas folhas apresentou correlação significativa com a densidade estomática na face abaxial, com a altura do feixe vascular na internervura foliar e com o ganho no diâmetro do colmo. Esse estudo traz importantes informações sobre como o Se modula a ultraestrutura de folhas de cana-de-açúcar, principalmente o controle da densidade estomática nas faces adaxial e abaxial, o que pode tornar essas plantas mais tolerantes ao déficit hídrico.

Palavras-chave: *Saccharum* spp, Se, morfoanatomia, estômatos, sistema vascular

1. INTRODUÇÃO

O Se é um elemento que apresenta essencialidade para os homens e animais e possui efeito benéfico para plantas (WHITE; BROWN, 2010). O seu papel de essencialidade nos animais está ligado principalmente à sua antioxidante, imunológica e estrutural na síntese de algumas selenoproteínas (RAYMAN, 2000, 2012). Em relação às plantas, quando em pequenas concentrações, os efeitos benéficos do Se estão relacionados à mitigação do estresse provocados por fatores abióticos (SCHIAVON *et al.*, 2020; WHITE, 2018).

O Se é capaz de diminuir a peroxidação lipídica a partir do aumento da atividade de enzimas antioxidantes como a SOD (superóxido dismutase), CAT (catalase), APX (ascorbato peroxidase) e GR (glutathione redutase) (DOS REIS *et al.*, 2017a; LANZA; REIS, 2021; SILVA *et al.*, 2020; WHITE, 2018). A aplicação de Se em trabalhos focados em biofortificação também se mostrou eficaz no aumento de pigmentos fotossintéticos (MATEUS *et al.*, 2021; SILVA *et al.*, 2020), as concentrações de clorofila a, clorofila b e carotenoides são observados a partir fertilização das culturas com doses do mineral (LANZA; REIS, 2021; WHITE, 2018).

O problema surge quando se apresenta os dados das concentrações de Se ao redor do mundo, as baixas concentrações de Se biodisponível nos solos está provocando casos de deficiência na alimentação humana (DOS REIS *et al.*, 2017b; GUPTA; GUPTA, 2017; LANZA; REIS, 2021), pois as concentrações de Se nos alimentos estão diretamente relacionadas com concentrações de Se nos solos (COPPINGER; DIAMOND, 2001). Dentre os danos nos provocados pela falta do Se na alimentação humana estão desordens no funcionamento da tireoide (COPPINGER; DIAMOND, 2001; GOYENS *et al.*, 1987), cardiomiopatias como a Doença de Keshan (BOZKURT, 2011; SMITH; GARG, 2017) e neoplasias desenvolvidas pelo falta de compostos anticancerígenos derivados de selenoproteínas (DOS REIS *et al.*, 2017b; GUPTA; GUPTA, 2000; HUGHES *et al.*, 2015).

A cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) é uma planta C₄ perene e possui cultivo nas zonas tropicais e subtropicais ao redor do mundo (HUANG *et al.*, 2020). A cultura é importante fonte de açúcar e bioenergia (ZHAO; LI, 2015) se mostrando uma fonte importante e rentável de biocombustível e alternativa ao uso de combustíveis fósseis (BORDONAL *et al.*, 2018; HUANG *et al.*, 2020). A falta de água durante o cultivo se mostra o principal fator limitante para a produção, causando modificações

morfofisiológicas que afetam a produtividade (SILVA *et al.*, 2008), efeitos esses que foram intensificados pelas mudanças climáticas nos últimos anos (ZHAO; LI, 2015).

Sabe-se que plantas sob estresse abiótico podem sofrer modificações na morfoanatomia de seus órgãos vegetativos (ARAUJO *et al.*, 2020; BOSABALIDIS; KOFIDIS, 2002; LEITE *et al.*, 2021; MANGENA, 2018) e que essas modificações lhes propiciam a capacidade de sobrevivência a esse ambiente (APPEZZATO-DA-GLÓRIA; CARMELLO-GUERREIRO, 2006; FAHN; CUTLER, 1992). Modificações na epiderme foliar, no mesófilo (ARAUJO *et al.*, 2020; BOSABALIDIS; KOFIDIS, 2002; CHARTZOULAKIS *et al.*, 2002) e nas raízes podem ser observadas (CHARTZOULAKIS *et al.*, 2002).

A partir disso, buscou-se avaliar as possíveis modificações causadas pelo Se na anatomia de órgãos vegetativos que pudessem exemplificar os benefícios causados na fisiologia. O trabalho teve como objetivo avaliar as modificações morfoanatômicas em folhas e raízes de duas variedades de cana-de-açúcar sob baixas concentrações de Se em um sistema hidropônico.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Instalação e condução do experimento

O presente trabalho foi conduzido em casa de vegetação na unidade de Tupã da Universidade Estadual Paulista (UNESP, em São Paulo. Mudas homogêneas pré-brotadas com 20 dias de germinação das variedades RB96 6928 e RB86 7515 livres de qualquer doença ou impureza foram adquiridas junto à Estação Experimental da Syngenta. As mudas foram lavadas em água corrente para a retirada do substrato, posteriormente enxaguadas com água deionizada e submetidas à solução nutritiva de Hoagland a 50% da força iônica por 7 dias para adaptação. Após esse período, foram aplicados os tratamentos contendo doses de Se em solução nutritiva de Hoagland sob constante aeração a 100% da força iônica. A solução nutritiva com diferentes concentrações de Se foi renovada a cada sete dias. A aeração foi constante e o pH da solução foi mantido a 5.5 durante toda a fase experimental.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com esquema fatorial 2 x 4, sendo; 2 variedades de cana-de-açúcar (RB96 6928 e RB86 7515); 4 doses de Se (0; 5; 10 e 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$) aplicados na forma de selenato de sódio, com 4 repetições. O experimento foi instalado em vasos de polietileno com capacidade de 8 L de solução

nutritiva. A coleta para a avaliação morfoanatômica de folhas e raízes foi realizada aos 60 dias após a aplicação dos tratamentos.

2.2. Anatomia foliar e radicular

Aos 60 dias após a aplicação dos tratamentos, as amostras de folhas e raízes foram coletadas e fixadas por uma semana em FAA 70% (JOHANSEN, 1940) e após esse período, foram armazenadas em álcool 70%. As amostras foliares foram coletadas da porção mediana do limbo foliar e as amostras radiculares foram retiradas da porção localizada a 1 cm da inserção no caule. Anteriormente ao processo de infiltração, o material foi submetido à uma série de desidratação etílica para a retirada da água dos tecidos. As amostras foram incluídas em hidróxi-etil-metacrilato (Leica Historesin) em uma série de infiltração, com 3 passos e concentrações de resina e álcool diferentes: o primeiro, 1:1 (Resina:Álcool absoluto), o segundo 2:1 (Resina:Álcool absoluto) e o terceiro, resina 100%. Cada passo foi realizado em um período de uma semana. Para melhor infiltração nos tecidos das amostras foi utilizada uma bomba de vácuo para a retirada do ar presente no material. Os blocos obtidos foram seccionados com uma espessura de 5-8 µm em micrótomo rotativo *Leica RM2245*.

O material foi corado em azul de toluidina 0,05% em tampão fosfato e ácido cítrico pH 4,5 (SAKAI, 1973), folhas por 15 minutos e raízes por 20 minutos, e as lâminas histológicas montadas em resina sintética “Entellan”. As imagens dos materiais preparados em lâminas foram realizadas a partir do acoplamento de uma câmera (Zeiss AxioCam ERc5s) em microscópio modelo Primo Star da Zeiss, com as escalas micrométricas fotografadas e ampliadas nas mesmas condições ópticas a serem utilizadas. As fotos foram submetidas ao programa de análise de imagem *Image J 1.0.8*, onde foi possível a aferição da medida em micrômetros das estruturas analisadas em folhas (altura de células bulbiformes, espessura de epiderme adaxial, espessura de abaxial e altura do feixe vascular) e raízes (diâmetro de elementos de vaso e proporção do cilindro vascular (%)).

2.3. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Amostras de folhas fixadas em FAA 70% e posteriormente armazenadas em álcool 70% foram submetidas à uma série de desidratação etílica, secagem ao ponto crítico (HORRIDGE; TAMM, 1969; ROSALEM *et al.*, 2017) e fixados a suportes de alumínio para metalização com uma camada de 30-40 nm de ouro realizada pelo aparelho

Quorum Q150T E. As amostras foram submetidas à análise em microscópio eletrônico de varredura de modelo Zeiss EVO/LS15, operado a 20kv com as com escalas impressas diretamente nas eletromicrografias).

2.4. Análise nutricional

Para a determinação da concentração de Se, as folhas diagnose da cana-de-açúcar foram secas por 72 horas a 60°C. A determinação do mineral foi realizada por espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) de acordo com Thomas *et al.* (2016).

2.5. Análises estatísticas

As análises estatísticas foram realizadas no software *R* versão 4.0.4. Foi realizada uma análise de variância (Tabela 1) para os dados seguindo modelo fatorial, e quando significativo, realizado um teste de Tukey com $p \leq 0.05$ para analisar as diferenças entre os tratamentos. A plotagem dos gráficos foi realizada no *SigmaPlot* versão 12.5. O heatmap foi criado a partir da análise de Correlação de Pearson $p < 0.05$ no *RStudio* versão 1.4.1103.

3. RESULTADOS

3.1. Número de estômatos na epiderme foliar

A análise da epiderme (Figura 1) para a contagem de estômatos em ambas superfícies das folhas demonstrou que as variedades responderam de forma diferente à aplicação do Se. Quando analisado o número de estômatos na epiderme abaxial (Figura 2A), foi observado um aumento para ambas as variedades, tendo sido o tratamento com a aplicação de 20 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$ a apresentar os maiores valores médios para tal variável. Contudo, analisando a epiderme adaxial (Figura 2B), observamos que enquanto para a variedade RB96 6928, a aplicação de Se provocou um aumento no números de estômatos, para a variedade RB86 7515 foi observado um decréscimo para tal variável.

3.2. Anatomia foliar e radicular

Em relação à anatomia foliar (Figura 4), observamos respostas significativas em três das quatro variáveis estudadas, e para a raiz, as duas variáveis estudadas apresentaram modificações significativas a partir da aplicação do Se. A altura das células buliformes (Fig. 3A) não apresentou diferença significativa entre os tratamentos. Analisando a

epiderme abaxial (Figura 3B) foi observado que a aplicação de 5 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$ provocou diminuição significativa na espessura da epiderme na variedade RB86 7515, enquanto que para a variedade RB96 6928, esse decréscimo foi observado com a aplicação de 10 e 20 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$. A aplicação de 5 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$ aumentou a espessura para a variedade. Para a epiderme adaxial (Figura 3C), a aplicação de 10 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$ na variedade RB96 6928 e 5 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$ para RB86 7515 foram os tratamentos que apresentaram os menores valores para a espessura para o tecido. Quando analisamos ambas as faces da epiderme, podemos observar que a dose de 5 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$, para ambas variáveis, foi o único tratamento no qual a variedade RB96 6928 apresentou maiores valores médios em relação à RB86 7515. Em relação à altura do feixes vasculares (Figura 3D) presentes na folha, foi observado que plantas da variedade RB96 6928 que receberam 20 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$ apresentam os maiores valores médios, mesmo padrão observado na variedade RB86 7515.

A anatomia radicular (Figura 5) também apresentou modificações com a aplicação do Se. O diâmetro dos elementos de vasos presentes no xilema (Figura 3E) apresentou aumento significativo com a aplicação de 20 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$ para a variedade RB96 6928. Para RB86 7515 as aplicações de 5 e 20 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$ provocaram a diminuição das células do xilema. Em todos os tratamentos a variedade RB96 6928 apresentou maior diâmetro dos elementos de vaso quando comparada com a variedade RB86 7515.

A aplicação de 5 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$ provocou aumento na proporção do cilindro vascular em relação ao diâmetro total da raiz (Figura 3F) para ambas variedades. A RB96 6928 apresentou uma proporção maior em relação à RB86 7515 em todos os tratamentos estudados.

3.3. Crescimento e desenvolvimento

Para os primeiros 60 dias após a aplicação dos tratamentos, a variedade RB96 6928 apresentou maiores ganhos em altura (Figura 6A) com a aplicação de 5 e 10 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$ quando comparados ao tratamento controle. Ao se analisar o ganho em diâmetro de colmo (Figura 6B), novamente a variedade RB96 6928 respondeu positivamente à aplicação das doses do Se com aumento significativo para todas as doses estudadas. Os tratamentos controle e 20 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$ não apresentaram diferenças para a variedade RB86 7515, sendo que a aplicação de 5 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$ provocou pequena queda no crescimento do colmo. As variedades também responderam de forma diferente no ganho de peso (Figura 6C), RB96 6928 respondeu positivamente com a aplicação de 5 e 10 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$.

¹, enquanto a variedade RB86 7515, quando comparada com o tratamento controle, apresentou menor ganho de peso nos tratamentos com a aplicação de 5 e 20 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$.

3.4. Concentração de Se nas folhas

A concentração de Se (Figura 7C) nas folhas das variedades de cana-de-açúcar aumentou de acordo com a aplicação das doses do selenato de sódio. O único tratamento que houve diferença significativa entre as variedades foi o qual foi aplicado 20 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$, onde a variedade RB86 7515 se mostrou superior à RB96 6928.

3.5. Heatmap

Observou-se que a concentração de Se nas folhas apresentou correlação positiva significativa (Figura 7D) com três importantes variáveis, a quantidade estômatos na epiderme abaxial, o ganho em diâmetro de colmo e a altura do feixe vascular nas folhas. A proporção do cilindro vascular nas raízes apresentou correlação negativa significativa com outras cinco variáveis, a quantidade estômatos na epiderme abaxial, o ganho em diâmetro de colmo e a altura do feixe vascular nas folhas, ganho em altura e altura das células buliformes.

4. DISCUSSÃO

A aplicação de Se provocou decréscimo na quantidade de estômatos na face adaxial, superfície que recebe a maior intensidade de luz solar no limbo foliar, e aumentou a quantidade na superfície abaxial, face mais protegida da folha (APPEZZATO-DA-GLÓRIA; CARMELLO-GUERREIRO, 2006). Estruturas similares aos estômatos foram descritas em fósseis de plantas encontrados datados de aproximadamente 400 milhões de anos atrás (EDWARDS; KERP; HASS, 1998; HAWORTH; ELLIOTT-KINGSTON; MCELWAIN, 2011), assim, são estruturas que pertencem a um grande variedade de organismos. Os estômatos são apêndices epidérmicos (APPEZZATO-DA-GLÓRIA; CARMELLO-GUERREIRO, 2006) e atuam no controle de absorção de CO_2 e perda de água no processo da fotossíntese (HAWORTH; ELLIOTT-KINGSTON; MCELWAIN, 2011). A abertura e funcionamento dos estômatos são respostas às condições ambientais, e tanto em plantas C_3 como em plantas C_4 , o processo se dá em condições de altas intensidades luminosas (LAWSON; MATTHEWS, 2020). Conhecendo as características das folhas de plantas da família Poaceae, principalmente pela presença de células buliformes, quais não apresentaram modificações no presente trabalho, células muitas vezes relacionadas às características xerófitas (APPEZZATO-DA-GLÓRIA;

CARMELLO-GUERREIRO, 2006; GRIGORE; TOMA, 2017), promovem o movimento das folhas ao longo do dia e controlam a transpiração excessiva (GRIGORE; TOMA, 2017; HABERLANDT, 1914), essa diminuição de estômatos na superfície adaxial pode ser um dos mecanismos que a planta encontra para diminuição do estresse causado pela energia luminosa, isso tudo aliado ao aumento de estômatos na face abaxial, garantindo assim, um controle osmótico adequado (FRANKS; BRODRIBB, 2005; KIRKHAM, 2014) e diminuição da perda de água (APPEZZATO-DA-GLÓRIA; CARMELLO-GUERREIRO, 2006).

As aplicações de 5 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$ para RB96 6928 e de 10 $\mu\text{mol Se}$ para RB86 7515 provocaram diminuição da espessura da epiderme abaxial e abaxial das folhas de cana-de-açúcar. A partir de trabalhos que analisavam modificações na anatomia foliar, fica claro que diferentes espécies têm diferentes respostas em sua epiderme, podendo haver tanto o aumento da espessura (ARAUJO *et al.*, 2020; DJANAGUIRAMAN *et al.*, 2011; LEITE *et al.*, 2021; SAM *et al.*, 2000) quanto a diminuição da espessura do tecido (CARRERA *et al.*, 2021; CHARTZOULAKIS *et al.*, 2002) frente ao estresse. Assim se torna importante a análise completa das modificações anatômicas sofridas pelas folhas das variedades do presente estudo. As plantas submetidas à aplicação de 20 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$ apresentaram os maiores valores de altura dos feixes vasculares na internervura, característica importantíssima dadas às características anatômicas foliares da cana-de-açúcar, uma planta C_4 (ZHAO; LI, 2015). Em plantas C_4 , a assimilação de C tem seu processo final nas células da bainha do feixe vascular (TAIZ; ZEIGER, 2017) e depois os açúcares são metabolizados e exportados pelo floema aos outros órgãos da planta (LEONARDOS; GRODZINSKI, 2017).

No presente trabalho as variedades apresentaram diferentes respostas em relação ao diâmetro dos elementos de vaso radiculares, células que são responsáveis pela realização do transporte de água (LOPEZ; BARCLAY, 2017), de nutrientes inorgânicos e alguns compostos nitrogenados no xilema (WHITE, 2017) e por conceder estruturação às angiospermas mais derivadas (MENCUCCINI, 2003), visto que são células mortas com parede celular altamente lignificada (WHITE, 2017). Enquanto a variedade RB96 6928 apresentou os maiores valores com a dose de 20 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$, a aplicação Se causou decréscimo no diâmetro dos elementos de vaso na variedade RB86 7515. Essas modificações podem alterar não somente os padrões de transporte, mas também alteram a pressão (PALLARDY, 2008; WHITE, 2017) e o balanço osmótico da planta (BHATTACHARYA, 2019; WHITE, 2017).

Os resultados desse estudo demonstra que Se pode provocar mudanças anatômicas que modificam os mecanismos e padrões de transporte nas folhas e raízes. Sabendo-se que pequenas concentrações do Se podem aumentar a atividade de enzimas antioxidativas (DOS REIS *et al.*, 2017b; LANZA; REIS, 2021), a concentração de pigmentos fotossintéticos (SILVA *et al.*, 2020), a assimilação de N (RÍOS *et al.*, 2010) e o metabolismo de carboidratos (MALIK *et al.*, 2011), a aplicação de Se pode causar modificações morfofisiológicas que podem favorecer o metabolismo vegetal.

Diversos trabalhos demonstram que o Se pode mitigar os efeitos do estresse provocados por fatores abióticos, como Djanaguiraman *et al.* (2010) que observaram diminuição dos efeitos causados por altas temperaturas em folhas de sorgo. Ulhassan *et al.* (2019b), em seu trabalho que analisava os efeitos da aplicação de Se em plantas de *Brassica napus* submetidas a doses de Cr observaram aumento na massa seca das plantas, diminuição das concentrações de MDA e H_2O_2 e aumento nas concentrações de CAT, SOD, APX e GR com 10 μM Se, enquanto Shahid *et al.* (2019) demonstraram que o Se diminuiu os efeitos do Cd e As sobre a batata, diminuindo até a concentração desses metais pesados no corpo vegetal. Assim fica claro que os efeitos fisiológicos do Se estão bem descritos na literatura, em detrimento das informações relacionadas à anatomia dos órgãos vegetativos, que podem ter papel fundamental na indução da tolerância apresentada pelas plantas.

Importante relembrar que o Se se mostra benéfico ao metabolismo vegetal somente em pequenas concentrações (DOS REIS *et al.*, 2017b; LANZA; REIS, 2021; SILVA *et al.*, 2020) e que seu efeito tóxico é largamente relatado pela literatura. Em seu trabalho, Ulhassan *et al.* (2019a) demonstram que os efeitos benéficos do Se para *Brassica napus* no controle da concentração de H_2O_2 e O_2^- foram observados até uma concentração de 25 μmol , e que a partir dessa faixa, aumentaram-se as concentrações de H_2O_2 , de O_2^- e até mesmo de MDA. (ULHASSAN *et al.*, 2019a) ainda demonstraram que a aplicação de 100 μmol de Se provocaram danos celulares ultra-anatômicos no cloroplasto, nas paredes e membranas celulares das folhas e no núcleo e nucléolo de células radiculares. Silva *et al.* (2018) em seu trabalho com feijão-caupi observaram aumento da peroxidação lipídica e lesões foliares a partir da toxidez causada por altas concentrações de Se. Cabral Gouveia *et al.* (2020) observaram clorose foliar e decréscimo na biomassa da parte aérea e radicular do arroz, enquanto isso, Lanza *et al.* (2021) demonstrou que lesões foliares no feijão-caupi surgiram em locais com maiores acúmulos de Se. Entende-se assim a importância de conhecer doses adequadas de Se nos processos

de biofortificação ou indução de tolerância ao estresse abiótico, conseguindo assim, a obtenção de seus efeitos benéficos ao metabolismo vegetal.

5. CONCLUSÃO

A aplicação do Se provocou modificações na anatomia foliar e radicular das variedades de cana-de-açúcar, o decréscimo na densidade estomática da epiderme adaxial da RB86 7515 com a aplicação de 5 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$ pode ser uma excelente mecanismo frente ao estresse hídrico. Em relação à correlação entre as variáveis estudadas, a concentração de Se nas folhas apresentou correlação significativa com a densidade estomática na face abaxial, com a altura do feixe vascular na internervura foliar e com o ganho no diâmetro do colmo.

REFERÊNCIAS

- APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; CARMELLO-GUERREIRO, S. M. **Anatomia vegetal**. 2. ed. Viçosa: UFV, 2006.
- ARAUJO, M. A.; LEITE, M. C. M.; CAMARGOS, L. S.; MARTINS, A. R. Tolerance evaluation and morphophysiological responses of *Astronium graveolens*, a native brazilian Cerrado, to addition of lead in soil. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Philadelphia, v. 195, p. 110524, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110524>
- BHATTACHARYA, A. Water-use efficiency under changing climatic conditions. In: BHATTACHARYA, A. **Changing climate and resource use efficiency in plants**. Kanpur: Elsevier, 2019. p. 111–180. *E-book*. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816209-5.00003-9>
- BORDONAL, R. de O.; CARVALHO, J. L. N.; LAL, R.; DE FIGUEIREDO, E. B.; DE OLIVEIRA, B. G.; LA SCALA, N. Sustainability of sugarcane production in Brazil. A review. **Agronomy for Sustainable Development**, Paris, v. 38, n. 2, p. 13, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s13593-018-0490-x>
- BOSABALIDIS, A. M.; KOFIDIS, G. Comparative effects of drought stress on leaf anatomy of two olive cultivars. **Plant Science**, Shannon, v. 163, n. 2, p. 375–379, 2002. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(02\)00135-8](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(02)00135-8)
- BOZKURT, B. Heart failure as a consequence of dilated cardiomyopathy. In: MANN, D. L. (ed.). **Heart failure: a companion to braunwald's heart disease**. New York: Elsevier, 2011. p. 372–394. *E-book*. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-1-4160-5895-3.10024-5>
- CABRAL GOUVEIA, G. C.; GALINDO, F. S.; DANTAS BERETA LANZA, M. G.; CAROLINE DA ROCHA SILVA, A.; PEREIRA DE BRITO MATEUS, M.; SOUZA DA SILVA, M.; RIMOLDI TAVANTI, R. F.; TAVANTI, T. R.; LAVRES, J.; REIS, A. R. dos. Selenium toxicity stress-induced phenotypical, biochemical and physiological responses in rice plants: Characterization of symptoms and plant metabolic adjustment. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Philadelphia, v. 202,

p. 110916, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110916>

CARRERA, C. S.; SOLÍS, S. M.; FERRUCCI, M. S.; VEGA, C. C. R.; GALATI, B. G.; ERGO, V.; ANDRADE, F. H.; LASCANO, R. H. Leaf structure and ultrastructure changes induced by heat stress and drought during seed filling in field-grown soybean and their relationship with grain yield. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 93, n. 4, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0001-3765202120191388>

CHARTZOULAKIS, K.; PATAKAS, A.; KOFIDIS, G.; BOSABALIDIS, A.; NASTOU, A. Water stress affects leaf anatomy, gas exchange, water relations and growth of two avocado cultivars. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 95, n. 1–2, p. 39–50, 2002. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0304-4238\(02\)00016-X](https://doi.org/10.1016/S0304-4238(02)00016-X)

COPPINGER, R. J.; DIAMOND, A. M. Selenium deficiency and human disease. In: HATIFIELD, D. L. (ed.). **Selenium**. Boston: Springer, 2001. p. 219–233. *E-book*. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-1-4615-1609-5_18

DJANAGUIRAMAN, M.; PRASAD, P. V. V.; SEPPANEN, M. Selenium protects sorghum leaves from oxidative damage under high temperature stress by enhancing antioxidant defense system. **Plant Physiology and Biochemistry**, Issy les Moulineaux Cedex, v. 48, n. 12, p. 999–1007, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.09.009>

DJANAGUIRAMAN, M.; PRASAD, P. V. V.; BOYLE, D. L.; SCHAPAUGH, W. T. High-temperature stress and soybean leaves: leaf anatomy and photosynthesis. **Crop Science**, Hoboken, v. 51, n. 5, p. 2125–2131, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.2135/cropsci2010.10.0571>

DOS 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, H. E.; LIN, Z. Q. **Selenium in plants**. New York: Springer, 2017. p. 209–230. *E-book*. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-3-319-56249-0_13

EDWARDS, D.; KERP, H.; HASS, H. Stomata in early land plants: an anatomical and ecophysiological approach. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 49, n. Special, p. 255–278, 1998. Disponível em: https://doi.org/10.1093/jxb/49.Special_Issue.255

FAHN, A.; CUTLER, D. F. **Xerophytes**. Berli: Gebruder Borntraeger, 1992.

FRANKS, P.; BRODRIBB, T. J. Stomatal control and water transport in the xylem. In: HOLBROOK, N. M.; ZWIENIECKI, M. A. **Vascular transport in plants**. New York: Elsevier, 2005. p. 69–89. *E-book*. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-012088457-5/50006-X>

GOYENS, P.; GOLSTEIN, J.; NSOMBOLA, B.; VIS, H.; DUMONT, J. E. Selenium deficiency as a possible factor in the pathogenesis of myxoedematous endemic cretinism. **Acta Endocrinologica**, Bucharest, v. 114, n. 4, p. 497–502, 1987. Disponível em: <https://doi.org/10.1530/acta.0.1140497>

GRIGORE, M.-N.; TOMA, C. Bulliform cells. In: GRIGORE, M. N.; TOMA, C. (ed.).

Anatomical adaptations of halophytes. Cham: Springer International Publishing, 2017. p. 325–338. *E-book*. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-3-319-66480-4_8

GUPTA, M.; GUPTA, S. An overview of selenium uptake, metabolism, and toxicity in plants. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 7, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.02074>

GUPTA, U. C.; GUPTA, S. C. Selenium in soils and crops, its deficiencies in livestock and humans: implications for management. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 31, n. 11–14, p. 1791–1807, 2000. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/00103620009370538>

HABERLANDT, G. **Physiological plant anatomy**. [S.l.]: Macmillan and Company, 1914.

HAWORTH, M.; ELLIOTT-KINGSTON, C.; MCELWAIN, J. C. Stomatal control as a driver of plant evolution. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 62, n. 8, p. 2419–2423, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jxb/err086>

HORRIDGE, G. A.; TAMM, S. L. Critical point drying for scanning electron microscopic study of ciliary motion. **Science**, Washington, v. 163, n. 3869, p. 817–818, 1969. Disponível em: <https://doi.org/10.1126/science.163.3869.817>

HUANG, J.; KHAN, M. T.; PERECIN, D.; COELHO, S. T.; ZHANG, M. Sugarcane for bioethanol production: potential of bagasse in Chinese perspective. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, Oxford, v. 133, p. 110296, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2020.110296>

HUGHES, D. J. *et al.* Selenium status is associated with colorectal cancer risk in the European prospective investigation of cancer and nutrition cohort. **International Journal of Cancer**, Hoboken, v. 136, n. 5, p. 1149–1161, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/ijc.29071>

JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. New York: McGraw-Hill, 1940.

KIRKHAM, M. B. Stomatal Anatomy and Stomatal Resistance. In: KIRKHAM, M. B. **Principles of soil and plant water relations**. New York: Elsevier, 2014. p. 431–451. *E-book*. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-420022-7.00024-0>

LANZA, M. G. D. B.; REIS, A. R. dos. Roles of selenium in mineral plant nutrition: ROS scavenging responses against abiotic stresses. **Plant Physiology and Biochemistry**, Issy les Moulineaux Cedex, v. 164, p. 27–43, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.04.026>

LANZA, M. G. D. B.; SILVA, V. M.; MONTANHA, G. S.; LAVRES, J.; PEREIRA DE CARVALHO, H. W.; REIS, A. R. dos. 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**, Philadelphia, v. 207, p. 111216, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111216>

LAWSON, T.; MATTHEWS, J. Guard Cell Metabolism and Stomatal Function. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 71, n. 1, p. 273–302, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050718-100251>

LEITE, M. C. M.; DE ARAUJO, M. A.; DA SILVA DE PAIVA, W.; CAMARGOS, L. S.; MARTINS, A. R. Morphological responses and tolerance of a tree native to the Brazilian Cerrado *Astronium fraxinifolium* Schott to boron toxicity. **Environmental Science and Pollution Research**, Heidelberg, v. 29, p. 6900-6910, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11356-021-15710-8>

LEONARDOS, E. D.; GRODZINSKI, B. Photosynthesis and Productivity of Vascular Plants in Controlled and Field Environments. In: **Reference module in life sciences**. Elsevier, 2017. *E-book*. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809633-8.09199-8>

LOPEZ, F. B.; BARCLAY, G. F. Plant anatomy and physiology. In: BADAL, S.; DELGODA, R. **Pharmacognosy**. New York: Elsevier, 2017. p. 45–60. *E-book*. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802104-0.00004-4>

MALIK, J. A. *et al.* Promotion of growth in mungbean (*Phaseolus aureus* Roxb.) by selenium is associated with stimulation of carbohydrate metabolism. **Biological Trace Element Research**, Heidelberg, v. 143, n. 1, p. 530–539, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12011-010-8872-1>

MANGENA, P. Water stress: morphological and anatomical changes in soybean (*Glycine max* L.) plants. In: ANDJELKOVIC, V. **Plant, abiotic stress and responses to climate change**. New York: InTech, 2018. *E-book*. Disponível em: <https://doi.org/10.5772/intechopen.72899>

MATEUS, M. P. de B.; TAVANTI, R. F. R.; TAVANTI, T. R.; SANTOS, E. F.; JALAL, A.; REIS, A. R. dos. Selenium biofortification enhances ROS scavenge system increasing yield of coffee plants. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Philadelphia, v. 209, p. 111772, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111772>

MENCUCCINI, M. Water relations of plants | Xylem. In: **Encyclopedia of applied plant sciences**. New York: Elsevier, 2003. p. 1440–1449. *E-book*. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B0-12-227050-9/00107-1>

PALLARDY, S. G. Absorption of water and ascent of sap. In: KRAMER, P. (ed.). **Physiology of woody plants**. New York: Elsevier, 2008. p. 287–323. *E-book*. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-012088765-1.50012-9>

RAYMAN, M. P. The importance of selenium to human health. **The Lancet**, London, v. 356, n. 9225, p. 233–241, 2000. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(00\)02490-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(00)02490-9)

RAYMAN, M. P. Selenium and human health. **The Lancet**, London, v. 379, n. 9822, p. 1256–1268, 2012. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(11\)61452-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(11)61452-9)

RÍOS, J. J.; BLASCO, B.; ROSALES, M. A.; SANCHEZ-RODRIGUEZ, E.; LEYVA, R.; CERVILLA, L. M.; ROMERO, L.; RUIZ, J. M. Response of nitrogen metabolism in lettuce plants subjected to different doses and forms of selenium. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Oxford, v. 90, n. 11, p. 1914–1919, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jsfa.4032>

ROSALEM, P. F.; PICÃO, T. B.; RODRIGUES-LISONI, F. C.; MARTINS, A. R. Leaf anatomy of *Protium ovatum* and its antiproliferative potential in cervical cells. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 27, n. 6, p. 673–678, 2017. Disponível em:

<https://doi.org/10.1016/j.bjp.2017.09.001>

SAKAI, W. S. Simple method for differential staining of paraffin embedded plant material using toluidine blue O. **Stain Technology**, Abingdon, v. 48, n. 5, p. 247–249, 1973. Disponível em: <https://doi.org/10.3109/10520297309116632>

SAM, O.; JERÉZ, E.; DELL'AMICO, J.; RUIZ-SANCHEZ, M. C. Water stress induced changes in anatomy of tomato leaf epidermes. **Biologia Plantarum**, Prague, v. 43, n. 2, p. 275–277, 2000. Disponível em: <https://doi.org/10.1023/A:1002716629802>

SCHIAVON, M.; NARDI, S.; DALLA VECCHIA, F.; ERTANI, A. Selenium biofortification in the 21st century: status and challenges for healthy human nutrition. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 453, n. 1–2, p. 245–270, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11104-020-04635-9>

SHAHID, M. A.; BALAL, R. M.; KHAN, N.; ZOTARELLI, L.; LIU, G. D.; SARKHOSH, A.; FERNÁNDEZ-ZAPATA, J. C.; MARTÍNEZ NICOLÁS, J. J.; GARCIA-SANCHEZ, F. Selenium impedes cadmium and arsenic toxicity in potato by modulating carbohydrate and nitrogen metabolism. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Philadelphia, v. 180, p. 588–599, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.05.037>

SILVA, M. de A.; SILVA, J. A. G. da; ENCISO, J.; SHARMA, V.; JIFON, J. Yield components as indicators of drought tolerance of sugarcane. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 65, n. 6, p. 620–627, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0103-90162008000600008>

SILVA, V. M. *et al.* Physiological, biochemical, and ultrastructural characterization of selenium toxicity in cowpea plants. **Environmental and Experimental Botany**, Amsterdam, v. 150, p. 172–182, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2018.03.020>

SILVA, V. M.; RIMOLDI TAVANTI, R. F.; GRATÃO, P. L.; ALCOCK, T. D.; REIS, A. R. dos. Selenate and selenite affect photosynthetic pigments and ROS scavenging through distinct mechanisms in cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) walp) plants. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Philadelphia, v. 201, p. 110777, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110777>

SMITH, L. D.; GARG, U. Disorders of trace metals. In: GARG, U.; SMITH, L. D. **Biomarkers in inborn errors of metabolism**. New York: Elsevier, 2017. p. 399–426. *E-book*. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802896-4.00015-8>

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

THOMAS, C. L. *et al.* Root morphology and seed and leaf ionomic traits in a Brassica napus L. diversity panel show wide phenotypic variation and are characteristic of crop habit. **BMC Plant Biology**, London, v. 16, n. 1, p. 214, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12870-016-0902-5>

ULHASSAN, Z.; GILL, R. A.; ALI, S.; MWAMBA, T. M.; ALI, B.; WANG, J.; HUANG, Q.; AZIZ, R.; ZHOU, W. Dual behavior of selenium: Insights into physio-biochemical, anatomical and molecular analyses of four Brassica napus cultivars. **Chemosphere**, Oxford, v. 225, p. 329–341, 2019 a. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.03.028>

ULHASSAN, Z.; GILL, R. A.; HUANG, H.; ALI, S.; MWAMBA, T. M.; ALI, B.; HUANG, Q.; HAMID, Y.; KHAN, A. R.; WANG, J.; ZHOU, W. Selenium mitigates the chromium toxicity in *Brassica napus* L. by ameliorating nutrients uptake, amino acids metabolism and antioxidant defense system. **Plant Physiology and Biochemistry**, Issy les Moulineaux Cedex, v. 145, p. 142–152, 2019 b. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.10.035>

WHITE, P. J. Ion transport. In: **Encyclopedia of Applied Plant Sciences**. New York: Elsevier, 2017. p. 238–245. *E-book*. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394807-6.00216-1>

WHITE, P. J. Selenium metabolism in plants. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects**, Amsterdam, v. 1862, n. 11, p. 2333–2342, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2018.05.006>

WHITE, P. J.; BROWN, P. H. Plant nutrition for sustainable development and global health. **Annals of Botany**, Oxford, v. 105, n. 7, p. 1073–1080, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/aob/mcq085>

ZHAO, D.; LI, Y.-R. Climate change and sugarcane production: potential impact and mitigation strategies. **International Journal of Agronomy**, London, v. 2015, p. 1–10, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2015/547386>

Tabela 1. Valores de F e P a partir da análise de variância (ANOVA). Fontes de variação: Variedade, Concentração e a Interação entre os fatores.

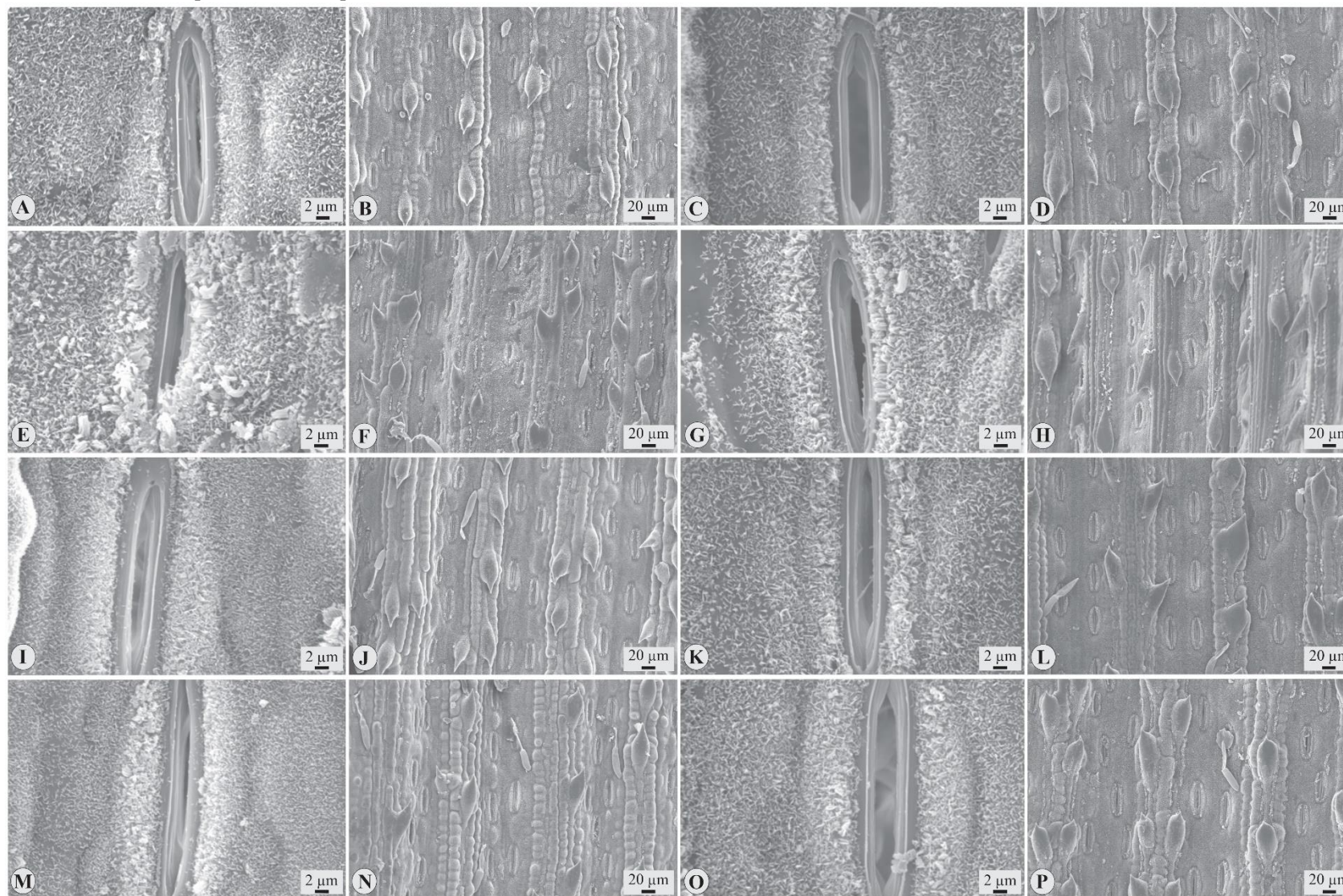
Concentração de Se nas folhas		
Fonte	F	Pr (<F)
Variedade (A)	152.0	0.00**
Concentração (B)	4398.7	0.00**
A X B	112.2	0.00**
CV% = 3.95		
Número de estômatos na epiderme adaxial		
Fonte	F	Pr (<F)
Variedade (A)	47.33	0.00**
Concentração (B)	154.87	0.00**
A X B	273.96	0.00**
CV% = 4.20		
Número de estômatos na epiderme abaxial		
Fonte	F	Pr (<F)
Variedade (A)	452.36	0.00**
Concentração (B)	361.67	0.00**
A X B	17.25	0.00**
CV% = 2.82		
Altura da célula buliforme		
Fonte	F	Pr (<F)
Variedade (A)	100.63	0.00**
Concentração (B)	2.55	0.06 ^{ns}
A X B	2.15	0.09 ^{ns}
CV% = 11.33		
Epiderme adaxial		
Fonte	F	Pr (<F)
Variedade (A)	20.38	0.000**
Concentração (B)	4.26	0.007**
A X B	21.67	0.000**
CV% = 12.25		
Epiderme abaxial		
Fonte	F	Pr (<F)
Variedade (A)	6.45	0.013**
Concentração (B)	3.30	0.024*
A X B	12.40	0.000**
CV% = 12.92		
Altura do feixe vascular		
Fonte	F	Pr (<F)
Variedade (A)	60.62	0.000**
Concentração (B)	30.83	0.000**
A X B	6.19	0.000**
CV% = 5.85		

Diâmetro do elemento de vaso na raiz		
Fonte	F	Pr (<F)
Variedade (A)	123.71	0.00**
Concentração (B)	22.20	0.00**
A X B	25.24	0.00**
CV% = 6.92		
Proporção da medula		
Fonte	F	Pr (<F)
Variedade (A)	285.24	0.00**
Concentração (B)	55.15	0.00**
A X B	3.34	0.02*
CV% = 5.42		

** - significativo a 1% ($p \leq 0.01$), * - significativo a 5% ($p \leq 0.05$), ns – não significativo.

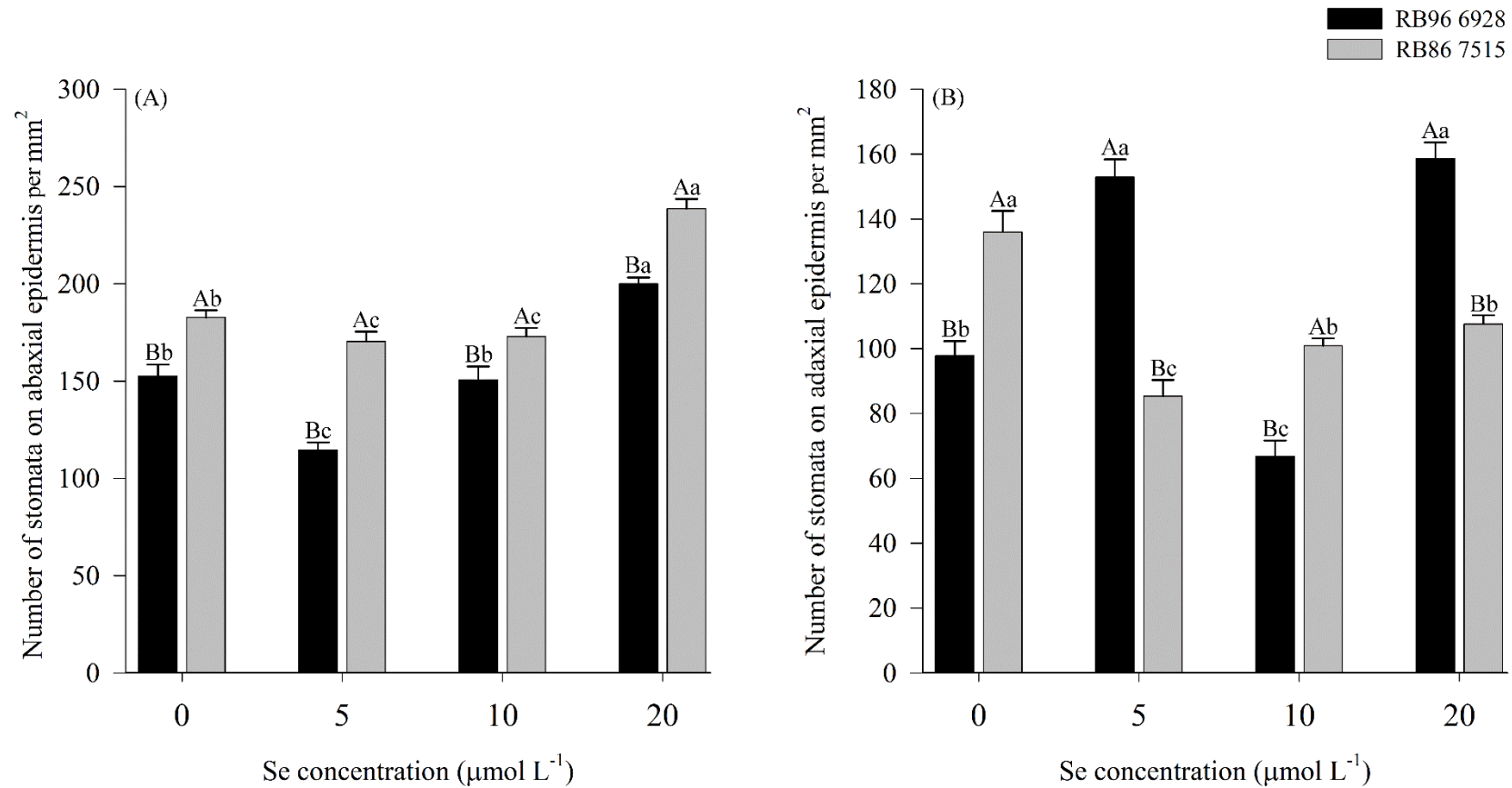
Fonte: O próprio autor.

Figura 1: Epideme abaxial de folhas de cana-de-açúcar sob microscopia eletrônica de varredura (MEV). **A, B, C e D** – 0 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$. **E, F, G e H** – 5 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$. **I, J, K e L** – 10 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$. **M, N, O e P** – 20 $\mu\text{mol Se L}^{-1}$. **A, B, E, F, I, J, M e N** – RB96 6928. **C, D, G, H, K, L O e P** – RB86 7515. Setas brancas – vista geral do estômato na epiderme; Setas pretas – ostíolo; Setas amarelas – tricomas.



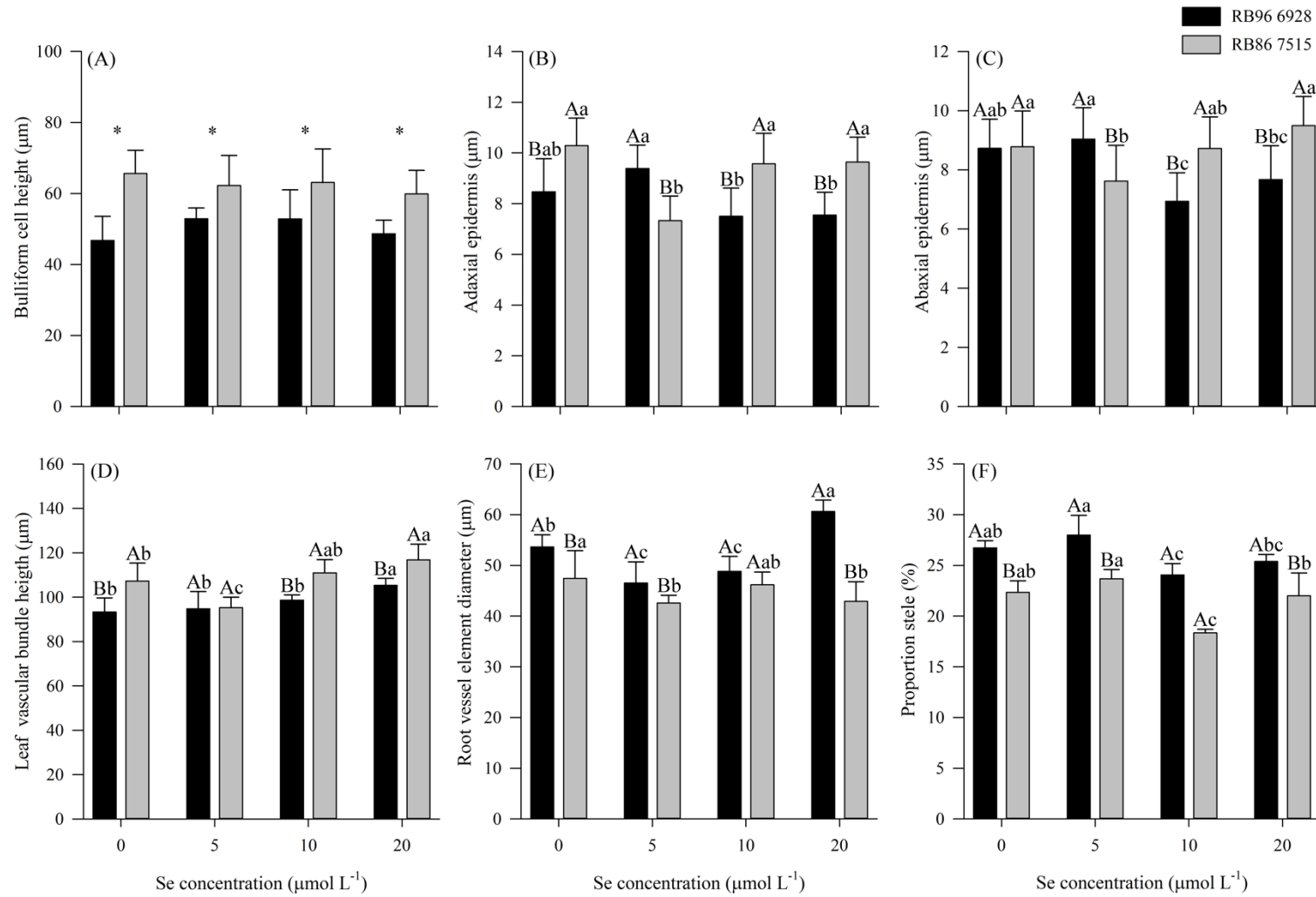
Fonte: O próprio autor.

Figura 2: Número de estômatos nas face abaxial (A) e adaxial (B) de folhas de cana-de-açúcar sob o efeito da aplicação de selenato de sódio como fonte de Se. Letras maiúsculas distintas indicam diferença significativa entre as variedades em cada tratamento e letras minúsculas indicam diferença significativa na mesma variedade para cada dose aplicada (Teste Tukey, $p \leq 0.05$).



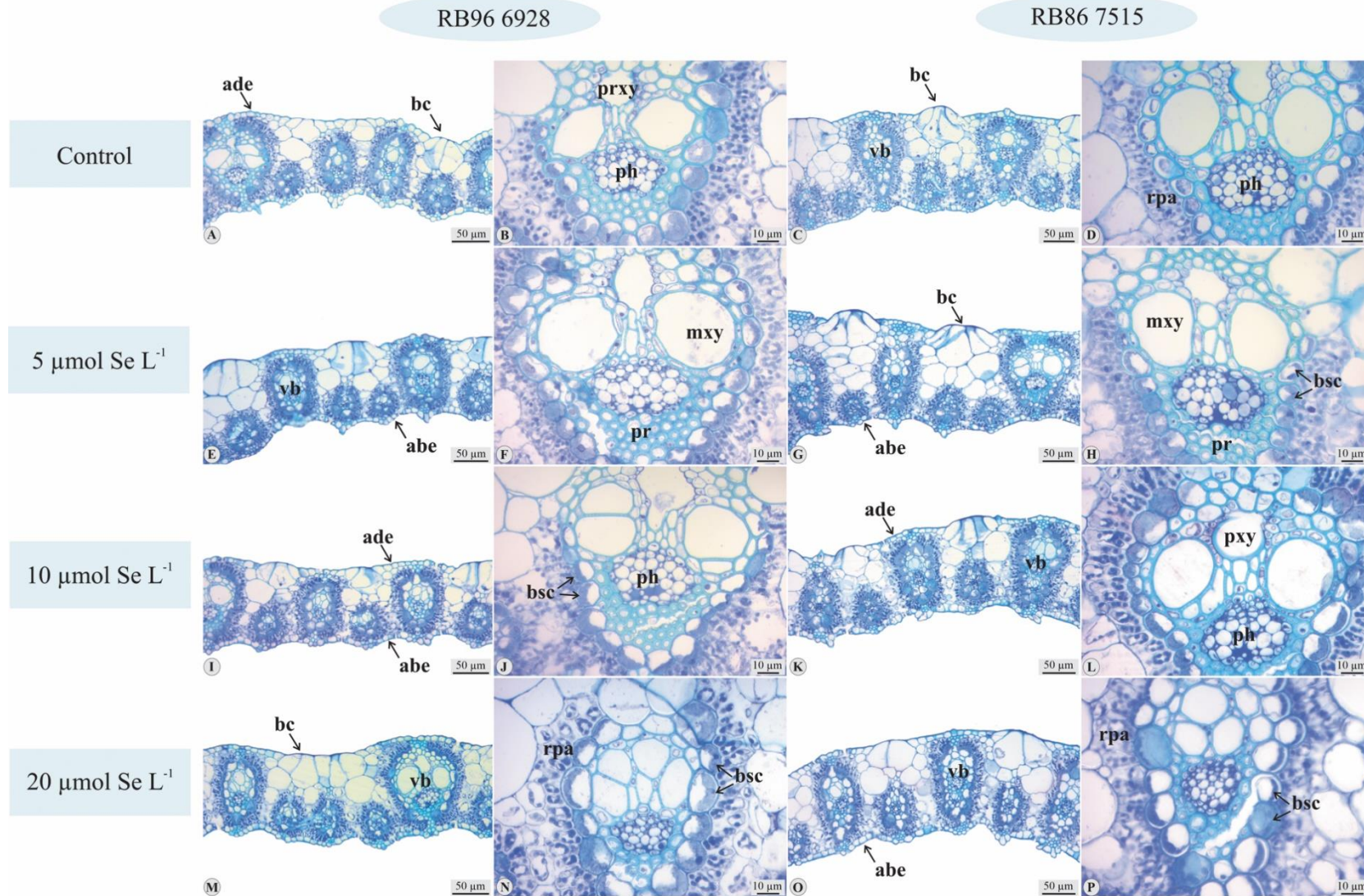
Fonte: O próprio autor.

Figura 3: Altura de células buliformes (A), espessura da epiderme adaxial (B), espessura da epiderme abaxial (C), altura do feixe vascular da folha (D), diâmetro de elementos de vasos nas raízes (E) e a proporção da medula (F) em plantas de cana-de-açúcar sob o efeito da aplicação de selenato de sódio como fonte de Se. Letras maiúsculas distintas indicam diferença significativa entre as variedades em cada tratamento e letras minúsculas indicam diferença significativa na mesma variedade para cada dose aplicada (Teste Tukey, $p \leq 0.05$).



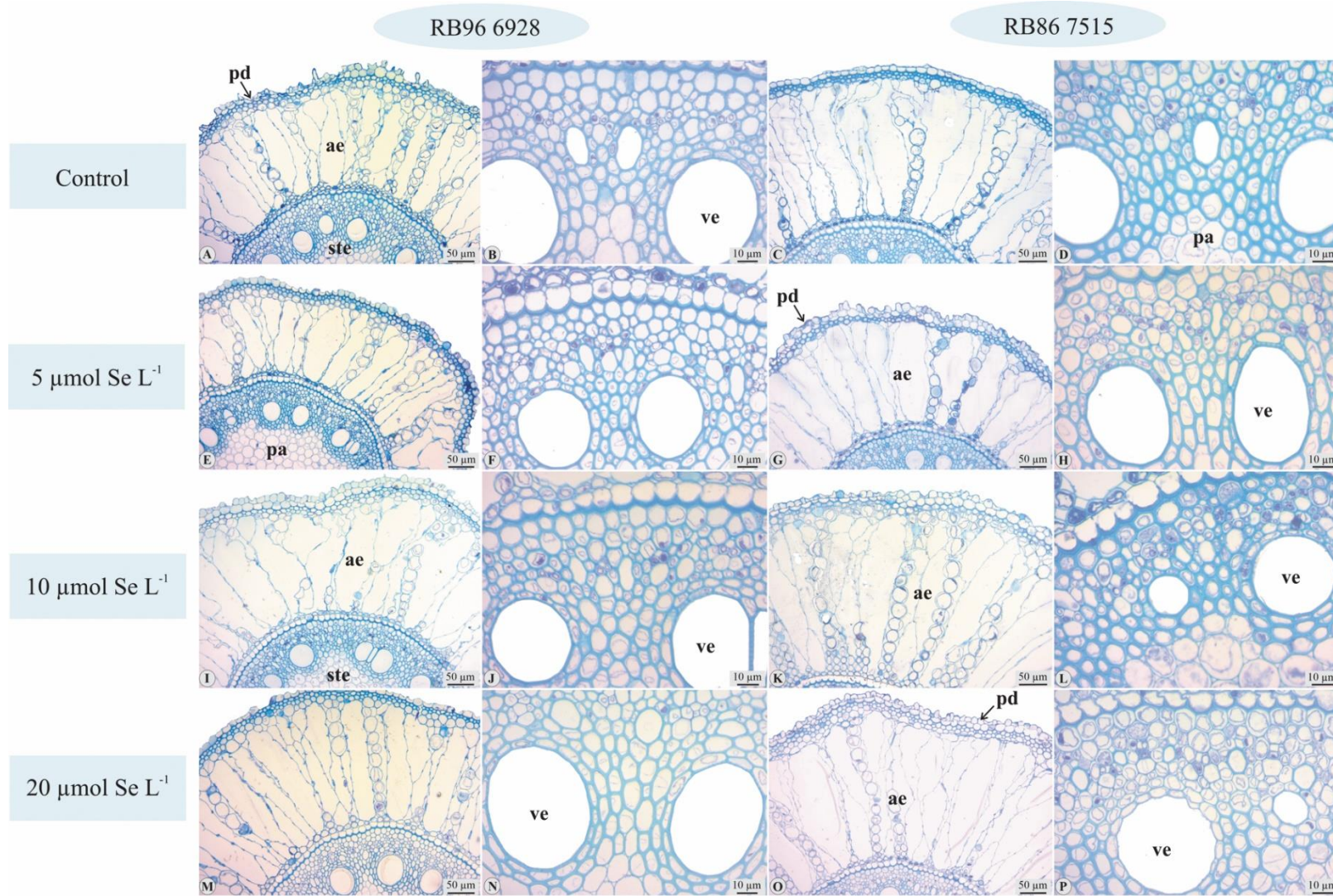
Fonte: O próprio autor.

Figura 4: Cortes transversais em folha de cana-de-açúcar sob o efeito da aplicação de selenato de sódio como fonte de Se. **A, C, E, G, I, K, M, O** – internervura. **B, D, F, H, J, L, N, P** – feixe vascular da internervura. **ade** – epideme adaxial. **abe** – epiderme abaxial. **bc** – células buliformes. **vb** – feixe vascular. **prxy** – protoxilema. **mxy** – metaxilema, **ph** – floema. **rpa** – parênquima radial. **bsc** – células da bainha do feixe vascular.



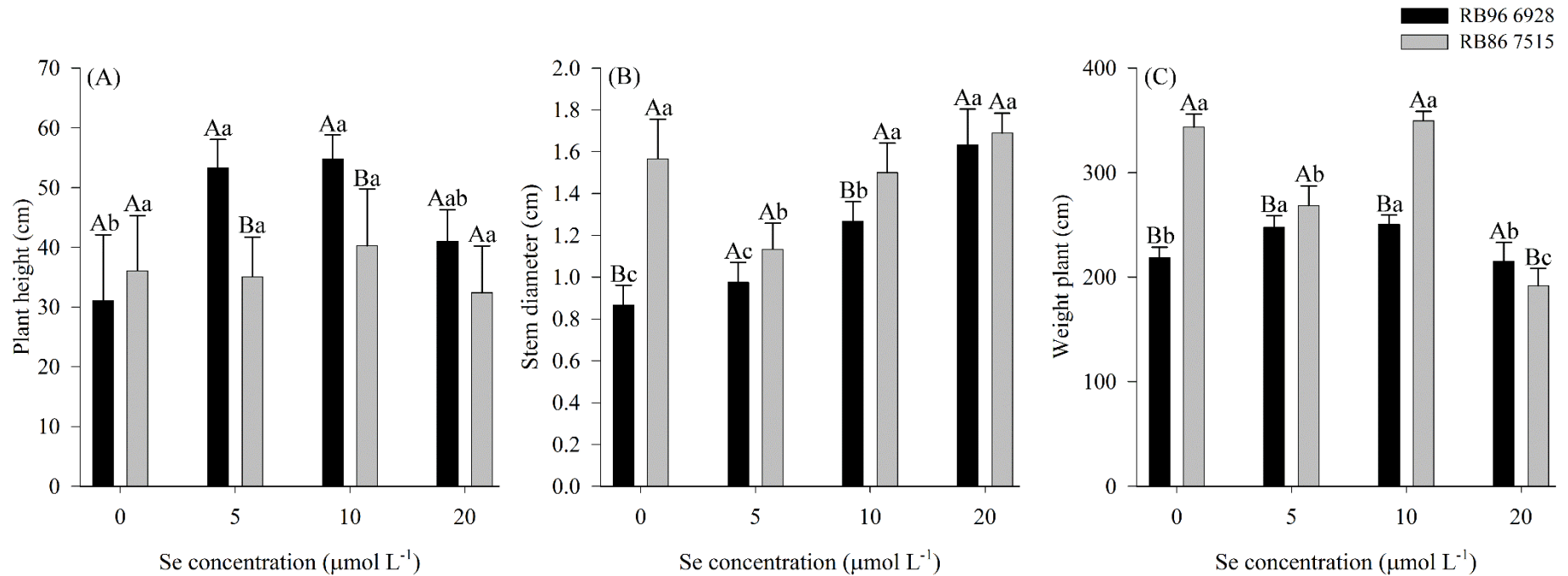
Fonte: O próprio autor.

Figura 5: Cortes transversais em raízes de cana-de-açúcar sob o efeito da aplicação de selenato de sódio como fonte de Se. **A, C, E, G, I, K, M, O** – vista geral da raiz. **B, D, F, H, J, L, N, P** – elementos de vaso na medula. **pd** – periderme. **ae** – aerênquima. **ste** – medula. **ve** – elementos de vaso.



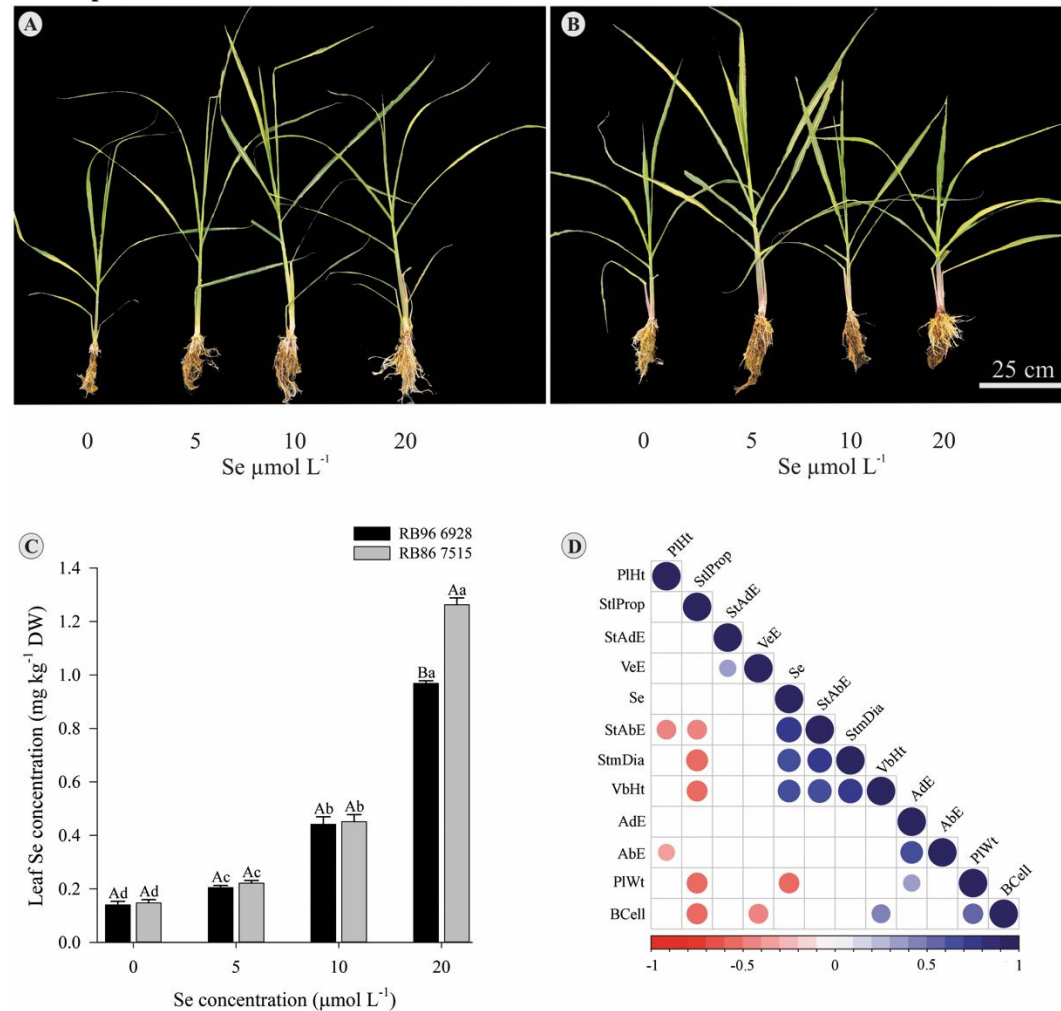
Fonte: O próprio autor.

Figura 6: Ganhos em altura, diâmetro do colmo e peso total de plantas de duas variedades de cana-de-açúcar sob aplicação de selenato de sódio como fonte de Se. Letras maiúsculas distintas indicam diferença significativa entre as variedades em cada tratamento e letras minúsculas indicam diferença significativa na mesma variedade para cada dose aplicada (Teste Tukey, $p \leq 0.05$).



Fonte: O próprio autor.

Figura 7: Resposta de duas variedades de cana de açúcar à aplicação de selenato de sódio como fonte de Se no crescimento da parte aérea e sistema radicular (A e B). **A** – RB96 6928. **B** – RB86 7515. **C** - Concentração de Se em folhas. **D** - Heatmap a partir da análise de Correlação de Pearson ($p \leq 0.05$) entre as variáveis estudadas. Espaços em branco indicam correlação não-significativa. **PIHt** – Ganho em altura. **StlProp** – Proporção da medula. **StAdE** – Densidade estomática na epiderme adaxial. **VeE** – Diâmetro de elemento de vaso. **Se** – Concentração de Se nas folhas. **StAbE** – Densidade estomática na epiderme abaxial. **StmDia** – Ganho no diâmetro do colmo. **VbHt** – Altura do feixe vascular da internervura. **AdE** – Espessura da epiderme adaxial. **AbE** – Espessura da epiderme abaxial. **PIWt** – Ganho em peso total de plantas. **BCell** – Altura de células buliforme.



Fonte: O próprio autor.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A concentração de Se nas folhas de cana-de-açúcar aumentou com a aplicação das doses de selenato de sódio. As variedades apresentaram diferentes respostas morfofisiológicas à aplicação do Se em forma de selenato de sódio. A partir das análises aos 45 dias e aos 85 dias, foi possível observar modificações no metabolismo de N, de carboidratos, pigmentos e taxas fotossintéticas, controle da peroxidação lipídica e respostas antioxidativas em ambas as variedades. Apesar de respostas positivas para ambas variedades nas demais variáveis, somente a variedade RB96 6928 apresentou aumento nas concentrações de sacarose e açúcares totais no caldo. Em relação à morfofisiologia, a aplicação do Se provocou modificações na anatomia foliar e radicular das variedades de cana-de-açúcar, modificações que podem auxiliar no aumento da tolerância frente ao estresse abiótico. Levando em conta todas as variáveis fisiológicas e bioquímicas estudadas, a melhor concentração de Se para variedade RB96 6928 foi a de $10 \mu\text{mol Se L}^{-1}$, enquanto a variedade RB86 7515 apresentou os melhores resultados com a aplicação de $5 \mu\text{mol Se L}^{-1}$.

A partir do conhecimento da importância da cana-de-açúcar no contexto econômico nacional e internacional, além do seu uso na substituição de combustíveis fósseis, os resultados apresentados no presente estudo possuem alto potencial para serem submetidos à pesquisa de campo, aumentando a produtividade de uma das principais culturas hoje dentro da economia brasileira.

Sabendo-se da atual deficiência em Se na alimentação humana e os problemas na saúde que isso causa, os estudos acerca da biofortificação com o mineral se tornam imprescindíveis para a reversão desse quadro, já que estes mostram sucesso no acúmulo de Se nos diferentes órgãos das plantas, inclusive nos grãos. Assim, mostra-se imprescindível o aumento de trabalhos de biofortificação e o conhecimento acerca do efeito benéfico do Se em uma maior variedade de espécies vegetais.