



MAILA ADRIELY SILVA

**SELENIUM BIOFORTIFICATION OF SOYBEAN IN OXIDIC
SOIL: GENETIC AND AGRONOMIC APPROACHES**

**LAVRAS – MG
2019**

MAILA ADRIELY SILVA

**SELENIUM BIOFORTIFICATION OF SOYBEAN IN OXIDIC
SOIL: GENETIC AND AGRONOMIC APPROACHES**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, área de concentração em Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas, para a obtenção do título de Mestre.

Professor Ph.D. Luiz Roberto Guimarães Guilherme
Orientador
Professor D. Sc. Guilherme Lopes
Coorientador

**LAVRAS – MG
2019**

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

Silva, Maila Adriely.

Selenium biofortification of soybean in oxidic soil: genetic
and agronomic approaches / Maila Adriely Silva. - 2019.

46 p. : il.

Orientador(a): Luiz Roberto Guimarães Guilherme.

Coorientador(a): Guilherme Lopes.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de
Lavras, 2019.

Bibliografia.

1. Sodium selenate. 2. Food security. 3. Phosphorus. I.
Guilherme, Luiz Roberto Guimarães. II. Lopes, Guilherme. III.
Título.

MAILA ADRIELY SILVA

**SELENIUM BIOFORTIFICATION OF SOYBEAN IN OXIDIC
SOIL: GENETIC AND AGRONOMIC APPROACHES**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, área de concentração em Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 30 de maio de 2019.

D. Sc Cynthia de Oliveira - UFLA

D. Sc Juscimar da Silva - EMBRAPA

Professor Ph.D. Luiz Roberto Guimarães Guilherme

Orientador

Professor D. Sc. Guilherme Lopes

Coorientador

LAVRAS – MG

2019

*À Deus, o maior de todos os mestres.
Aos meus pais, Silvia e Eli (in memoriam).
Aos meus irmãos Thaisa e Hely, Vó Geralda e Tia Lourdes.
Ao meu querido noivo Gustavo.
Dedico!*

AGRADECIMENTOS

À Deus, em primeiro lugar, eu agradeço pela vida e pelos dons concebidos.

À minha mãe Silvia e meu pai Eli (espero estar bem onde estiver), pelo esforço em me criar e proporcionar o melhor durante a vida.

Ao Gustavo, pelo companheirismo, amor, paciência, dias de trabalho e noites de estudos. Você foi essencial para concluir mais essa etapa!

Aos meus irmãos, Thaisa e Hely, pela irmandade.

À minha avó Geralda, tia Loudes e Rogério, por acreditar em mim e por permitir que tenha os melhores exemplos de vida.

Aos amigos e colegas de trabalho pela ajuda.

Ao José Marcos, Guilherme Dinali e à Compass Minerals pelo suporte e financiamento da pesquisa.

À Elisana Baldissera e a todos da fazenda Olímpia por acreditar em nosso trabalho.

À Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Ciência do Solo, pela abertura e disponibilidade de estrutura.

Às agências de fomento CAPES e FAPEMIG, pelo auxílio financeiro. O presente trabalho foi realizado com apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)

Aos professores pelo conhecimento transmitido.

Ao meu orientador, professor Bebeto, pela paciência, sugestões e oportunidades.

Ao meu coorientador, professor Guilherme Lopes, pela contribuição.

Aos membros da banca, por aceitar o convite e contribuir para a melhora desse trabalho.

Muito obrigada!

*“O que passou, passou, mas o que passou luzindo,
resplandecerá para sempre”*

Johann Goethe

RESUMO GERAL

O selênio (Se) é um micronutriente importante para os seres humanos e animais e sua deficiência é generalizada em todo o mundo. Aumentar a concentração de Se em culturas básicas por meio da biofortificação (agronômica e genética) pode ser uma estratégia eficiente para aliviar a desnutrição humana. Nesse contexto, a soja (*Glycine max* L.) tem potencial para isso, visto que é um alimento rico em proteínas e amplamente utilizado na alimentação animal, atingindo consequentemente, os humanos. Este trabalho avaliou o potencial de biofortificação de duas variedades de soja com Se. O experimento foi conduzido em casa de vegetação na Universidade Federal de Lavras – Lavras, MG, em Latossolo Vermelho distrófico. O delineamento experimental foi em blocos casualizados, em esquema fatorial 2 x 3 x 2, sendo duas fontes de fertilizante fosfatado (fosfato monoamônio convencional e fosfato monoamônio de eficiência aumentada), utilizado como veículo para adicionar Se ao solo, três doses de Se (0; 0,1 e 0,2 mg dm⁻³) e duas cultivares de soja (cv. 58I60RSF Lança e cv. M5917 IPRO). Foram realizadas avaliações de altura de planta, número de nós, número de ramificações, número de vagens, massa seca de folha, massa seca de caule, massa seca de vagem, teor de macro e micronutrientes, teores de Se no tecido vegetal e produtividade. Além disso, foi feita a coleta da solução do solo aos 7, 14, 28 e 56 dias após a semeadura para a determinação de P, K, Ca, Mg, S, Fe, Mn, Cu, Zn e Se. Os dados obtidos foram testados quanto à sua normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk, submetidos à análise de variância, e quando significativas, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5%. Para o teor e acúmulo de Se nos grãos houve diferença significativa pelo teste F para a interação entre fontes de fertilizantes fosfatados e doses de Se aplicadas. Os teores de Se nos grãos de soja aumentaram à medida em que houve aumento na dose do elemento. A produtividade de soja foi influenciada pelas doses de forma isolada, sendo que na dose de 0,2 mg dm⁻³ de Se, houve diminuição na produtividade da cultura. Com isso, concluiu-se que o revestimento de fertilizante fosfatado com Se é uma eficiente estratégia agronômica para a biofortificação de grãos de soja com Se em solo oxidado. Além disso, a dose de 0,1 mg dm⁻³ foi a mais indicada entre as doses testadas, visto que essa dose favoreceu a biofortificação dos grãos sem reduzir a produtividade da cultura.

Palavras chave: Selenato de sódio. Fósforo. Fertilizante de eficiência aumentada. Segurança alimentar.

ABSTRACT

Selenium (Se) is an important micronutrient for humans and animals and its deficiency is widespread worldwide. Enhancing Se concentration in staple crops through biofortification (agronomic and genetic) may be an effective strategy to alleviate human malnutrition. Soybean (*Glycine max* L. Merrill) is a crop with a great potential for that, since is a protein-rich food and is largely used to animal feed, consequently reaching humans. This study evaluated the biofortification potential of two soybean varieties with Se, thru the application of phosphate fertilizer coated with Se. The experiment was conducted under greenhouse conditions, in the Soil Science Department at Federal University of Lavras, Lavras (MG), Brazil, on a dystrophic Red Latosol. The experimental design was a completely randomized block design, in a factorial scheme 2 x 3 x 2, with two sources of phosphate fertilizer (a conventional monoammonium phosphate and an enhanced-efficiency monoammonium phosphate), used as carriers for adding Se in the soil, three rates of Se (0, 0.1, and 0.2 mg dm⁻³) and two soybean genotypes (cv. 58I60RSF Lança and cv. M5917 IPRO). Plant height, nodes number, branches number, pod number, leaf dry matter, steam dry matter, pod dry matter, macronutrients and micronutrients content, Se content in the plant tissue, and grains yield were evaluated. In addition, the soil solution was collected at 7, 14, 28, and 56 days after sowing for the determination of P, K, Ca, Mg, S, Fe, Mn, Cu, Zn, and Se. The obtained data were tested for their normality by the Shapiro-Wilk test, submitted to analysis of variance, and when significant, the averages were compared by the Tukey test at 5%. For the content and accumulation of Se in the grains, there was significant difference by the F test for the interaction between sources of phosphate fertilizers and rates of Se applied. The contents of Se in the soybean grains increased upon increasing the Se application rate. Grains yield was influenced by rate, with the highest rate (0.2 mg dm⁻³) decreasing crop yield. Thus, we conclude that coating phosphate fertilizer with Se is an efficient agronomic strategy for biofortification of soybean grains with Se in oxidic soils. In addition, the rate of 0.1 mg dm⁻³ was the most indicated among the rates tested, since this dose favored the biofortification of the grains without decreasing crop yield.

Palavras chave: Sodium selenate. Phosphorus. Enriched-efficiency fertilizers. Food security.

SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE	10
1 INTRODUÇÃO.....	10
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	11
2.1 Selênio no solo e fertilização com selênio	11
2.2 Selênio na planta	14
2.3 Biofortificação com selênio	16
2.4 Soja (<i>Glycine max</i> L. Merrill)	18
3 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	19
REFERÊNCIAS.....	20
SEGUNDA PARTE – ARTIGO	27
Abstract	28
Introduction.....	29
Material and Methods.....	30
Results	33
Discussion	39
Acknowledgements.....	42
References.....	42

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO

A principal fonte de nutrientes para os humanos são os alimentos e sua demanda é crescente, uma vez que a população mundial irá aumentar de forma acelerada e contínua nas próximas décadas (SAATH; FACHINELLO, 2018). A expectativa é de que a população aumente de 7,2 bilhões de pessoas para 9,6 bilhões até 2050, podendo chegar a 10,9 bilhões de pessoas em 2100 (GERLAND *et al.*, 2014). Alguns dados demonstram que a demanda por alimentos deve dobrar durante o período de 1990 a 2030, aumentando 2,5 vezes nos países em desenvolvimento (GRAHAM *et al.*, 2007).

A produção de alimentos tem crescido, entretanto, não tem sido suficiente para alimentar toda a população. No mundo ainda existem aproximadamente 795 milhões de pessoas em estado de desnutrição (LIMA, 2018) e a mesma é responsável por 55% das mortes de crianças, sendo a doença que mais causa morte no mundo (SAWAYA, 2006). Apesar da desnutrição por falta de alimento ser uma das principais causas de morte infantil, a falta de alimentos com qualidade nutricional também afeta significativamente a população (NESTEL *et al.*, 2006). Segundo a Organização Mundial da Saúde (2014), cerca de 2 bilhões de pessoas no mundo passam por “fome oculta”. A biofortificação é uma prática que pode auxiliar na redução desse problema, uma vez que essa técnica consiste em elevar a concentração de minerais e vitaminas em culturas agrícolas, por meio da adubação ou melhoramento genético, com o intuito de atender as necessidades humanas e animais (CAKMAK, 2008; GRAHAM *et al.*, 2007).

Um elemento que tem sido estudado para biofortificação das culturas agrícolas é o selênio (Se) (BOLDRIN *et al.*, 2012; LIU *et al.*, 2004; SKOCZYLAS *et al.*, 2016). Em humanos e animais, o selênio é considerado essencial para o desenvolvimento e está relacionado ao metabolismo hormonal, doenças cardiovasculares e sistema antioxidante (ALMONDES *et al.*, 2010; FAIRWEATHER-TAIT *et al.*, 2011). Além disso, as proteínas formadas com a incorporação do selênio (selenoproteínas) possuem ação na redução de danos no DNA, diminuição do estresse oxidativo, aumento na proteína eliminatória de tumor e indução da morte de células cancerígenas, reduzindo assim chances de surgimento de câncer (ALMONDES, *et al.*, 2010).

Para as plantas, o selênio não é considerado um elemento essencial. Entretanto, sabe-se que ele possui funções benéficas no metabolismo das mesmas (EL MEHDAWI; PILON-

SMITS, 2012; FENG; WEI; TU, 2013; WHITE, 2016). O selênio pode ser absorvido por meio de transportadores de sulfato ou de fosfato dependendo da forma em que ele se encontra no solo. Após a absorção ele pode interferir na proteção da planta contra o estresse oxidativo (DJANAGUIRAMAN *et al.*, 2005) e manter a planta fisiologicamente ativa por mais tempo (LYONS *et al.*, 2009; RAMOS *et al.*, 2011a).

A sua disponibilidade no solo pode ser afetada por processos químicos como o pH, potencial redox, presença de íons competidores, processo de sorção, transformações microbiológicas e teor de matéria orgânica (LENZ; LENS, 2009). A concentração de Se no solo normalmente varia de 0,1 a 2,0 mg kg⁻¹ de solo, podendo chegar a 1200 mg kg⁻¹ em alguns solos seleníferos (FORDYCE, 2007). Uma alternativa para aumentar o teor de Se e obter maior disponibilidade desse elemento para as plantas é a aplicação associada a fertilizantes fosfatados. Quando há a presença de fosfato no solo, ele compete pelos mesmos sítios de adsorção que o selênio, favorecendo o aumento na disponibilidade de Se e conseqüentemente sua maior absorção pelas plantas (NAKAMARU; SEKINE, 2008).

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

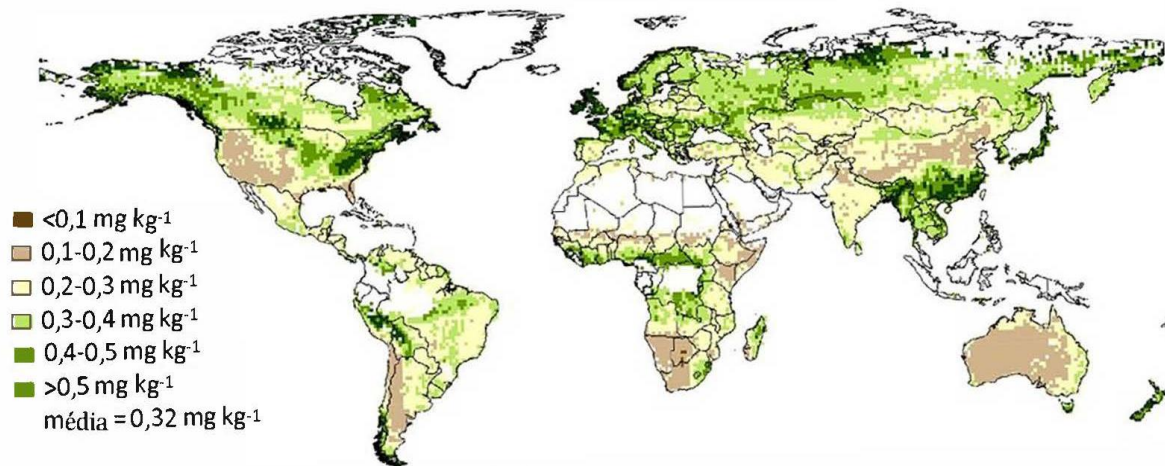
2.1 Selênio no solo e fertilização com selênio

O Selênio (Se) é o elemento com número atômico 34, massa atômica 78,96 g e está inserido no grupo VI da tabela periódica, sendo classificado como um semimetal pois possui propriedades dos metais e dos não metais (SHIBATA; MORITA; FUWA, 1992). Esse elemento foi descoberto em 1817 quando um químico sueco chamado Jons Jokob Berzelius analisava a produção de ácido sulfúrico. O químico percebeu que se formava um sedimento vermelho na borda da câmara de chumbo e que quando era aquecido exalava um cheiro característico semelhante ao do telúrio. Com o tempo, percebeu-se que não havia vestígio de telúrio o que ressaltava a existência de outro elemento. Descobriu-se então o selênio, que possui esse nome derivado do grego *selene*, que quer dizer lua (FOSTER; SUMAR, 1997).

A concentração do selênio na crosta terrestre é considerada baixa, onde o selênio ocupa a 70ª posição. As formas desse elemento que mais são encontradas na natureza são o selenito (SeO₃²⁻) e selenato (SeO₄²⁻), entretanto também podem ser encontrados em menores quantidades o selênio na forma elementar (Se⁰) e o selênio na forma orgânica (FORDYCE, 2007). As rochas magmáticas e calcárias normalmente possuem baixa concentração de selênio, enquanto que as rochas sedimentares apresentam maiores teores, uma vez que ele está mais

associado a fração argila (SHARMA *et al.*, 2014). No solo, o teor de selênio varia de 0,005 mg kg⁻¹ (Finlândia) a 8.000 mg kg⁻¹ em solos seleníferos (Rússia) (MORA *et al.*, 2015) (FIGURA 1). No Brasil há relatos de valores entre 0,008 a 1,61 mg kg⁻¹ no estado de São Paulo (GABOS; GOLDBERG; ALLEONI, 2014) e de 0,022 a 0,072 mg kg⁻¹ em solos do Cerrado (CARVALHO *et al.*, 2019). De acordo com a resolução 420/2009, do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) o valor referência de qualidade (VRQ) de Se para o Brasil é de 5,0 mg kg⁻¹ de solo seco (CONAMA 2009). Esse valor se refere à concentração natural do elemento químico no solo sem a interferência antrópica (NOGUEIRA *et al.*, 2018) e pode ser utilizado como base na tomada de decisão para atividades de prevenção, controle e remediação da poluição do solo (COPPOLA *et al.*, 2010).

Figura 1 - Distribuição mundial de selênio no solo.



Fonte: (JONES *et al.*, 2017)

Vários fatores interferem na disponibilidade do selênio no solo, como por exemplo, o pH, o teor de matéria orgânica, o tipo de argila e o potencial redox (CARTES; GIANFREDA; MORA, 2005). Em condições de alta umidade, pH ácido e potencial redox (Eh) baixo (200 a 400 mV) o selenito (SeO₃²⁻) é a forma predominante, enquanto que em ambientes onde o pH tende a ser neutro ou básico e o potencial de oxirredução é acima de 400 mV, o selenito pode sofrer oxidação e formar selenato (SeO₄²⁻) (ELRASHIDI *et al.*, 1987; NAKAMARU; SEKINE, 2008). As formas em que o selênio é encontrado no solo influenciam na sua mobilidade e disponibilidade. Ambientes altamente intemperizados podem adsorver selenito reduzindo a sua disponibilidade, adsorção essa que é classificada como específica e pode ocorrer principalmente por óxidos de ferro (hematita e goethita) (ROVIRA *et al.*, 2008), que são mais ocorrentes em solos com essa característica.

Pesquisas com a adsorção de selênio em solos de região tropical relataram que o teor de selênio adsorvido reduziu à medida que aumentou o pH do meio. Quando o pH do solo estava em 3, a adsorção foi de 83% para selenito e 46% para selenato, enquanto que em pH 7 esses valores foram de 59% e 15%, respectivamente. Segundo os autores, o aumento no pH gera cargas negativas nos coloides e isso favorece a repulsão dos ânions de selenito (Se IV) e selenato (Se VI). Em solos ácidos o selenito possui maior força de ligação com óxidos de ferro ou alumínio, enquanto que em solos alcalinos ou em situações oxidantes o selenato também pode se ligar a esses compostos, porém com menor força de retenção (GOH; LIM, 2004). O selenato possui menor força de ligação devido aos mecanismos de adsorção não específica, semelhante ao que ocorre com o sulfato. Já para o selenito os mecanismos de adsorção dependem de interações por complexos de esfera interna, similar ao que ocorre com o fosfato (SNYDER; UM, 2014).

Outro fator que também interfere na adsorção de selênio é a presença de outros íons na solução do solo que podem competir diretamente com ele. O grau de interferência depende, entretanto, da concentração e da interação competitiva entre o selênio e o ânion (KIM *et al.*, 2012). Ânions sulfato (SO_4^{2-}), nitrato (NO_3^-) e fosfato (PO_4^{3-}), que compõem a solução do solo, favorecem a redução na adsorção de selênio, devido à competição pelos sítios de adsorção (NAKAMARU; SEKINE, 2008). Além disso, quando os ânions se ligam às cargas positivas, cargas negativas são adicionadas à superfície do solo e isso dificulta ainda mais a adsorção dos ânions selenato e selenito, pois aumentam as forças de repulsão eletrostática. Segundo Lessa *et al.* (2016), a retenção de selênio em solos cultivados é menor do que em solos onde não há presença de cultivos, uma vez que solos cultivados tendem a ter maior quantidade de íons competidores pois são solos que podem receber fertilização.

Estudos relatam que de todo o selênio presente no solo, menos de 20% está presente nos minerais, enquanto que o selênio presente na matéria orgânica corresponde a mais de 40% do total (QIN *et al.*, 2013). A presença de matéria orgânica no solo favorece o desenvolvimento de microrganismos e estes quando presentes no solo podem facilitar a volatilização de selênio por meio da transformação de formas inorgânicas em formas metiladas como o dimetil-seleneto (DMSe) e dimetil-disseleneto (DMDS_e) (TERRY *et al.*, 1992). A volatilização, entretanto, ocorre com maior intensidade em locais com temperatura, disponibilidade de água e carbono orgânico disponível mais elevados (BAÑUELOS *et al.*, 2005).

Em sistemas agrícolas, o selênio absorvido pelas plantas pode ser compensado por meio da aplicação de fertilizantes contendo o elemento (EDER; EDELBAUER, 2001). A associação de selênio com fertilizantes fosfatados é uma alternativa que pode ser viável para aumentar a

concentração desse elemento nas plantas. Na cultura do arroz, Liu *et al.* (2004) conseguiram aumentar a absorção de selênio com a adição de fósforo no solo. O mesmo ocorreu na cultura da alfafa quando testado por Carter, Robbins e Brown (1972). O incremento de fósforo no solo possibilita maior competição entre o P e o Se pelos sítios de adsorção do solo. Além disso, a aplicação de fósforo no solo pode estimular a formação de raízes e facilitar a absorção de selênio pela planta (CARTER; ROBBIN; BROWN, 1972). Apesar da aplicação de fertilizantes a base de selênio ser uma alternativa para fornecer esse elemento para as plantas, apenas 5 a 30% é absorvido pelas plantas (EICH *et al.*, 2007; TVEITNES; SINGH, 1996).

Em alguns países a fertilização com selênio já é consagrada. Um dos primeiros relatos sobre a aplicação de selênio por meio de fertilizantes foi feito por Cary e Allaway (1973) ao testar a aplicação de selenito de sódio na cultura do milho, aveia e forragem. As doses testadas foram de 2,24 e 4,48 kg ha⁻¹ e o teor foi acima de 0,1 mg kg⁻¹, o que foi o suficiente para evitar doenças causadas pela deficiência de selênio. Além disso, segundo os autores, a dose de 4,48 kg ha⁻¹ não provocou toxidez de selênio nas plantas.

Na Finlândia, desde 1984 estudos já indicavam a necessidade de aplicação de selênio nas culturas em função da baixa concentração desse elemento no solo, nas plantas e nos fertilizantes. Nesse país, a aplicação é feita por meio da adição de 10 gramas de selênio para cada tonelada de fertilizante e essa dose de selênio é semelhante a dose utilizada na Nova Zelândia (EUROLA *et al.*, 2001). No Brasil, a legislação não contemplava a adição de selênio em fertilizantes. Entretanto, com o avanço de pesquisas sobre os benefícios do selênio o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), por meio da instrução normativa Nº 46 de 22 de Novembro de 2016 passou a regulamentar a utilização, sendo o teor mínimo considerado 0,003%.

2.2 Selênio na planta

Nas plantas o selênio não possui função essencial, portanto ele não é considerado um nutriente. Entretanto, é considerado um elemento benéfico, pois em pequenas quantidades o selênio pode melhorar o crescimento das mesmas (BOLDRIN *et al.*, 2012). Além disso, controla a produção e eliminação de espécies reativas de oxigênio (EROs) por meio de moléculas que contenham selênio em sua estrutura (controle direto) ou através do controle dos antioxidantes (controle indireto) (FENG; WEI; TU, 2013).

Alguns autores relatam que o selênio pode aumentar a ação antioxidante das plantas, diminuindo a produção de radicais livres (DJANAGUIRAMAN *et al.*, 2005; RAMOS *et al.*,

2011b). Algumas enzimas são essenciais nessa redução, como por exemplo a enzima catalase (CAT), peroxidase (POD), peroxidase do ascorbato (APX), peroxidase do guaiacol (GPOX) e redutase da glutatona (GR) (FENG *et al.*, 2013). Em plantas de alface crescendo em solução nutritiva com selênio, experimentos mostraram aumentos na atividade da catalase (RAMOS *et al.*, 2011b), enquanto que, ao aplicar selênio via foliar em trigo autores observaram aumento na atividade da peroxidação lipídica (IQBAL *et al.*, 2015). Além disso, o selênio em baixas concentrações pode ampliar a eficiência da fotossíntese e pigmentos fotossintéticos, por meio da melhora na atividade antioxidante das células (ZHANG *et al.*, 2014), podendo também melhorar a condutância estomática, a eficiência da taxa transpiratória e a concentração de CO₂ (JIANG *et al.*, 2015; ZHANG *et al.*, 2014).

Em relação ao acúmulo de selênio pelas espécies de plantas, elas podem ser consideradas plantas indicadoras, acumuladoras e não acumuladoras. As plantas não acumuladoras são aquelas que assimilam no máximo 25 mg kg⁻¹ de selênio na matéria seca (WHITE *et al.*, 2004), enquanto que algumas espécies acumuladoras podem acumular de 1.000 a 15.000 mg kg⁻¹ de selênio na matéria seca (EL MEHDAWI *et al.*, 2014). Culturas como o repolho, brócolis, alho, canola e cebola são exemplos de espécies acumuladoras. Já o trigo, centeio, cevada, soja e aveia são espécies não acumuladoras (BROADLEY *et al.*, 2006).

Na cultura da batata (*Solanum tuberosum*) alguns autores observaram incremento no crescimento das plantas, na produção e qualidade de tubérculos quando fizeram aplicação de selênio associado ao nitrogênio (YASSEN; SAFIA; SAHAR, 2011). Na soja (*Glycine max*) a aplicação de 50 mg L⁻¹ de selênio via foliar aumentou o rendimento dos grãos, visto que retardou a senescência foliar e manteve a taxa fotossintética ativa por mais tempo (GERM; KREFT; OSVALD, 2005). Já na cultura do feijão mungo (*Phaseolus aureus*) houve aumento no número de brotações e das raízes quando o mesmo foi cultivado em solução nutritiva com aplicação de 0,1; 0,25; 0,50 e 0,75 mg L⁻¹ de Se (MALIK *et al.*, 2011).

A absorção, translocação e redistribuição do selênio nas plantas é dependente da espécie, das condições fisiológicas, da fase de desenvolvimento, da presença de outras substâncias, da atividade dos transportadores e de mecanismos de translocação na planta (RENKEMA *et al.*, 2012). Além disso, há diferenças se comparado as fontes de fornecimento do elemento (LONGCHAMP *et al.*, 2015). A forma inorgânica selenato é absorvida pelas raízes por meio de transportadores de sulfato de alta afinidade (WHITE *et al.*, 2004), enquanto que o selenito é absorvido por meio dos transportadores de fosfatos (LI; MCGRATH; ZHAO, 2008). A absorção de selenato envolve o fluxo de massa e transporte ativo, enquanto que a absorção de selenito envolve a difusão e transporte passivo (MALAGOLI *et al.*, 2015; WHITE, 2016).

Após a absorção do selenito, ele é rapidamente metabolizado e transformado em aminoácidos, entretanto, a sua translocação é lenta na planta e isso favorece a permanência dos metabólitos nas raízes (LIU; GU, 2009). Devido ao acúmulo de selenito nas raízes, vários autores têm utilizado selenato na biofortificação, pois, mesmo em doses pequenas, o selenito tem causado fitotoxidez (KAUR *et al.*, 2014). Em contraste, o selenato quando absorvido é translocado facilmente para a parte aérea e forma lentamente selenoaminoácidos (LI; MCGRATH; ZHAO, 2008).

Primeiramente ele segue para os cloroplastos e é lá que é processado pela rota do enxofre. Logo, ele é ativado pela ATP sulfurilase e forma adenosina-5-fosfoselenato, o qual é reduzido para selenito por meio da redutase adenosina-5-fosfossulfato (SORS; ELLIS; SALT, 2005). O selenito formado é reduzido a seleneto (Se^{2-}) e esse é incorporado aos aminoácidos como a selenometionina e a selenocisteína (MEHDI *et al.*, 2013) que seguem para formar as proteínas que terão cada uma a sua função no metabolismo das plantas. Como forma alternativa, o selênio pode ser acumulado na forma de composto metilado ou ser volatilizado da planta (HAWKESFORD; ZHAO, 2007) (FIGURA 2).

2.3 Biofortificação com selênio

Para as plantas, o Se não é considerado um elemento essencial, entretanto para os humanos ele tem papel importante e possui atividade biológica através da sua incorporação nas proteínas e, ação antioxidante (RAYMAN, 2002). Além disso, alguns pesquisadores têm encontrado ação anticancerígena de algumas formas de selênio no cólon, pulmão e na pele (FAIRWEATHER-TAIT *et al.*, 2011; STRATTON *et al.*, 2003). A deficiência de selênio no mundo atinge mais de um bilhão de pessoas (MORA *et al.*, 2015). Para crianças com idade entre 1 a 4 anos e de 4 a 7 anos, a ingestão de selênio recomendada é de $15 \mu\text{g dia}^{-1}$ e de $20 \mu\text{g dia}^{-1}$ respectivamente, enquanto que para crianças com idade entre 7 e 10 anos a recomendação é de $30 \mu\text{g dia}^{-1}$. Já em adultos, a dose ideal é de $60 \mu\text{g dia}^{-1}$ para mulheres e $70 \mu\text{g dia}^{-1}$ para homens (KIPP *et al.*, 2015) (TABELA 1).

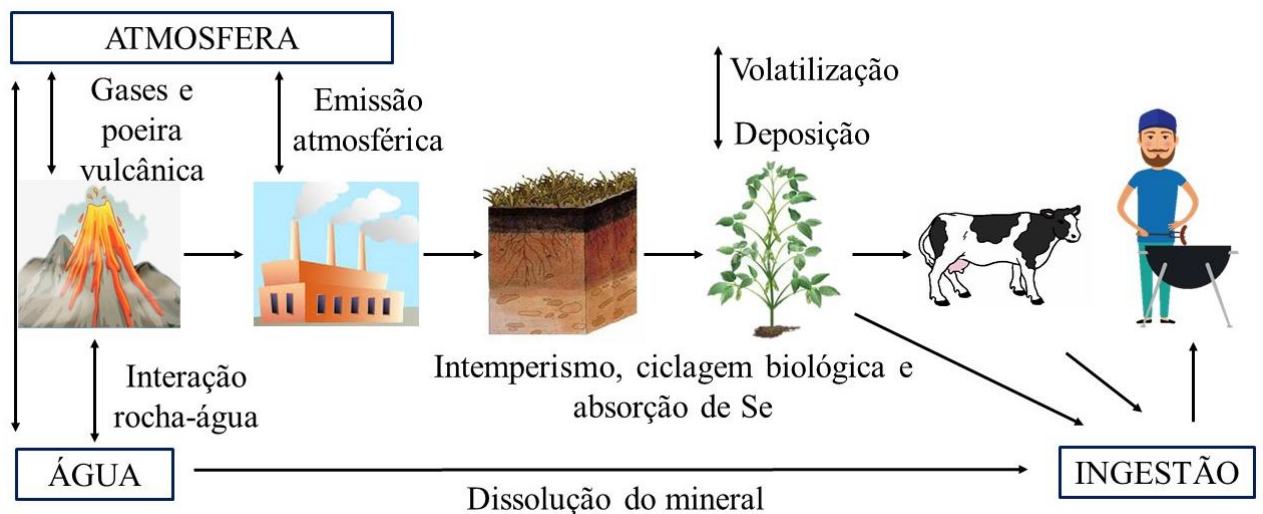
Tabela 1 - Valores estimados de absorção adequada de selênio por humanos.

Idade	Ingestão de selênio ($\mu\text{g dia}^{-1}$)
1 a 4 anos	15
4 a 7 anos	20
7 a 10 anos	30
10 a 13 anos	45
13 a 15 anos	60
Acima de 15 anos	70 (homem) e 60 (mulher)
Mulheres grávidas	60
Mulheres lactantes	75

Fonte: Kipp *et al.* (2015)

O selênio é componente de 25 selenoproteínas que estão relacionadas com o estresse oxidativo (REEVES; HOFFMANN, 2009) e que também atuam na produção do hormônio da tireoide e na produção de DNA (PEDRERO; MADRID, 2009). A sua essencialidade para os humanos foi descoberta em 1979 com o aparecimento da doença de Keshan, que é uma doença causada pela deficiência de selênio no organismo (ALISSA *et al.*, 2003). Uma alternativa para corrigir a deficiência de selênio em humanos e animais é a ingestão do elemento por meio de espécies de plantas biofortificadas (FIGURA 3).

Figura 2 - Diagrama simplificado da ciclagem de selênio do ambiente para o homem.



Fonte: Adaptado de Fordyce (2007)

A biofortificação é uma técnica que visa produzir espécies com aumento no teor de minerais e vitaminas, suprimindo as deficiências nutricionais e, além disso, proporcionando à população menos favorecida uma maneira de ter acesso ao nutriente por um custo menor (ÁVILA *et al.*, 2014). Ela pode ser realizada de forma agronômica ou de forma genética. A biofortificação genética consiste na modificação genética da planta para aumentar o teor do elemento (GRAHAM *et al.*, 2007) ou na seleção de cultivares com maior probabilidade de acúmulo de determinado nutriente (STROUD *et al.*, 2010). A biofortificação agronômica é aquela em que o conteúdo do elemento na planta é aumentado pelo fornecimento através da adubação (HAWKESFORD; ZHAO, 2007). Vários estudos já foram conduzidos para avaliar a biofortificação em culturas como o arroz (BOLDRIN *et al.*, 2012), alface (RAMOS *et al.*, 2011a), feijão (FIGUEIREDO *et al.*, 2017), espinafre (FERRARESE *et al.*, 2012), tomate (PEZZAROSSA *et al.*, 2014) e milho (LONGCHAMP *et al.*, 2015).

Essas espécies biofortificadas geram benefícios contínuos ao longo dos anos, principalmente em países em desenvolvimento, com um custo menor do que o da fortificação na pós-colheita (GRAHAM *et al.*, 2007). Os alimentos que são consumidos pelos brasileiros possuem baixo teor de selênio, se comparados com outros países, como os EUA (FERREIRA *et al.*, 2002), o que justifica ainda mais pesquisas com biofortificação de alimentos básicos com o selênio.

2.4 Soja (*Glycine max* L. Merrill)

A soja (*Glycine max* L. Merrill) é uma das plantas cultivadas de maior importância para a economia mundial. No mercado brasileiro ela possui posição de destaque, onde o início se deu a partir das décadas de 1970 e 1980, junto à abertura do cultivo no Cerrado (MARIN *et al.*, 2015). Dados de estimativa da safra 2018/2019 mostram que a produção mundial de soja poderá chegar a 360 milhões de toneladas e isso corresponde a 6% a mais do que foi produzido na safra 2017/2018. Na safra 2017/2018, o Brasil foi o maior produtor de soja, seguido pelos Estados Unidos e Argentina (USDA, 2019).

Acredita-se que sua origem tenha sido na região do Vale do Rio Amarelo na China, local onde apresenta grande diversidade genética. Outra região, no noroeste da China, a Manchúria, é citada como o centro de domesticação da planta (CHUNG; SINGH, 2008). No Brasil, os primeiros relatos são de que a soja foi semeada na Bahia em condição experimental, entretanto devido à cultivar não ser adaptada não obteve sucesso. Durante os anos de 1950, iniciou-se o cultivo no Rio Grande do Sul, na região das Missões, do Alto Uruguai e Planalto Médio, sendo

posteriormente, na década de 1960, expandida para as demais regiões. Seu crescimento em produção e o aumento da capacidade produtiva brasileira estão ligados aos avanços científicos e ao fornecimento de tecnologias do setor produtivo como utilização de fertilizantes, defensivos, atenuadores de estresse, dentre outras (SOUZA *et al.*, 2008).

Na cultura da soja existe uma diversidade morfológica e genética associada ao grande número de cultivares, que resultam do esforço de vários programas de melhoramento genético. As cultivares existentes podem ser classificadas em três hábitos de crescimento: determinado, semi-determinado e indeterminado, sendo as de crescimento indeterminado as mais utilizadas. Plantas com o crescimento indeterminado apresentam florescimento em etapas. No começo da florada a cultura ainda não atingiu todo o seu crescimento em altura e após a emissão das flores ela continua a emitir nós vegetativos na haste principal (SEDIYAMA, 2009).

Os grãos da soja são utilizados pela agroindústria (produção de óleo vegetal e rações para alimentação animal em forma de farelo), indústria química e de alimentos (COSTA; ROSSI, 2000). A utilização da soja na alimentação humana é uma prática que vem crescendo devido às suas propriedades funcionais e nutricionais (MAGEE; ROWLAND, 2004). Para humanos, a soja tem sido utilizada como fonte proteica e está no grupo das cinco principais fontes de proteína alimentar (MENDES *et al.*, 2004).

Por ser uma cultura amplamente cultivada, utilizada de várias formas na alimentação humana e animal e por ter grande capacidade de formar proteínas, a soja é uma possível alternativa de estudos com biofortificação com selênio. Alguns estudos mostram que a aplicação de selênio via solo e via foliar na soja aumentou o conteúdo de selênio nos grãos e aumentou a quantidade de proteínas de 12,06 para 16,77 $\mu\text{g g}^{-1}$, variando inclusive entre as cultivares estudadas (YANG *et al.*, 2003). Além disso, o trabalho de Djanaguiraman *et al.* (2005), demonstra que a soja possui a capacidade de incorporar o selênio em seus compostos reduzindo a atividade oxidante da planta e retardando a senescência. No entanto, não há estudos na cultura da soja para aplicação de selênio associado ao fertilizante fosfatado convencional e com eficiência aumentada.

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A biofortificação é uma estratégia que vem crescendo nos últimos anos visando aumentar a segurança dos alimentos. Visto isso, é de grande importância estudos que tenham foco em culturas básicas para a alimentação humana ou animal, pois elas são as mais acessíveis por parte da população. Um elemento foco dos estudos de biofortificação é o selênio. Para os

humanos e animais, o selênio é considerado um nutriente e possui papel importante na regulação do sistema endócrino, atividade antioxidante e prevenção de câncer. Par as plantas, esse elemento não é considerado um nutriente e por isso, as mesmas desempenham normalmente seu ciclo vital sem a presença dele. Entretanto, o estudo de selênio nas plantas é necessário pois existem relatos de que ele pode ter ação benéfica auxiliando na redução de espécies reativas de oxigênio. Assim, estudos que avaliam os efeitos do selênio e a biofortificação de culturas básicas na alimentação humana e animal são necessários, pois com estes, conclusões mais concisas em relação à sua importância poderão ser tomadas. Além disso, esses trabalhos poderão servir como guia para agricultores que visam enriquecer os alimentos produzidos em suas propriedades.

REFERÊNCIAS

ABREU, L. B. *et al.* Sorção de selênio em solos do bioma cerrado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 35, n. 6, p. 1995–2003, 2011.

ALISSA, E. M. *et al.* The controversy surrounding selenium and cardiovascular disease: a review of the evidence. **Medicine Science Monitor**, v. 9, n. 91, p. 9–18, 2003.

ALMONDES, K. G. de S. *et al.* Why your talent-management strategy should link talent to value. **Revista Associação Médica Brasileira**, v. 56, n. 4, p. 484–488, 2010.

ÁVILA, F. W. *et al.* Impact of selenium supply on Se-methylselenocysteine and glucosinolate accumulation in selenium-biofortified *Brassica sprouts*. **Food Chemistry**, v. 165, p. 578–586, 2014.

BAÑUELOS, G. S. *et al.* Selenium volatilization in vegetated agricultural drainage sediment from the San Luis Drain, Central California. **Chemosphere**, v. 60, n.1, p. 1203–1213, 2005.

BOLDRIN, P. F. *et al.* Selenato e selenito na produção e biofortificação agrônômica com selênio em arroz. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, n. 6, p. 831–837, 2012.

BROADLEY, M. R. *et al.* Biofortification of UK food crops with selenium. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 65, n. 2, p. 169–181, 2006.

CAKMAK, I. Enrichment of cereal grains with zinc: Agronomic or genetic biofortification? **Plant Soil**, v. 302, n. 1-2, p. 1–17, 2008.

CARY, E.E.; ALLAWAY, W.H. Selenium content of field crops grown in selenite-treated soils. **Agronomy Journal**, v. 65, n. 6, p.922-925, 1973.

CARTER, D. L.; ROBBINS, C. W.; BROWN, M. J. Effect of phosphorus fertilization on the selenium concentration in alfalfa (*Medicago saliva*). **Soil Science Society of America Proceedings**, v. 36, n. 2, p. 624-628, 1972.

- CARTES, P.; GIANFREDA, L.; MORA, M. L. Uptake of selenium and its antioxidant activity in ryegrass when applied as selenate and selenite forms. **Plant Soil**, v. 276, n. 1–2, p. 359–367, 2005.
- CARVALHO, G. S. *et al.* Selenium and mercury in Brazilian Cerrado soils and their relationships with physical and chemical soil characteristics. *Chemosphere*, v. 218, p. 412–415, 2019.
- CHUNG, G.; SINGH, R. J. Broadening the genetic base of soybean: A multidisciplinary approach. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 27, n. 5, p. 295–341, 2008.
- CONAMA–Conselho Nacional Do Meio Ambiente, 2009. Brazilian National Environment Council, Normative 420. CONAMA, Brasília. Available at <http://www2.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=620>
- COPPOLA, E. *et al.* Lead distribution as related to pedological features of soils in the Volturno River low Basin (Campania, Italy). **Geoderma**, v. 159, p. 342–349, 2010.
- COSTA, P. R.; ROSSI, L. F. S. Produção de biocombustível alternativo ao óleo diesel através da transesterificação de óleo de soja usado em frituras. **Química Nova**, v. 23, n. 4, p. 531–537, 2000.
- DJANAGUIRAMAN, M. *et al.* Selenium - An antioxidative protectant in soybean during senescence. **Plant and Soil**, v. 272, n. 1–2, p. 77–86, 2005.
- EDER, G.; EDELBAUER, A. Influence of different fertilizing measures in grassland on the selenium content in soil and plants. **Die Bodenkultur**, v. 52, n. 3, p. 209–214, 2001.
- EICH, G. S. *et al.* Plant availability of inorganic and organic selenium fertilizer as influenced by soil organic matter content and pH. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, v. 79, n. 1, p. 221–231, 2007.
- EL MEHDAWI, A. F. *et al.* Analysis of selenium accumulation, speciation and tolerance of potential selenium hyperaccumulator *Symphyotrichum ericoides*. **Physiologia Plantarum**, v. 152, n. 1, p. 70–83, 2014.
- EL MEHDAWI, A. F.; PILON-SMITS, E. A. H. Ecological aspects of plant selenium hyperaccumulation. **Plant Biology**, v. 14, n. 1, p. 1–10, 2012.
- ELRASHIDI, M. A. *et al.* Chemical equilibria of selenium in soils: A theoretical development. **Soil Science**, 144:141, 1987.
- EUROLA, M. **Results of the Finnish selenium monitoring program**. Helsinki: Agrifood Research Reports, 2001, 45p.
- FAIRWEATHER-TAIT, S. J. *et al.* Selenium in human health and disease. **Antioxidants Redox Signaling**, v. 14, n. 7, p. 1337–1383, 2011.

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

FERRARESE, M. *et al.* Biofortification of spinach plants applying selenium in the nutrient solution of floating system. **Vegetable Crops Research Bulletin**, v. 76, n. 1, p. 127–136, 2012.

FERREIRA, K. S. *et al.* Concentrações de selênio em alimentos consumidos no Brasil. **Revista Panamericana de Salud Publica/Pan American Journal of Public Health**, v. 11, n. 3, p. 172–177, 2002.

FIGUEIREDO, M. A. DE *et al.* Zinc and selenium accumulation and their effect on iron bioavailability in common bean seeds. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 111, n. 3, p. 193–202, 2017.

FORDYCE, F. Selenium geochemistry and health. **Ambio**, v. 36, n. 1, p. 94–97, 2007.

FOSTER, L. H.; SUMAR, S. Selenium in health and disease: A review. **Food Science and Nutrition**, v. 37, n. 3, p. 211–228, 1997.

GABOS, M. B.; GOLDBERG, S.; ALLEONI, L. R. F. Modeling selenium (IV and VI) adsorption envelopes in selected tropical soils using the constant capacitance model. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 33, n. 10, p. 2197–2207, 2014.

GERLAND, P. *et al.* Doubling of world population unlikely. **Scienceexpress**, v. 387, p. 803–805, 2014.

GERM, M.; KREFT, I.; OSVALD, J. Influence of UV-B exclusion and selenium treatment on photochemical efficiency of photosystem II, yield and respiratory potential in pumpkins (*Cucurbita pepo* L.). **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 43, n. 5, p. 445–448, 2005.

GOH, K. H.; LIM, T. T. Geochemistry of inorganic arsenic and selenium in a tropical soil: Effect of reaction time, pH, and competitive anions on arsenic and selenium adsorption. **Chemosphere**, v. 55, n. 6, p. 849–859, 2004.

GRAHAM, R. D. *et al.* Nutritious subsistence food systems. **Advances in Agronomy**, v. 92, n. 04, p. 1–74, 2007.

HAWKESFORD, M. J.; ZHAO, F. J. Strategies for increasing the selenium content of wheat. **Journal of Cereal Science**, v. 46, n. 3, p. 282–292, 2007.

IQBAL, M. *et al.* Exogenously applied selenium reduces oxidative stress and induces heat tolerance in spring wheat. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 94, p. 95–103, 2015.

JIANG, C. *et al.* Effects of selenium on the growth and photosynthetic characteristics of flue-cured tobacco (*Nicotiana tabacum* L.). **Acta Societatis Botanicorum Poloniae**, v. 84, n. 1, p. 71–77, 2015.

- JONES, G. D. *et al.* Selenium deficiency risk predicted to increase under future climate change. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 114, n. 11, p. 2848–2853, 2017.
- KAUR, N. *et al.* Selenium in agriculture: A nutrient or contaminant for crops? **Archives of Agronomy and Soil Science**, v. 60, n. 12, p. 1593–1624, 2014.
- KIM, S. S. *et al.* Effects of pH and anions on the sorption of selenium ions onto magnetite. **Journal of Environmental Radioactivity**, v. 104, n. 1, p. 1–6, 2012.
- KIPP, A. P. *et al.* Revised reference values for selenium intake. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 32, p. 195–199, 2015.
- LENZ, M.; LENS, P. N. L. The essential toxin: The changing perception of selenium in environmental sciences. **Science of the Total Environment**, v. 407, n. 12, p. 3620–3633, 2009.
- LESSA, J. H. I. *et al.* Adsorption-desorption reactions of selenium (VI) in tropical cultivated and uncultivated soils under Cerrado biome. **Chemosphere**, v. 164, p. 271–277, 2016.
- LI, H. F.; MCGRATH, S. P.; ZHAO, F. J. Selenium uptake, translocation and speciation in wheat supplied with selenate or selenite. **New Phytologist**, v. 178, n. 1, p. 92–102, 2008.
- LIMA, J. S. G. Segurança alimentar e nutricional: sistemas agroecológicos são a mudança que a intensificação ecológica não alcança. **Ciência e Cultura**, v. 69, n. 2, p. 8–10, 2018.
- LIU, K.; GU, Z. Selenium accumulation in different brown rice cultivars and its distribution in fractions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 2, p. 695–700, 2009.
- LIU, Q. *et al.* Effects of the interaction between selenium and phosphorus on the growth and selenium accumulation in rice (*Oryza sativa*). **Environmental Geochemistry and Health**, v. 26, p. 325–330, 2004.
- LONGCHAMP, M. *et al.* Variations in the accumulation, localization and rate of metabolization of selenium in mature *Zea mays* plants supplied with selenite or selenate. **Food Chemistry**, v. 182, p. 128–135, 2015.
- LYONS, G. H. *et al.* Selenium increases seed production in Brassica. **Plant and Soil**, v. 318, n. 1–2, p. 73–80, 2009.
- MAGEE, P. J.; ROWLAND, I. R. Phyto-oestrogens, their mechanism of action: current evidence for a role in breast and prostate cancer. **British Journal of Nutrition**, v. 91, n. 4, p. 513, 2004.
- MALAGOLI, M. *et al.* Effects of selenium biofortification. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, p. 1–5, 2015.
- 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.

MARIN, R. da S. F. *et al.* Efeito da adubação fosfatada na produção de sementes de soja. **Revista Ceres**, v. 62, n. 3, p. 265–274, 2015.

MEHDI, Y. *et al.* Selenium in the environment, metabolism and involvement in body functions. **Molecules**, v. 18, n. 3, p. 3292–3311, 2013.

MENDES, W. S. *et al.* Processamentos térmicos para suínos em crescimento. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 56, n. 2, p. 207–213, 2004.

MORA, M. *et al.* Improving selenium status in plant nutrition and quality. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 15, n. 2, p. 486–503, 2015.

NAKAMARU, Y. M.; SEKINE, K. Sorption behavior of selenium and antimony in soils as a function of phosphate ion concentration. **Soil Science and Plant Nutrition**, v. 54, n. 3, p. 332–341, 2008.

NESTEL, P. *et al.* Biofortification of staple food crops. **Journal of Nutrition**, v. 136, n. 4, p. 1064–1067, 2006.

NOGUEIRA, T. A. R. *et al.* Background concentrations and quality reference values for some potentially toxic elements in soils of São Paulo State, Brazil. **Journal of Environmental Management**, v. 221, p. 10–19, 2018.

ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD (OMS). **Documento final de la Segunda conferencia internacional sobre nutrición: Declaración de Roma sobre la nutrición**. Roma: OMS; 2014.

PEDRERO, Z.; MADRID, Y. Novel approaches for selenium speciation in foodstuffs and biological specimens: A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 634, n. 2, p. 135–152, 2009.

PEZZAROSSA, B. *et al.* Effects of Se-enrichment on yield, fruit composition and ripening of tomato (*Solanum lycopersicum*) plants grown in hydroponics. **Scientia Horticulturae**, v. 165, p. 106–110, 2014.

QIN, H. *et al.* The bioavailability of selenium and risk assessment for human selenium poisoning in high-Se areas, China. **Environment International**, v. 52, p. 66–74, 2013.

RAMOS, S. J. *et al.* Selenium accumulation in lettuce germplasm. **Planta**, v. 233, n. 4, p. 649–660, 2011a.

RAMOS, S. J. *et al.* Selenate and selenite on yield, mineral nutrition and biofortification with selenium in lettuce cultivars. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 35, n. 4, p. 1347–1355, 2011b.

RAYMAN, M. P. The argument for increasing selenium intake. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 61, n. 02, p. 203–215, 2002.

- REEVES, M. A.; HOFFMANN, P. R. The human selenoproteome: Recent insights into functions and regulation. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 66, n. 15, p. 2457–2478, 2009.
- RENKEMA, H. *et al.* The effect of transpiration on selenium uptake and mobility in durum wheat and spring canola. **Plant Soil**, v. 354, p. 239–250, 2012.
- ROVIRA, M. *et al.* Sorption of selenium (IV) and selenium (VI) onto natural iron oxides: Goethite and hematite. **Journal of Hazardous Materials**, v. 150, n. 2, p. 279–284, 2008.
- SAATH, K. C. DE O.; FACHINELLO, A. L. Crescimento da demanda mundial de alimentos e restrições do fator terra no Brasil. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, v. 56, n. 2, p. 195–212, 2018.
- SAWAYA, A. L. Desnutrição: consequências em longo prazo e efeitos da recuperação nutricional. **Estudos avançados**, v. 20, n. 58, p. 147–158, 2006.
- SEDIYAMA, T. **Tecnologias de produção e usos da soja**. Londrina: Macenas, 2009.
- SEIXAS, T. G.; KEHRIG, H. DO A. O selênio no meio ambiente. **Oecologia Brasiliensis**, v. 11, n. 2, p. 264–276, 2007.
- SHARMA, V. K. *et al.* Biogeochemistry of selenium. A review. **Environmental Chemistry Letters**, v. 13, n. 1, p. 49–58, 2014.
- SHIBATA, Y.; MORITA, M.; FUWA, K. Selenium and arsenic in biology: their chemical forms and biological functions. **Advances in Biophysics**, v. 28, p. 31–80, 1992.
- SKOCZYLAS, L. *et al.* Biofortification of carrot (*Daucus carota* L.) with iodine and selenium in a field experiment. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, p. 1–17, 2016.
- SNYDER, M. M. V; UM, W. Adsorption mechanisms and transport behavior between selenate and selenite on different sorbents. **International Journal of Waste**, v. 4, n. 2, 2014.
- SORS, T. G.; ELLIS, D. R.; SALT, D. E. Selenium uptake, translocation, assimilation and metabolic fate in plants. **Photosynthesis Research**, v. 86, n. 3, p. 373–389, 2005.
- SOUZA, L. C. D. *et al.* Produtividade de quatro cultivares de soja em função da aplicação de fertilizante mineral foliar a base de cálcio e boro. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 8, n. 2, p. 37–44, 2008.
- STRATTON, M. S. *et al.* Selenium and prevention of prostate cancer in high-risk men: The negative biopsy study. **Anti-Cancer Drugs**, v. 14, n. 8, p. 589–594, 2003.
- STROUD, J. L. *et al.* Impact of sulphur fertilisation on crop response to selenium fertilisation. **Plant Soil**, v. 332, p. 31–40, 2010.
- TERRY, N. *et al.* Rates of Selenium volatilization among crop species. **Journal of Environmental Quality**, v. 21, p. 341–344, 1992.

TVEITNES, S.; SINGH, B. R.; Selenium concentration in spring wheat as influenced by basal application and top dressing of selenium-enriched fertilizers. **Fertilizer Research**, v. 45, p. 163–167, 1996.

USDA. US Department of Agriculture. Oilseeds: **World markets and trade**. Foreign Agricultural Service, 2019. Disponível em: <https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/oilseeds.pdf>. Acesso em 18/02/2019.

WHITE, P. J. *et al.* Interactions between selenium and sulphur nutrition in *Arabidopsis thaliana*. **Journal of Experimental Botany**, v. 55, n. 404, p. 1927–1937, 2004.

WHITE, P. J. Selenium accumulation by plants. **Annals of Botany**, v. 117, n. 1, p. 217–235, 2016.

YANG, F. *et al.* Effect of the application of selenium on selenium content of soybean and its products. **Biological Trace Element Research**, v. 93, n. 1–3, p. 249–256, 2003.

YASSEN, A. A.; SAFIA, M. A.; SAHAR, M. Z. Impact of nitrogen fertilizer and foliar spray of selenium on growth, yield and chemical constituents of potato plants. **Australian Journal of Basic and Applied Sciences**, v. 5, n. 11, p. 1296–1303, 2011.

ZHANG, M. *et al.* Selenium uptake, dynamic changes in selenium content and its influence on photosynthesis and chlorophyll fluorescence in rice (*Oryza sativa* L.). **Environmental and Experimental Botany**, v. 107, 2014.

SEGUNDA PARTE – ARTIGO

Selenium biofortification of soybean in oxidic soil:
genetic and agronomic approaches

(Manuscrito a ser submetido para a revista Plant and Soil – Versão preliminar*)

Maila Adriely Silva^a, Gustavo Ferreira de Sousa^a, Ana Paula Branco Corguinha^a, Ivan Célio Andrade Ribeiro^a, Josimar Henrique de Lima Lessa^a, Paulo Henrique Soares^b, Guilherme Lopes^a, Luiz Roberto Guimarães Guilherme^a

^aDepartamento de Ciência do Solo, Universidade Federal de Lavras, Lavras, Minas Gerais, 37200-000, Brazil

^bCentro Universitário de Patos de Minas, Patos de Minas, Minas Gerais, 38700-000, Brazil

*Manuscrito conforme as normas da revista Plant and Soil

Abstract

Aims: This work evaluated combined strategies (genetic and agronomic) for enriching soybean grains with Se in tropical agroecosystems.

Methods: The experiment was conducted in a completely randomized block design with 4 replicate, using two sources of phosphorus fertilizer coated with Se (conventional monoammonium phosphate - C-MAP - and enhanced-efficiency monoammonium phosphate - E-MAP), two soybean genotypes (cv. 58I60RSF Lança and cv. M5917 IPRO) and three Se rates (0, 0.1, and 0.2 mg of Se dm⁻³). Plant height, node number, branch number, pod number, stem, leaves and pod dry matter, macronutrients, micronutrients, selenium and yield analyses were performed.

Results: Se contents and the amount of Se accumulated in soybean grains increased upon increasing the applied Se rates. Grain yield was significantly different among the varieties and Se rates. The Se rate of 0.2 mg dm⁻³ caused a reduction in the grain yield compared with the rate of 0.1 mg dm⁻³.

Conclusions: Our findings showed that coating phosphate fertilizer with Se is an efficient agronomic strategy for biofortification of soybean grains with Se in oxidic soils. In addition, the Se rate of 0.1 mg dm⁻³ was the most indicated one, as it promoted the biofortification of grains with Se without compromising soybean yield.

Keywords: sodium selenate, phosphorus, enriched-efficiency fertilizers, food security.

Introduction

Selenium (Se) is an essential micronutrient for humans and animals (Li et al. 2008). This element is a constituent of 25 selenoproteins and has an important role in hormonal metabolism and antioxidant systems, preventing cardiovascular diseases (Almondes et al. 2010; Fairweather-Tait et al. 2011). Selenoproteins are also capable to reduce DNA damages and oxidative stresses, as well as able to be incorporated into tumor-suppressor proteins (Almondes et al. 2010). Selenium deficiency in humans affects one out of each seven people (Fordyce 2014), which speaks for the need of enhancing its intake by humans. To achieve this, different strategies have been used, as the consumption of natural high-Se content food (e.g. Brazilian nuts) (Silva Junior et al. 2017), as well as thru diet supplementation with Se-enriched vitamins and biofortified food (Liu et al. 2004; Lyons et al. 2005).

Biofortification is the strategy used to enhance minerals and vitamins contents in agricultural crops, providing enriched food to the population (Cakmak 2008; Ávila et al. 2014) and can be reached through agronomic and/or genetic approaches. Genetic biofortification comprises the selection of varieties with a greater potential to uptake the nutrient from the soil (Stroud et al. 2010) or the use of plant breeding strategies (Graham et al. 2007). On the other hand, agronomic biofortification is based on soil management strategies, as soil fertilization, which will provide extra available nutrients to be uptaken by plants (Hawkesford and Zhao 2007).

Despite of its essentiality for humans, Se is not essential to the plants, i.e., Se is not considered a plant nutrient. Nevertheless, it can be assumed as a beneficial element, since it can improve plant growth when supplied in low amounts (Boldrin et al. 2012). Furthermore, Se controls the production and elimination of reactive oxygen species (ROS), through direct control, when the molecules contain Se in their structure, or indirectly, controlling antioxidants (Feng et al. 2013). Lastly, Se can replace sulfur in sulfured aminoacids, creating selenoproteins, as albumin, globulin, and prolamin (Dhanjal et al. 2016).

Among the species used for biofortification purposes, soybean has a great potential, because: i) is a protein-rich food source (Mebrahtu et al. 2004; Alezandro et al. 2011); ii) is largely used for animal feed (Yoshida et al. 2003); iii) is applied in cardiovascular diseases therapy, as well as a therapy of some human cancers (Wu et al. 2008; Ahn-jarvis et al. 2015). Earlier studies have shown that it is possible to increase Se and protein contents in soybean grains by agronomic biofortification, through soil or foliar application of Se (Yang et al. 2003).

Soil fertilization with Se associated to phosphate fertilizers is a good alternative for supplying plants with Se, as it avoids additional labor during the crop cultivation process (e. g. foliar sprays), besides increasing Se availability, especially in oxidic soils, since a high P content adjacent to fertilizer granule may decrease selenium adsorption to soil colloids (Lessa et al. 2016). Moreover, under these circumstances, Se application can be even more efficient if associated to enhanced-efficiency phosphate fertilizers, due to the presence of anionic polymers and humic acids on their composition. Anionic polymers have affinity for cations (Chagas et al. 2016), being able to complex iron and aluminum, that may react with Se anions and are largely present in tropical soils. Furthermore, humic acids have carboxylic radicals, which compete with anions for adsorption sites (Yan et al. 2016), thus allowing for an increased Se availability in solution.

Therefore, the present study aims to assess combined biofortification strategies (genetic and agronomic approaches) to enrich soybean grains with Se in tropical agroecosystems. Also, this study aimed to compare the efficiency of a Se-enriched conventional phosphate fertilizer with a Se-enriched enhanced-efficiency phosphate fertilizer to provide this element to soybean plants.

Material and Methods

Soil characterization and experimental design

The experiment was conducted under greenhouse conditions, in the Soil Science Department at Federal University of Lavras, Lavras – MG, Brazil, from November, 2018 to February, 2019. Soil material from a dystrophic Red Latosol was collected from the 0 – 20 – cm depth, dried, sieved to <4 mm, homogenized, and conditioned in 5 dm⁻³ pots. In order to increase base saturation to 60%, a mixture of calcium and magnesium carbonates (p.a.) at a ratio of 4:1 (Ca:Mg) was applied in all plots, followed by a period of 90 days of incubation. After this period, a soil sample was collected and its chemical and physical properties were determined (Table 1).

Table 1. Soil chemical and physical properties.

pH	Ca	Mg	K	P res ¹	P ²	S	Al	H + Al	Clay
(H ₂ O)	cmol _c dm ⁻³			----- mg dm ⁻³ -----		cmol _c dm ⁻³			%
5.0	4.64	1.79	86.61	12.31	2.57	10.76	0.08	5.40	62
CEC ³	V ⁴	OM ⁵	Zn		Fe	Mn	Cu	B	Se
cmol _c dm ⁻³	%	g kg ⁻¹	-----mg dm ⁻³ -----						
12.05	55.20	47.6	1.22		155.34	15.92	1.31	0.36	0.85

¹P res: P extracted by anion exchange; P extracted by Mehlich 1; ³CEC: cation exchange capacity at pH 7.0; ⁴V: % base saturation from CEC; ⁵OM: soil organic matter. Ca, Mg, and Al extracted by KCl 1 mol L⁻¹; H + Al estimated by SMP; K, Fe, Zn, Mn, and Cu extracted by Mehlich-1; B extracted by hot water; MO determined by oxidation with potassium dichromate.

The experiment was conducted in completely randomized block design with 4 replicates, using two sources of phosphorus fertilizer coated with Se (conventional monoammonium phosphate - C-MAP - and enhanced-efficiency monoammonium phosphate - E-MAP), two soybean genotypes (cv. 58I60RSF Lança and cv. M5917 IPRO) and three Se rates (0, 0.1, and 0.2 mg of Se dm⁻³). The fertilizers were coated with a sodium selenate (Na₂SeO₄) solution prepared according to each rate after the granulation (Table 2). Selected fertilizer aliquots previously coated with Se were separated to determine the Se location in the fertilizer granule via scanning electron microscopy (SEM) and energy-dispersive X-ray spectroscopy (EDX), according the methodology described by Cancellier et al. (2016).

Table 2. Description of treatments used in the experiment.

Phosphorus source	Variety	Rate of Se (mg dm ⁻³)	Se in fertilizer (mg kg ⁻¹) ²
Conventional MAP (C-MAP)	58I60 Lança	0	7.5
		0.1	142.8
		0.2	303.0
	M5917	0	7.5
		0.1	142.8
		0.2	303.1
Enhanced- efficiency MAP (E-MAP) ¹	58I60 Lança	0	5.5
		0.1	100.7
		0.1	197.4
	M5917	0	5.5
		0.1	100.7
		0.2	197.4

¹ Fertilizer coated with humic and fulvic acids and anionic compounds

² Se concentration analyzed in fertilizers used

A standard fertilizer application was applied to the soil, i.e., 300 mg dm⁻³ of N, 200 mg dm⁻³ of P, 150 mg dm⁻³ of K, 50 mg dm⁻³ of S, 0.5 mg dm⁻³ of B, 1.5 mg dm⁻³ of Cu, 5 mg dm⁻³ of Fe, and 5 mg dm⁻³ of Zn, following the recommendation proposed by Malavolta (1980) for fertilization in pots. Also, soybean seeds were treated with 1 g kg⁻¹ of Co and 0.08 g kg⁻¹ of Mo. Five soybean seeds were sown per pot and, 15 days after germination, thinning was made to maintain two plants per pot.

Soil solution extraction and analysis

Soil solution was extracted using Rhizon soil moisture samplers (Rhizon SMS MOM-type Rhizons; Eijkelkamp Agrisearch Equipment, Giesbeek, The Netherlands) inserted from each pot following 7, 14, 28, and 56 days after seeding, with the help of a sterile syringe. One day before each collection, the soil was brought up to 80% field capacity. Each solution was analyzed for Se by Inductively Coupled Plasma - Optical Emission Spectroscopy (ICP-OES).

Plant and soil sample preparation and chemical analysis

Plant height, nodes number, and branch number analysis were performed during the R8 stage of soybean plants. At full maturity, the plants were harvested and separated in stem, leaves, pod, and grains. Evaluation of pod numbers, dry matter of separated plant parts (i.e., stem, leaves, and pods), yield of grains and weight of a thousand grains.

Plant parts were oven-dried at 65°C, ground to <0.38 mm using stainless steel mill, and prepared for microwave digestion using a CEM® Mars-5 microwave system (CEM Corp, Matthews, NC), according to the 3051A Method of USEPA (USEPA 2007). A sample of 0.5 g was mixture with 5 mL of nitric acid (HNO₃) in Teflon® PTFE vessels and digested for 10 minutes in the microwave (5.5 min to reach 175°C and 0.76 MPa and 4.5 min kept in that temperature and pressure) and cooled down for 5 min. The microwaved solution was cooled down at room temperature in a fume hood and then the volume was completed to 40 mL with bidistilled water.

Selenium concentrations in the digested solution were determined by Graphite-Furnace Atomic Absorption Spectrometry (GFAAS), while the contents of P, K, Ca, Mg, S, Fe, Mn, Cu and Zn were quantified by Inductively Coupled Plasma - Optical Emission Spectroscopy (ICP-OES). Nitrogen quantification was performed by the method of Kjeldahl described by Bremner (1965). Protein contents in the grains were estimated by multiplying the values found for N

times a factor of 6.25 (Mariotti et al 2008). Selenium accumulation of each plant part ($\mu\text{g plant}^{-1}$) (leaves, stem, pod, and grain) was calculated multiplying Se content in each part (mg kg^{-1}) by its weight in each plant (kg plant^{-1}).

Soil samples (<2 mm) were dried, homogenized and grinded with a mortar and agate pestle, being passed through a 100-mesh nylon sieve. A sample of 0.5 g of soil was combined with 5 mL of an *aqua regia* solution (a mixture compound of HNO_3 65% and HCl 37% – 1:3 v/v) for microwave digestion, as previously described. The solution was then cooled down at room temperature and the volume completed to 40 mL with bidistilled water. The Se concentrations in the digested solution were determined by Graphite-Furnace Atomic Absorption Spectrometry (GFAAS).

In every soil and plant batch digestion, blank and standard reference samples were analyzed to evaluate the quality control and accuracy/precision of the tested analytical procedures. The used standard reference material for Se concentration in plants was BCR® 402 White Clover, from the Institute for Reference Materials and Measurements (Geel, Belgium) and the mean recovery of Se in this certified reference material was 78% (Se content in BCR 402 = 6.7 mg kg^{-1}). The reference material used for soil Se concentration was SRM 2709a San Joaquin Soil, from the National Institute of Standards & Technology (Gaithersburg, MD, USA), which contains $1.5 \text{ mg of Se kg}^{-1}$. The mean recovery of Se in this material was 113%. The method detection limit for Se analyses by GFAAS (after microwave-assisted acid digestion) was 0.252 mg kg^{-1} of Se.

Statistical analysis

Statistical analyses were performed using the R software (R-2.13.1 version). The data were submitted to analysis of variance (F test) and the Tukey test to investigate statistically significant differences at $p < 0.05$. The data normality was tested using Shapiro-Wilk test.

Results

Fertilizers

The SEM images show the granules of C-MAP (Figure 1A) and the organic compounds presents in the E-MAP fertilizers (Figure 1B). The EDX images revealed that Se was

homogeneously distributed in the fertilizer granules, being equally incorporated in the external and internal areas of the C-MAP fertilizer granule (Figures 1C and 1D).

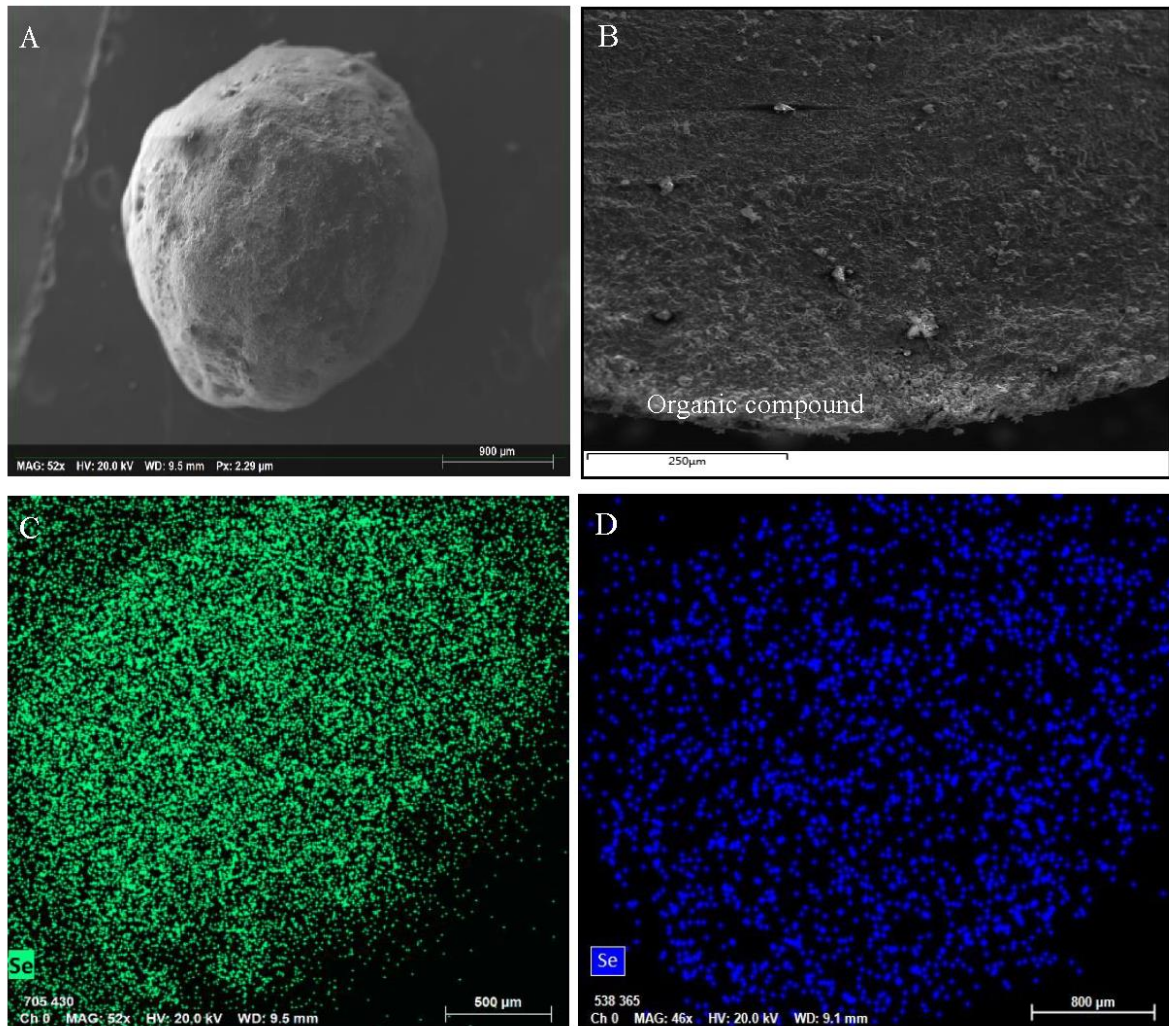


Figure 1. Scanning electron microscopy (SEM) in granules of C-MAP (A) and E-MAP (B). SEM with energy-dispersive X-ray spectroscopy (EDX) images in the external (C) and internal (D) part of C-MAP granule. Fertilizer C and D with 142.8 mg kg^{-1} of Se.

Soils

Selenium availability in the soil solution has been reduced over time, for both cultivars, and the rate of $0.2 \text{ mg Se dm}^{-3}$ showed greater availability of this element in the solution. Comparing the fertilizers, there was significant difference between the treatments to provide more Se to the soil solution at 7, 14 and 28 days after fertilizer application (Figure 2). After 56 days, there was not significant difference between sources.

Total mean soil Se contents were 0.45 , 0.60 , and 0.68 mg dm^{-3} for the doses of 0 , 0.1 , and $0.2 \text{ mg Se dm}^{-3}$, respectively, and this value was higher when pots were treated with E-

MAP, which showed an average value (0.63 mg dm^{-3}) 17% higher than the average of C-MAP (0.52 mg dm^{-3}) (Figure 3).

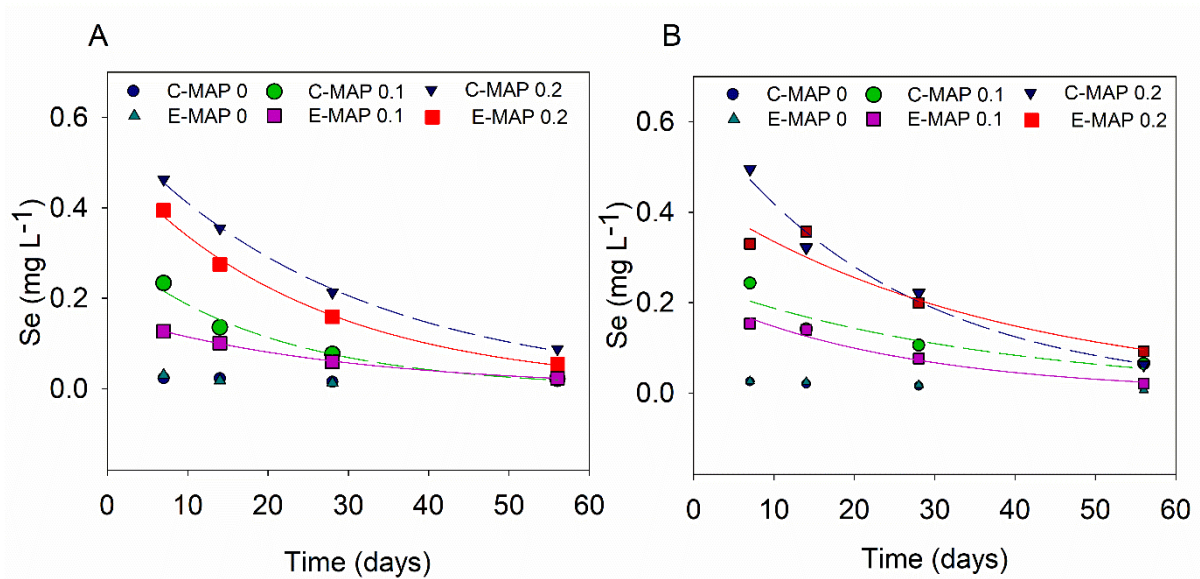


Figure 2. Selenium contents in the soil solution along the soybean crop cycle of cv. Lança (A) e cv. M5917 (B). C-MAP: conventional monoammonium phosphate; E-MAP: enhanced-efficiency monoammonium phosphate.

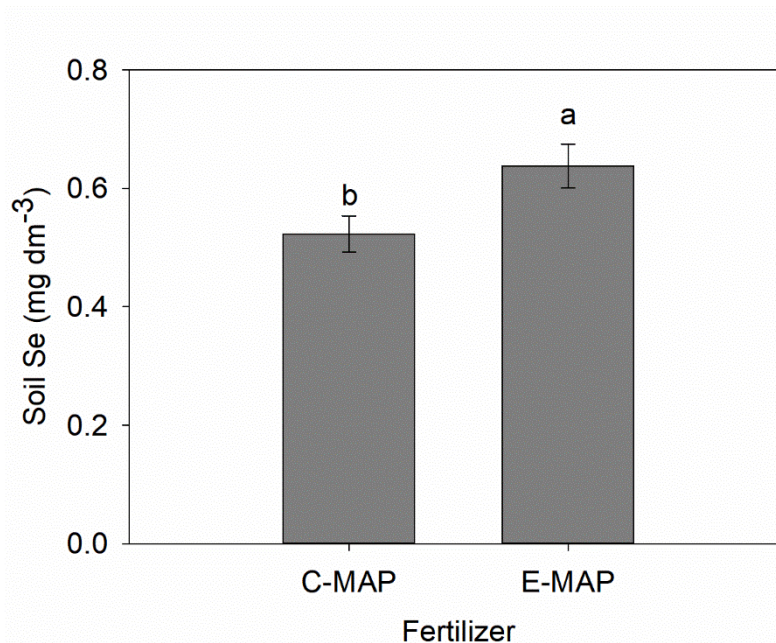


Figure 3. Total soil Se contents 110 days after seeding. C-MAP: conventional monoammonium phosphate; E-MAP: enhanced-efficiency monoammonium phosphate.

Soybean plants

Plant height, stem dry matter, leaves dry matter, pod dry matter, and weight of a thousand grains did not vary with the application of different fertilizers, as well as with different

Se rates (test $F - p < 0.05$). Comparing the cultivars, cv. M5917 presented higher values for these variables than cv. Lança, except for weight of a thousand grains. The branch number presented a significant difference for the interaction between phosphorus sources and Se rates and evaluation of nodes and pod number did not present a significant difference for the analyzed factors alone or considering the interaction between the factors.

Grain yield was significantly different among the genotypes and Se rates (Figure 4A), with the cv. M5917 showing higher yields than cv. Lança. The samples treated with 0.2 mg Se dm^{-3} presented 5.5% of reduction in yield ($19.7 \text{ g plant}^{-1}$) compared with the rate of 0.1 Se dm^{-3} ($20.9 \text{ g plant}^{-1}$), yet they did not differ from the control treatment. The branch number was highest in the cv. Lança when using 0.1 mg Se dm^{-3} , while there was no variation in cv. M5917 (Figure 4B).

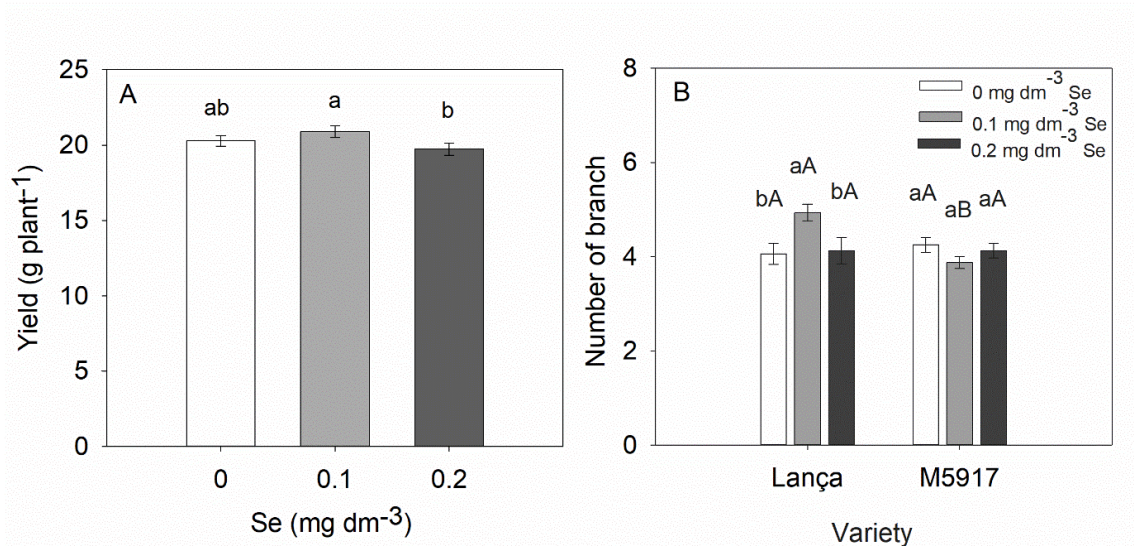


Figure 4. Grain yield (A) and number of branch (B) of soybean plants after application of phosphate fertilizer with and without Se application. Means followed by the same letters are not significantly different ($p > 0.05$, Tukey pairwise comparisons). Capital letters compare varieties and lowercase letters compare rates of Se.

Selenium contents and accumulation in the grains were higher when applying the rate of 0.2 mg Se dm^{-3} for both fertilizer sources, being 28- and 20-times higher than grain Se content and grain Se accumulation found in the control, for C-MAP and E-MAP, respectively (Figure 5). The treatments with Se-enriched C-MAP showed higher mean grain Se content (7.9 mg kg^{-1}) as well as higher mean grain Se accumulation ($158 \text{ } \mu\text{g planta}^{-1}$) than Se-enriched E-MAP (mean grain Se content: 7.3 mg kg^{-1} ; mean grain Se accumulation: $143 \text{ } \mu\text{g planta}^{-1}$). The dose of 0.1 mg Se dm^{-3} did not decrease soybean yields and provided an increase of up to 93.2% of grain Se accumulation compared with the control.

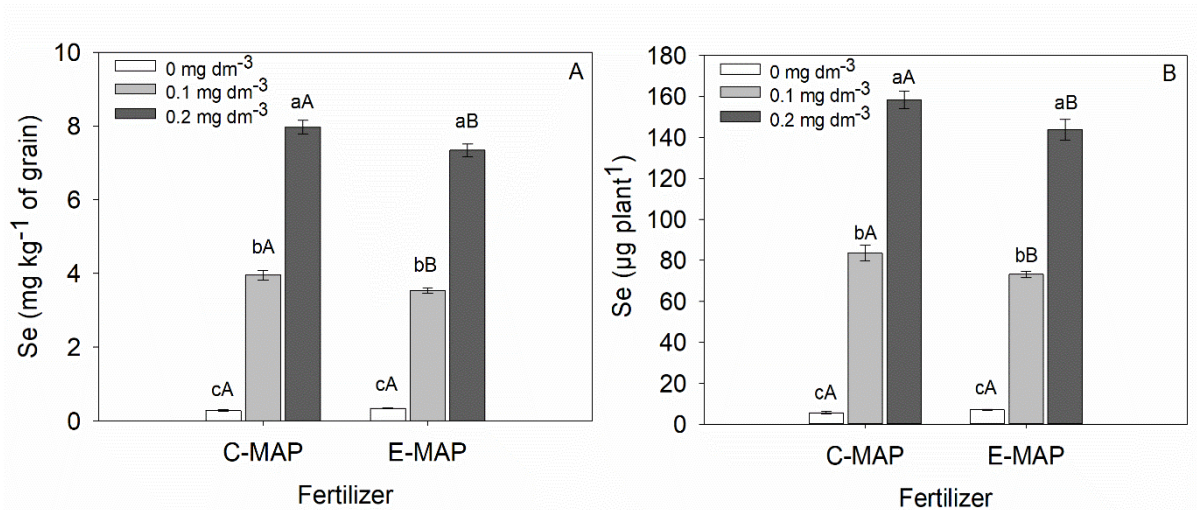


Figure 5. Grain Se contents (mg kg⁻¹) (A) and grain Se accumulation (µg plant⁻¹) (B) of soybeans treated Se-enriched and non-enriched C-MAP and E-MAP. Means followed by the same letters are not significantly different ($p > 0.05$, Tukey pairwise comparisons). Capital letters compare fertilizers sources and lowercase letters compare rates of Se.

The distribution of Se-accumulated in soybeans plants parts (leaves, stalk, pods, and grains) and their percent accumulation are shown in figure 6. In general, greater Se accumulation and Se accumulation percentage were observed in the grains. In the absence of Se, accumulation was similar, except for cv. M5917 receiving C-MAP, which accumulated more Se in the pods.

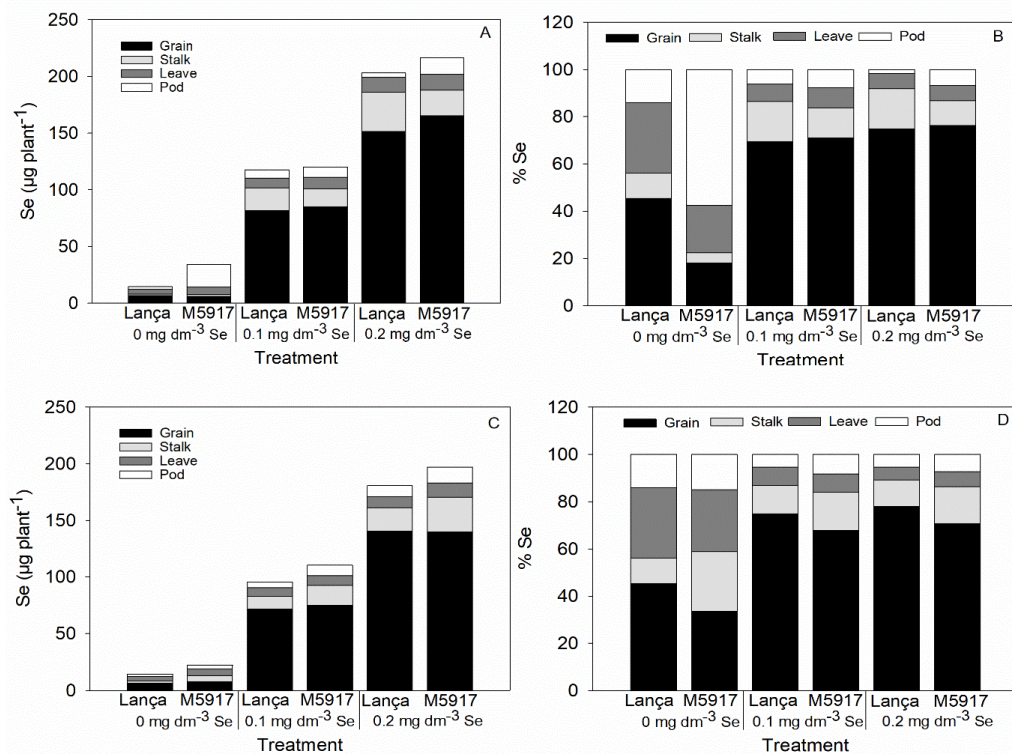


Figure 6. Selenium accumulation and Se percentage for different soybean plant organs treated with C-MAP (A and B) and E-MAP (C and D).

With respect to the accumulation of plant nutrients, the rate of $0.2 \text{ mg Se dm}^{-3}$ resulted in lower Ca, Mg, P, and S accumulation in cv. Lança, while nutrient accumulation in cv. M5917 did not vary significantly with Se application (Figure 7). Nitrogen accumulation was higher in $0.1 \text{ mg Se dm}^{-3}$ than in 0.2 mg dm^{-3} . Protein percentage did not vary among fertilizer sources when Se was applied at the rate of $0.1 \text{ mg Se dm}^{-3}$. Potassium, Fe, Mn, Cu, and Zn accumulation did not show significant differences between treatments (data no shown, since there were no significant differences).

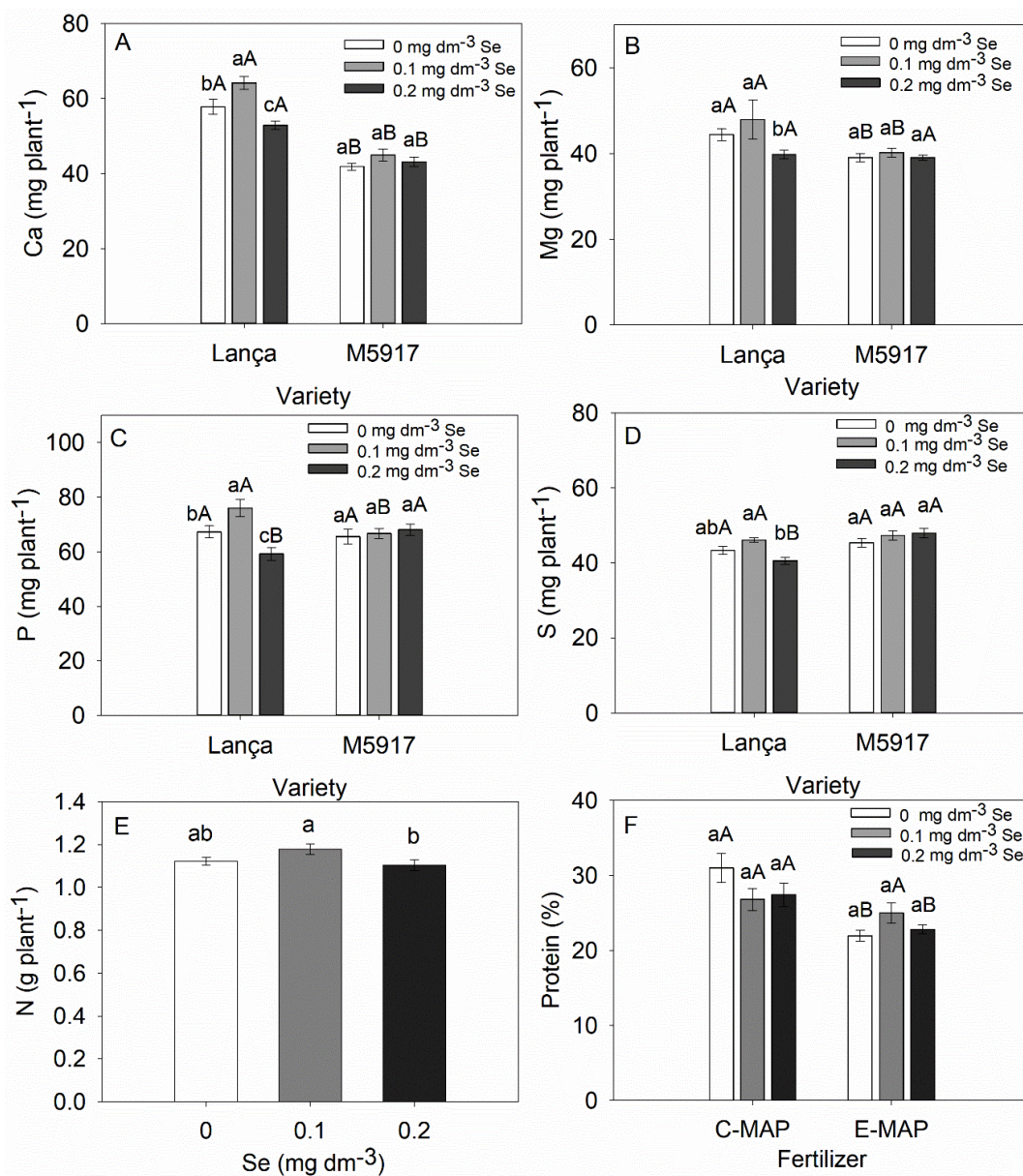


Figure 7. Calcium, magnesium, phosphorus, sulfur, and nitrogen accumulation and protein percentage in soybean grains treated with different Se rates and different fertilizer sources. Means followed by the same letters are not significantly different ($p > 0.05$), Tukey pairwise comparisons). Capital letters compare varieties/fertilizers sources and lowercase letters compare rates of Se.

Discussion

The application of Se for biofortification purposes may be costly, since besides the price of the element itself, there might be extra costs associated with additional operation for application (e.g. foliar sprays). An alternative strategy is thus to associate Se applications with soil application of NPK fertilizers that are commonly used in cropping systems. This is especially relevant if a fertilizer carrying a macronutrient like P could lead to a decrease in the interaction of Se with soil colloids, thus making this last element much more available for plant absorption. In fact, Lessa et al (2016) have shown greater Se availability in soils under cultivation, i.e., where there is greater anionic competition, especially of sulfate and phosphate with Se for adsorption sites. In another study, the association of nitrogen fertilizers and Se was effective for biofortification in rice (Premarathna et al. 2012) and *Brachiaria* plants (Faria et al. 2018). This effect may be attributed to a pH increase caused by urea dissolution, which decreases anionic adsorption, thus increasing Se availability after soil application.

Besides the chemical reactions that may occur between plant nutrients contained in the fertilizer granules and soil colloids, which affect Se availability from the fertilizer, physical properties of the granule (e.g., porosity) are also relevant for the strategy of incorporating Se in NPK fertilizers. Porous granules, which seems to be the case of this study, allow the entrance of Se to the internal part of the granule, even when the element is applied in the granule surface (i.e., after fertilizer granulation) (Figure 1). This distribution provides better homogeneity of the Se treatment, reducing losses and providing better Se availability to the plants (Lateef et al. 2016).

Selenium availability in the soil solution decreased over time (Figure 2), which is in accordance with data found by Nakamaru et al. (2005). According to these authors, the availability of Se in the soil solution can be reduced because of its uptake by plants, as well as, its sorption on soil colloids. In fact, the reduction on rhizosphere pH caused by H⁺ release by roots due to the absorption of cations, can favor Se adsorption, thus decreasing its level in soil solution (Gahoonia and Nielsen 1992).

Decreases of soil solution Se were smaller for E-MAP treated soil, because enhanced-efficiency phosphate fertilizers present humic and fulvic substances and anionic polymers in their composition. The adsorption of humic acids to the soil may create an electrostatic repulsive force (Urrutia et al. 2014; Yan et al. 2016) and the carboxylic groups from such compounds may compete with anions for adsorption sites when added to the soils, which can minimize Se adsorption to soil colloids. In addition, anionic polymers have greater affinity for

cations, reducing precipitation effects (Chagas et al. 2016). In reality, the higher total Se level in the soil when E-MAP was applied (Figure 3) can be related with its composition, once it is coated with organic polymers that compete with other anions and retard the release of element in soils. Thus, at the end of growth cycle, the Se content was biggest. However, further research (e.g., with different soils) is needed to confirm if Se-enriched E-MAP is more efficient to increase the Se availability to the plants, since the analyzed Se is not only the available Se in the soil.

Positive and negative effects of Se are observed in plants. When in low amounts, Se may favor plant development and yields, since it increases antioxidant activities. Furthermore, the presence of Se can reduce stresses caused by drought (Hasanuzzaman and Fujita 2011; Andrade et al. 2018), metal contamination (Pandey and Gupta 2015), and desiccation (Pukacka et al. 2011). In fava beans (*Vicia faba*), the application of 1.5 μM of Se reduced the stress caused by lead (Mroczek-zdyrska and Wojcik 2012). High concentration of Se causes oxidation stresses, reducing glutathione levels and increasing oxygen reactive species (Hugouvieux et al. 2009). These effects can damage plant growth and development and reduce yields (Lyons et al. 2005).

Agronomic characteristics of soybean plants, as plant height, weight of a hundred grains, insertion of the first pod, number of pods and yields can be altered depending on Se application form and rates (Rezende et al. 2011). These authors observed in a field experiment that Se application via foliar sprays decreased 18% of plant height compared to soil application and this variable decreased upon increasing Se rates. In our study, plant height did not change with different Se rates.

Different genotypes present different agronomic characteristics, which influences grain yields. Comparing the results found by Martinez et al. (2009) and Rezende et al. (2011), it is possible to observe different grain yields with different genotypes, when submitting the plants to the same environmental conditions. Concerning Se rates, Rezende et al. (2011) did not observe variation for grain yield with different doses (0 to 2 kg Se ha⁻¹), while in the soil oxidic in the present study the dose of 0.2 mg Se dm⁻³ showed lower grain yield compared to 0.1 mg dm⁻³. In fact, the dose of 0.1 mg Se dm⁻³ did not decrease soybean yields and provided an increase of up to 93.2% of grain Se accumulation comparing to the control.

A successful case of application of fertilizers containing Se is observed in Finland, where positive effects to improve Se content in staple crops and, consequently, in human diets have been observed since the establishment of a national policy by the Ministry of Agriculture and Forest (Lopes et al. 2017). Since most Brazilians soils present low Se levels (0.01 to 0.2

mg kg⁻¹) (Lopes et al. 2017; Carvalho et al. 2019), soil application of Se tends to increase Se contents in staple crops and in their edible parts. In the present study, we observed lower Se contents in soils (Table 1, Figure 2), soil solution (Figure 3), and soybean grains (Figure 5) in treatments that did not receive Se comparing with the Se treatments. Havarajah et al. (2008) also observed low levels of Se in soils from Canada and in lentils grains (*Lens culinaris*) grown under this soil condition. Soil Se application was efficient to increase Se contents in soybean grains and this efficiency was also observed in rice grains by Boldrin et al. (2013), who applied Se also via soil fertilization practices. Even with higher Se contents in the soil (Figure 2), Se grain contents and Se accumulation from soybeans treated with Se-enriched E-MAP were lower than those treated with Se-enriched C-MAP (Figure 5), which can be related to the Se contents in the soil solution (Figure 3).

Several studies have reported an efficient uptake and distribution of Se inside plant organs (Ramos et al., 2011b; Boldrin et al., 2018). In our study, most of the Se accumulation was observed in grains, which is key for biofortification. Nutrients uptake, translocation, and accumulation are regulated by genetic characteristics (Bóna et al. 2009), which explains the observed differences of Se accumulation among varieties. Regarding nutrients accumulation, Ramos et al. (2011a) have shown Ca and Mg improvement in lettuce, with increasing Se rates, while Hawrylak-Nowak et al. (2015) did not observed differences in Mg accumulation in maize and Ca accumulation in *Brassica oleracea* with the addition of Se. Our results shown greater Ca and Mg accumulation with the rate of 0.1 mg dm⁻³.

Selenium uptake and translocation is associated to S uptake and translocation, as Se uses the same transporters and is processed by S routes (Breton and Surdin-kerjan 1977; Shibagaki et al. 2002; Sors et al. 2005). There is a competition between these nutrients because of similarities with respect to their chemical properties, which depends on affinity, presence of specific transporters presents on plasm membrane of roots, and element concentration in soil solution (Sors et al. 2005; Li et al. 2008; Ramos et al. 2011a).

Selenium soil application influenced absorption and accumulation of S in grains, yet there were different responses among varieties. The rate of 0.1 mg Se dm⁻³ in cv. Lança provided greater accumulation of S, while no difference among Se rates occurred for cv. M5917 (Figure 7D). Selected studies have shown antagonistic effects on S absorption with Se application (Ferrari and Renosto 1972; Liiuchli 1993), whereas others found synergistic effects between Se and S (Kopsell et al. 2000; White et al. 2004; Ramos et al. 2011a). This effect was dependent of the soybean cultivar in the present study, similarly to the results found by Ramos

et al. (2011b), which observed different expression of transporters genes on *Lactuca sativa* varieties.

In view of our results, it is possible to conclude that soybean is a species that has potential for Se biofortification, as good grain Se levels were obtained without reducing crop yield. In addition, the application of Se via soil associated with phosphate fertilizers is effective for biofortification of soybean grains, since this element is absorbed by roots and then translocated to grains.

Acknowledgements

The authors are thankful to the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES); Brazilian National Council for Scientific and Technological Development (CNPq); Foundation for Support Research of the State of Minas Gerais (FAPEMIG); and Compass Minerals Company for financial support.

References

- Ahn-jarvis JH, Riedl KM, Schwartz SJ, Vodovotz Y (2015) Design and selection of soy breads used for evaluating isoflavone bioavailability in clinical trials. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 61:3111-20. doi: 10.1021/jf304699k
- Alezandro MR, Granato D, Lajolo FM, Genovese MI (2011) Nutritional aspects of second generation soy foods. *Food Chemistry* 59:5490–5497. doi: 10.1021/jf200061c
- Almondes KGS, Leal GVS, Cozzolino SMF, Philipphi ST, Rondo PH de C (2010) Why your talent-management strategy should link talent to value. *Revista Associação Médica Brasileira* 56:484–488
- Andrade FR, da Silva GN, Guimarães KC, Barreto HBF, Souza KRD, Guilherme LRG, Faquin V, dos Reis AR (2018) Selenium protects rice plants from water deficit stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 164:562-570. doi: 10.1016/j.ecoenv.2018.08.022
- Ávila FW, Yang Y, Faquin V, Ramos SJ, Guilherme LR, Thannhauser TW, Li L (2014) Impact of selenium supply on Se-methylselenocysteine and glucosinolate accumulation in selenium-biofortified Brassica sprouts. *Food Chemistry* 165:578–586. doi: 10.1016/j.foodchem.2014.05.134
- Boldrin PF, Faquin V, Ramos SJ, Guilherme LRG, Bastos CEA, Carvalho GS, Costa ETS (2012) Selenato e selenito na produção e biofortificação agrônômica com selênio em arroz. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 47:831–837. doi: 10.1590/S0100-204X2012000600014
- Boldrin PF, Faquin V, Ramos SJ, Boldrin KVF, Ávila FW, Guilherme LRG (2013) Soil and

- foliar application of selenium in rice biofortification. *Journal Food Composition and Analysis* 31:238–244. doi: 10.1016/j.jfca.2013.06.002
- Boldrin PF, Faquin V, Clemente ADCS, de Andrade T, Guilherme LRG (2018) Genotypic Variation and biofortification with selenium in brazilian wheat cultivars. *Journal of Environmental Quality* 47:1371–1379. doi: 10.2134/jeq2018.01.0045
- Bóna L, Adányi N, Farkas R, Szanics E, Szabo E, Hajos Y, Pecsvaradi E, Acs E (2009) Variation in crop nutrient accumulation: Selenium content of wheat and triticale grains. *Acta Alimentaria* 38:9–15. doi: 10.1556/aalim.2008.0027
- Bremner JM (1965) Total Nitrogen. In Carter MR, Gregorich EG *Methods of soil analysis Part 2- Chemical and Microbiological Properties*. 2nd edn. American Society of Agronomy, USA, pp 1149–1178
- Breton A, Surdin-kerjan Y (1977) Sulfate uptake in *saccharomyces cerevisiae* : biochemical and genetic study. *Journal Bacteriology* 132:224–232
- Cakmak I (2008) Enrichment of cereal grains with zinc : Agronomic or genetic biofortification ? *Plant Soil* 302:1–17. doi: 10.1007/s11104-007-9466-3
- Cancellier EL, Silva DRG, Faquin V, Gonçalves BA, Cancellier LL, Spehar, CR (2016) Ammonia volatilization from enhanced-efficiency urea on no-till maize in brazilian cerrado with improved soil fertility. *Ciência e Agrotecnologia* 40:133–144. doi: 10.1590/1413-70542016402031115
- Carvalho GS, Oliveira JR, Curi N, Schulze DG, Marques JJ (2019) Selenium and mercury in Brazilian Cerrado soils and their relationships with physical and chemical soil characteristics. *Chemosphere* 218:412–415. doi: 10.1016/j.chemosphere.2018.11.099
- Chagas FWT, Guelfi DR, Emrich EB, Silva BE, Faquin V (2016) Agronomic efficiency of polymer-coated triple superphosphate in onion cultivated in contrasting texture soils. 47:439–446. doi: 10.5935/1806-6690.20160053
- Dhanjal NI, Sharma S, Prakash NT (2016) Quantification and in vitro bioaccessibility of selenium from osborne fractions of selenium-rich cereal grains. *Cereal Chemistry* 93:2–6. doi: 10.1094/CCHEM-10-15-0199-R
- Fairweather-Tait SJ, Bao Y, Broadley MR, Collings R, Ford D, Hesketh JE, Hurst R (2011) Selenium in human health and disease. *Antioxid Redox Signal* 14:1337–1383. doi: 10.1089/ars.2010.3275
- Faria LA, Machado MC, Karp FHS, Kamogawa MY, Abdalla Filho AL, Azevedo RA, Abdalla AL (2018) *Brachiaria* enrichment with selenium-coated urea. *Ciência Rural* 48:4–7. doi: 10.1590/0103-8478cr20170630
- Feng R, Wei C, Tu S (2013) The roles of selenium in protecting plants against abiotic stresses. *Environmental Experimental Botany* 87:58–68. doi: 10.1016/j.envexpbot.2012.09.002
- Ferrari G, Renosto F (1972) Regulation of sulfate uptake by excised barley roots in the presence of selenate. *Plant Physiol* 49:114–116. doi: 10.1104/pp.49.2.114
- Fordyce FM (2014) Selenium deficiency and toxicity in the environment. *British Geological Survey* 51:375–416. doi: 10.1007/978-94-007-4375-5_16
- Gahoonia TS, Nielsen N (1992) Control of pH at the soil-root interface. *Plant and Soil*

- 140:49–54. doi:10.1007/BF00012806
- Graham RD, Welch RM, Saunders DA, Monasterio O, Bouis HE, Bonierbale M, Haan S, Burgos G, Thiele G, Liria R, Meisner CA, Beebe SE, Potts MJ, Kadian M, Hobbs PR, Gupta R, Twomlow S (2007) Nutritious subsistence food systems. *Advances Agronomy* 92:1–74. doi: 10.1016/S0065-2113(04)92001-9
- Hasanuzzaman M, Fujita M (2011) Selenium Pretreatment upregulates the antioxidant defense and methylglyoxal detoxification system and confers enhanced tolerance to drought stress in rapeseed seedlings. *Biological Trace Element Research* 143:1758–1776. doi: 10.1007/s12011-011-8998-9
- Havarajah DILT, Uszkowski JAR, Andenberg AL V (2008) High potential for selenium biofortification of lentils (*Lens culinaris* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56:10747–10753. doi: 10.1021/jf802307h
- Hawkesford MJ, Zhao FJ (2007) Strategies for increasing the selenium content of wheat. *J Cereal Science* 46:282–292. doi: 10.1016/j.jcs.2007.02.006
- Hawrylak-Nowak B, Matraszek R, Pogorzelec M (2015) The dual effects of two inorganic selenium forms on the growth, selected physiological parameters and macronutrients accumulation in cucumber plants. *Acta Physiologiae Plantarum* 37:41 doi: 10.1007/s11738-015-1788-9
- Hugouvieux V, Dutilleul C, Jourdain A, Reynaud F, Lopez V, Bourguignon J (2009) Arabidopsis putative selenium-binding protein1 expression is tightly linked to cellular sulfur demand and can reduce sensitivity to stresses requiring. *Plant Physiology* 151:768–781. doi: 10.1104/pp.109.144808
- Lateef A (2016) Synthesis and characterization of zeolite based nano-composite: An environment friendly slow release fertilizer. *Microporous and Mesoporous Materials* 232:174-183. doi: 10.1016/j.micromeso.2016.06.020
- Lessa JHL, Araújo AM, Silva GNT, Guilherme LRG, Lopes G (2016) Adsorption-desorption reactions of selenium (VI) in tropical cultivated and uncultivated soils under Cerrado biome. *Chemosphere* 164:271-277
- Li HF, McGrath SP, Zhao FJ (2008) Selenium uptake, translocation and speciation in wheat supplied with selenate or selenite. *New Phytologist* 178:92–102. doi: 10.1111/j.1469-8137.2007.02343.x
- Liiuchli A (1993) Selenium in plants : Uptake , functions , and environmental toxicity. *Botanica Acta* 106:455–468. doi: 10.1111/j.1438-8677.1993.tb00774.x
- Liu Q, Wang DJ, Jiang XJ, Cao ZH (2004) Effects of the interactions between selenium and phosphorus on the growth and selenium accumulation in rice (*Oryza sativa*). *Environmental Geochemistry and Health* 26:325–330
- Lopes G, Ávila FW, Guilherme LRG (2017) Selenium behavior in the soil environment and its implication for human health. *Ciência e Agrotecnologia* 41:605–615. doi: 10.1590/1413-70542017416000517
- Lyons G, Ortiz-Monasterio I, Stangoulis J, Graham R (2005) Selenium concentration in wheat grain: Is there sufficient genotypic variation to use in breeding? *Plant Soil* 269:369–380. doi: 10.1007/s11104-004-0909-9

- Mariotti F, Tome D, Mirand PP (2008) Converting nitrogen into protein - Beyond 6.25 and Jones's Factors. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 48:177-184. doi: 10.1080/10408390701279749
- Martinez RAS, de Rezende PM, de Alvarenga AA, Andrade MJB, Passos AMD (2009) Doses e formas de aplicação de selênio na cultura da soja. *Ciência e Agrotecnologia* 33:698–704. doi: 10.1590/S1413-70542009000300006
- Mebrahtu T, Mohamed A, Wang CY, Andebrhan T (2004) Analysis of isoflavone contents in vegetable soybeans. *Plant Foods for Human Nutrition* 59:55–61. doi: 10.1007/s11130-004-0023-4
- Malavolta E (1980) *Elementos de nutrição mineral de plantas*. São Paulo: Agronômica Ceres, 251p
- Mroczek-zdyrska M, Wojcik M (2012) The Influence of selenium on root growth and oxidative stress induced by lead in *Vicia faba* L. minor plants. *Biological Trace Element Research* 147:320–328. doi: 10.1007/s12011-011-9292-6
- Nakamaru Y, Tagami K, Uchida S (2005) Depletion of selenium in soil solution due to its enhanced sorption in the rhizosphere of soybean. *Plant and Soil* 278:293–301. doi: 10.1007/s11104-005-8769-5
- Pandey C, Gupta M (2015) Selenium and auxin mitigates arsenic stress in rice (*Oryza sativa* L.) by combining the role of stress indicators, modulators and genotoxicity assay. *Journal Hazardous Matererials* 287:384–391. doi: 10.1016/j.jhazmat.2015.01.044
- Premarathna L, Mclaughlin MJ, Kirby JK, et al (2012) Selenate-enriched urea granules are a highly effective fertilizer for selenium biofortification of paddy rice grain. *J Agric Food Chem* 60:6037–6044
- Pukacka S, Ratajczak E, Kalemba E (2011) The protective role of selenium in recalcitrant *Acer saccharium* L. seeds subjected to desiccation. *Journal Plant Physiology* 168:220–225. doi: 10.1016/j.jplph.2010.07.021
- Ramos SJ, Faquin V, de Almeida HJ, Ávila FW, Guilherme LRG, Bastos CEA, Ávila PA (2011a) Selenate and selenite on yield, mineral nutrition and biofortification with selenium in lettuce cultivars. *Revista Brasileira Ciência do Solo* 35:1347–1355. doi: 10.1590/S0100-204X2012000600014
- Ramos SJ, Rutzke MA, Hayes RJ, Faqui V, Guilherme LRG, Li L (2011b) Selenium accumulation in lettuce germplasm. *Planta* 233:649–660. doi: 10.1007/s00425-010-1323-6
- Rezende PM, Martinez RAS, Passos AMA, Baliza DP, Carvalho ER, Ávila FW (2011) Doses e formas de aplicação de selênio na produtividade e outras características agronômicas da soja [*Glycine max* (L.) Merrill cv. Luziânia]. *Global Science Technology* 4:83–91
- Shibagaki N, Rose A, Mcdermott JP, Fujiwara T, Hayashi H, Yoneyama T, Davies JP (2002) Selenate-resistant mutants of *Arabidopsis thaliana* identify Sultr 1;2, a sulfate transporter required for efficient transport of sulfate into roots. *Plant Journal* 29:475–486. doi: 10.1046/j.0960-7412.2001.01232.x
- Silva Junior EC, Wadt LHO, Silva KE, Lima RMB, Batista KD, Guedes MC, Carvalho GS, Carvalho TS, Reis AR, Lopes G, Guilherme LRG (2017) Natural variation of selenium in Brazil nuts and soils from the Amazon region. *Chemosphere* 188:650–658. doi:

10.1016/j.chemosphere.2017.08.158

- Stroud JL, Li HF, Broadley MR, Foot I (2010) Impact of sulphur fertilisation on crop response to selenium fertilisation. *Plant and Soil* 332:31–40. doi: 10.1007/s11104-009-0230-8
- Urrutia O, Erro J, Guardado I, Francisco SS, Mandado M, Baigorri R, Yvin JC, Mina JMG (2014) Physico-chemical characterization of humic-metal-phosphate complexes and their potential application to the manufacture of new types of phosphate-based fertilizers. *177:128–136*. doi: 10.1002/jpln.201200651
- Usepa- United States Environmental Protection Agency (2007) Test methods for evaluation solid waste physical and chemical methods: microwave assisted acid digest of sediments, sludges, soils and oils. SW-846 Washington, US, Gov Print Off 1–30. Available in <https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-12/documents/3051a>. Accessed 08 Jan 2019
- White PJ, Bowen HC, Parmaguru P, Fritz M, Spracklen WP, Spiby RE, Meacham MC, Harriman M, Trueman LJ, Smith BM, Thomas B, Broadley MR (2004) Interactions between selenium and sulphur nutrition in *Arabidopsis thaliana*. *Journal Experimental Botany* 55:1927–1937. doi: 10.1093/jxb/erh192
- Wu AH, Yu MC, Tseng C, Pike MC (2008) Epidemiology of soy exposures and breast cancer risk. *British Journal of Cancer* 98:9–14. doi: 10.1038/sj.bjc.6604145
- Yan J, Jiang T, Yao Y, Lu S, Wang Q, Wei S (2016) Preliminary investigation of phosphorus adsorption onto two types of iron oxide-organic matter complexes. *Journal Environmental Sciences* 42:152–162. doi: 10.1016/j.jes.2015.08.008
- Yang F, Chen L, Hu Q, Pan G (2003) Effect of the application of selenium on selenium content of soybean and its products. *Biological Trace Element Research* 93:249–256. doi: 10.1385/BTER:93:1-3:249
- Yoshida H, Hirakawa Y, Murakami C, Mizushima Y, Yamada T (2003) Variation in the content of tocopherols and distribution of fatty acids within soya bean seeds (*Glycine max* L.). *Journal of Food Composition and Analysis* 16:429–440. doi: 10.1016/S0889-1575(03)00028-0