

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal



Tese

Seleção de genótipos de arroz irrigado responsivos ao aumento da concentração de dióxido de carbono atmosférico e investigação do fenômeno de tolerância cruzada entre estresses abióticos

Ânderson da Rosa Feijó

Pelotas, 2021

Ânderson da Rosa Feijó

Seleção de genótipos de arroz irrigado responsivos ao aumento da concentração de dióxido de carbono atmosférico e investigação do fenômeno de tolerância cruzada entre estresses abióticos

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Fisiologia Vegetal.

Orientador: Ph.D. Luis Antonio de Avila

Coorientadores: Dr. Gustavo Maia Souza

Ph.D. Edinalvo Rabaioli Camargo

Dr. Paulo Ricardo dos Reis Fagundes

Pelotas, 2021

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

F297s Feijó, Ânderson da Rosa

Seleção de genótipos de arroz irrigado responsivos ao aumento da concentração de dióxido de carbono atmosférico e investigação do fenômeno de tolerância cruzada entre estresses abióticos / Ânderson da Rosa Feijó ; Luis Antonio de Avila, orientador. — Pelotas, 2021.

169 f. : il.

Tese (Doutorado) — Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, 2021.

1. *Oryza sativa*. 2. Estresse abiótico. 3. Seca. 4. Efeito estufa. I. Avila, Luis Antonio de, orient. II. Título.

CDD : 633.18912

Banca Examinadora:

Dra. Vivian Ebeling Viana

Doutora em Biotecnologia pela UFPEL

Dr. Gustavo Maia Souza

Doutor em Ciências Biológicas pela UNESP

Dr. Sidnei Deuner

Doutor em Agronomia pela UFLA

Dr. Carlos Eduardo Schaedler

Doutor em Fitossanidade pela UFPEL

Ph.D. Luis Antonio de Avila (Orientador)

Doutor em Agronomia, Texas A&M University

Aos meus pais João Carlos e Isabel Cristina;

Aos meus irmãos Andrei e Henrique,

DEDICO E OFEREÇO

Agradecimentos

Agradeço em primeiro lugar a Deus, pela vida e por sempre de alguma maneira me fortalecer e me guiar pelo melhor caminho.

Aos meus pais, João Carlos Tavares Feijó e Isabel Cristina da Rosa Feijó, que foram o incentivo diário durante toda essa etapa muito importante da minha vida. São meus maiores exemplos de amor e perseverança.

Aos meus irmãos, Andrei e Henrique, por fazerem parte da minha vida, pelo companheirismo, convívio e amizade fundamentais durante essa caminhada.

À Natasha, minha companheira, incentivadora, exemplo de pesquisadora e de perseverança. Agradeço pelo companheirismo, dedicação, carinho e compreensão ao longo dessa jornada.

Ao meu orientador, Professor Luis Antonio de Avila, pelo acolhimento, pela confiança, por todos os conhecimentos transmitidos e por todas oportunidades de crescimento acadêmico e pessoal ao longo destes anos de convívio. Pela orientação, pela mentoria e pelo incentivo durante a execução deste trabalho. Muito obrigado.

Aos coorientadores, Professor Gustavo Maia Souza, Professor Edinalvo Rabaioli Camargo e ao pesquisador Paulo Ricardo dos Reis Fagundes por todos ensinamentos e pelas contribuições fundamentais durante o desenvolvimento do trabalho.

À pesquisadora de Pós-doutorado Vívian Ebeling Viana por todos ensinamentos transmitidos e pela contribuição fundamental para conclusão de parte deste trabalho.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, por todo aprendizado e ensinamentos transmitidos, com certeza cada um contribuiu muito para o meu crescimento acadêmico e pessoal ao longo destes anos de pós-graduação.

Aos amigos e colegas Marcus Fipke, Andrisa Balbinot, Dalvane Rockenbach, Natália Garcia, Roque Palácios, Roberta Kneib, Tamara Heck, Bruna Ceolin e Vinicios Gehrke pelos momentos de convívio, ensinamentos, incentivo e toda ajuda no desenvolvimento deste trabalho.

Ao técnico de laboratório Bruno Fonseca por toda ajuda disponibilizada.

Aos colegas, alunos de pós-graduação e graduação, do Laboratório de Dinâmica de Herbicidas, pelas novas amizades construídas, que levarei para sempre comigo, agradeço pela ajuda, convívio e aprendizado durante o desenvolvimento do trabalho.

Aos amigos e colegas da Fisiologia Vegetal, pelo aprendizado e convívio ao longo do doutorado.

À Universidade Federal de Pelotas, especialmente ao Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal pela oportunidade de continuar e qualificar a minha formação.

À CAPES, pela concessão da bolsa de doutorado, e apoio financeiro para a execução deste trabalho.

Aos meus familiares que direta ou indiretamente foram fundamentais para que eu chegassem até aqui.

Aos demais que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

Minha gratidão a todos!

“O alimento é o direito moral de todos que nascem neste mundo.”

Norman Ernest Borlaug

Resumo

FEIJÓ, Ânderson da Rosa. **Seleção de genótipos de arroz irrigado responsivos ao aumento da concentração de dióxido de carbono atmosférico e investigação do fenômeno de tolerância cruzada entre estresses abióticos.**

Orientador: Luis Antonio de Avila. 2021. 169f. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) – Programa de Pós-graduação em Fisiologia Vegetal, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2021.

As mudanças climáticas causadas pelo aumento das emissões de dióxido de carbono (CO_2) e os estresses abióticos associados a esse efeito (estresse hídrico e por temperaturas extremas) têm desafiado os cientistas a entender melhor esses efeitos sobre as plantas cultivadas para melhor adaptar os sistemas visando uma agricultura resiliente. Neste sentido, os objetivos gerais da tese foram: 1) caracterizar e selecionar genótipos de arroz quanto às respostas ao aumento do CO_2 atmosférico; 2) avaliar o efeito *priming* do déficit hídrico no estádio vegetativo sobre as respostas de plantas de arroz submetidas ao estresse térmico na antese. Para atingir estes objetivos foram realizados dois estudos. Os resultados do primeiro estudo mostraram que genótipos com uma razão positiva para produtividade de grãos entre a relação de cultivo em densidade baixa e normal, também apresentam maior responsividade ao CO_2 . Os genótipos de arroz apresentam respostas contrastantes frente ao aumento de CO_2 atmosférico. Os genótipos Querência e EP106 apresentaram maior responsividade ao elevado CO_2 em termos de produtividade de grãos. Os resultados referentes ao segundo estudo indicam que na concentração de 400ppm de CO_2 o estresse prévio por déficit hídrico no estádio vegetativo reflete na redução do conteúdo de H_2O_2 em folhas bandeira quando as plantas são expostas ao estresse térmico severo na antese. Enquanto que em 700ppm de CO_2 o sistema antioxidante enzimático apresenta maior atividade sob estresse térmico severo na antese quando as plantas são previamente submetidas ao déficit hídrico no estádio vegetativo. Além disso, o incremento na atividade da superóxido dismutase (SOD) na folha bandeira, a maior expressão de *OsHSP70.6* nas espiguetas em 400ppm de CO_2 e o incremento da expressão de *OsHSP70CP1* nas espiguetas em 700ppm de CO_2 atuam favorecendo a tolerância cruzada em nível bioquímico e molecular entre déficit hídrico e estresse térmico moderado. Por fim, o estudo indica que as plantas de arroz previamente expostas ao déficit hídrico apresentam certa capacidade de melhorar as respostas em termos de metabolismo antioxidante e proteínas de choque térmico quando submetidas a alta temperatura.

Palavras-chaves: *Oryza sativa*. Estresse abiótico. Seca. Efeito estufa.

Abstract

FEIJÓ, Ânderson da Rosa. **Selection of irrigated rice genotypes responsive to the increase in the concentration of atmospheric carbon dioxide and investigation of the phenomenon of cross-tolerance between abiotic stresses.** Advisor: Luis Antonio de Avila. 2021. 169f. Thesis (Doctorate in Plant Physiology) - Plant Physiology Graduate Program, Federal University of Pelotas, Pelotas, 2021.

Climate changes caused by increased emissions of carbon dioxide and the abiotic stresses associated with this effect (water stress and extreme temperatures) have challenged scientists to understand these effects on cultivated plants to better adapt systems to a resilient agriculture. In this sense, the general objectives of the thesis were: 1) to characterize and select rice genotypes in terms of responses to the increase in CO₂; 2) to evaluate the priming effect of the water deficit in the vegetative stage on the responses of rice plants subjected to heat stress in anthesis. To achieve these objectives, two studies were carried out. The results of the first study showed that genotypes with a positive grain yield ratio between the low and normal density ratio are also more responsive to CO₂. The rice genotypes present contrasting responses to the increase in atmospheric CO₂. The Querência and EP106 genotypes showed greater responsiveness to high CO₂ in terms of grain yield. The results referring to the second study indicate that in the concentration of 400ppm CO₂ the previous stress due to water deficit in the vegetative stage reflects in the reduction of the H₂O₂ content in flag leaves when the plants are exposed to severe heat stress in the anthesis. While at 700ppm CO₂ the enzyme antioxidant system presents greater activity under severe heat stress in anthesis when the plants are previously subjected to water deficit in the vegetative stage. In addition, the increase in superoxide dismutase (SOD) activity on the flag leaf, the greater expression of OsHSP70.6 in spikelets in 400ppm CO₂, and the increase in the expression of OsHSP70CP1 in spikelets in 700ppm CO₂ act favoring cross-tolerance at the biochemical and molecular level between water deficit and moderate heat stress. Finally, the study indicates that rice plants previously exposed to water deficit have a certain ability to improve responses in terms of antioxidant metabolism and heat shock proteins when subjected to high temperature.

Keywords: *Oryza sativa*. Abiotic stress. Drought. Greenhouse effect.

Lista de Figuras

- Figura 1 – Regressão linear para as relações entre a razão dos valores de produtividade de grãos em densidade baixa (DB) e densidade norma (DN), e a razão dos valores de produtividade de grãos na concentração elevada de CO₂ e[CO₂] e concentração ambiente a[CO₂] do experimento em OTC de 2017/2018 (A). Regressão linear para as relações entre a razão dos valores de produtividade de grãos em DB e DN, e a razão dos valores de produtividade de grãos e[CO₂] e a[CO₂] do experimento em OTC de 2017/2018, sem o genótipo IRGA 416 (B). Regressão linear para as relações entre a razão dos valores de produtividade de grãos em DB e DN, e a razão dos valores de produtividade de grãos e[CO₂] e a[CO₂] do experimento em OTC de 2018/2019 (C) 55
- Figura 2 - Número de perfilhos de seis genótipos de arroz irrigado cultivados em câmaras de topo aberto com concentração ambiente de CO₂ (400ppm) e concentração elevada de CO₂ (700ppm) no ano experimental de 2017/18 (A), e 2018/19 (B). As linhas verticais indicam o intervalo de confiança (IC95%). * Denota diferença significativa pelo teste t ($p \leq 0,05$) na comparação entre as duas concentrações de CO₂ no mesmo genótipo..... 58
- Figura 3 – Condutância estomática durante a antese de seis genótipos de arroz irrigado cultivados em câmaras de topo aberto com concentração ambiente de CO₂ (400ppm) e concentração elevada de CO₂ (700ppm) no ano experimental de 2017/18 (A), e 2018/19 (B). Letras maiúsculas diferentes indicam diferença entre as concentrações de CO₂ dentro de cada genótipo e letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa entre os genótipos em cada concentração de CO₂ pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$). As linhas verticais indicam o intervalo de confiança (IC95%). 60
- Figura 4 – Análises dos índices de clorofila (A), do balanço de nitrogênio (B) e de flavonóis (C) de seis genótipos de arroz irrigado cultivados em câmaras de topo aberto com concentração ambiente de CO₂ (400ppm) e concentração elevada de CO₂ (700ppm) no ano experimental de 2017/18. Letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa entre as concentrações de CO₂ dentro de cada genótipo e letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa entre os genótipos em cada concentração de CO₂ pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$). As linhas verticais indicam o intervalo de confiança (IC95%). *Denota diferença significativa pelo teste t ($p \leq 0,05$) na comparação entre as duas concentrações de CO₂ no mesmo genótipo. 63

Figura 5 - Estatura de plantas (cm) de seis genótipos de arroz irrigado cultivados em câmaras de topo aberto com concentração ambiente de CO₂ (400ppm) e concentração elevada de CO₂ (700ppm) no ano experimental de 2017/18 (A), e 2018/19 (B). Letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa entre as concentrações de CO₂ dentro de cada genótipo e letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa entre os genótipos em cada concentração de CO₂ pelo teste Tukey ($p\leq 0,05$). As linhas verticais indicam o intervalo de confiança (IC95%). 65

Figura 6 - Massa da matéria seca da parte aérea (g vaso⁻¹) de seis genótipos de arroz irrigado cultivados em câmaras de topo aberto com concentração ambiente de CO₂ (400ppm) e concentração elevada de CO₂ (700ppm) no ano experimental de 2017/18 (A), e 2018/19 (B). Letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa entre as concentrações de CO₂ dentro de cada genótipo e letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa entre os genótipos em cada concentração de CO₂ pelo teste Tukey ($p\leq 0,05$). As linhas verticais indicam o intervalo de confiança (IC95%). * Denota diferença significativa pelo teste t ($p\leq 0,05$) na comparação entre as duas concentrações de CO₂ no mesmo genótipo. 66

Figura 7 - Massa da matéria seca do sistema radicular (g vaso⁻¹) de seis genótipos de arroz irrigado cultivados em câmaras de topo aberto com concentração ambiente de CO₂ (400ppm) e concentração elevada de CO₂ (700ppm) no ano experimental de 2017/18. As linhas verticais indicam o intervalo de confiança (IC95%). * Denota diferença significativa pelo teste t ($p\leq 0,05$) na comparação entre as duas concentrações de CO₂ no mesmo genótipo. 68

Figura 8 - Número de panículas por vaso de seis genótipos de arroz irrigado cultivados em câmaras de topo aberto com concentração ambiente de CO₂ (400ppm) e concentração elevada de CO₂ (700ppm) no ano experimental de 2017/18 (A), e 2018/19 (B). Letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa entre as concentrações de CO₂ dentro de cada genótipo e letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa entre os genótipos em cada concentração de CO₂ pelo teste Tukey ($p\leq 0,05$). As linhas verticais indicam o intervalo de confiança (IC95%). * Denota diferença significativa pelo teste t ($p\leq 0,05$) na comparação entre as duas concentrações de CO₂ no mesmo genótipo. 70

Figura 9 - Período de dias da emergência até a antese de seis genótipos de arroz irrigado cultivados em câmaras de topo aberto com concentração ambiente de CO₂

(400ppm) e concentração elevada de CO₂ (700ppm) no ano experimental de 2017/18 (A), e 2018/19 (B). Letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa entre as concentrações de CO₂ dentro de cada genótipo e letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa entre os genótipos em cada concentração de CO₂ pelo teste Tukey ($p\leq 0,05$). As linhas verticais indicam o intervalo de confiança (IC95%). 72

Figura 10 - Número de grãos por panícula de seis genótipos de arroz irrigado cultivados em câmaras de topo aberto com concentração ambiente de CO₂ (400ppm) e concentração elevada de CO₂ (700ppm) no ano experimental de 2017/18 (A), e 2018/19 (B). Letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa entre as concentrações de CO₂ dentro de cada genótipo e letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa entre os genótipos em cada concentração de CO₂ pelo teste Tukey ($p\leq 0,05$). As linhas verticais indicam o intervalo de confiança (IC95%). 73

Figura 11 - Percentual de esterilidade de espiguetas de seis genótipos de arroz irrigado cultivados em câmaras de topo aberto com concentração ambiente de CO₂ (400ppm) e concentração elevada de CO₂ (700ppm) no ano experimental de 2017/18 (A), e 2018/19 (B). Letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa entre as concentrações de CO₂ dentro de cada genótipo e letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa entre os genótipos em cada concentração de CO₂ pelo teste Tukey ($p\leq 0,05$). As linhas verticais indicam o intervalo de confiança (IC95%). 75

Figura 12 - Peso de mil grãos de seis genótipos de arroz irrigado cultivados em câmaras de topo aberto com concentração ambiente de CO₂ (400ppm) e concentração elevada de CO₂ (700ppm) no ano experimental de 2017/18 (A), e 2018/19 (B). As linhas verticais indicam o intervalo de confiança (IC95%)..... 76

Figura 13 - Produtividade de grãos (g vaso⁻¹) de seis genótipos de arroz irrigado cultivados em câmaras de topo aberto com concentração ambiente de CO₂ (400ppm) e concentração elevada de CO₂ (700ppm) no ano experimental de 2017/18 (A), e 2018/19 (B). Letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa entre as concentrações de CO₂ dentro de cada genótipo e letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa entre os genótipos em cada concentração de CO₂ pelo teste Tukey ($p\leq 0,05$). As linhas verticais indicam o intervalo de confiança (IC95%). 78

Figura 14 – Relação fonte:dreno (MMSPA:Produtividade de grãos) de seis genótipos de arroz irrigado cultivados em câmaras de topo aberto com concentração ambiente

de CO₂ (400ppm) e concentração elevada de CO₂ (700ppm) no ano experimental de 2017/18 (A), e 2018/19 (B). Letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa entre as concentrações de CO₂ dentro de cada genótipo e letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa entre os genótipos em cada concentração de CO₂ pelo teste Tukey ($p\leq 0,05$). As linhas verticais indicam o intervalo de confiança (IC95%)..... 79

Figura 15 – Análise da capacidade dreno de seis genótipos de arroz irrigado cultivados em câmaras de topo aberto com concentração ambiente de CO₂ (400ppm) e concentração elevada de CO₂ (700ppm) no ano experimental de 2017/18 (A), e 2018/19 (B). Letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa entre as concentrações de CO₂ dentro de cada genótipo e letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa entre os genótipos em cada concentração de CO₂ pelo teste Tukey ($p\leq 0,05$). As linhas verticais indicam o intervalo de confiança (IC95%). * Denota diferença significativa pelo teste t ($p\leq 0,05$) na comparação entre as duas concentrações de CO₂ no mesmo genótipo. 81

Figura 16 - Percentual de germinação aos 5 dias após início do teste de germinação de sementes de arroz oriundas de plantas cultivadas em câmaras de topo aberto com concentração ambiente de CO₂ (400ppm) e concentração elevada de CO₂ (700ppm) no ano experimental de 2017/18 (A), e 2018/19 (B). Letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa entre as concentrações de CO₂ dentro de cada genótipo e letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa entre os genótipos em cada concentração de CO₂ pelo teste Tukey ($p\leq 0,05$). As linhas verticais indicam o intervalo de confiança (IC95%). * Denota diferença significativa pelo teste t ($p\leq 0,05$) na comparação entre as duas concentrações de CO₂ no mesmo genótipo. 83

Figura 17 - Percentual de germinação aos 14 dias após início do teste de germinação de sementes de arroz oriundas de plantas cultivadas em câmaras de topo aberto com concentração ambiente de CO₂ (400ppm) e concentração elevada de CO₂ (700ppm) no ano experimental de 2017/18 (A), e 2018/19 (B). As linhas verticais indicam o intervalo de confiança (IC95%). 84

Figura 18 – Comprimento de plântulas (cm) aos 14 dias após início do teste de germinação de sementes de arroz oriundas de plantas cultivadas em câmaras de topo aberto com concentração ambiente de CO₂ (400ppm) e concentração elevada de CO₂

(700ppm) no ano experimental de 2017/18 (A), e 2018/19 (B). Letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa entre as concentrações de CO ₂ dentro de cada genótipo e letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa entre os genótipos em cada concentração de CO ₂ pelo teste Tukey ($p\leq 0,05$). As linhas verticais indicam o intervalo de confiança (IC95%).	86
Figura 19 – Massa da matéria seca de plântula (mg) aos 14 dias após início do teste de germinação de sementes de arroz oriundas de plantas cultivadas em câmaras de topo aberto com concentração ambiente de CO ₂ (400ppm) e concentração elevada de CO ₂ (700ppm) no ano experimental de 2017/18 (A), e 2018/19 (B). As linhas verticais indicam o intervalo de confiança (IC95%). * Denota diferença significativa pelo teste t ($p\leq 0,05$) na comparação entre as duas concentrações de CO ₂ no mesmo genótipo.	87
Figura 20 - Representação gráfica das condições hídricas e temperaturas dos tratamentos: Controle (A), CTA (B), DHv (C) e DHvTA (D).	95
Figura 21 - Condutância estomática (gs) de plantas de arroz no estádio V4-5 cultivadas em condição hídrica irrigada (Controle) em 400 e 700ppm de CO ₂ atmosférico, e plantas submetidas a restrição hídrica (DHv) em 400 e 700ppm de CO ₂ no experimento 1 (A) e experimento 2 (B). As linhas verticais em cada ponto indicam intervalo de confiança (IC95%).	96
Figura 22 – Configuração da rampa de temperatura diária para o tratamento de estresse térmico no experimento 1 (A) e experimento 2 (B).....	97
Figura 23 - Imagens termográficas indicando as temperaturas nas plantas de arroz (genótipo BRS Querência) durante a antese nos tratamentos. Controle 400ppm, folha bandeira (A) e panícula (B); controle 700ppm, folha bandeira (C) e panícula (D); CTA 400ppm, folha bandeira (E) e panícula (F); CTA 700ppm, folha bandeira (G) e panícula (H); DHv 400ppm, folha bandeira (I) e panícula (J); DHv 700ppm, folha bandeira (K) e panícula (L); DHvTA 400ppm, folha bandeira (M) e panícula (N); DHvTA 700ppm, folha bandeira (O) e panícula (P).....	104
Figura 24 - Massa da matéria seca da parte aérea (MMSPA) (A) e massa da matéria seca do sistema radicular (MMSR) (B) de plantas de arroz (genótipo BRS Querência) cultivadas em duas concentrações de CO ₂ atmosférico (400 e 700ppm) e submetidas a diferentes condições de cultivo. Controle (irrigação normal e temperatura ideal	

durante todo cultivo); CTA (irrigação normal durante todo ciclo e estresse térmico na antese por 72h); DHv (déficit hídrico em V4-5 e temperatura ideal durante todo cultivo) e DHvTA (déficit hídrico em V4-5 e estresse térmico na antese por 72h). As linhas verticais indicam o intervalo de confiança (IC95%). 105

Figura 25 - Número de panículas por vaso (A) e número de grãos por panícula (B) de plantas de arroz (genótipo BRS Querência) cultivadas em duas concentrações de CO₂ atmosférico (400 e 700ppm) e submetidas a diferentes condições de cultivo. Controle (irrigação normal e temperatura ideal durante todo cultivo); CTA (irrigação normal durante todo ciclo e estresse térmico na antese por 72h); DHv (déficit hídrico em V4-5 e temperatura ideal durante todo cultivo) e DHvTA (déficit hídrico em V4-5 e estresse térmico na antese por 72h). As linhas verticais indicam o intervalo de confiança (IC95%). 106

Figura 26 - Percentual de esterilidade de espiguetas (A) e peso de mil grãos (PMG) (B) de plantas de arroz (genótipo BRS Querência) cultivadas em duas concentrações de CO₂ atmosférico (400 e 700ppm) e submetidas a diferentes condições de cultivo. Controle (irrigação normal e temperatura ideal durante todo cultivo); CTA (irrigação normal durante todo ciclo e estresse térmico na antese por 72h); DHv (déficit hídrico em V4-5 e temperatura ideal durante todo cultivo) e DHvTA (déficit hídrico em V4-5 e estresse térmico na antese por 72h). As linhas verticais indicam o intervalo de confiança (IC95%). * Denota diferença pelo teste t ($p \leq 0,05$) entre o par de tratamentos indicado. 107

Figura 27 - Produtividade de grãos por panícula (g) de plantas de arroz (genótipo BRS Querência) cultivadas em duas concentrações de CO₂ atmosférico (400 e 700ppm) e submetidas a diferentes condições de cultivo. Controle (irrigação normal e temperatura ideal durante todo cultivo); CTA (irrigação normal durante todo ciclo e estresse térmico na antese por 72h); DHv (déficit hídrico em V4-5 e temperatura ideal durante todo cultivo) e DHvTA (déficit hídrico em V4-5 e estresse térmico na antese por 72h). As linhas verticais indicam o intervalo de confiança (IC95%). 108

Figura 28 - Conteúdo de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) (A) e conteúdo de malondealdeído (MDA) (B) em folhas bandeira de plantas de arroz (genótipo BRS Querência) cultivadas em duas concentrações de CO₂ atmosférico (400 e 700ppm) e submetidas a diferentes condições de cultivo. Controle (irrigação normal e temperatura ideal durante todo cultivo); CTA (irrigação normal durante todo ciclo e

estresse térmico na antese por 72h); DHv (déficit hídrico em V4-5 e temperatura ideal durante todo cultivo) e DHvTA (déficit hídrico em V4-5 e estresse térmico na antese por 72h). As linhas verticais indicam o intervalo de confiança (IC95%). * Denota diferença pelo teste t ($p\leq 0,05$) entre o par de tratamentos indicado. 111

Figura 29 - Atividade enzimática da Superóxido dismutase (SOD) (A), catalase (CAT) (B) e ascorbato peroxidase (APX) (C) em folhas bandeira de plantas de arroz (genótipo BRS Querência) cultivadas em duas concentrações de CO₂ atmosférico (400 e 700ppm) e submetidas a diferentes condições de cultivo. Controle (irrigação normal e temperatura ideal durante todo cultivo); CTA (irrigação normal durante todo ciclo e estresse térmico na antese por 72h); DHv (déficit hídrico em V4-5 e temperatura ideal durante todo cultivo) e DHvTA (déficit hídrico em V4-5 e estresse térmico na antese por 72h). As linhas verticais indicam o intervalo de confiança (IC95%). * Denota diferença pelo teste t ($p\leq 0,05$) e ** ($p\leq 0,01$) entre o par de tratamentos indicado. . 113

Figura 30 - Conteúdo de clorofila a (A), clorofila b (B), clorofila total (C) e carotenoides (D) em folhas bandeira de plantas de arroz (genótipo BRS Querência) cultivadas em duas concentrações de CO₂ atmosférico (400 e 700ppm) e submetidas a diferentes condições de cultivo. Controle (irrigação normal e temperatura ideal durante todo cultivo); CTA (irrigação normal durante todo ciclo e estresse térmico na antese por 72h); DHv (déficit hídrico em V4-5 e temperatura ideal durante todo cultivo) e DHvTA (déficit hídrico em V4-5 e estresse térmico na antese por 72h). As linhas verticais indicam o intervalo de confiança (IC95%). 115

Figura 31 - Expressão relativa de genes OsHSPs em folhas bandeira (A, B, C) e espiguetas (D, E, F) de plantas de arroz (genótipo BRS Querência) cultivadas em duas concentrações de CO₂ atmosférico (400 e 700ppm) e submetidas a diferentes condições de cultivo. Controle (irrigação normal e temperatura ideal durante todo cultivo); CTA (irrigação normal durante todo ciclo e estresse térmico na antese por 72h); DHv (déficit hídrico em V4-5 e temperatura ideal durante todo cultivo) e DHvTA (déficit hídrico em V4-5 e estresse térmico na antese por 72h). As linhas verticais indicam o desvio padrão (n=3). 119

Figura 32 - Massa da matéria seca da parte aérea (MMSPA) (A) e massa da matéria seca do sistema radicular (MMSR) (B) de plantas de arroz (genótipo BRS Querência) cultivadas em duas concentrações de CO₂ atmosférico (400 e 700ppm) e submetidas a diferentes condições de cultivo. Controle (irrigação normal e temperatura ideal

durante todo cultivo); CTA (irrigação normal durante todo ciclo e estresse térmico na antese por 72h); DHv (déficit hídrico em V4-5 e temperatura ideal durante todo cultivo) e DHvTA (déficit hídrico em V4-5 e estresse térmico na antese por 72h). As linhas verticais indicam o intervalo de confiança (IC95%). 121

Figura 33 - Número de panículas por vaso (A) e número de grãos por panícula (B) de plantas de arroz (genótipo BRS Querência) cultivadas em duas concentrações de CO₂ atmosférico (400 e 700ppm) e submetidas a diferentes condições de cultivo. Controle (irrigação normal e temperatura ideal durante todo cultivo); CTA (irrigação normal durante todo ciclo e estresse térmico na antese por 72h); DHv (déficit hídrico em V4-5 e temperatura ideal durante todo cultivo) e DHvTA (déficit hídrico em V4-5 e estresse térmico na antese por 72h). As linhas verticais indicam o intervalo de confiança (IC95%). ** Denota diferença pelo teste t ($p\leq 0,01$) e *** ($p\leq 0,001$) entre o par de tratamentos indicado..... 122

Figura 34 - Percentual de esterilidade de espiguetas (A) e peso de mil grãos (PMG) (B) de plantas de arroz (genótipo BRS Querência) cultivadas em duas concentrações de CO₂ atmosférico (400 e 700ppm) e submetidas a diferentes condições de cultivo. Controle (irrigação normal e temperatura ideal durante todo cultivo); CTA (irrigação normal durante todo ciclo e estresse térmico na antese por 72h); DHv (déficit hídrico em V4-5 e temperatura ideal durante todo cultivo) e DHvTA (déficit hídrico em V4-5 e estresse térmico na antese por 72h). As linhas verticais indicam o intervalo de confiança (IC95%)..... 124

Figura 35 - Produtividade de grãos por panículas (g) de plantas de arroz (genótipo BRS Querência) cultivadas em duas concentrações de CO₂ atmosférico (400 e 700ppm) e submetidas a diferentes condições de cultivo. Controle (irrigação normal e temperatura ideal durante todo cultivo); CTA (irrigação normal durante todo ciclo e estresse térmico na antese por 72h); DHv (déficit hídrico em V4-5 e temperatura ideal durante todo cultivo) e DHvTA (déficit hídrico em V4-5 e estresse térmico na antese por 72h). As linhas verticais indicam o intervalo de confiança (IC95%). * Denota diferença pelo teste t ($p\leq 0,05$) e ** ($p\leq 0,01$) entre o par de tratamentos indicado. . 125

Figura 36 - Conteúdo de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) (A) e conteúdo de malondealdeído (MDA) (B) em folhas bandeira de plantas de arroz (genótipo BRS Querência) cultivadas em duas concentrações de CO₂ atmosférico (400 e 700ppm) e submetidas a diferentes condições de cultivo. Controle (irrigação normal e

temperatura ideal durante todo cultivo); CTA (irrigação normal durante todo ciclo e estresse térmico na antese por 72h); DHv (déficit hídrico em V4-5 e temperatura ideal durante todo cultivo) e DHvTA (déficit hídrico em V4-5 e estresse térmico na antese por 72h). As linhas verticais indicam o intervalo de confiança (IC95%). * Denota diferença pelo teste t ($p\leq 0,05$) entre o par de tratamentos indicado..... 126

Figura 37 - Atividade enzimática da superóxido dismutase (SOD) (A), catalase (CAT) (B) e ascorbato peroxidase (APX) (C) em folhas bandeira de plantas de arroz (genótipo BRS Querência) cultivadas em duas concentrações de CO₂ atmosférico (400 e 700ppm) e submetidas a diferentes condições de cultivo. Controle (irrigação normal e temperatura ideal durante todo cultivo); CTA (irrigação normal durante todo ciclo e estresse térmico na antese por 72h); DHv (déficit hídrico em V4-5 e temperatura ideal durante todo cultivo) e DHvTA (déficit hídrico em V4-5 e estresse térmico na antese por 72h). As linhas verticais indicam o intervalo de confiança (IC95%). * Denota diferença pelo teste t ($p\leq 0,05$) entre o par de tratamentos indicado..... 128

Figura 38 - Conteúdo de clorofila a (A), clorofila b (B), clorofila total (C) e carotenoides (D) em folhas bandeira de plantas de arroz (genótipo BRS Querência) cultivadas em duas concentrações de CO₂ atmosférico (400 e 700ppm) e submetidas a diferentes condições de cultivo. Controle (irrigação normal e temperatura ideal durante todo cultivo); CTA (irrigação normal durante todo ciclo e estresse térmico na antese por 72h); DHv (déficit hídrico em V4-5 e temperatura ideal durante todo cultivo) e DHvTA (déficit hídrico em V4-5 e estresse térmico na antese por 72h). As linhas verticais indicam o intervalo de confiança (IC95%). 130

Figura 39 - Expressão relativa dos genes OsHSP16.9A (A), OsHSP17.9A (B), OsHSP20 (C), OsHSP24.15 (D), OsHSP70CP1 (E), OsHSP70.1 (F) e OsHSP70.6 (G) em folhas bandeira de plantas de arroz (genótipo BRS Querência) cultivadas em duas concentrações de CO₂ atmosférico (400 e 700ppm) e submetidas a diferentes condições de cultivo. Controle (irrigação normal e temperatura ideal durante todo cultivo); CTA (irrigação normal durante todo ciclo e estresse térmico na antese por 72h); DHv (déficit hídrico em V4-5 e temperatura ideal durante todo cultivo) e DHvTA (déficit hídrico em V4-5 e estresse térmico na antese por 72h). As linhas verticais indicam o desvio padrão. 132

Figura 40 - Expressão relativa dos genes OsHSP16.9A (A), OsHSP17.9A (B), OsHSP20 (C), OsHSP24.15 (D), OsHSP70CP1 (E), OsHSP70.1 (F) e OsHSP70.6 (G)

em espiguetas de plantas de arroz (genótipo BRS Querência) cultivadas em duas concentrações de CO₂ atmosférico (400 e 700ppm) e submetidas a diferentes condições de cultivo. Controle (irrigação normal e temperatura ideal durante todo cultivo); CTA (irrigação normal durante todo ciclo e estresse térmico na antese por 72h); DHv (déficit hídrico em V4-5 e temperatura ideal durante todo cultivo) e DHvTA (déficit hídrico em V4-5 e estresse térmico na antese por 72h). As linhas verticais indicam o desvio padrão (n=3)..... 134

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Genótipos de arroz irrigado oriundos dos programas de melhoramento genético de arroz da EMBRAPA, IRGA e EPAGRI	45
Tabela 2 - Produtividade de grãos (Kg ha ⁻¹) e período em dias da emergência da plântula até a antese de genótipos de arroz irrigado cultivados em densidade baixa (DB) e densidade normal (DN) de plantas. Capão do Leão – RS, 2017.....	51
Tabela 3 - Produtividade de grãos de genótipos de arroz irrigado cultivados em duas concentrações de CO ₂ atmosférico (400 e 700ppm). Capão do Leão - RS.....	52
Tabela 4 – Valor- <i>p</i> dos efeitos simples e da interação entre os fatores para as variáveis do experimento em câmaras de topo aberto, ano agrícola 2017/18	57
Tabela 5 - Valor- <i>p</i> dos efeitos simples e da interação entre os fatores para as variáveis do experimento em câmaras de topo aberto, ano agrícola 2018/19	58
Tabela 6 - Valor- <i>p</i> dos efeitos simples e da interação entre os fatores para as variáveis dos experimentos de qualidade de sementes de arroz produzidas em câmaras de topo aberto em 2017/18 e 2018/19	82
Tabela 7 - Descrição dos tratamentos aplicados nos experimentos de estresse cruzado	93
Tabela 8 - Oligonucleotídeos para os genes <i>OsHSPs</i> utilizados nas reações de RT-qPCR	102
Tabela 9 - Valor- <i>p</i> dos efeitos simples e da interação entre os fatores concentração de CO ₂ , condição hídrica (CH) e temperatura (TEMP) para as variáveis do experimento 1	103
Tabela 10 - Valor- <i>p</i> dos efeitos simples e da interação entre os fatores concentração de CO ₂ , condição hídrica (CH) e temperatura (TEMP) para as variáveis do experimento 2	120

Sumário

1	Introdução geral.....	21
2	Revisão de literatura: Tolerância cruzada e o aumento da concentração de CO ₂ atmosférico	28
3	Capítulo 1 - Caracterização e seleção de genótipos de arroz irrigado responsivos ao aumento da concentração de CO ₂ atmosférico	38
3.1	Introdução	38
3.2	Material e métodos.....	44
3.2.1	Experimento de <i>Pre-screening</i> :	44
3.2.2	Experimentos em câmaras de topo aberto	46
3.2.3	Experimento de qualidade de sementes	49
3.2.4	Análises estatísticas dos experimentos	49
3.3	Resultados e discussão	50
3.3.1	Experimento <i>Pre-screening</i> :	50
3.3.2	Experimento em câmaras de topo aberto - OTC.....	56
3.3.3	Experimento de qualidade de sementes	81
3.4	Conclusões	87
4	Capítulo 2 - Déficit hídrico no estádio vegetativo como potencial indutor da tolerância cruzada com o estresse causado por alta temperatura durante a antese do arroz e o impacto do incremento do CO ₂ atmosférico	88
4.1	Introdução	88
4.2	Material e métodos.....	92
4.2.1	Análises estatísticas dos experimentos	103
4.3	Resultados e discussão	103
4.3.1	Experimento 1: Estresse térmico transiente severo	103
4.3.2	Experimento 2: Estresse térmico transiente moderado	119
4.4	Conclusões	136
5	Considerações finais	137
6	Referências bibliográficas.....	138

1 Introdução geral

A cultura do arroz destaca-se no cenário agrícola mundial com a terceira maior produção dentre os cereais cultivados, atingindo produção anual de cerca de 756 milhões de toneladas de grãos em casca, ficando atrás apenas da produção de milho e trigo (FAO, 2019). Além disso, o arroz é considerado como uma das mais importantes fontes de alimento para a nutrição humana em várias regiões do mundo, servindo como o suprimento básico de calorias para mais da metade da população mundial (JAGADISH; MURTY; QUICK, 2015; ZHANG *et al.*, 2014, ZHANG *et al.*, 2019), de tal forma que esta cultura apresenta papel estratégico na solução de questões de segurança alimentar (SOSBAI, 2018).

Os fatores abióticos como temperatura, disponibilidade de água e concentração de CO₂ são importantes reguladores das funções metabólicas do crescimento e desenvolvimento vegetal. Assim, as mudanças climáticas provavelmente irão impactar a habilidade das culturas em atingir as demandas crescentes de alimentos e fibras, para satisfazer as necessidades da população mundial que segue em plena expansão (ASPINWALL *et al.*, 2015). Portanto, sabe-se que a vulnerabilidade da produtividade das principais culturas frente às mudanças climáticas associadas principalmente às emissões antropogênicas de gases de efeito estufa constitui-se em ameaça real para a segurança alimentar mundial (BEGCY; DRESSELHAUS, 2018; ZISKA, 2016).

As mudanças climáticas são caracterizadas como as alterações das variáveis climáticas que persistem por longos períodos. Estas mudanças podem ser resultantes de forças naturais, como a atividade solar e as erupções vulcânicas, e resultantes também das atividades humanas, como a queima de combustíveis fósseis e o desmatamento. Sendo assim, os gases responsáveis pela ocorrência do efeito estufa emitidos por fontes naturais ou antropogênicas são os principais causadores das mudanças e das variabilidades climáticas. Dentre os principais gases que contribuem para o efeito estufa incluem-se o dióxido de carbono (CO₂), o metano, o óxido nitroso, os halocarbonetos e o ozônio (BOOKER *et al.*, 2009; VARANASI; PRASAD; JUGULAM, 2016). Nos cenários de projeções climáticas para este século, considerando-se a ausência de mitigações para restringir a emissão dos gases de efeito estufa, estima-se que no ano de 2030 a concentração de equivalente CO₂ exceda os 450 ppm, e possivelmente a concentração atinja valores entre 750 e 1300 ppm ao final do século (IPCC, 2014).

Em plantas com metabolismo C3, como por exemplo a cultura do arroz, o elevado CO₂ atmosférico leva ao aumento da concentração intracelular de CO₂ e da razão CO₂/O₂, impactando no incremento da taxa fotossintética e na redução da fotorrespiração, proporcionando a obtenção de maiores produtividades, além disso, favorece a redução da condutância estomática e da taxa de transpiração, o que consequentemente aumenta a eficiência do uso da água (CHATURVEDI *et al.*, 2017a; DWIVEDI *et al.*, 2015; LEKEY *et al.*, 2009).

No entanto, apesar dos efeitos positivos do incremento de CO₂, as alterações climáticas podem afetar negativamente a agricultura através da elevação das temperaturas, da radiação solar e variações no regime de precipitação, causando a ocorrência de fenômenos extremos, como secas e inundações. Sendo assim, as mudanças climáticas representam uma grande preocupação para o setor agrícola mundial devido aos possíveis impactos negativos sobre a produtividade dos agroecossistemas e a intensificação das interações entre culturas, plantas daninhas e pragas em consequência das condições climáticas desfavoráveis (VARANASI; PRASAD; JUGULAM, 2016). Em relação a cultura do arroz sabe-se que além da projeção do incremento na temperatura, as incertezas nos padrões de precipitação, com redução das chuvas, em conjunto com a rápida expansão da urbanização e industrialização nos países em desenvolvimento, aumentam os desafios para se produzir arroz irrigado (JAGADISH; MURTY; QUICK, 2015).

Os impactos agregados do efeito estufa, das mudanças climáticas e seus efeitos secundários causados pelas emissões dos gases, ainda não estão bem elucidados e de fato, muitos desses impactos e suas interações ainda não foram quantificados de forma confiável, especialmente a nível de agricultura global (GORNALL *et al.*, 2010). Assim, torna-se importante identificar e avaliar opções de adaptação aos impactos das mudanças climáticas nas próximas décadas. Pesquisadores de todo o mundo estão continuamente envolvidos no desenvolvimento de diversas estratégias de adaptação para mitigar os impactos das mudanças climáticas sobre a segurança alimentar (DUSENGE; DUARTE; WAY, 2019; KUMAR, 2016). Portanto, para aumentar a produção de alimentos e ao mesmo tempo abordar às mudanças climáticas visando suprir as demandas exigidas pelo crescimento populacional é necessário identificar as características das culturas adaptadas às condições ambientais futuras (YOSHINAGA *et al.*, 2020). Sabe-se que o *screening* de um grande número de genótipos à campo e a avaliação da magnitude das interações

entre genótipo e ambiente torna-se muito importante na identificação de genótipos capazes de suportar condições de estresses e principalmente maximizar a produtividade em condições ideais de cultivo (ASPINWALL *et al.*, 2015).

Em se tratando especificamente da cultura do arroz, sabe-se que trabalhos têm sido realizados para avaliar os efeitos das mudanças climáticas sobre a cultura, sobretudo o efeito do aumento da concentração de CO₂ e alterações na temperatura (WANG *et al.*, 2019b; ZISKA; MANALO; ORDONEZ, 1996; ZISKA; TERAMURA, 1992). De fato, durante o último século os programas de melhoramento vegetal conseguiram aumentar significativamente a produtividade de diversas culturas, por outro lado ainda não está elucidado se os genótipos melhorados, denominados modernos, também desenvolveram maior sensibilidade ao CO₂ atmosférico (ZISKA *et al.*, 2012).

Em estudo realizado por Kim *et al.* (2013), foi proposto a utilização de um modelo de simulação de culturas como ferramenta potencial para avaliar os impactos das alterações climáticas sobre a produção de arroz, tornando possível obter-se melhor compreensão das respostas da cultura às interações entre CO₂ e temperatura, porém um fator limitante desta ferramenta é que a sua utilização é recomendada para condições na escala local e regional na qual o trabalho foi desenvolvido.

Um método desenvolvido no final da década de 1980 e que tem sido utilizado por pesquisadores em todo mundo para avaliar as respostas das culturas, inclusive do arroz, sob crescimento em elevada concentração de CO₂, baseia-se na técnica de enriquecimento do ar livre com CO₂ (*Free-air CO₂ enrichment - FACE*), neste caso ocorre o aumento da concentração de CO₂ através da injeção direta de CO₂ na atmosfera que se dilui com o ar natural (KIMBALL; KOBAYASHI; BINDI, 2002; NAKAMURA *et al.*, 2012; SHIMONO *et al.*, 2009).

No entanto, os estudos em que são realizadas fumigações de CO₂ tornam-se extremamente caros, não são facilmente acessíveis e geralmente possuem espaço limitado para realizar seleção de genótipos em larga escala. Portanto, ainda não existem dados suficientes para se iniciar programas de melhoramento de culturas responsivas ao elevado CO₂, inclusive com arroz. Neste sentido, foi desenvolvido um novo método mais simples de fenotipagem para identificar genótipos de arroz potencialmente responsivos ao CO₂, esse método se baseia na correlação positiva entre maior resposta produtiva em baixa densidade de cultivo a campo e a responsividade ao elevado CO₂. Portanto, neste método a primeira etapa é realizada

em larga escala à campo, onde são pré-selecionados os genótipos que apresentam alta plasticidade fenotípica quando cultivados em baixa densidade de plantas, então posteriormente estes genótipos são validados quanto a sua capacidade de resposta ao elevado CO₂ em ambiente com atmosfera controlada (SHIMONO *et al.*, 2014).

Os cenários relevantes para as mudanças climáticas futuras não incluem apenas a elevada concentração de CO₂ atmosférico, mas também eventos climáticos extremos, como o aumento na ocorrência de ondas de calor e períodos de seca (LI *et al.*, 2019c). Considerando tais condições futuras adversas para o cultivo das plantas, a obtenção de genótipos com alta responsividade ao elevado CO₂ talvez não seja o suficiente para garantir níveis satisfatórios de produtividade na cultura do arroz. Portanto, além de responsivos ao elevado CO₂ os genótipos devem apresentar capacidade de tolerar os estresses que possam afetar a cultura ao longo do ciclo, como os estresses causados por déficit hídrico e alta temperatura. Neste sentido, trabalhos têm sido desenvolvidos para ampliar o conhecimento a respeito dos efeitos destes estresses sobre diversos processos fisiológicos das plantas, principalmente durante o estádio reprodutivo da espécie (JAGADISH *et al.*, 2011; RANG *et al.*, 2011).

Como são organismos sésseis, portanto, incapazes de se afastar e evitar condições ambientais desfavoráveis para seu desenvolvimento, como por exemplo a alta radiação, os extremos de temperatura, a seca, o alagamento e a salinidade, as plantas utilizam uma série de mecanismos regulatórios, como a detecção e sinalização do estresse, transdução de sinais, regulação da expressão gênica, alterações fisiológicas, bioquímicas e morfológicas na tentativa de atenuar os efeitos causados pelos diversos tipos de estresses que enfrentam (HUSSAIN *et al.*, 2018; QIN; XU; CI, 2017).

Os efeitos dos estresses causados pela seca e alta temperatura sobre a produtividade de grãos são complexos, pois afetam diversas enzimas e transportadores, localizados tanto nas folhas, quanto nas sementes, impactando negativamente desde processos como a assimilação e mobilização de nutrientes na planta, acúmulo de reservas, fertilização, embriogênese, até o desenvolvimento de sementes (BEGCY; DRESSELHAUS, 2018; KILLI *et al.*, 2017; SEHGAL *et al.*, 2018). De fato, o estresse causado por déficit hídrico é uma das principais limitações para a produção agrícola ao redor do mundo. O déficit hídrico impacta vários aspectos do crescimento e desenvolvimento vegetal, como características morfológicas e anatômicas, os processos fotossintéticos, a respiração celular e o balanço hormonal

(CHEN *et al.*, 2011; HOSSAIN *et al.*, 2016). Foi observado que a ocorrência de déficit hídrico na cultura do arroz causa redução no percentual de germinação, no índice da taxa de germinação e no coeficiente de velocidade de germinação, redução do crescimento de plântulas, dos pigmentos fotossintéticos, do conteúdo de água, e da taxa fotossintética, além de induzir o incremento da produção de H₂O₂ e aumentar a peroxidação lipídica (CHEN *et al.*, 2017; SOHAG *et al.*, 2020).

O déficit hídrico é um fator importante que determina a produtividade da cultura do arroz, principalmente em áreas de várzea com inundações não contínuas, que dependem de precipitações pluviométricas. Sendo que, a seca severa coincidindo com o desenvolvimento vegetativo e com o florescimento da cultura são muito comuns e importantes nas perdas de produtividade, assim como, a ocorrência de seca moderada durante o estádio de pós-florescimento. A ocorrência de déficit hídrico antes do estádio de florescimento geralmente atrasa o período de floração da cultura do arroz, consequentemente o atraso no florescimento está negativamente relacionado com a produtividade de grãos, percentuais de panículas férteis e de grãos cheios (PANTUWAN *et al.*, 2002).

O estresse térmico por temperatura elevada ocorrido durante o período reprodutivo (gametogênese e florescimento) causa impactos irreversíveis para as plantas de arroz, sendo que a exposição em curto período de estresse que coincide com os estádios críticos, apresenta impactos equivalentes a episódios mais longos de ocorrência deste tipo de estresse (SHI *et al.*, 2015a). O aumento da temperatura altera a cinética da ribulose-1,5-bisfosfato carboxilase-oxigenase (RUBISCO), reduzindo a especificidade da enzima por CO₂ em relação ao O₂, induzindo a maior atividade oxigenase, temperaturas altas também reduzem rapidamente a solubilidade do CO₂ em relação ao O₂, resultando em maior disponibilidade de O₂ para reagir com a RUBISCO, estimulando a fotorrespiração (BUCHANAN; GRUISEM; JONES, 2015). Em plantas de arroz a ocorrência de alta temperatura causa incremento da peroxidação lipídica, seguida pelo extravasamento de eletrólitos, resultantes da maior produção de H₂O₂ (EL-ESAWI; ALAYAFI, 2019). O estresse por calor altera processos reprodutivos normais, como a deiscência de anteras, polinização, germinação dos grãos de pólen e o crescimento do tubo polínico até o ovário (SHI *et al.*, 2015b). Os impactos negativos causados pelo estresse térmico por calor são oriundos do mal dobramento e desnaturação de proteínas, impactando gravemente sobre a integridade do proteoma celular. Visto que, as proteínas mal dobradas e seus

agregados são potencialmente tóxicos para as células. Portanto, essas proteínas precisam ser redobradas, degradadas ou translocadas para compartimentos celulares especializados (SEDAGHATMEHR *et al.*, 2019). No estádio de enchimento dos grãos de arroz este tipo de estresse causa a redução no acúmulo de amido e proteínas durante o desenvolvimento da cariopse, resultando em grãos mais leves e de menor qualidade nutricional. A ocorrência do estresse térmico no estádio de enchimento de grãos aumenta amplamente a expressão de genes que codificam as proteínas do grupo das *heat shock proteins* (HSPs) (YAMAKAWA; HAKATA, 2010), as quais atuam como proteínas chaperonas conhecidas por serem fundamentais na proteção de células sob estresse térmico, pois atuam garantindo a configuração nativa e a funcionalidade de inúmeras outras proteínas celulares (WANG *et al.*, 2016b).

O aumento da variabilidade climática e episódios mais frequentes de condições extremas também resultam em plantas expostas não apenas a um único evento de seca, mas também a múltiplos estresses abióticos em diferentes períodos. Embora os estresses abióticos que ocorrem em diferentes estádios resultem em um maior risco de danos, eventos prévios de estresse podem preparar a planta para protegê-la contra estresses posteriores (LI; LIU, 2016). Estudos têm comprovado que as plantas podem reconhecer um fator estressante inicial a partir de uma exposição prévia ao estresse, sendo capazes de alterar sua resposta a um estresse subsequente. O processo envolvido no desenvolvimento de uma melhora na resposta a um estresse futuro é denominado de *priming*, esse fenômeno pode envolver o acúmulo de proteínas de sinalização nas suas configurações inativas, as quais se tornam ativas sob condição de estresse, incremento no conteúdo de prolina e glicina betaina. O efeito *priming* também pode ser resultante de alterações epigenéticas, que por sua vez, podem ser causadas pela metilação do DNA, modificação das histonas ou remodelação das cromatinas, sem que ocorram alterações na sequência de nucleotídeos (BRUCE *et al.*, 2007; QIN; XU; CI, 2017; WANG *et al.*, 2018d). O efeito *priming* tem sido estudado em diversas espécies e com diferentes fatores *priming*, como a pré-exposição ao déficit hídrico (ABDALLAH *et al.*, 2017; ABID *et al.*, 2016; QIN; XU; CI, 2017; WANG *et al.*, 2018d), a alta temperatura (FAN *et al.*, 2018; SANYAL; MISRA; SAINI, 2018; WANG *et al.*, 2014a) e a baixa temperatura (SUN *et al.*, 2018).

Baseado nos processos do efeito *priming*, existe o fenômeno conhecido como tolerância cruzada a estresses em plantas, o qual ocorre quando as respostas vegetais causadas por um primeiro período de estresse melhoram o desempenho de

resposta frente a um outro tipo de estresse, esse fenômeno pode ser desencadeado quando a planta é exposta a diferentes fatores estressantes em períodos distintos no ambiente no qual se desenvolve (FOYER *et al.*, 2016; MUNNÉ-BOSCH; ALEGRE, 2013). A tolerância cruzada a estresses apresenta importância muito significativa para as plantas. Visto que, na maioria das situações no ambiente uma planta não é exposta a apenas um fator de estresse contínuo e único, mas sim a vários outros fatores estressantes, que podem ocorrer concomitantemente ou em diferentes estádios de desenvolvimento vegetal (MUNNÉ-BOSCH; ALEGRE, 2013).

Estudos com diversas espécies de plantas submetidas a estresses primários tanto por alta, quanto baixa temperatura, mostram que quando expostas ao estresse inicial estas plantas desenvolvem tolerância cruzada a outros inúmeros estresses, como por exemplo estresse por déficit hídrico e salinidade (HOSSAIN *et al.*, 2017).

A maioria dos estudos não representam as condições de estresse esperadas para o futuro, sendo que raramente as investigações abordam os estresses por calor e déficit hídrico sob situação combinada, e muito menos sob elevada concentração de CO₂ (ZINTA *et al.*, 2014). Visto que, nos estudos que têm sido realizados sobre tolerância cruzada a estresses, apenas os efeitos dos fatores estressantes são considerados, como por exemplo déficit hídrico e alta temperatura (WANG *et al.*, 2014b), sendo que, faltam informações a respeito do impacto do aumento do CO₂ atmosférico sobre o fenômeno da tolerância cruzada ao estresse em plantas, tornando-se fundamental o desenvolvimento de estudos que foquem na integração entre a alta concentração de CO₂ e os aspectos envolvidos na tolerância cruzada a estresses.

Assim, a avaliação e a melhor compreensão dos efeitos dos componentes das mudanças climáticas, principalmente o incremento na concentração de CO₂, o aumento da temperatura e o déficit hídrico sobre a agricultura é muito importante para antecipar e adaptar práticas que possibilitem maximizar a produção agrícola nos cenários climáticos futuros. Portanto, os objetivos gerais deste estudo foram avaliar as respostas de genótipos de arroz irrigado frente ao aumento de CO₂ atmosférico, e investigar o fenômeno de tolerância cruzada entre estresses causados por déficit hídrico e por alta temperatura na cultura do arroz.

2 Revisão de literatura: Tolerância cruzada e o aumento da concentração de CO₂ atmosférico

As plantas são organismos que apresentam a capacidade de desenvolver o mecanismo de memória do estresse sofrido de maneira que, ao passarem previamente por uma condição de estresse, são capazes de armazenar informações geradas durante esse evento adverso para enfrentar de maneira eficiente outro possível estresse que possa acontecer no decorrer do seu ciclo. Neste contexto, o estresse prévio responsável por induzir a memória têm sido definido na literatura como *priming* (HILKER *et al.*, 2016; MARTINEZ-MEDINA *et al.*, 2016). Em alguns casos a memória do estresse induzida por determinado *priming* pode também ser transferida das plantas mães para as progêneres, resultando em memória de estresse intergeracional ou transgeracional (MOZGOVA *et al.*, 2019). Como visto, a memória do estresse requer o armazenamento de informações, o que nas plantas, obviamente é realizado na ausência de sistema nervoso ou cérebro central. Portanto, a memória das plantas pode ser construída através das regulações epigenéticas, via metilação do DNA e alterações nas histonas, além de regulação transcricional, modificações pós translacional, alterações nos níveis de fitormônios, fatores de transcrição e metabólitos envolvidos na sinalização de rotas metabólicas importantes envolvidas nas respostas contra estresses (BHADOURIYA *et al.*, 2021; CHANG *et al.*, 2020; CRISP *et al.*, 2016; HILKER; SCHMÜLLING, 2019).

Tem sido amplamente reportado que as plantas podem desenvolver diferentes mecanismos de memória frente a diversos tipos de estresses recorrentes, como por exemplo, estresse por seca (AULER *et al.*, 2017), alagamento (LI *et al.*, 2011), alta temperatura (BRZEZINKA; ALTMANN; BÄURLE, 2019), baixa temperatura (ZUTHER *et al.*, 2019) e salinidade (AMARAL *et al.*, 2020). Embora o maior foco das pesquisas ainda seja dado ao estudo da memória em relação a um único fator indutor de estresse que ocorre de maneira recorrente durante o ciclo, sabe-se que em condição de campo a realidade é muito mais complexa, e existe probabilidade de as plantas serem expostas a mais de um tipo de fator de estresse transiente ao longo do ciclo de vida. Neste sentido, tem sido observado que a partir de um primeiro evento de estresse (*priming*), algumas espécies desenvolvem a tolerância a um ou mais estresses abióticos ou bióticos diferentes do inicial. Este fenômeno, baseado na aquisição da memória do estresse, é conhecido na literatura como tolerância cruzada(CHUA; FITZHENRY; DALY, 2019; SONG; LEI; TIAN, 2005).

Nas plantas o fenômeno de tolerância cruzada tem sido reportado para diversos estresses, principalmente entre aqueles estresses que ativam mecanismos de respostas metabólicas iguais ou similares. Estudos mostram que a sinalização da tolerância cruzada está vinculada, entre outros componentes, ao incremento na concentração de cálcio citosólico, o qual atua como mensageiro secundário na percepção e sinalização de diversos estresses. A tolerância cruzada também é desencadeada pelo aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (ERO), com ênfase na ação do peróxido de hidrogênio (H_2O_2), através da sinalização oxidativa e da regulação associada à expressão de genes por meio de um centro de sinalização redox. Além disso, há o envolvimento dos níveis elevados de óxido nítrico, e incremento na síntese de osmólitos como prolina, glicina betaína e trealose (BARTOLI *et al.*, 2012; BOWLER; FLUHR, 2000; HOSSAIN *et al.*, 2017; LI; GONG, 2011). O H_2O_2 , apresenta papel central na tolerância cruzada sendo componente fundamental na rede de sinalização da tolerância ao estresse, uma vez que em resposta a qualquer estresse, é observado aumento da sua produção (PASTORI; FOYER, 2002; SEWELAM; KAZAN; SCHENK, 2016). Em situações de estresse cruzado, a maioria das rotas de respostas atuam para limitar a ocorrência dos danos oxidativos durante o segundo estresse. Isto pode ser a causa da ligação entre muitos fenômenos de tolerância cruzada, visto que as EROs, e consequentemente, os danos oxidativos aumentam em inúmeras respostas de estresses, bem como pode haver a interação dos estresses sobre a indução das HSPs e a sinalização hormonal (FRIEDRICH *et al.*, 2019).

Em *Arabidopsis thaliana*, por exemplo, o fenômeno de tolerância cruzada entre o estresse induzido por alta temperatura e a anóxia depende do incremento na expressão das HSPs, que por sua vez é regulada pela concentração de sacarose (BANTI *et al.*, 2008), e principalmente pelo fator de transcrição *HsfA2* (*Heat shock factor A2*), sendo que a indução inicial desta cascata de sinalização é realizada via moléculas de ERO, neste caso, especificamente pelo H_2O_2 (BANTI *et al.*, 2010).

As atividades das HSPs também podem ser consideradas primordiais para a ativação da tolerância cruzada. Estas proteínas atuam nos mecanismos de tolerância para diversos tipos de estresse (ALI; BANO; FAZAL, 2017; HASAN *et al.*, 2017; KUMAR *et al.*, 2020). O desenvolvimento da tolerância cruzada entre estresse induzido por alta e baixa temperatura em *Vitis vinifera* demanda a atividade chaperona das HSPs, uma vez que a exposição prévia tanto à alta quanto à baixa temperatura

induz maior expressão no nível transcracional e translacional de *sHSP17.6* e *HSP70*, principalmente nos cloroplastos e mitocôndrias, quando as plantas são expostas ao segundo estresse, resultando em tolerância cruzada (ZHANG *et al.*, 2008). Em *Nicotiana tabacum*, por exemplo, a *NtHSP70-1* localizada no núcleo é capaz de induzir a termotolerância e a tolerância ao déficit hídrico, pois essa proteína atua principalmente nos mecanismos de prevenção da fragmentação e degradação do DNA nuclear (CHO; CHOI, 2009). Em arroz também foi constatada a importância das HSPs sobre a tolerância entre diferentes estresses. Através da pré-exposição das plantas à alta temperatura (42°C) é desencadeada a tolerância à radiação ultravioleta B, principalmente devido ao aumento da indução de *sHSP17.7*, a qual contribui significativamente para reduzir o estresse oxidativo (MURAKAMI *et al.*, 2004). Na tolerância cruzada entre alta temperatura e toxicidade por cobre, a pré-exposição ao calor incrementa a expressão de *HSP70*, que acaba interagindo com as MAPKs (*mitogen-activated protein kinase*) durante o estresse por toxidez de cobre, resultando na inibição da apoptose celular (CHEN *et al.*, 2008). As MAPKs são conhecidas por atuarem em cascatas de sinais de respostas em diversos estresses (KUMAR *et al.*, 2021), portanto, a sua possível desativação na interação com HSP70 constitui um novo mecanismo de tolerância cruzada. Sendo assim, dois possíveis processos foram propostos para explicar este fenômeno, o primeiro considera que o estresse prévio por calor pode ativar de maneira muito rápida e transitória as MAPKs, sem que ocorra o início do processo de morte celular, e o segundo processo considera que o calor ativa MAPKs e que estas induzem o acúmulo de HSPs, que por sua vez, desativam as MAPKs durante o estresse por cobre, evitando a morte celular (CHEN *et al.*, 2008).

Os sistemas antioxidantes enzimático e não enzimático também desempenham funções fundamentais no desenvolvimento da tolerância cruzada entre alguns estresses nas plantas. O *priming* por déficit hídrico é capaz de induzir a tolerância cruzada contra o estresse por frio em plantas de *Cicer arietinum*. O mecanismo envolvido neste episódio de tolerância cruzada, além de abranger a atividade de pelo menos duas HSPs (*CaHSP18.5* e *CaHSP22.7*), também envolve o incremento na atividade de importantes enzimas antioxidantes, como a catalase, a ascorbato peroxidase e a glutationa redutase (SAINI *et al.*, 2019). Além disso, recentemente, também foi comprovado o envolvimento da *HSP18.5* e *HSP22.7* e das enzimas antioxidantes (SOD e CAT) na tolerância cruzada ao estresse por alta temperatura

(34°C), desencadeada pelo *priming* por déficit hídrico em plantas de *C. arietinum* (YADAV; JUNEJA; KUMAR, 2021).

Estudo prévio revela que a tolerância cruzada entre estresse por alta temperatura e salinidade em trigo envolve principalmente um mecanismo governado pela maior indução do sistema antioxidante enzimático, através das enzimas superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX) e catalase (CAT), acarretando na redução do teor de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), indicadores de peroxidação lipídica (LEI; SONG; FU, 2005). Aparentemente, a maior atividade de enzimas chaves envolvidas na síntese de prolina e, consequentemente, no acúmulo de prolina nos tecidos, também desempenham importante função neste caso de tolerância cruzada (SONG; LEI; TIAN, 2005). Além disso, em trigo os resultados também sugerem que o *priming* através de déficit hídrico pode desencadear tolerância cruzada transgeracional contra o estresse salino, principalmente devido ao maior acúmulo de moléculas osmoprotetoras, como a própria prolina e a glicina betaina (TABASSUM *et al.*, 2017).

Sabe-se também que a pré-exposição das plantas de trigo à seca durante a fase do alongamento de caule desencadeia a tolerância cruzada ao estresse por calor na fase de enchimento de grãos, sendo obtida maior produtividade nas plantas submetidas previamente à seca em relação àquelas que são expostas apenas ao estresse térmico. Possivelmente, isso é devido ao menor dano no aparato fotossintético, mantendo relativamente alta a taxa de assimilação de CO₂ das plantas submetidas previamente ao estresse no estádio vegetativo (WANG *et al.*, 2014b).

A salinidade e o déficit hídrico causam certos efeitos similares nas células vegetais como, por exemplo, o desequilíbrio iônico e a hiperosmoticidade, prejudicando principalmente a eficiência do aparato fotossintético. Entretanto, foi descoberto que o *priming* via estresse salino reduz os danos causados pela exposição sequencial ao estresse induzido por déficit hídrico através da aclimatação da fotossíntese, possivelmente pelo fato do *priming* possibilitar a indução do *quenching* não fotoquímico no fotossistema II, o aumento da capacidade de transporte de elétrons pela plastoquinona, e a manutenção do fluxo cíclico de elétrons e da atividade da ATP Sintase (YANG *et al.*, 2020).

Estudo realizado com arroz (*Oryza sativa*), avaliando a ocorrência da tolerância cruzada ao estresse salino através do *priming* via exposição à radiação ultravioleta B, mostra que o estresse prévio induz uma cascata de sinalização que ativa a maquinaria

antioxidante e permite melhorar a capacidade da planta em suportar a salinidade, especificamente pela maior atividade da SOD, CAT e APX. Além disso, os autores sugerem que quando o *priming* ocorre sobre a semente possivelmente há o acúmulo de fatores de transcrição, metabólitos protetores e alterações epigenéticas que contribuem de forma eficiente para a tolerância cruzada (DHANYA THOMAS; DINAKAR; PUTHUR, 2020).

Apesar dos avanços significativos sobre a compreensão do fenômeno de tolerância cruzada em plantas, o conhecimento em relação ao impacto do elevado CO₂ atmosférico sobre este fenômeno ainda não está elucidado.

O aumento da concentração atmosférica de CO₂ pode afetar diretamente os processos fisiológicos da fotossíntese e da transpiração das plantas. As respostas fisiológicas ao CO₂ variam dependendo das espécies, e em particular, entre duas rotas diferentes de fotossíntese, denominadas C3 e C4. Em plantas C3, a enzima RUBISCO não apresenta saturação por CO₂ nas condições atmosféricas atuais. Portanto, nas concentrações crescentes de CO₂ as plantas são capazes de aumentar a fixação líquida de carbono e, consequentemente, o crescimento vegetal (GORNALL *et al.*, 2010). Isto ocorre pelo fato de que a elevada concentração de CO₂ apresenta dois efeitos diretos sobre a fisiologia das plantas C3. O primeiro efeito ocorre sobre a atividade da enzima RUBISCO. A elevada concentração de CO₂ estimula a fotossíntese através do aumento da velocidade da reação de carboxilação da RUBISCO, além de reduzir as perdas de CO₂ pela fotorrespiração ao diminuir a velocidade da reação competitiva de oxigenação desta enzima. Um segundo efeito fisiológico direto é a redução da condutância estomática, o que consequentemente melhora a eficiência no uso da água. A curto prazo, geralmente ocorre a redução da abertura estomática em resposta a elevada concentração de CO₂, via sinalização por ABA através de receptores PYR/RCARs e ativação de canais de ânions tipo-S (SLAC1) (AINSWORTH; ROGERS, 2007; HSU *et al.*, 2018; MERILO *et al.*, 2013). A longo prazo, a redução da condutância estomática é causada tanto pela diminuição da abertura estomática, quanto pela redução da densidade estomática nas folhas novas, desenvolvidas sob alto CO₂. Sob elevado CO₂ a inibição do desenvolvimento estomático é regulada por mecanismos que ainda vêm sendo elucidados. Inicialmente foi constatado que uma enzima denominada 3-ceto acilcoenzima A sintase, codificada pelo gene *H/C*, possui a capacidade de inibir o desenvolvimento estomático, assim como *CIS1* (CO₂ insensitive 1) atua como componente importante na inibição da rota

de sinalização do desenvolvimento estomático em elevado CO₂, causando redução da densidade estomática (GRAY *et al.*, 2000; HABERMANN *et al.*, 2019; HE *et al.*, 2018; ZHENG *et al.*, 2019).

Além disso, vários outros processos fisiológicos são regulados indiretamente pela condição de cultivo em atmosfera com elevada concentração de CO₂, principalmente pelas vias de percepção e sinalização dos carboidratos (THOMPSON *et al.*, 2017). Um exemplo disso é a regulação dos níveis de fitormônios, como a citocinina. O incremento na biossíntese de citocininas em elevado CO₂ é um processo diretamente regulado por carboidratos gerados durante a fotossíntese, de maneira que estes carboidratos induzem a expressão de dois importantes genes envolvidos na rota de biossíntese das citocininas (*AtIPT3 - adenosine phosphate-isopentenyltransferase* e *CYP735A2 - cytochrome P450 monooxygenase gene*) (KIBA *et al.*, 2019). Foi constatado que o incremento de CO₂ também induz aumento da biossíntese das auxinas e estrigolactonas nos ramos e no sistema radicular, respectivamente. Estes dois fitormônios atuam em uma cascata de sinalização sistêmica redox via auxina-estrigolactona que facilita a simbiose entre plantas e fungos micorrízicos arbusculares, o que consequentemente favorece o incremento na eficiência de utilização do fosfato (ZHOU *et al.*, 2019). O incremento de CO₂ também altera os níveis de ácido jasmônico em plantas submetidas a herbivoria. Recentemente foi observado que a expressão dos genes *LOX* (*lipoxygenase*), *AOS* (*allene oxide synthase*), *AOC* (*allene oxide cyclase*) e *JAR* (*jasmonic acid resistance*) envolvidos na rota de biossíntese do ácido jasmônico, bem como os níveis deste fitormônio, são impactados pelo incremento de CO₂ atmosférico, entretanto, os resultados são dependentes da espécie em questão. Em plantas de *Nicotiana tabacum*, por exemplo, o elevado CO₂ induz o incremento nos níveis de ácido jasmônico, o que proporciona maior resistência ao ataque de insetos, como lagartas da espécie *Spodoptera litura*. Por outro lado, em plantas de melão o elevado CO₂ decresce os níveis de ácido jasmônico, ao ponto de causar redução na resistência contra a herbivoria de *Diaphania indica* (ZHANG *et al.*, 2020b).

Estudos também têm esclarecido o envolvimento do elevado CO₂ sobre o metabolismo de assimilação do nitrogênio. O elevado CO₂ induz o incremento na produção de óxido nítrico por meio de uma via dependente da enzima óxido nítrico sintase, esta molécula por sua vez, impacta diretamente a modulação da atividade de enzimas envolvidas na assimilação do nitrato e na arquitetura e crescimento do

sistema radicular (ADAVI; SATHEE, 2019). Relacionado ao metabolismo de nitrogênio foi descoberto que o aumento do CO₂ reduz a atividade das enzimas nitrato redutase e glutamato sintase (GOGAT) nos tecidos foliares, ao passo que incrementa a atividade destas mesmas enzimas nas raízes, de tal maneira esse comportamento evidencia que sob elevado CO₂ a assimilação de nitrato e amônia no sistema radicular é menos afetada do que em tecidos foliares (ADAVI; SATHEE, 2021).

Em plantas que apresentam o metabolismo C4 a elevada concentração de CO₂ não estimula diretamente os processos fotossintéticos (LEAKEY *et al.*, 2012), uma vez que plantas C4 apresentam um mecanismo intrínseco que permite aumentar a concentração de CO₂ próximo ao local da atividade da enzima RUBISCO, para um nível em torno de 2000 ppm (KORRES *et al.*, 2016). Além disso, plantas C4 são saturadas por CO₂ a uma menor concentração interna deste gás (Ci), devido a presença da enzima PEPcarboxilase, a qual apresenta alta afinidade por HCO₃⁻ oriundo da conversão do CO₂ (KUMAR, 2016; TAIZ *et al.*, 2017).

Estudos mostram que o aumento do CO₂, além de estimular o crescimento vegetal devido principalmente pelo incremento na fixação de carbono, pode também contribuir para mitigar os impactos causados por diferentes estresses abióticos (ABDELGAWAD *et al.*, 2016). Um amplo estudo realizado com *A. thaliana* mostra que o aumento do CO₂ pode mitigar os impactos do estresse causado pelo déficit hídrico e por ondas de calor. A condição de elevado CO₂ é capaz de reduzir os impactos dos estresses em um nível multiorganizacional. Análises bioquímicas e transcriptômicas indicam que o efeito do elevado CO₂ tem impacto importante sobre a redução da fotorrespiração e alterações no metabolismo redox, com maior síntese de compostos antioxidantes, como os polifenóis, o ascorbato e uma maior atividade da enzima catalase, melhorando a detoxificação de ERO nas células (ZINTA *et al.*, 2014). De maneira similar o estudo realizado por Zhang *et al.* (2019) revelou que o elevado CO₂ atmosférico é capaz de mitigar os efeitos deletérios causados pelo estresse térmico por alta temperatura em plantas de *Solanum lycopersicum*. Sob está condição ocorre incremento nos transcritos de *RBOH1* (*RESPIRATORY BURST OXIDASE 1*) resultando no acúmulo de H₂O₂ nas células guardas. O H₂O₂ acaba desempenhando uma função primordial sobre o controle estomático, de tal maneira que possibilita a manutenção do equilíbrio entre a retenção de água e a perda de calor durante o estresse térmico.

Segundo resultados reportados por Naudts *et al.* (2013), o aumento na temperatura e o elevado CO₂ combinados apresentam efeito positivo para compensar a redução na produção de biomassa causada pela seca em *Lolium perenne* e *Plantago lanceolata*, duas espécies com metabolismo fotossintético C3. Também em plantas de *L. perenne* o efeito da seca foi menor em plantas cultivadas sob elevado CO₂, evidenciando o efeito protetivo do aumento de CO₂ em termos de danos oxidativos em proteínas e membranas (FARFAN-VIGNOLO; ASARD, 2012). Segundo Li *et al.* (2019), frente a um estresse térmico por alta temperatura o incremento de CO₂ também impacta de maneira positiva o metabolismo de plantas de milho, contribuindo principalmente para minimizar os efeitos do estresse sobre a taxa de assimilação do carbono. O CO₂ age de forma a amplificar a expressão gênica de algumas HSPs, como por exemplo *HSP1* e *CPN2* (ortóloga de *HSP60* em *Arabidopsis*). Essas HSPs atuam como chaperonas para evitar a desnaturação de enzimas plastídicas importantes, com destaque para a RUBISCO, possibilitando a manutenção e maior eficiência do metabolismo fotossintético.

A elevada concentração de CO₂ é capaz de neutralizar o impacto negativo do estresse salino sobre a fotossíntese e a produção de biomassa em plantas de tomateiro (*S. lycopersicum*), envolvendo o incremento no nível de transcritos *RBOH1* e aumento dos níveis de H₂O₂ nos tecidos, os quais estão envolvidos na homeostase de sódio nas células, na melhoria da manutenção do conteúdo de água da planta através do fechamento estomático, e ainda possivelmente na mitigação através da ativação de rotas integradas de detoxificação. Juntas estas respostas são capazes de aumentar a tolerância ao estresse salino (TAKAGI *et al.*, 2009; YI *et al.*, 2015). Além disso, um outro estudo revela que o elevado CO₂ atua na modulação da interconversão de poliaminas endógenas, aumentando a concentração de espermidina e espermina em detrimento da putrescina. Estas poliaminas podem atuar modulando o sistema antioxidante enzimático, incrementando a atividade da SOD, CAT e POD, as quais removem os radicais livres (ZHANG *et al.*, 2020e). Além disso, também foi constatado que a espermidina é capaz de inibir o aumento da razão Na⁺/K⁺. Portanto, estes mecanismos integrados são capazes de melhorar a tolerância à salinidade (WU *et al.*, 2018, WU *et al.*, 2020).

Em plantas de *Cucumis sativus*, o enriquecimento de CO₂ propicia melhora significativa na tolerância ao estresse salino principalmente por causar impacto direto sobre o metabolismo de carboidratos não estruturais. O elevado CO₂ aumenta a

produção de hexoses, pois incrementa a atividade das invertases que hidrolisam a sacarose. E ainda promove o incremento no acúmulo de amido, piruvato e ácido cítrico, bem como incrementa a atividade das enzimas hexoquinase, piruvato quinase, succinato desidrogenase e malato desidrogenase, sendo assim, esse ajuste entre substratos e enzimas permite aumentar a eficiência metabólica da glicólise e do ciclo do ácido tricarboxílico, fornecendo energia e intermediários para manutenção dos processos metabólicos celular durante o estresse salino (LI *et al.*, 2020). Além disso, o elevado CO₂ incrementa a atividade das H⁺-ATPases da membrana plasmática e da membrana vacuolar regulando o bombeamento de prótons e promovendo o efluxo de Na⁺ para o apoplasto e a compartimentalização no vacúolo em condições de estresse salino, o que melhora a atividade radicular, a condutividade hidráulica e a absorção de água (LI *et al.*, 2019b).

Um estudo revelou que plantas de videira (*Vitis vinifera*) cultivadas em elevado CO₂, com elevada temperatura e submetidas à seca moderada não foram afetadas por danos oxidativos, possivelmente devido à alta taxa de consumo de elétrons durante a fixação fotossintética do carbono, evitando assim, que o excesso de elétrons gerado em condições de estresse reaja com o O₂ e produza uma quantidade excessiva e desequilibrada de ERO nas células (SALAZAR-PARRA *et al.*, 2012). A alta concentração de CO₂ também se mostra eficiente na mitigação dos efeitos do déficit hídrico em plântulas de *C. sativus*. Em condições de seca o elevado CO₂ atua em mecanismos fisiológicos importantes para aliviar os efeitos do estresse, como o incremento na síntese de ferredoxina, que pode resultar na maior eficiência do transporte de elétrons fotossintéticos. O CO₂ atua também na regulação negativa das enzimas da rota de biossíntese das clorofilas, como a magnésio quelatase, o que contribui para limitar a absorção de energia solar em excesso. Além disso, há uma melhora na atividade do sistema antioxidante, principalmente devido ao incremento na atividade da SOD e incremento do conteúdo de prolina, a qual age no ajuste osmótico celular, e por fim ocorre a redução no acúmulo de substâncias tóxicas (CUI *et al.*, 2019a).

Na combinação com déficit hídrico, o elevado CO₂ atua na regulação sobre a expressão de diversos genes, como o *HPT1* (*Homogentisate Phytoltransferase 1*) que codifica a enzima que participa da síntese de tocoferol, um importante agente antioxidante lipossolúvel. Além disso, o CO₂ também proporciona a mitigação dos efeitos da seca através de respostas fisiológicas diretas, como a redução da

condutância estomática, que resulta no aumento da eficiência no uso da água, a qual por exemplo, mantém a atividade fotossintética de plantas de soja durante o período de déficit hídrico (BENCKE-MALATO *et al.*, 2019). O incremento de CO₂ atmosférico também reduz a perda de água, mantendo a hidratação das folhas de plantas de *Agrostis stolonifera* submetidas ao déficit hídrico. Neste caso o elevado CO₂ ainda impacta na regulação dos níveis endógenos de alguns fitormônios, como por exemplo no incremento do conteúdo de ácido jasmônico, o qual é reconhecido por apresentar importante função de defesa celular contra estresses. A isopentanil adenosina, uma forma predominante de citocinina em gramíneas, também foi incrementada pelo elevado CO₂, mantendo o estímulo da produção de perfilhos mesmo sob condição de déficit hídrico (BURGESS *et al.*, 2019).

Estudo realizado com café (*Coffea arabica*) mostra que a alta concentração de CO₂ induz incremento significativo na expressão de genes das aquaporinas (*CaTIP1*, *CaPiP1* e *CaPiP2*) quando as plantas são submetidas ao déficit hídrico, em comparação com a expressão na concentração normal de CO₂. Como resultado, o aumento na abundância de aquaporinas possibilita a manutenção da condutância hidráulica das plantas submetidas ao estresse por seca e, por fim, possibilita a mitigação parcial dos impactos negativos do déficit hídrico (AVILA *et al.*, 2020). Já em *Solanum tuberosum*, o elevado CO₂ induz maior tolerância ao déficit hídrico principalmente através do estímulo diferenciado sobre a síntese de rafinose, carboidrato que atua no ajuste osmótico das células durante o período de estresse (BARNABY *et al.*, 2019).

Como visto inicialmente, os estudos referentes ao fenômeno de tolerância cruzada a estresses que consideram o aumento do CO₂ como fator importante são ainda incipientes. Portanto, a partir de estudos que mostram efeito do aumento de CO₂ na mitigação de impactos negativos causados por diversos estresses elencados aqui, sugere-se que o aumento deste gás na atmosfera também poderá interferir positivamente sobre a ocorrência da tolerância cruzada a estresses em plantas.

3 Capítulo 1 - Caracterização e seleção de genótipos de arroz irrigado responsivos ao aumento da concentração de CO₂ atmosférico

3.1 Introdução

A cada ano que passa a projeção construída por estudiosos de diversas áreas da ciência sobre a taxa de incremento da concentração de dióxido de carbono (CO₂) na atmosfera terrestre vem sendo confirmada através de dados obtidos e apresentados pelo *Global Monitoring Laboratory - National Oceanic and Atmospheric Administration* (<https://www.esrl.noaa.gov/gmd/ccgg/trends/>), o qual nos mostra que no ano de 2020 a concentração de CO₂ atingiu o valor de 413 ppm, ou seja, cerca de 133 ppm acima da concentração observada no período pré-industrial (GRÜNZWEIG; DUMBUR, 2012; SCHEFFER; BROVKIN; COX, 2006). Modelos utilizados para traçar cenários para o final deste século, considerando diferentes esforços de ações de mitigação sobre a emissão de gases do efeito estufa, mostram que a concentração de CO₂ poderá atingir 936 ppm em 2100 (HAYHOE *et al.*, 2017; IPCC, 2013).

O CO₂ é o substrato primário para a fotossíntese das plantas, a fixação do CO₂ da atmosfera em compostos orgânicos é processo fundamental para a manutenção da vida na biosfera (GAMAGE *et al.*, 2018; LAWLOR; MITCHELL, 1991; TAIZ *et al.*, 2017; YAMORI; HIKOSAKA; WAY, 2014). Neste sentido, talvez os únicos aspectos positivos do incremento desse gás na atmosfera sejam seus efeitos sobre as plantas, destacando principalmente o efeito sobre a redução da condutância estomática, a qual resulta em maior eficiência no uso da água pelas plantas, e o impacto direto sobre o incremento da fotossíntese de plantas, especialmente com metabolismo C3 (KUMAR, 2016). As plantas C3 em condição de luz adequada necessitam, em geral, cerca de 800 a 1000 ppm de CO₂ para alcançar a saturação da fotossíntese (LAWLOR; MITCHELL, 1991). Então, sob a concentração atual de CO₂ atmosférico a enzima RUBISCO em espécies C3 normalmente não atinge a saturação de carboxilação. Portanto, o incremento do CO₂, consequentemente causa aumento na taxa de assimilação de CO₂ e, além disso, pode acarretar na redução ou inibição das reações de oxigenação desta enzima, reduzindo assim, as perdas pelo processo de fotorrespiração (MCGRATH; LOBELL, 2013; MIYAGI *et al.*, 2019).

Devido à importância mundial deste assunto, principalmente quando se trata da temática da demanda futura de incremento na produção de alimentos para suprir

as necessidades da população mundial cada vez maior e com aumento do consumo *per capita*, nas últimas décadas têm sido desenvolvidos inúmeros estudos visando melhor compreender os impactos do aumento da concentração de CO₂ sobre o crescimento e desenvolvimento de diversas espécies vegetais (KIMBALL; KOBAYASHI; BINDI, 2002; KIMBALL, 2016).

Como visto, sabe-se que teoricamente, de maneira geral, as espécies que possuem metabolismo do tipo C3, como a própria espécie *Oryza sativa*, respondem positivamente, melhorando o crescimento e produtividade em elevado CO₂ na atmosfera. No entanto, estudos mostram que nem sempre este comportamento esperado é observado na prática, sendo que em muitos casos já se constatou alta variabilidade de resposta ao CO₂ entre diferentes espécies C3 (KACIENĘ *et al.*, 2017; POORTER, 1993) e até mesmo significativa variabilidade intraespecífica em culturas como arroz (*O. sativa L.*) (ZHU *et al.*, 2014), soja (*Glycine max L.*) (SICHER; BUNCE; MATTHEWS, 2010; SOARES *et al.*, 2019), algodão (*Gossypium hirsutum L.*) (BROUGHTON *et al.*, 2017), trigo (*Triticum aestivum L.*) (ESHGHIZADEH; ZAHEDI; MOHAMMADI, 2018), feijão (*Phaseolus vulgaris L.*) (BUNCE, 2008) e quinoa (*Chenopodium quinoa Willd.*) (BUNCE, 2017).

Em levantamento recente abrangendo 90 estudos, os quais avaliaram a variabilidade intraespecífica das plantas em elevado CO₂, foi constatado que apenas 15 culturas foram alvo destas pesquisas, sendo que destes 90 trabalhos, 43% deles foram conduzidos para avaliar apenas dois genótipos. Portanto, considerando a grande diversidade genética encontrada em espécies de culturas comerciais, nota-se que estes estudos foram capazes de caracterizar as respostas de um baixo percentual das cultivares e linhagens conhecidas das principais culturas ao redor do mundo (SHIMONO *et al.*, 2018), de tal maneira limitando a obtenção de variabilidade de recursos genéticos frente ao elevado CO₂.

Em estudo realizado com quatro genótipos de arroz foi observado ampla variabilidade sobre a responsividade das plantas ao CO₂, neste caso foi constatado incremento de até 50% no acúmulo de massa seca no genótipo Deylamani, porém o genótipo denominado Shiroudi respondeu negativamente ao elevado CO₂, implicando em redução de 34% no acúmulo de massa seca em relação as plantas cultivadas em CO₂ ambiente (KAZEMI; ESHGHIZADEH; ZAHEDI, 2018). Em outro estudo, também avaliando genótipos de arroz, uma grande variabilidade foi observada em relação às respostas de produtividade de grãos em condição de elevado CO₂, de maneira que

foi constatado uma faixa de incremento variando de 3 a 36% na produtividade entre os genótipos avaliados (HASEGAWA *et al.*, 2013). De acordo com Ziska *et al.* (1996), essa variabilidade intraespecífica pode ser utilizada para selecionar cultivares superiores, visando maximizar a produtividade das culturas em ambientes com elevado CO₂.

Alguns estudos vêm demonstrando que sob níveis das concentrações de CO₂ projetadas para a segunda metade deste século, poderão ser alcançados incrementos substanciais em produtividade, seja através de seleção ativa ou no desenvolvimento de material vegetal responsável em ambientes com elevado CO₂. Porém, ainda são relativamente incipientes as pesquisas sistemáticas avaliando a variabilidade intraespecífica em relação ao rendimento sob níveis elevados de CO₂ atmosférico dentro de uma espécie cultivada (ZISKA *et al.*, 2012). Alguns parâmetros fenotípicos e fisiológicos têm sido estabelecidos por pesquisadores para caracterizar os genótipos quanto à responsividade ao incremento de CO₂. Dentre os principais marcadores utilizados, está a taxa fotossintética das plantas, os componentes de produtividade (nímeros de perfilhos e panículas por área, número de espiguetas por panícula e peso de grãos), assim como, a capacidade de dreno, que consiste no produto do número de espiguetas e peso de grãos (HASEGAWA *et al.*, 2013; HU; WANG; YANG, 2020; LV *et al.*, 2020).

A capacidade dreno tem sido o principal parâmetro atribuído à alta capacidade de resposta que alguns genótipos apresentam frente ao incremento de CO₂ (HASEGAWA *et al.*, 2013). Em plantas de arroz responsivas, o elevado CO₂ contribui para aumento na densidade de panículas, número de espiguetas por panícula e densidade de espiguetas, os quais são componentes de rendimento relacionados diretamente com a força dreno das plantas (HASEGAWA *et al.*, 2019; NAKANO *et al.*, 2017). Quando os tecidos drenos não são capazes de acumular a grande quantidade de fotoassimilados sintetizados pelas plantas em ambiente com elevado CO₂, acaba ocorrendo acúmulo de carboidratos nos tecidos fotossintéticos e, como consequência, é desencadeada uma redução da fotossíntese via cascata de inibição por *feedback* (AINSWORTH *et al.*, 2004; GAMAGE *et al.*, 2018). Portanto, àquelas plantas que apresentam maior capacidade de força dreno conseguem manter a taxa fotossintética elevada durante o desenvolvimento em alto CO₂, principalmente após a antese, podendo assim resultar também no aumento de produtividade.

No Brasil ainda são poucos os estudos realizados para elucidar os efeitos do aumento do CO₂ sobre as plantas, sobretudo pesquisas que visem caracterizar e selecionar genótipos sensíveis aos níveis crescentes de CO₂ atmosférico. Portanto, o desenvolvimento de trabalhos com objetivo de entender e aprofundar o conhecimento a respeito do impacto do aumento de CO₂ atmosférico sobre genótipos cultivados no Brasil se faz necessário. Neste sentido, estudos que visam caracterizar genótipos de arroz mais responsivos ao elevado CO₂ apresentam-se como ferramenta para a obtenção de material genético que possam ser direcionados para bancos de germoplasma de programas de melhoramento de arroz destinados ao cultivo em cenários de mudanças climáticas.

Pesquisas relacionadas ao estudo dos impactos do incremento de CO₂ atmosférico sobre as plantas demandam a utilização de grande volume de CO₂ e estruturas especializadas, como câmaras de topo aberto (*open top chambers – OTC*) e os sistemas FACE's (*Free-air CO₂ enrichment*), as quais são equipadas com sistemas de injeção e controle do CO₂. Neste sentido, experimentos desta linha de pesquisa tornam-se onerosos. Assim, na maioria das pesquisas a avaliação de espécies e genótipos se torna bastante limitada. Uma vez vista a dificuldade de avaliar a variabilidade intraespecífica observada nas espécies, têm sido proposto novo método a partir da realização de um *pre-screening* de genótipos em larga escala à campo, objetivando pré-selecionar somente aqueles genótipos que possam apresentar potencial real para uma resposta positiva em relação ao aumento do CO₂ atmosférico, para então serem validados em ambiente com enriquecimento controlado de CO₂ (SHIMONO, 2011).

O método de *pre-screening* que tem sido proposto é baseado na plasticidade fenotípica das plantas, no qual diferentes densidades de plantas são utilizadas para avaliar a plasticidade de cada genótipo. A baixa densidade de plantas reduz a competição intraespecífica e aumenta potencialmente a disponibilidade de recursos, como luz solar, água e nutrientes para cada planta. No método de *pre-screening* é proposto que o uso da baixa densidade de plantas pode mimetizar a maior disponibilidade de recurso, assim como ocorre em uma situação de cultivo em alto CO₂, onde há uma maior disponibilidade deste recurso para a fotossíntese (KIKUCHI *et al.*, 2017). O método de *pre-screening* pode favorecer para reduzir custos do processo de seleção de genótipos mais responsivos ao aumento do CO₂ atmosférico. No entanto, segundo Shimono *et al.* (2014) o parâmetro escolhido pode limitar o

potencial de resposta deste método. Em seu estudo, foi estabelecido o número de panículas por planta como o parâmetro de avaliação. Porém, há uma necessidade de realizar a fenotipagem direcionada para produtividade de grãos, em vez do número de panículas. Visto que, apesar do número de panículas ser um componente de produtividade determinante para a produtividade em arroz, a capacidade de resposta em relação ao número de panículas nem sempre apresenta correlação positiva com a produtividade de grãos (SHIMONO *et al.*, 2014). Sendo assim, a caracterização de genótipos pelo *pre-screening* em baixa densidade de plantas utilizando o parâmetro de número de panículas pode, em certo ponto, distorcer as respostas de determinado genótipo em relação a produtividade de grãos.

Portanto, neste estudo o enfoque foi especificamente direcionado para avaliar a capacidade de resposta, em termos de produtividade de grãos, das plantas de arroz cultivadas em baixa densidade em relação à densidade normal. E ainda, compreender as respostas ao aumento de CO₂ naqueles genótipos que não atingem seu potencial produtivo em baixa densidade de cultivo a campo.

Além da caracterização e seleção de genótipos responsivos ao incremento de CO₂ em termos de produtividade de grãos, outro aspecto importante a ser elucidado é o efeito deste gás sobre a qualidade das sementes produzidas por plantas cultivadas na condição de elevado CO₂. Sabe-se que as condições ambientais de crescimentos de plantas parentais como a temperatura, radiação solar, umidade e disponibilidade de nutrientes influenciam a qualidade e germinabilidade das sementes. Neste sentido, as diferentes condições de CO₂ também devem ser consideradas na avaliação da qualidade de sementes produzidas (BAI *et al.*, 2003). Porém, este tema tem sido pouco abordado e elucidado nos estudos com arroz em elevado CO₂.

Alguns estudos mostram que o aumento do CO₂ atmosférico pode afetar a qualidade das sementes produzidas nesta condição, com subsequente impacto no processo de germinação. Entretanto, se sabe também que esse efeito transgeracional do CO₂ sobre a germinação nem sempre é claro, e muitas vezes dependente das espécies e genótipos em questão (MARTY; BASSIRIRAD, 2014).

Um estudo realizado com espécies monocotiledôneas e dicotiledôneas mostrou que plantas oriundas de sementes produzidas por plantas-mães cultivadas em alto CO₂ apresentam baixa performance na emergência de plântulas, além de causar redução no acúmulo de biomassa e na concentração de proteínas. Estes efeitos sobre a progênie podem estar diretamente relacionados com alterações no tamanho e na

qualidade das sementes produzidas em elevado CO₂ (GRÜNZWEIG; DUMBUR, 2012). Já as sementes de *Bromus erectus* oriundas de plantas-mães submetidas ao elevado CO₂ apresentam maior acúmulo de massa (9,1%) e aumento de 9,6% na relação C/N em relação a sementes obtidas de plantas cultivadas em condição normal de CO₂. Porém, os incrementos nestes aspectos não surtiram efeito sobre a germinação das sementes progênies. Além disso, apesar das sementes produzidas em elevado CO₂ apresentarem maior massa, suas plântulas foram menores em comparação às plântulas de sementes produzidas em CO₂ ambiente, possivelmente devido ao fato de que o tamanho da plântula possa ser determinado pela concentração total de nutrientes, principalmente o nitrogênio, e não pela massa da semente (STEINGER; GALL; SCHMID, 2000). Portanto, o aumento na relação C/N causado pelo elevado CO₂ atmosférico pode levar à redução do teor de proteínas e assim reduzir a viabilidade das sementes (ANDALO *et al.*, 1996).

Um dos primeiros estudos desenvolvidos para avaliar o efeito do aumento do CO₂ sobre a qualidade fisiológica de sementes de arroz foi realizado em 2015, segundo Chen *et al.* (2015), o incremento de CO₂ causa redução na concentração de nitrogênio e conteúdo de proteínas das sementes, porém tais alterações químicas não interferem na qualidade das sementes das cultivares avaliadas. Entretanto, neste estudo as concentrações elevadas de CO₂ utilizadas para o cultivo das plantas-mães foram 571 e 588 ppm. Assim, destaca-se a importância de ampliar o conhecimento desta abordagem na qualidade de sementes produzidas em ambientes com concentrações mais elevadas de CO₂, dentro dos limites projetados e ainda abrangendo mais genótipos.

Desta forma, neste estudo foram testadas três hipóteses: 1. Os genótipos de arroz irrigado que apresentam maior produtividade de grãos em baixa densidade de plantas em relação a densidade normal, também respondem com maior incremento de produtividade em ambiente com elevada concentração de CO₂; 2. Genótipos brasileiros de arroz-irrigado apresentam alta variabilidade de resposta quando cultivados em atmosfera com e[CO₂]; 3. O efeito prévio da e[CO₂] sobre as plantas-mães, impacta negativamente a germinação das sementes e o crescimento inicial de plântulas da progénie.

Com base no que foi exposto os objetivos deste estudo foram validar um método de *pre-screening* a campo sem enriquecimento do ar com CO₂, visando justamente pré-selecionar genótipos potencialmente responsivos ao elevado CO₂,

baseado na maior resposta de produtividade de genótipos cultivados em baixa densidade em relação a sua produtividade em densidade normal. Também objetivou-se caracterizar e selecionar genótipos de arroz irrigado em relação às respostas ao cultivo em ambiente com enriquecimento de CO₂; e posteriormente avaliar a qualidade de sementes obtidas de plantas de genótipos de arroz cultivadas em ambiente com diferentes níveis de CO₂.

3.2 Material e métodos

3.2.1 Experimento de *Pre-screening*:

O experimento foi realizado na safra 2016/17 na área experimental da Embrapa Clima Temperado na Estação Terras Baixas, localizada no município de Capão do Leão (latitude: 31°48'S e longitude: 52°24'W) – Estado do Rio Grande do Sul. A região apresenta clima subtropical úmido (Cfa) de acordo com a classificação climática de Köppen. A semeadura do experimento foi realizada em 24 de novembro de 2016. O solo da área experimental é caracterizado como PLANOSSOLO HÁPLICO Eutrófico (EMBRAPA, 2018) com as seguintes características físico-químicas: pH 5,2, cálcio (2,5 cmol_c dm⁻³), magnésio (1,3 cmol_c dm⁻³), fósforo (25,3 mg dm⁻³), potássio (83 mg dm⁻³), 1,7% de matéria orgânica, 16% de argila, CTC_{pH7} (6,8) e saturação por bases de 59%.

Para o desenvolvimento deste estudo foram utilizados 32 genótipos de arroz (Tabela 1) provenientes dos programas de melhoramento da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), Instituto Riograndense do Arroz (IRGA) e da Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI), semeados em duas densidades, uma semeadura com densidade de 50 kg ha⁻¹ (considerada como baixa densidade de semeadura) e 100 kg de sementes ha⁻¹, considerada neste estudo como semeadura de densidade normal, proporcionando uma população inicial média de 148 e 242 plântulas m⁻², respectivamente para cada densidade.

Tabela 1 - Genótipos de arroz irrigado oriundos dos programas de melhoramento genético de arroz da EMBRAPA, IRGA e EPAGRI

EMBRAPA	Origem	
	IRGA	EPAGRI
		Genótipos
A 701 CL	BR-IRGA 409	EPAGRI 106
AB 11502	BR-IRGA 410	EPAGRI 109
BRS 358	BR-IRGA 413	SCS 112
BRS ATALANTA	BR-IRGA 414	SCS 115 CL
BRS FIRMEZA	IRGA 416	SCS 117 CL
BRS PAMPEIRA	IRGA 417	SCS 118 MARQUES
BRS PELOTA	IRGA 422 CL	SCS 121 CL
BRS QUERÊNCIA	IRGA 423	SCS 681
BRS SINUELO CL	IRGA 424 RI	SCS ÔNIX
LTB 15057	IRGA 425	SCS BRS TIO TAKA
	IRGA 428	
	IRGA 430	

A semeadura foi realizada com semeadora de parcelas experimentais, sendo cada parcela constituída por 4 linhas com 3 m de comprimento e com espaçamento de 17 cm entrelinhas. O experimento foi instalado no sistema convencional de cultivo do arroz irrigado e durante a condução do ensaio foram realizados tratos culturais conforme recomendações técnicas para a cultura do arroz irrigado no Rio Grande do Sul (SOSBAI, 2016).

A adubação do ensaio foi realizada em três etapas, a primeira no momento da semeadura na qual foi realizada adubação de base com aplicação de 300 kg ha⁻¹ de adubo formulado, contendo na formulação 5% de nitrogênio (N), 20% de fósforo (P₂O₅) e 20% de potássio (K₂O). As adubações de cobertura foram realizadas no estádio vegetativo 4 (V4) com aplicação de 90 kg ha⁻¹ de N, na forma de ureia (45% N), e no estádio de diferenciação da panícula (R1) quando foram aplicados mais 90 kg ha⁻¹ N. A irrigação por inundação foi imposta logo após a aplicação de ureia no estádio V4, com lâmina de água com cerca de 10 cm de altura, a qual foi mantida até o estádio de maturação da cultura.

O experimento foi conduzido em delineamento de blocos casualizados com quatro repetições. A data de floração foi acompanhada em cada genótipo, definida como a data em que acima de 50% das panículas atingiram a antese. Com os dados de data da antese, foi determinado o período de dias da emergência até a antese. Na maturação da cultura foi determinada a produtividade de grãos. Para quantificar a

produtividade de grãos foi realizada a colheita manual com foice, foram colhidas duas linhas centrais com 2 m de comprimento (totalizando área útil de 0,68 m²) em cada repetição, o material colhido foi imediatamente trilhado em trilhadora mecânica para obtenção dos grãos em casca, em seguida os grãos foram pesados e na sequência foi aferida a umidade dos grãos através de um medidor de umidade de grãos (G650 - GEHAKA®). A umidade dos grãos foi corrigida para 13% e a produtividade de grãos expressa em Kg ha⁻¹.

Primeiramente foram estabelecidos dois critérios básicos para selecionar genótipos candidatos para validação em ambiente enriquecido com CO₂. Para evitar os efeitos negativos da ocorrência de baixas temperaturas sobre a produtividade de grãos foi estabelecido um primeiro critério em função do período de dias da emergência até a antese, fixado como um período máximo de 95 dias, acima deste valor os genótipos não foram considerados aptos para seleção. O segundo critério de exclusão estabelecido, foi referente à obtenção de uma produtividade mínima dos genótipos na densidade normal, determinada como 7.900 Kg ha⁻¹ (produtividade média do Estado do Rio Grande do Sul, safra 2016/17).

Ao contemplar os dois critérios citados acima para a etapa de validação em elevado CO₂, a seleção dos candidatos foi estabelecida em função da resposta de produtividade relativa (produtividade em densidade baixa / produtividade em densidade normal), para isso foram definidas respostas produtivas contrastantes (positiva e negativa). Desse modo, a produtividade relativa positiva foi estabelecida em valor superior a 1,1 e a produtividade relativa negativa em valor inferior a 0,9.

3.2.2 Experimentos em câmaras de topo aberto

Para a execução deste experimento foram utilizados seis genótipos de arroz irrigado oriundos dos programas de melhoramento genético de arroz da EMBRAPA, IRGA e EPAGRI, sendo cinco deles selecionados a partir do *pre-screening* a campo e apresentando respostas relativas contrastantes para produtividade. Além dos genótipos contrastantes, o genótipo IRGA 424 RI também foi avaliado neste experimento de responsividade ao elevado CO₂. Nos últimos anos este genótipo vem apresentando grande relevância para produção de arroz no RS, sendo utilizado em cerca de 50% da área semeada na safra 2019/20 (<https://irga.rs.gov.br/>). Assim, torna-se importante compreender seu comportamento em condição de elevado CO₂.

O experimento foi realizado em câmaras de topo aberto pertencentes ao Centro de Herbologia da Universidade Federal de Pelotas, localizado no município do Capão do Leão - RS. Estas câmaras são equipadas com sensores e uma central automatizada de controle da concentração de CO₂, além de dois *coolers* responsáveis pela homogeneização do ar no interior das câmaras e um sistema de válvulas de injeção e distribuição do gás em cada câmara. As câmaras possuem base em formato quadrado com dimensões de 2x2m e altura total de 2,15m, as quais são revestidas com filme plástico de 150 micras de espessura. O dióxido de carbono (Messer®) utilizado apresentava 99,9% de pureza e foi fornecido através de cilindro de armazenamento (capacidade de 25 kg CO₂) acoplado ao sistema de injeção e distribuição das câmaras.

Para a execução do experimento foram utilizados vasos plásticos com capacidade de 8 L, previamente preenchidos com 8 kg de solo seco classificado como PLANOSOLO HÁPLICO Eutrófico (EMBRAPA, 2018), proveniente de área experimental. O solo apresentava como características físico-químicas, pH 6,4, cálcio (5,7 cmol_c dm⁻³), magnésio (1,1 cmol_c dm⁻³), fósforo (11,6 mg dm⁻³), potássio (34 mg dm⁻³), 1,93% de matéria orgânica, 19% de argila, CTC_{pH 7} (8,2) e saturação por bases de 86%. A coleta do solo foi realizada na profundidade de 0-20cm do perfil do solo e peneirado em peneira com abertura de malha de 1x1cm. Em cada vaso foram semeadas 18 sementes e após a emergência das plântulas foi realizado o desbaste a fim de se manter uma população final de nove plantas de arroz por vaso.

Durante a condução do ensaio foram realizados tratos culturais conforme recomendações técnicas para a cultura do arroz irrigado no Rio Grande do Sul (SOSBAI, 2016, 2018). A adubação do ensaio foi realizada em três etapas, a primeira no momento da semeadura na qual foi realizada adubação de base nos vasos com aplicação de 0,06 g de N, 0,24 g de P₂O₅ e 0,24 g de K₂O por vaso na forma de adubo formulado (5-20-20). As adubações de cobertura foram realizadas no estádio (V4) com aplicação de 0,4 g de N por vaso na forma de ureia (45% N), e no estádio (R1) quando foram aplicados mais 0,4 g de N por vaso.

A irrigação por inundação foi imposta através de uma lâmina de água com cerca de 3 cm de altura, logo após a aplicação de ureia no estádio V4 e mantida até a maturação da cultura. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com esquema fatorial 6X2, sendo o primeiro fator os genótipos de arroz (BRS Atalanta, BRS Querência, IRGA 416, IRGA 424 RI, Epagri 106 (EP106) e SCS

115 CL) e o segundo fator foi a concentração de CO₂ constituído por dois níveis; 400ppm (aCO₂), simulando as condições atuais da atmosfera e 700ppm (eCO₂), simulando as previsões futuras da concentração de CO₂ na atmosfera. O experimento foi constituído por 4 repetições, sendo cada repetição representada por um vaso. O experimento foi repetido duas vezes, a primeira repetição foi conduzida no ano agrícola de 2017/18 e a segunda em 2018/19.

Aos 60 dias após a emergência (DAE) foram realizadas avaliações de contagem do número de perfilhos por vaso, e a análise do índice de clorofila (ICHL), índice do balanço de nitrogênio (IBN) e índice de flavonóis (IFLAV), realizando-se quatro leituras por repetição na porção mediana do limbo da última folha completamente expandida, utilizando clorofilômetro portátil (Dualex® Force-A, Orsay, France). Na fase reprodutiva foi avaliada a época de florescimento, definida como o momento em que mais de 50% das panículas atingiram o estádio de antese. Na antese (R4) das plantas foi avaliada a condutância estomática ($G_s - \text{mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), empregando um porômetro foliar (SC-1 Leaf Porometer - Decagon Device, Inc.), as leituras foram realizadas na face abaxial da porção mediana do limbo foliar de três folhas bandeira de cada repetição. Após a antese também foi mensurada a estatura das plantas, com as medidas realizadas com a utilização de régua graduada de 1 metro de comprimento, realizando a medida da base do colmo até a extremidade da folha bandeira.

No estádio de maturação dos genótipos foram coletadas as panículas e logo em seguida realizada as avaliações do número de panículas por vaso, número de grãos por panículas, percentual de esterilidade de espiguetas, peso de mil grãos (PMG) e produtividade de grãos por vaso, expressa em g por vaso. E por fim, foi determinada a capacidade dreno (número de espiguetas x PMG / 1000).

Os materiais vegetais da parte aérea (folhas e colmos) e do sistema radicular foram coletados e secos em estufa com circulação de ar forçado com temperatura regulada a 65°C, pelo período de 72h. Após a secagem o material foi pesado em balança analítica para determinação da massa da matéria seca da parte aérea (MMSPA) e da massa da matéria seca das raízes (MMSR), sendo os resultados expressos em g por vaso. A partir dos resultados de MMSPA e produtividade foi determinada a relação fonte/dreno (massa da matéria seca da parte aérea (g vaso⁻¹) por produtividade de grãos (g vaso⁻¹).

3.2.3 Experimento de qualidade de sementes

Neste experimento foram utilizadas sementes provenientes dos seis genótipos cultivados no estudo anterior. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com esquema fatorial 6X2 compreendendo 12 tratamentos com 4 repetições. O primeiro fator foi constituído pelos genótipos de arroz (BRS Atalanta, BRS Querência, IRGA 416, IRGA 424 RI, Epagri 106 (EP106) e SCS 115 CL) e o segundo fator foi constituído pelas concentrações de CO₂ atmosférico (400 e 700ppm) nas quais as plantas-mães foram cultivadas.

O teste de germinação foi conduzido conforme as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009). Para o teste de germinação foram utilizadas 400 sementes de cada tratamento. O teste de germinação foi realizado pela metodologia de rolos em substrato de papel. Para a montagem dos rolos de papel, foram utilizadas 3 folhas de papel Germitest® previamente hidratadas com água destilada com um volume (mL) igual a 2,5 vezes o peso do papel seco (g). Em cada repetição, primeiramente foram dispostas 100 sementes de maneira equidistante sobre 2 folhas de papel e posteriormente cobertas por uma terceira folha, logo após o papel foi dobrado formando um rolo para acondicionar as sementes. Após a etapa de preparação e montagem, os rolos contendo as sementes foram mantidos na posição vertical por um período de 14 dias em câmaras de germinação, com temperatura previamente ajustada em 25°C ±1°C e fotoperíodo de 12 horas.

Aos 5 e 14 dias após a semeadura (DAS) foram realizadas as contagens de plântulas normais, determinando o percentual de germinação em cada período (BRASIL, 2009). Aos 14 DAS foi determinado o comprimento de plântulas a partir de medidas realizadas em 10 plântulas de cada repetição. Após, as plântulas foram coletadas e secas em estufa com circulação de ar forçado a uma temperatura de 65°C por 72h, e em seguida as amostras foram pesadas em balança analítica para a determinação da massa da matéria seca de plântula.

3.2.4 Análises estatísticas dos experimentos

Para verificar a relação entre produtividade em baixa densidade e a produtividade em e[CO₂], os dados de produtividade relativa em baixa densidade e produtividade relativa em e[CO₂] foram submetidos à análise de regressão linear.

Para fins de análise estatística os dados do experimento em OTC referentes ao parâmetro percentual de esterilidade de espiguetas foram transformados em $xT = \sqrt{x+1}$. Assim como os dados de percentual de germinação do experimento de qualidade de sementes foram transformados em $xT = \arco - \seno\sqrt{x/100}$.

Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância pelo teste F ($p \leq 0,05$). Quando constatada a significância, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). As análises foram realizadas utilizando-se o software estatístico R (www.r-project.org/). Para as variáveis que não apresentaram interação entre os fatores, foi aplicado o teste t ($p \leq 0,05$) com o objetivo de verificar a significância do efeito do fator CO₂ em cada genótipo avaliado.

3.3 Resultados e discussão

3.3.1 Experimento *Pre-screening*:

Os resultados obtidos no experimento de *pre-screening* (Tabela 2) mostram que dos 32 genótipos avaliados, seis genótipos não satisfizeram os critérios de período máximo para atingir a antese (95 dias) e o critério de produtividade mínima de 7.900 Kg ha⁻¹ na densidade normal, dois genótipos não satisfizeram apenas o critério de período máximo para atingir a antese (95 dias) e três genótipos não atingiram apenas o critério da produtividade mínima de 7.900 Kg ha⁻¹ na densidade normal. Portanto, 11 genótipos não foram considerados para a seleção em relação a produtividade relativa. Para resposta relativa positiva, 4 genótipos satisfizeram os critérios, sendo que destes, foram selecionados os genótipos Epagri 106 (EP 106), IRGA 416 e Querência, para serem testados em ambiente com elevado CO₂. Em relação a resposta relativa negativa, três genótipos apresentaram produtividade relativa inferior 0,9. A partir disso, os genótipos Atalanta e SCS 115 CL foram utilizados como candidatos contrastantes negativos no experimento em elevado CO₂.

Tabela 2 - Produtividade de grãos (Kg ha^{-1}) e período em dias da emergência da plântula até a antese de genótipos de arroz irrigado cultivados em densidade baixa (DB) e densidade normal (DN) de plantas. Capão do Leão – RS, 2017.

Genótipo	Produtividade (Kg ha^{-1})					Antese (dias)			
	DB	IC*	DN	IC	DB/DN#	DB	IC	DN	IC
A 701 CL	9.192	1.689	10.371	1.740	0,89	84	2	83	2
AB 11502	10.515	1.035	10.291	1.292	1,02	77	2	77	2
Atalanta	8.039	1.287	9.325	2.135	0,86	65	0	65	0
Brs 358	12.968	1.874	12.726	1.307	1,02	83	2	83	2
Epagri 106	10.743	1.366	9.477	1.301	1,13	80	1	80	1
Epagri 109	5.097	1.318	3.469	898	1,47	121	1	121	1
Firmeza	11.728	952	11.005	2.174	1,07	78	3	77	3
IRGA 409	8.405	2.272	8.778	1.571	0,96	91	2	91	2
IRGA 410	9.191	2.995	7.227	718	1,27	84	2	83	2
IRGA 413	9.041	1.754	6.824	1.623	1,32	87	0	87	0
IRGA 414	12.006	1.172	12.967	2.195	0,93	79	1	77	2
IRGA 416	11.997	1.476	10.050	2.075	1,19	73	1	72	0
IRGA 417	14.795	2.089	14.412	1.516	1,03	77	1	77	1
IRGA 422 CL	13.349	2.542	14.255	981	0,94	79	1	79	1
IRGA 423	14.972	1.702	14.741	467	1,02	79	1	77	2
IRGA 424 RI	10.440	967	10.791	1.973	0,97	90	3	91	2
IRGA 425	10.881	2.224	10.632	1.975	1,02	91	2	91	2
IRGA 428	15.432	1.576	15.036	1.094	1,03	81	2	80	2
IRGA 430	14.875	1.419	15.127	2.269	0,98	80	2	80	2
LTB 15057	10.750	3.298	10.092	1.916	1,07	78	0	78	0
Marques	6.347	639	4.365	1.678	1,45	122	2	122	2
Ônix	6.748	1.463	6.448	880	1,05	88	2	88	2
Pampeira	10.136	1.911	11.266	1.989	0,90	96	0	96	0
Pelota	10.490	693	9.468	1.108	1,11	83	3	83	3
Querência	11.809	920	9.983	1.452	1,18	73	1	73	1
SCS 112	7.620	1.913	6.657	1.373	1,14	114	5	114	5
SCS 115 CL	7.075	481	9.590	1.619	0,74	93	2	93	2
SCS 117 CL	3.967	1.324	3.601	1.097	1,10	120	0	120	0
SCS 121 CL	8.277	1.034	8.620	1.407	0,96	103	0	103	0
SCS 681	8.268	1.618	6.474	1.808	1,28	110	0	110	0
Sinuelo CL	10.824	1.271	10.155	1.385	1,07	87	0	87	0
Tio Taka	5.721	1.752	4.585	921	1,25	120	0	120	0

*Valores de intervalo de confiança 95%. # Relação entre a produtividade de grãos em densidade baixa e densidade normal.

Os resultados referentes à produtividade de grãos obtidos nos dois experimentos em OTC mostraram que ocorreu variação de produtividade relativa de um ano para outro nos genótipos (Tabela 3). O genótipo Querência foi responsável ao incremento de CO_2 nos dois anos experimentais, apresentando incremento de cerca de 37% em 2017/18 e 35% em 2018/19. Enquanto EP106 apresentou responsividade

ao aumento de CO₂ apenas em 2017/18, com incremento de 31% na produtividade de grãos.

No experimento de 2017/18, Atalanta não foi responsivo ao incremento de CO₂, enquanto que no segundo experimento (2018/19) o mesmo genótipo apresentou produtividade maior em e[CO₂], atingindo cerca de 16% de incremento na produtividade. De certo modo, esse dado não corrobora com a hipótese da relação entre responsividade a baixa densidade e a responsividade ao e[CO₂], ou seja, foi observado que Atalanta apresentou produtividade relativa negativa para cultivo em baixa densidade, portanto, foi selecionado como contrastante negativo, desta forma o resultado esperado seria a ausência de responsividade deste genótipo ao e[CO₂]. O genótipo SCS 115 CL também foi caracterizado como contrastante negativo e como mostram os resultados dos experimentos em OTC, este genótipo não respondeu positivamente em termos de produtividade quando submetido ao e[CO₂], sendo que no experimento do segundo ano a produtividade de grãos foi 35% inferior em e[CO₂] em relação a produtividade de plantas cultivadas em concentração ambiente de CO₂.

Tabela 3 - Produtividade de grãos de genótipos de arroz irrigado cultivados em duas concentrações de CO₂ atmosférico (400 e 700ppm). Capão do Leão - RS.

Genótipo	Produtividade (g vaso ⁻¹)					
	2017/18			2018/19		
	400ppm	700ppm	700/400	400ppm	700ppm	700/400
Atalanta	39,6 (7,1)*	36,4 (6,3)	0,92 [#]	37,4 (2,0)	43,4 (2,6)	1,16
Querência	48,8 (8,9)	66,7 (7,2)	1,37	31,6 (5,9)	42,7 (2,9)	1,35
IRGA 424 RI	52,8 (6,2)	46,9 (6,0)	0,89	39,7 (3,8)	33,7 (4,7)	0,85
IRGA 416	44,5 (5,0)	36,8 (8,2)	0,83	35,4 (1,7)	37,4 (4,7)	1,06
EP 106	40,7 (0,7)	53,3 (6,9)	1,31	34,4 (2,2)	38,9 (2,6)	1,13
SCS 115CL	24,3 (5,7)	20,1 (0,5)	0,83	29,6 (8,0)	19,2 (5,0)	0,65

*Valores de intervalo de confiança 95%. [#] Relação entre a produtividade de grãos em 700ppm e 400ppm de CO₂.

Relação entre as respostas de produtividade à baixa densidade de plantas e ao elevado CO₂:

A plasticidade fenotípica é considerada como uma gama de possíveis fenótipos que um único genótipo pode expressar em função de determinada condição ambiental. A plasticidade fenotípica pode apresentar alterações tanto fisiológicas, quanto morfológicas, e é aplicável a toda variabilidade intragenotípica (BRADSHAW,

1965; GIANOLI; VALLADARES, 2012; NICOTRA *et al.*, 2010). Estas respostas de plasticidade das plantas podem ser induzidas por uma variação espaço-temporal em fatores ambientais, como a disponibilidade de luz, água e nutrientes (DE KROON *et al.*, 2005).

O método de *pre-screening* a campo, que considera a plasticidade fenotípica dos genótipos, é baseado na teoria de que a condição ambiental de baixa densidade de cultivo é capaz de mimetizar a condição de cultivo em ambiente com elevado CO₂ atmosférico, ou seja, o ambiente das plantas cultivadas em baixa densidade possibilita condição mais enriquecida em termos de disponibilidade de recursos, como luz e nutrientes. Portanto, os genótipos com maior resposta de produtividade de grãos em baixa densidade de plantas em comparação a produtividade em densidade normal, também poderiam apresentar maior responsividade ao elevado CO₂.

Os resultados das análises de regressão linear (Figura 1A) mostram um coeficiente de correlação de 0,57 entre os dados referentes a taxa de produtividade entre baixa densidade e a densidade normal e a taxa de produtividade entre e[CO₂] e o a[CO₂] no experimento de 2017/18. No entanto, o ajuste da regressão não foi significativo ($p=0,23$). A falta de ajuste foi impactada especificamente pela resposta obtida no genótipo IRGA 416 em e[CO₂], uma vez que sua produtividade de grãos foi afetada principalmente pela ocorrência de um aumento significativo na esterilidade de espiguetas em relação as plantas cultivadas em a[CO₂]. Entretanto, quando os dados do genótipo IRGA 416 não foram considerados na análise de regressão, os resultados apresentaram coeficiente de correlação ($r= 0,92$) com nível de significância de $p=0,022$ (Figura 1B). Os dados de produtividade relativa ao e[CO₂] do experimento 2018/19 (Figura 1C), mostram a tendência de correlação positiva com a produtividade relativa em baixa densidade, apresentando um coeficiente de correlação de 0,7, porém neste caso o ajuste não foi significativo ($p=0,11$). Estes resultados corroboram com Shimono *et al.* (2014), onde os autores avaliando apenas o número de panículas por planta verificaram coeficiente de correlação significativo ($r=0,677$) entre a responsividade relativa dos genótipos em baixa densidade e e[CO₂].

Os resultados obtidos no experimento de OTC em 2017/18 sugerem que os genótipos que apresentam maior resposta de produtividade em baixa densidade, também possuem maior resposta em e[CO₂], bem como, genótipos com menor resposta de produtividade em baixa densidade mostram pouca ou nenhuma resposta ao incremento de CO₂.

A utilização de ferramentas de estudos de associação genômica ampla (*Genome-wide association studies – GWAS*), têm possibilitado a descoberta de *loci* de características quantitativas (QTLs - *quantitative traits loci*) que controlam a plasticidade fenotípica em arroz tanto em baixa densidade de cultivo, quanto em ambiente com e[CO₂] atmosférico, através da identificação de polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs – *single-nucleotide polymorphisms*). Estes QTLs foram identificados nos cromossomos 3 e 12, e são denominados qER1 e qER3, respectivamente (KIKUCHI *et al.*, 2017). Portanto, o *pre-screening* em larga escala para verificar responsividade em baixa densidade demonstra ser um método potencialmente eficiente e com menor custo para identificar genótipos com maior potencial de resposta ao e[CO₂].

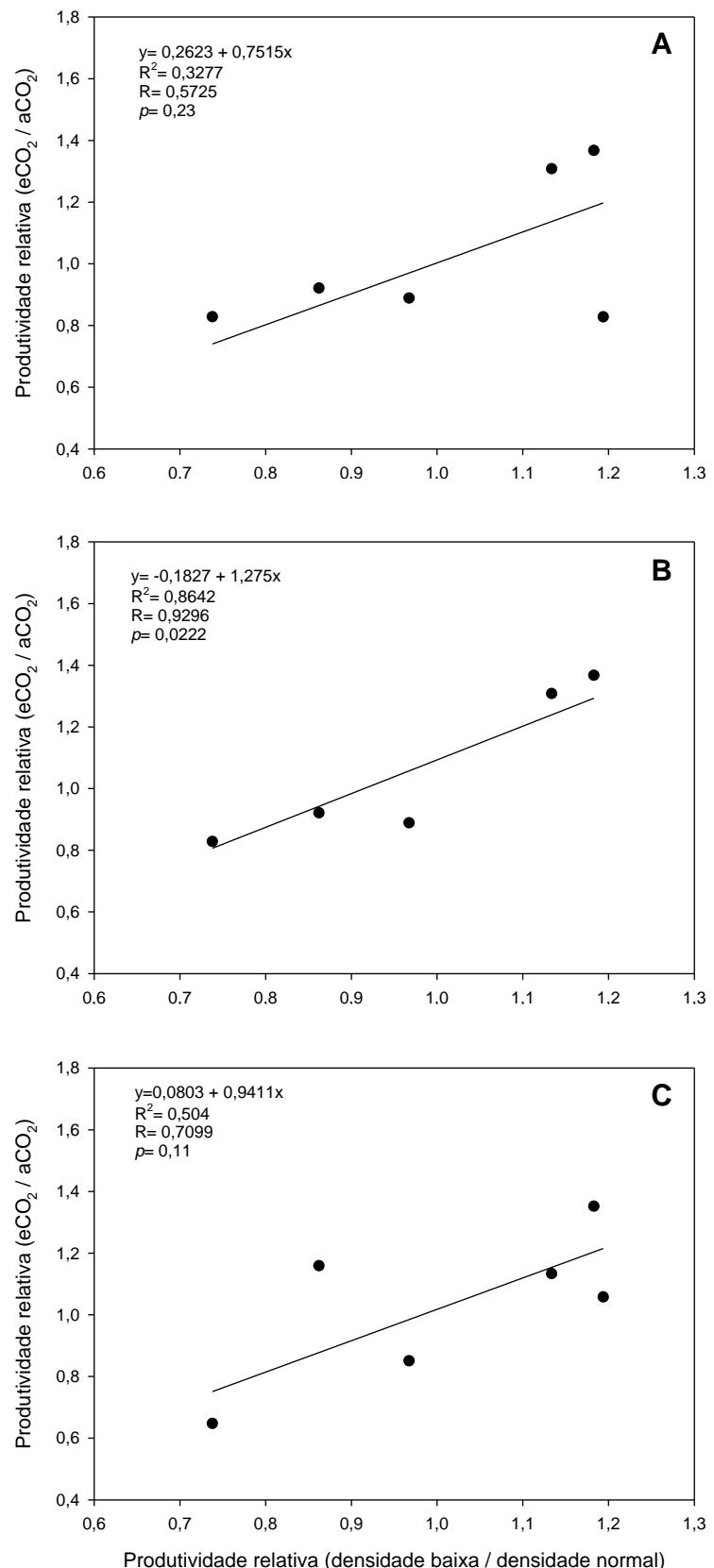


Figura 1 – Regressão linear para as relações entre a razão dos valores de produtividade de grãos em densidade baixa (DB) e densidade norma (DN), e a razão dos valores de produtividade de grãos na concentração elevada de CO_2 $e[\text{CO}_2]$ e concentração ambiente $a[\text{CO}_2]$ do experimento em OTC de 2017/2018 (A). Regressão linear para as relações entre a razão dos valores de produtividade de grãos

em DB e DN, e a razão dos valores de produtividade de grãos $e[CO_2]$ e $a[CO_2]$ do experimento em OTC de 2017/2018, sem o genótipo IRGA 416 (B). Regressão linear para as relações entre a razão dos valores de produtividade de grãos em DB e DN, e a razão dos valores de produtividade de grãos $e[CO_2]$ e $a[CO_2]$ do experimento em OTC de 2018/2019 (C).

3.3.2 Experimento em câmaras de topo aberto - OTC

Os efeitos dos anos foram significativos em relação aos dados dos dois experimentos das OTC's, dessa forma os dados foram analisados separados em cada ano experimental. Os genótipos de uma dada espécie geralmente apresentam respostas significativamente diferentes em termos de crescimento, desenvolvimento e aspectos fisiológicos em função de vários fatores, como $e[CO_2]$, exemplificado pelas interações entre genótipo e ambiente (ASPINWALL *et al.*, 2015). Os dados obtidos nos parâmetros avaliados confirmam a alta variabilidade genética intraespecífica na espécie *O. sativa* em relação as respostas ao incremento de CO_2 atmosférico. Referente ao número de perfilhos, nos dois experimentos (2017/2018 e 2018/19) não foi observada interação entre a concentração de CO_2 e genótipos (Tabela 4), apenas a significância do efeito simples dos fatores CO_2 ($p \leq 0,05$) e genótipos ($p \leq 0,001$). O genótipo IRGA 424 RI apresentou o maior número de perfilhos, porém não foi constatada diferença significativa entre as duas concentrações de CO_2 . Já para o genótipo Querência ocorreu incremento no número de perfilhos na concentração de $e[CO_2]$ em relação ao $a[CO_2]$ (Figura 2).

O número de perfilhos é um importante parâmetro que pode definir a produtividade na cultura do arroz, pois a partir dos perfilhos produtivos emergem as panículas. O número de perfilhos produtivos é determinado pela diferença entre o número máximo de perfilhos produzidos durante os estádios vegetativos e os perfilhos abortados durante a fase reprodutiva (CHENG *et al.*, 2009). Os dados do genótipo Querência em relação ao incremento no número de perfilhos corroboram com resultados apresentados por Seneweera (2011), onde foi constatado um incremento de 50% no número de perfilhos em plantas de arroz (cv. Jarrah) cultivadas em $e[CO_2]$.

Além disso, dados mostram que o perfilhamento inicial em plantas de arroz apresenta correlação ($r = 0,81$; $p \leq 0,001$) com a produtividade de grãos em $e[CO_2]$, ou seja, àquelas plantas que apresentaram alta capacidade de perfilhamento, consequentemente atingem maiores produtividades de grãos (ZISKA; TOMECEK; GEALY, 2014).

A regulação do crescimento de perfilhos em plantas de arroz é um processo bastante complexo, e atualmente sabe-se que muitos QTLs estão envolvidos nesse processo. Em quatro populações oriundas do cruzamento de duas variedades da subespécie *indica*, foram identificados pelo menos 21 QTLs ligados ao perfilhamento. A cascata de sinalização relacionada ao perfilhamento envolve muitos genes, como os genes *MOC1*, *LAX1* e *SPA*, além da rede de interações entre hormônios, principalmente citocinina, auxina e a strigolactona (XING; ZHANG, 2010). A função das citocininas parece ser primordial para o aumento do perfilhamento em arroz, visto que a citocinina atua na inibição da expressão do gene *FC1 (FINE CULM1)*, que por sua vez atua inibindo a rota de desenvolvimento de gemas axilares (MINAKUCHI et al., 2010; XU et al., 2015).

Em genótipo responsivo ao e[CO₂] foi demonstrado que o e[CO₂] tem capacidade de induzir incremento significativo na síntese de citocininas, através da regulação positiva dos genes *OsIPT* e *OsLOG*, os quais são envolvidos na biossíntese deste hormônio (WANG et al., 2019b). Assim como, também foi constatado o envolvimento direto do etileno sobre o aumento do perfilhamento em plantas de arroz, principalmente por induzir a formação e o desenvolvimento das gemas axilares (SENEWERA et al., 2003).

Tabela 4 – Valor-*p* dos efeitos simples e da interação entre os fatores para as variáveis do experimento em câmaras de topo aberto, ano agrícola 2017/18

Variável	CO ₂	Genótipo	CO ₂ xGenótipo
Perfilhos	0,002	0,000	0,764
Clorofilas	0,000	0,000	0,047
IBN	0,000	0,000	0,825
Flavonóis	0,001	0,000	0,945
Gs	0,846	0,000	0,000
Antese	0,002	0,000	0,002
Estatura	0,018	0,000	0,009
MMSPA	0,000	0,000	0,686
MMSR	0,005	0,000	0,148
Panículas	0,000	0,000	0,842
Grãos panícula ⁻¹	0,067	0,000	0,003
PMG	0,119	0,000	0,399
Esterilidade	0,010	0,000	0,003
Prod. de grãos	0,389	0,000	0,001
Fonte:Dreno	0,019	0,000	0,008
Capacidade Dreno	0,001	0,000	0,067

Tabela 5 - Valor-*p* dos efeitos simples e da interação entre os fatores para as variáveis do experimento em câmaras de topo aberto, ano agrícola 2018/19

Variável	CO ₂	Genótipo	CO ₂ xGenótipo
Perfilhos	0,028	0,000	0,106
Gs	0,000	0,000	0,000
Antese	0,813	0,000	0,871
Estatura	0,414	0,000	0,057
MMSPA	0,000	0,000	0,016
Panículas	0,003	0,000	0,016
Grãos panícula ⁻¹	0,157	0,000	0,049
PMG	0,019	0,000	0,675
Esterilidade	0,199	0,000	0,023
Prod. de grãos	0,333	0,000	0,000
Fonte:Dreno	0,050	0,000	0,000
Capacidade Dreno	0,000	0,000	0,020

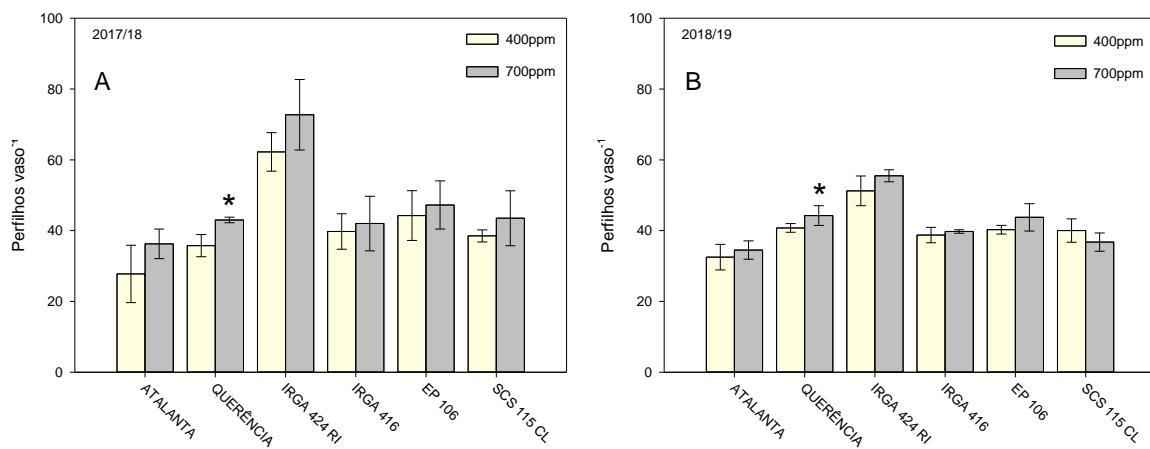


Figura 2 - Número de perfilhos de seis genótipos de arroz irrigado cultivados em câmaras de topo aberto com concentração ambiente de CO₂ (400ppm) e concentração elevada de CO₂ (700ppm) no ano experimental de 2017/18 (A), e 2018/19 (B). As linhas verticais indicam o intervalo de confiança (IC95%). * Denota diferença significativa pelo teste t ($p\leq 0,05$) na comparação entre as duas concentrações de CO₂ no mesmo genótipo.

O processo de abertura e fechamento estomático é controlado por um mecanismo de sinalização que envolve vários componentes. E em condição de e[CO₂] os estômatos tendem a fechar devido a maior despolarização da membrana plasmática das células guardas, esse processo ocorre pelo decréscimo da concentração de potássio (K⁺) e do cálcio (Ca²⁺) no citosol das células guardas, além da redução de cloro (Cl⁻¹) e malato (mal⁻²) (XU *et al.*, 2016). Nas etapas iniciais da rota de sinalização do controle estomático ocorre a participação das enzimas

anidrases β -carbônicas que catalisam a reação reversível do $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{HCO}_3^- + \text{H}^+$. Nas plantas em condição de $e[\text{CO}_2]$ os altos níveis de $\text{CO}_2/\text{HCO}_3^-$ podem contribuir para a ativação dos canais de ânions da membrana plasmática das células guardas e, assim, o fluxo dessas moléculas atua no fechamento estomático (HU *et al.*, 2010). Além disso, o fechamento estomático em resposta ao $e[\text{CO}_2]$ requer a presença de ácido abscísico (ABA) e seus receptores da família PYR/RCAR e a ação conjunta com espécies reativas de oxigênio (ROS) que agem regulando a atividade dos canais de íons (CHATER *et al.*, 2015). A proteína SLAC1 (SLOW ANION CHANNEL-ASSOCIATED 1) é uma proteína canal de ânions do tipo S, localizada na membrana das células guardas que apresenta função fundamental para o fechamento estomático em resposta a concentração de CO_2 , através do controle da pressão de turgor das células guardas. O silenciamento do gene *SLAC1* em mutantes de arroz (*slac1*) causa um aumento da condutância estomática e consequentemente a redução da temperatura foliar em relação ao tipo selvagem quando cultivados em $e[\text{CO}_2]$ (DU *et al.*, 2011; KUSUMI *et al.*, 2012, 2017).

Neste experimento a condutância estomática (gs) durante a antese apresentou interação significativa entre os fatores concentração de CO_2 e genótipo ($p \leq 0,001$). Em $e[\text{CO}_2]$ ocorreu redução de 39 e 44% da gs no genótipo SCS 115 CL nos experimentos de 2017/18 e 2018/19, respectivamente (Figura 3A-B), chegando aos menores valores de gs em relação aos demais genótipos em $e[\text{CO}_2]$. O genótipo IRGA 416 apresentou sensibilidade ao $e[\text{CO}_2]$ durante a antese apenas no experimento de 2017/18. No entanto, essa resposta foi inversa ao esperado para a gs em plantas C3 cultivadas em $e[\text{CO}_2]$. Neste estudo observa-se que o genótipo IRGA 416 apresentou maior gs em $e[\text{CO}_2]$ em relação as plantas em $a[\text{CO}_2]$, diferindo significativamente dos genótipos Querência, IRGA 424 RI, EP106 e SCS 115 CL (Figura 3A).

A gs dos genótipos Querência, IRGA 424 RI e EP 106 não foi impactada pelo incremento de CO_2 atmosférico no ano de 2017/18. Porém, no experimento de 2018/19 houve redução significativa de 18, 19 e 22% da gs nas plantas cultivadas em $e[\text{CO}_2]$ em relação as plantas mantidas em $a[\text{CO}_2]$ dos genótipos EP 106, Querência e IRGA 424 RI, respectivamente.

Em plantas responsivas o $e[\text{CO}_2]$ causa redução na gs , consequentemente reduz a transpiração e melhora a eficiência do uso da água (AINSWORTH; ROGERS, 2007; BOKHARI *et al.*, 2007; SHIMONO *et al.*, 2013). A gs afeta a difusão do CO_2 atmosférico para a cavidade subestomática, e é considerado um importante fator que

determina a taxa fotossintética e o metabolismo do carbono. No entanto, em e[CO₂] uma possível aclimatação da fotossíntese não deve ser atribuída a limitação estomática, pois mesmo que o e[CO₂] reduza a *gs*, a concentração interna de CO₂ (C_i) é mantida satisfatoriamente para suprir as demandas fotossintéticas (WANG *et al.*, 2020a). Em plantas de cevada (*Hordeum vulgare*) o cultivo em e[CO₂] causou uma redução de 40% na *gs* em relação as plantas em a[CO₂]. No entanto, a C_i foi mantida de maneira proporcional nas duas condições de CO₂, com C_i de 259 ppm e 525 ppm, nas condições de 350 ppm a[CO₂] e 700ppm e[CO₂], respectivamente. Dessa forma, refletindo em maior fotossíntese líquida nas plantas em condição de e[CO₂] (ROBREDO *et al.*, 2007).

Porém, um aspecto importante a ser considerado é o fato de que a redução da *gs* em e[CO₂] altera a taxa de transpiração, o que pode apresentar um impacto direto sobre o fluxo de massa de água pelo sistema radicular, possivelmente alterando a absorção e o transporte de nutrientes através das raízes (SENEWEERA, 2011). Essa redução da transpiração devido a baixa *gs* em condição de e[CO₂] também reflete na piora da capacidade de resfriamento das folhas, desencadeando a elevação da temperatura do dossel de culturas como trigo (*Triticum aestivum*), cevada (*H. vulgare*) (BURKART *et al.*, 2011) e soja (*Glycine max*) (BERNACCHI *et al.*, 2007).

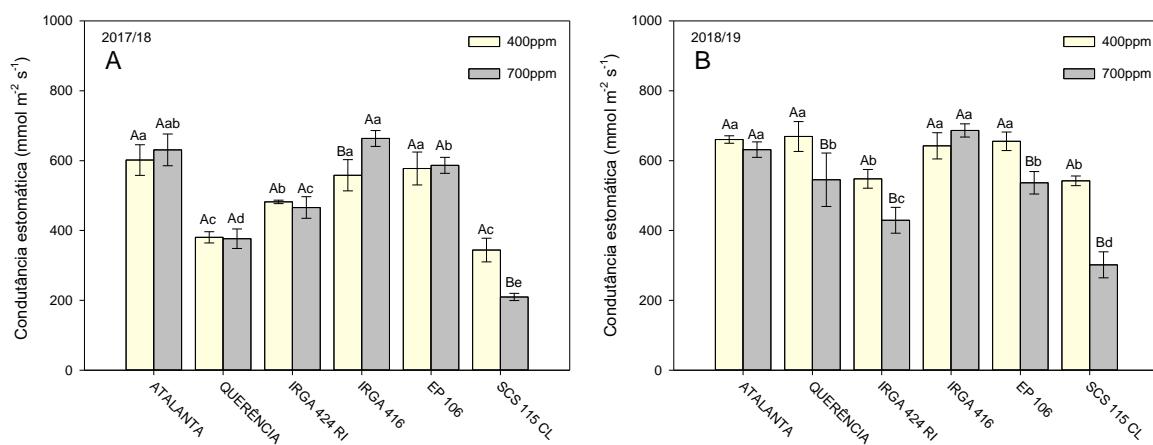


Figura 3 – Condutoância estomática durante a antese de seis genótipos de arroz irrigado cultivados em câmaras de topo aberto com concentração ambiente de CO₂ (400ppm) e concentração elevada de CO₂ (700ppm) no ano experimental de 2017/18 (A), e 2018/19 (B). Letras maiúsculas diferentes indicam diferença entre as concentrações de CO₂ dentro de cada genótipo e letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa entre os genótipos em cada concentração de CO₂ pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$). As linhas verticais indicam o intervalo de confiança (IC95%).

No parâmetro índice de clorofila (ICHL) constatou-se interação entre os fatores. Atalanta, Querência e IRGA 416 foram afetados pelo incremento de CO₂ atmosférico (Figura 4A), o que resultou na redução do índice de clorofila nas plantas submetidas ao e[CO₂], comparadas com as plantas em condição de a[CO₂]. Sob e[CO₂] o genótipo SCS 115CL obteve o maior valor de índice de clorofila, diferindo estatisticamente de Atalanta, Querência e IRGA 424 RI. Essa redução do índice de clorofila em razão do efeito do e[CO₂] pode ser explicada por um processo de senescência foliar mais acelerado em e[CO₂], que por sua vez pode estar relacionado a alta demanda de nitrogênio para sustentar a maior produtividade de grãos (SCHÜTZ; FANGMEIER, 2001). Esse mecanismo pode explicar os resultados obtidos com o genótipo Querência, que apresentou redução do ICHL, porém um incremento na produtividade de grãos em e[CO₂]. Por outro lado, Zhu *et al.* (2012), constataram que a aclimatação fotossintética em folhas bandeira de plantas de arroz e trigo cultivadas na condição de e[CO₂] provavelmente foi desencadeada pela aceleração na perda do conteúdo de clorofilas com subsequente aumento no processo de senescência foliar.

Para o índice de balanço do Nitrogênio (IBN) foi constatada significância apenas para os efeitos simples dos fatores de concentração de CO₂ ($p \leq 0,001$) e genótipos ($p \leq 0,001$). De maneira geral, o valor de IBN foi maior nas plantas cultivadas em condição normal de CO₂. Sob a condição de e[CO₂], SCS 115 CL e EP106 alcançaram maiores valores de IBN, não diferindo das plantas cultivadas em a[CO₂] (Figura 4B), enquanto o genótipo Querência apresentou o menor valor do IBN entre os genótipos cultivados na condição de e[CO₂], diferindo significativamente das plantas cultivadas em condição normal de CO₂. O e[CO₂] também reduziu o IBN em Atalanta e IRGA 416 quando comparados às plantas cultivadas em a[CO₂].

Geralmente, as plantas cultivadas em e[CO₂] apresentam menor concentração de N nos tecidos foliares, e pelo menos três fatores podem explicar essa resposta. Um deles é a diluição do conteúdo de N em relação a maior síntese e acúmulo de carboidratos; um segundo fator está relacionado com a menor absorção e transporte de N através das raízes, devido a menor taxa de transpiração; e por fim pode ocorrer uma redução de N devido a supressão do processo de fotorrespiração. Em alguns casos a redução no conteúdo de N parece contribuir para a ocorrência da aclimatação fotossintética em plantas de arroz cultivadas em e[CO₂], neste caso principalmente por limitar a síntese da enzima RUBISCO (SENEWEERA *et al.*, 2011). Em trigo a

redução de N foliar, RUBISCO e aminoácidos sugere que sob e[CO₂] no estádio de enchimento de grãos ocorre a realocação de N para as espigas, um órgão com forte capacidade dreno (ARANJUELO *et al.*, 2011). No presente estudo, a redução no IBN causada pelo e[CO₂] em Querência não impactou negativamente a produtividade de grãos (Figura 13), provavelmente por não interferir no conteúdo e atividade da RUBISCO.

Em relação ao índice de flavonóis (IFLAV) não foi verificada interação entre os fatores. No entanto, o efeito simples foi significativo para o CO₂ ($p \leq 0,001$) e genótipo ($p \leq 0,001$). O incremento de CO₂ possibilitou valores superiores de IFLAV (Figura 4C). Para Atalanta, EP 106 e SCS 115 CL ocorreu um aumento no IFLAV sob e[CO₂] em comparação com as plantas destes genótipos cultivadas em condição de a[CO₂]. Em plantas de gengibre (*Zingiber officinale*) submetidas ao cultivo em e[CO₂] foram observados incrementos em diversas moléculas flavonoides, como por exemplo, o kaempferol que atingiu um incremento acima de 200% em plantas sob e[CO₂] em comparação as plantas na condição a[CO₂] (GHASEMZADEH; JAAFAR; RAHMAT, 2010). O conteúdo de metabólitos secundários pode variar entre diferentes tecidos e órgãos vegetais. Em grãos de arroz cultivado em condição de e[CO₂] foi verificado uma redução significativa no conteúdo de flavonoides totais, reflexo da redução nos níveis de fenilalanina, aminoácido aromático precursor da rota de síntese dos flavonoides. Neste caso os autores sugerem que esse aminoácido foi realocado para suprir as demandas na síntese de proteínas dos grãos em pleno desenvolvimento em detrimento do metabolismo secundário (GOUFO *et al.*, 2014).

Em plântulas de arroz a condição de e[CO₂] não é capaz de alterar significativamente o conteúdo de flavonoides dos tecidos foliares, possivelmente pelo fato das plântulas não experimentarem uma condição de estresse em e[CO₂] (PANIGRAHI *et al.*, 2016). No entanto, no presente estudo a análise foi realizada em plantas em estádio de desenvolvimento mais avançado, possibilitando o incremento do índice de flavonóis em três genótipos (Figura 4C). Alterações positivas sobre o metabolismo vegetal também foram reportadas em plantas de arroz submetidas por um período mais longo (84 dias) ao e[CO₂], nas quais foram constatadas alterações na expressão gênica, principalmente em grupos de genes envolvidos no metabolismo secundário, mostrando uma regulação positiva na expressão de inúmeros genes da rota de biossíntese de flavonoides, flavonas e flavonóis (XU *et al.*, 2019).

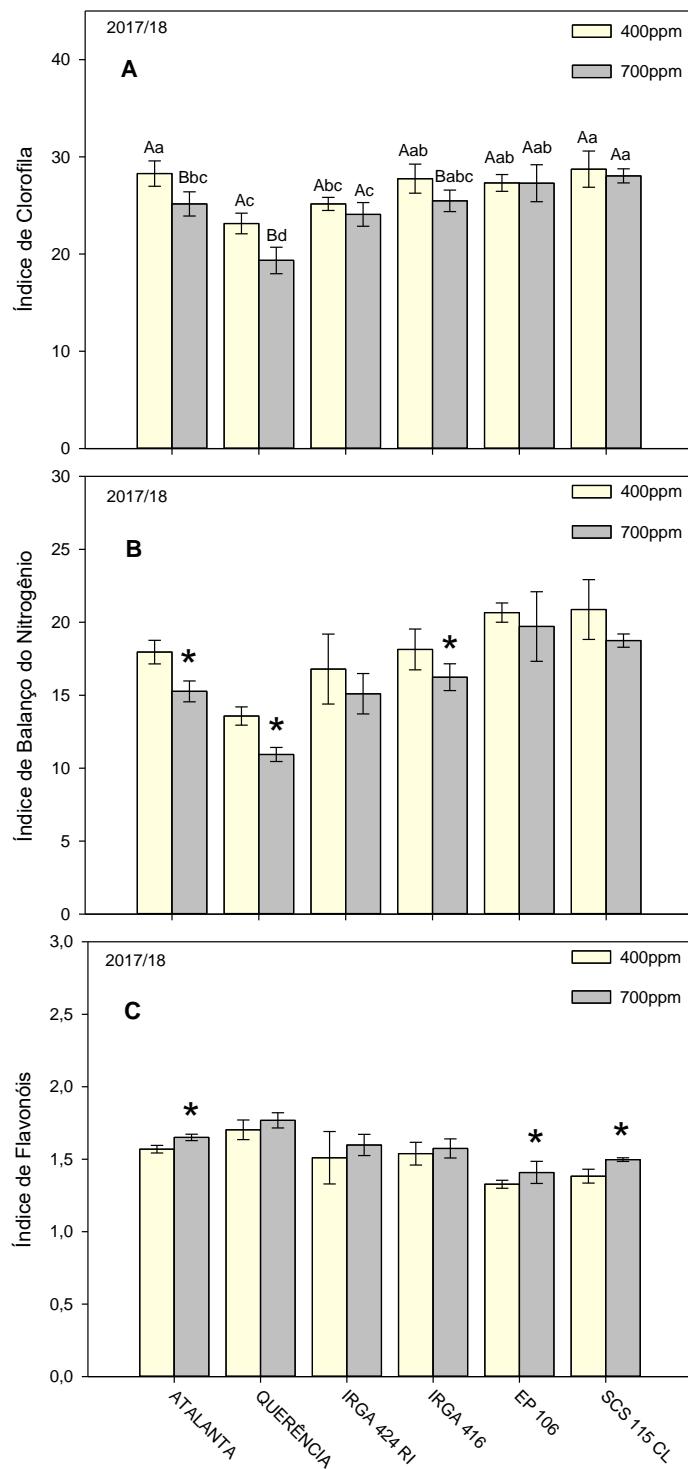


Figura 4 – Análises dos índices de clorofila (A), do balanço de nitrogênio (B) e de flavonóis (C) de seis genótipos de arroz irrigado cultivados em câmaras de topo aberto com concentração ambiente de CO₂ (400ppm) e concentração elevada de CO₂ (700ppm) no ano experimental de 2017/18. Letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa entre as concentrações de CO₂ dentro de cada genótipo e letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa entre os genótipos em cada concentração de CO₂ pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$). As linhas verticais indicam o intervalo de confiança (IC95%). *Denota diferença significativa pelo teste t ($p \leq 0,05$) na comparação entre as duas concentrações de CO₂ no mesmo genótipo.

No experimento de 2017/18 verificou-se interação significativa entre concentração de CO₂ e genótipos ($p \leq 0,01$) para a variável estatura de planta. Na condição normal de CO₂ a maior estatura foi observada nas plantas de SCS 115 CL (87,6 cm), valor significativamente superior a estatura de Querência, IRGA 424 RI e IRGA 416 (Figura 5A). Em e[CO₂] SCS 115 CL e Querência foram os genótipos com maior estatura, atingindo 86,1 e 85,2 cm, respectivamente.

Na comparação entre as condições de CO₂, pode-se verificar que o e[CO₂] induz maior estatura de plantas em Querência, corroborando com resultados apresentados por Kumar *et al.* (2017), o qual mostra que o enriquecimento tanto com 550, quanto 700ppm de CO₂ possibilitou maior estatura de plantas de arroz da cv. Naveen, além de aumentar o índice de área foliar e perfilhos produtivos (KUMAR *et al.*, 2017). Entretanto, para Atalanta e IRGA 424 RI o e[CO₂] houve redução da estatura de plantas em relação a condição normal de CO₂. Neste sentido, em estudo desenvolvido por Zhu *et al.* (2013), também foi constatada variabilidade intraespecífica na resposta referente à estatura de plantas de arroz em função da concentração de CO₂, o genótipo SY63 apresentou incremento na estatura em e[CO₂], enquanto a estatura do genótipo Koshihikari não sofreu alterações. Dessa forma, a estatura de planta deve ser considerada um parâmetro importante na busca por genótipos responsivos ao e[CO₂], visto que pode haver maior risco de acamamento naqueles genótipos que respondem com incremento da estatura sob e[CO₂] nas condições de mudanças climáticas (ZHU *et al.*, 2013).

Já no experimento de 2018/19 apenas o efeito simples do fator genótipo foi significativo ($p \leq 0,001$), sendo que Querência e SCS 115 CL foram os genótipos com maior estatura de planta, enquanto os menores valores de estaturas de plantas foram observados em IRGA 424 RI e IRGA 416 (Figura 5B).

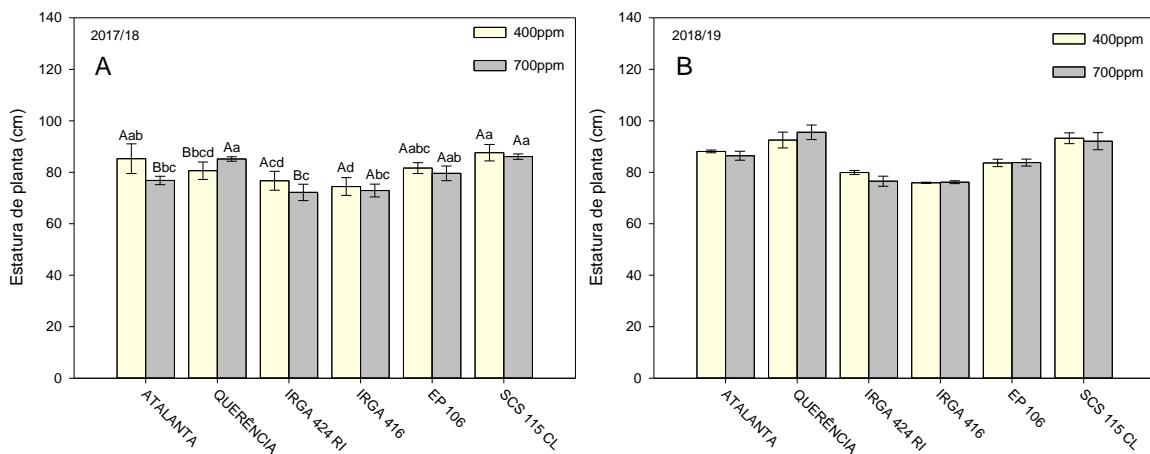


Figura 5 - Estatura de plantas (cm) de seis genótipos de arroz irrigado cultivados em câmaras de topo aberto com concentração ambiente de CO₂ (400ppm) e concentração elevada de CO₂ (700ppm) no ano experimental de 2017/18 (A), e 2018/19 (B). Letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa entre as concentrações de CO₂ dentro de cada genótipo e letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa entre os genótipos em cada concentração de CO₂ pelo teste Tukey ($p\leq 0,05$). As linhas verticais indicam o intervalo de confiança (IC95%).

Para a variável massa da matéria seca da parte aérea (MMSPA) no experimento de 2017/18 não houve interação entre os fatores. Foram observados apenas os efeitos simples significativos dos fatores CO₂ ($p\leq 0,001$) e Genótipo ($p\leq 0,001$). O genótipo SCS 115 CL apresentou maior acúmulo de massa seca da parte aérea em relação a IRGA 424 RI, Atalanta e IRGA 416 e não diferiu de Querência e EP 106 (Figura 6A). Considerando o acúmulo de MMSPA dos genótipos em cada condição de CO₂, pode-se observar que apenas EP 106, SCS 115 CL e Atalanta foram responsivos ao aumento do CO₂, apresentando incrementos de 14, 15 e 21% na MMSPA, respectivamente. No experimento de 2018/19 observou-se a interação significativa entre CO₂ e genótipos ($p\leq 0,05$). Na condição de CO₂ normal, SCS 115 CL e Querência obtiveram os maiores acúmulos de MMSPA, enquanto IRGA 416 e Atalanta apresentaram menores valores de MMSPA (Figura 6B). Já em e[CO₂], além de SCS 115 CL e Querência, o genótipo IRGA 424 RI mostra acúmulo de MMSPA superior aos demais genótipos.

Em relação às concentrações de CO₂ em 2018/19, apenas os genótipos SCS 115 CL e IRGA 424 RI mostraram ser responsivos ao e[CO₂], confirmado pela maior MMSPA destes genótipos na condição de e[CO₂]. Conforme reportado por Shimono *et al.* (2009), os fatores que contribuem para incremento de biomassa em e[CO₂] são a capacidade de interceptação da radiação (IPAR) pelo dossel e a eficiência no uso

da radiação (MMSPA / IPAR), associados com as respostas positivas significativas do índice de área foliar e taxa de assimilação líquida (ROY *et al.*, 2012).

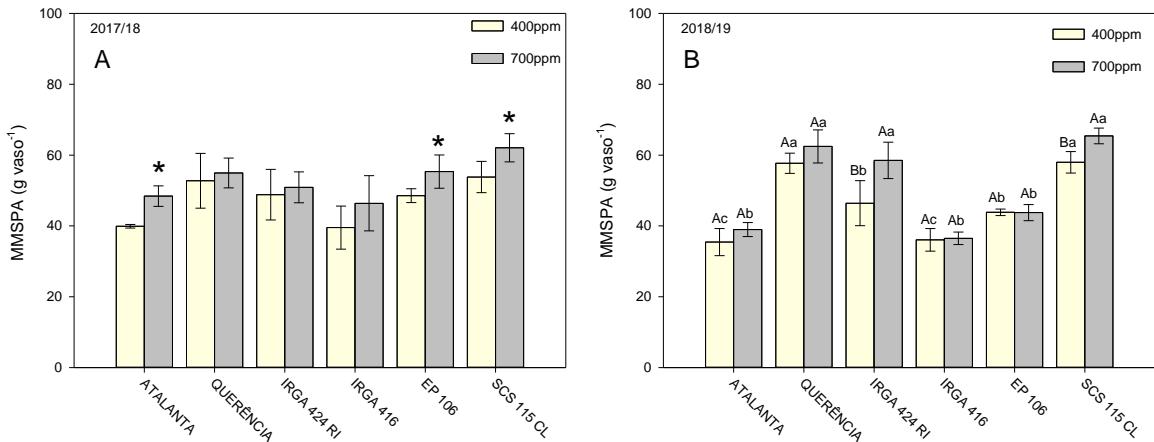


Figura 6 - Massa da matéria seca da parte aérea (g vaso^{-1}) de seis genótipos de arroz irrigado cultivados em câmaras de topo aberto com concentração ambiente de CO₂ (400ppm) e concentração elevada de CO₂ (700ppm) no ano experimental de 2017/18 (A), e 2018/19 (B). Letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa entre as concentrações de CO₂ dentro de cada genótipo e letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa entre os genótipos em cada concentração de CO₂ pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$). As linhas verticais indicam o intervalo de confiança (IC95%). * Denota diferença significativa pelo teste t ($p \leq 0,05$) na comparação entre as duas concentrações de CO₂ no mesmo genótipo.

Com relação à variabilidade de resposta no acúmulo de biomassa, foi constatado que a magnitude da diferença de biomassa causada pela concentração de CO₂ é maior em genótipos precoces e tardios do que em genótipos intermediário (SHIMONO *et al.*, 2009). Neste estudo, resultados semelhantes foram observados nas respostas de Atalanta (mais precoce) e SCS 115 CL (mais tardio) (Figura 6). Segundo Masuya *et al.* (2020) a variabilidade genotípica referente ao acúmulo de biomassa observada em *O. sativa* e *O. glaberrima* na responsividade ao e[CO₂] é resultado do padrão de partição dos fotoassimilados, onde foi verificado que genótipos com maior distribuição de fotoassimilados para as folhas em relação aos colmos, apresentam maior incremento de biomassa. Interessante destacar que Shimono e Bunce (2009) constataram que o e[CO₂] aumenta a massa da matéria seca total e massa seca das raízes até certo estádio de desenvolvimento, porém, do estádio de iniciação da panícula para a maturação intermediária, o incremento de biomassa em e[CO₂] com relação ao a[CO₂] decresce de 35 para 6% na massa da matéria seca total, e de 39 para 9% na massa seca das raízes, coincidindo com a redução de 40% na capacidade

de absorção de N (nitrato e amônio). Por outro lado, um arroz híbrido (variedade Liangyoupeijiu) responsivo no acúmulo de biomassa na parte aérea em e[CO₂], apresentou melhor absorção de N em e[CO₂], tanto no estádio vegetativo quanto no estádio reprodutivo. A manutenção da elevada absorção de N durante a fase reprodutiva especificamente se deve à grande demanda de recursos (N) exercida pela força dreno dos órgãos reprodutivos (espiguetas) (YANG *et al.*, 2009a).

No presente estudo não foi observada interação significativa entre os fatores para a variável massa da matéria seca das raízes (MMSR). No entanto, o efeito simples foi significativo tanto para CO₂ ($p \leq 0,01$), quanto para o fator genótipo ($p \leq 0,001$). O maior valor de MMSR dentre os genótipos foi alcançado por IRGA 424 RI (Figura 7). Considerando as concentrações de CO₂, o e[CO₂] propiciou maior crescimento radicular em plantas dos genótipos Querência e IRGA 424 RI comparadas às plantas cultivadas na condição de a[CO₂]. Tem sido observado que o e[CO₂] também estimula o crescimento do sistema radicular em outro genótipo de arroz (SHIMONO; BUNCE, 2009). Durante a fase vegetativa, o aumento no crescimento da raiz em e[CO₂] é devido principalmente ao número de raízes adventícias. No entanto, o grau de estimulação do crescimento radicular declina ao longo do ciclo e, a partir do estádio de emissão das panículas, parece não haver diferenças entre as respostas em e[CO₂] e a[CO₂] (YANG *et al.*, 2008), esse declínio no crescimento radicular ocorreu em Atalanta, IRGA 416, EP 106 e SCS 115 CL (Figura 7).

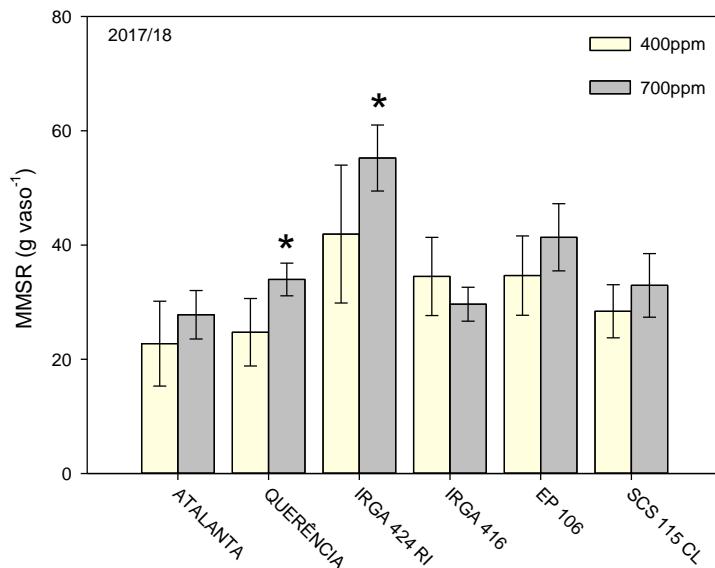


Figura 7 - Massa da matéria seca do sistema radicular (g vaso^{-1}) de seis genótipos de arroz irrigado cultivados em câmaras de topo aberto com concentração ambiente de CO_2 (400ppm) e concentração elevada de CO_2 (700ppm) no ano experimental de 2017/18. As linhas verticais indicam o intervalo de confiança (IC95%). * Denota diferença significativa pelo teste t ($p \leq 0,05$) na comparação entre as duas concentrações de CO_2 no mesmo genótipo.

O número de panículas é um importante componente que pode determinar o rendimento de grãos na cultura do arroz, bem como o número de espiguetas, percentual de grãos cheios e peso de grãos. Com o aumento do CO_2 na atmosfera, estudos têm indicado que as plantas de arroz, de maneira geral, produzem um maior número de panículas (ROY *et al.*, 2012; YOSHINAGA *et al.*, 2020). Um estudo com arroz identificou importantes QTLs responsivos ao $\text{e}[\text{CO}_2]$, dentre eles, QTLs relacionados a produção de panículas, denominados *qPN-5* e *qPN-10*, localizados nos cromossomos 5 e 10, respectivamente. Estas descobertas sugerem que apenas altas concentrações de CO_2 atmosférico podem induzir a expressão de genes destes QTLs, podendo assim contribuir para aumentar a produtividade em condições futuras (FAN *et al.*, 2008).

Os resultados obtidos neste estudo referentes ao número de panículas (Figura 8) corroboram com resultados apresentados por Shimono *et al.*, (2009), que mostram a presença de alta variabilidade genética em relação a capacidade de resposta ao $\text{e}[\text{CO}_2]$, com incremento de panículas variando de 4 a 23% entre os genótipos. O efeito isolado dos fatores CO_2 e genótipos foram significativos ($p \leq 0,001$), no entanto, para o experimento de 2017/18 não foi observada interação significativa. Neste

experimento (2017/18), entre genótipos o maior número de panículas foi produzido por IRGA 424 RI, enquanto SCS 115 CL e Atalanta foram os genótipos com menor número de panículas. A capacidade de resposta significativa referente ao aumento da emissão de panículas frente ao incremento de CO₂ foi observada em Querência, Atalanta e IRGA 416 (Figura 8A), nos quais foram constatados incrementos na ordem de 18, 19 e 22% sobre o número de panículas, respectivamente.

No experimento de 2018/19, a responsividade ao e[CO₂] em relação a emissão de panículas foi observada apenas em Atalanta e Querência (Figura 8B), o número final de panículas dos demais genótipos não foi impactado pelo e[CO₂]. Baker (2004), também relatou que e[CO₂] não afetou significativamente o número final de panículas em três genótipos norte-americanos (Cocodrie, Cypress e Jefferson). Por outro lado, Kumar *et al.* (2017) reportaram um incremento de 37% no número de panículas em plantas do genótipo Naveen cultivadas em 550 ppm de CO₂ atmosférico, comparado ao número de panículas obtido em 400ppm. No presente estudo, sob a condição normal de CO₂, os maiores números de panículas foram alcançados por IRGA 424 RI e IRGA 416, já na condição de e[CO₂], IRGA 424 RI e Querência produziram mais panículas (Figura 8B). Sabe-se que dentre os componentes de rendimento, aqueles que determinam a maior capacidade de dreno como por exemplo, o número de panículas, apresentam correlação positiva mais consistente com a produtividade de grãos em condições ideais de cultivo (DE COSTA *et al.*, 2007) em condições ideais de cultivo. Esse mecanismo de maior capacidade de dreno efetuado pelas panículas foi observado em Querência, genótipo que teve incremento no número de panículas o que refletiu em maior produtividade de grãos nas plantas em e[CO₂] (Figura 13).

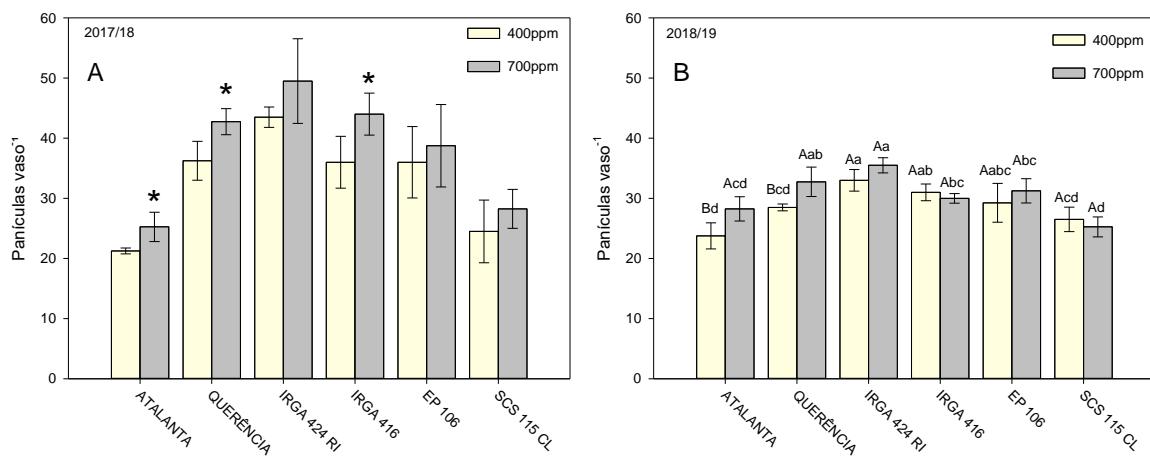


Figura 8 - Número de panículas por vaso de seis genótipos de arroz irrigado cultivados em câmaras de topo aberto com concentração ambiente de CO₂ (400ppm) e concentração elevada de CO₂ (700ppm) no ano experimental de 2017/18 (A), e 2018/19 (B). Letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa entre as concentrações de CO₂ dentro de cada genótipo e letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa entre os genótipos em cada concentração de CO₂ pelo teste Tukey ($p\leq 0,05$). As linhas verticais indicam o intervalo de confiança (IC95%). * Denota diferença significativa pelo teste t ($p\leq 0,05$) na comparação entre as duas concentrações de CO₂ no mesmo genótipo.

O estádio reprodutivo ocorre a partir de mudanças fisiológicas que desencadeiam a iniciação floral. A transição do estádio vegetativo para o estádio reprodutivo determina o tempo de floração, e é considerada uma das mais importantes alterações do desenvolvimento do ciclo de vida das plantas. O tempo de floração é controlado por uma rede complexa de genes que integra estímulos ambientais como comprimento do dia, temperatura, qualidade de luz, disponibilidade de água e nutrientes, com sinais endógenos (SHRESTHA *et al.*, 2014).

Para a variável antese, a interação significativa entre os fatores foi observada apenas no primeiro experimento (Figura 9A). O e[CO₂] reduziu o período de dias para atingir o estádio R4 (antese) nos genótipos Atalanta e IRGA 416. Estudos anteriores também verificaram efeito do e[CO₂] sobre a antecipação da antese. Uprety *et al.* (2003), observaram a antecipação de oito e três dias na antese dos genótipos de arroz Pusa Basmati-1 e Pusa-677, respectivamente. Assim como, resultados reportados por Seneweera e Conroy (1997), mostram o efeito do e[CO₂] na aceleração do florescimento, no qual foi constatado uma antecipação de sete dias na floração de plantas de arroz cultivadas em e[CO₂] comparado ao a[CO₂]. Sabe-se que a interação entre e[CO₂] e temperatura elevada também afeta o período de floração, pois ocorre

redução no intervalo de filocrono, reduzindo os dias da emergência à emissão das panículas e consequentemente a floração (MANALO *et al.*, 1994).

A variabilidade intraespecífica em relação à resposta do tempo de floração em e[CO₂] tem sido pouco estudada. No entanto, em um trabalho com 10 genótipos de *Arabidopsis thaliana*, foi possível observar diferentes respostas do efeito do e[CO₂] sobre o tempo de floração, desde a floração mais precoce, atrasada e inalterada (SPRINGER; WARD, 2007). Sabe-se que em genótipos responsivos de *A. thaliana* o mecanismo de antecipação do florescimento em função do e[CO₂] engloba uma complexa cascata de sinalização que envolve pelos menos três microRNAs (miR156, miR157 e miR172), além de genes *SPLs* (*SQUAMOSA PROMOTER BINDING PROTEIN-LIKE*) e genes da família *APETALA2* (AP2). Os genes AP2 atuam retardando a transição do estádio vegetativo para o reprodutivo e o tempo de floração. Sob e[CO₂] ocorre a redução na expressão de miR156 e miR157 e o aumento na expressão de miR172. A redução dos níveis de miR156/157 possibilita o aumento de níveis de *SPLs* que, por sua vez, incrementam a transcrição de miR172 e, que por fim, atuam na supressão de genes AP2, resultando na antecipação do florescimento (MAY *et al.*, 2013).

Portanto, uma cascata de sinalização de indução do florescimento similar deve atuar no metabolismo daqueles genótipos de arroz responsivos ao e[CO₂]. Em um estudo anterior com plantas de arroz, foi reportado que a superexpressão de miR172d também induz o florescimento via repressão da expressão dos genes *OsIDS1* (*OsINDETERMINATE SPIKELET 1*) e *SNB* (*SUPERNUMERARY BRACT*) que, por sua vez, também são genes pertencentes à família AP2 (LEE *et al.*, 2014).

Conforme observado nos resultados do presente estudo (Figura 9), para os genótipos Querência, IRGA 424 RI, EP106 e SCS 115 CL, o período da antese (tempo de florescimento) não foi impactado pelo e[CO₂] durante o cultivo.

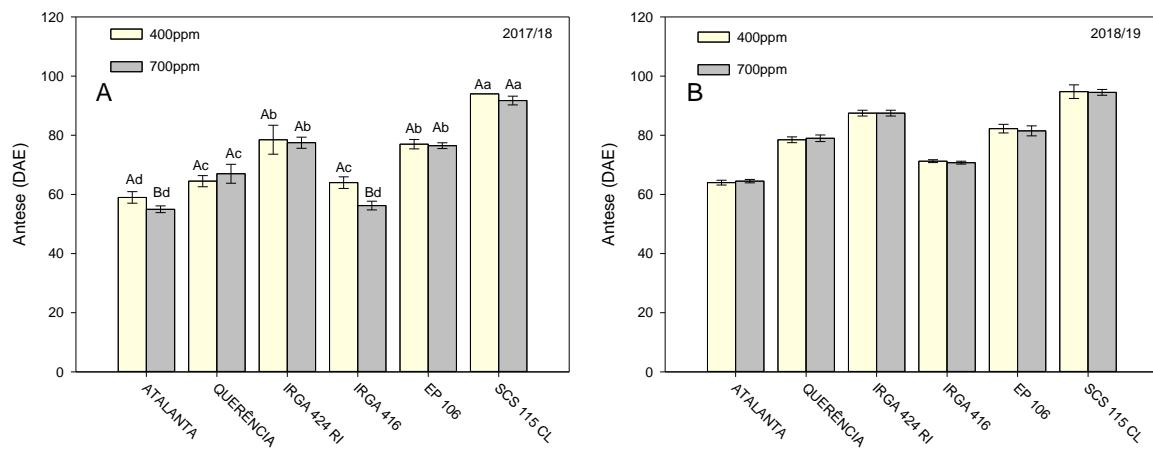


Figura 9 - Período de dias da emergência até a antese de seis genótipos de arroz irrigado cultivados em câmaras de topo aberto com concentração ambiente de CO₂ (400ppm) e concentração elevada de CO₂ (700ppm) no ano experimental de 2017/18 (A), e 2018/19 (B). Letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa entre as concentrações de CO₂ dentro de cada genótipo e letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa entre os genótipos em cada concentração de CO₂ pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$). As linhas verticais indicam o intervalo de confiança (IC95%).

Para a variável número de grãos por panículas (NGP), a interação entre CO₂ e genótipo foi significativa nos dois experimentos ($p \leq 0,05$). No ano experimental 2017/18, na condição normal de CO₂, o genótipo Atalanta apresentou NGP significativamente superior aos resultados obtidos nos genótipos EP106 e SCS 115 CL (Figura 10A). Por outro lado, na condição de e[CO₂] os genótipos Querência e EP 106 mostraram maior NGP do que os genótipos IRGA 416 e SCS 115 CL. Sobre as respostas em relação ao efeito da concentração de CO₂, constatou-se que para Atalanta e IRGA 416 o NGP foi significativamente reduzido em e[CO₂], já para EP106 a condição de e[CO₂] possibilitou o incremento no NGP.

De acordo com Li *et al.* (2017), o e[CO₂] causou um incremento de até 35% no NGP devido, principalmente, ao aumento no número total de espiguetas, associado à redução da degeneração destas espiguetas. O incremento do NGP também está relacionado ao aumento do suprimento de fotoassimilados após o estádio de emissão das panículas e, principalmente, à maior eficiência na remobilização dos fotoassimilados armazenados nas folhas e colmos durante o estádio vegetativo para os grãos (LIU *et al.*, 2008; YANG *et al.*, 2009b). Neste sentido, um QTL para NGP denominado *gGP-1* foi identificado como responsável ao e[CO₂] em linhagens de arroz oriundas do cruzamento entre IR24 e Asominori. Na condição de e[CO₂], a presença deste QTL possibilitou um incremento de cerca de 8 grãos por panícula (FAN *et al.*,

2008). Portanto, a identificação de QTLs responsivos ao e[CO₂] possibilita o desenvolvimento de novos genótipos mais responsivos às condições ambientais futuras.

No experimento de 2018/19, constatou-se que o genótipo Atalanta apresentou o maior NGP tanto na condição de a[CO₂], quanto em e[CO₂], em relação aos demais genótipos (Figura 10B). O NGP do genótipo SCS 115 CL, na condição de a[CO₂] foi significativamente menor do que Atalanta e IRGA 416, sendo que na concentração e[CO₂], SCS 115 CL foi o genótipo que apresentou menor NGP entre todos genótipos avaliados. Em relação ao desempenho de cada genótipo nas diferentes condições de CO₂, foi constatado que o e[CO₂] reduziu significativamente o NGP em IRGA 424 RI e SCS 115 CL. A redução do NGP nos genótipos IRGA 416 em 2017/18 e de IRGA 424 RI e SCS 115 CL em 2018/19, está diretamente relacionada com o incremento da esterilidade de espiguetas em e[CO₂] (Figura 11).

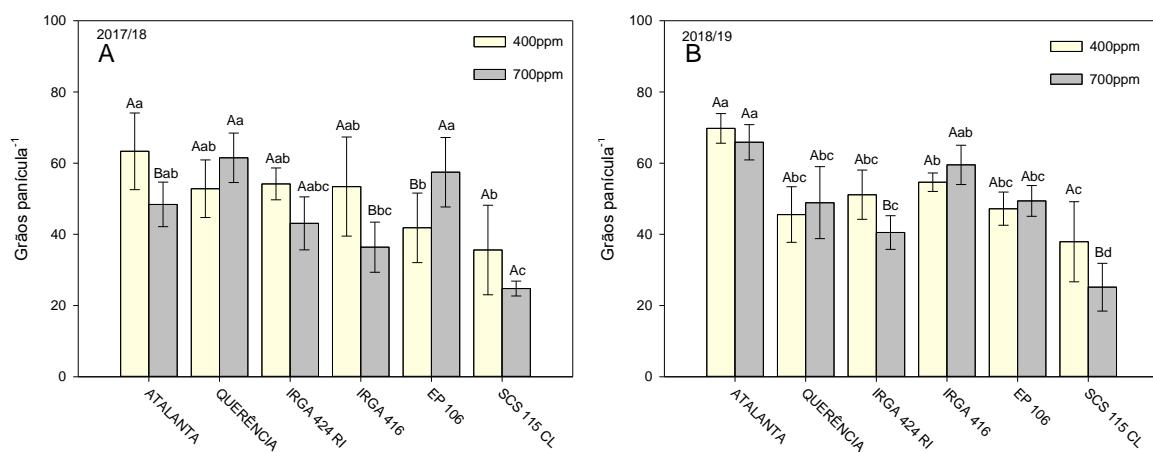


Figura 10 - Número de grãos por panícula de seis genótipos de arroz irrigado cultivados em câmaras de topo aberto com concentração ambiente de CO₂ (400ppm) e concentração elevada de CO₂ (700ppm) no ano experimental de 2017/18 (A), e 2018/19 (B). Letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa entre as concentrações de CO₂ dentro de cada genótipo e letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa entre os genótipos em cada concentração de CO₂ pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$). As linhas verticais indicam o intervalo de confiança (IC95%).

O incremento do número de espiguetas diferenciadas e o decréscimo no percentual de espiguetas degeneradas, em razão do cultivo em e[CO₂], pode estar relacionado com maior síntese de citocininas e incremento na atividade de enzimas envolvidas no metabolismo do nitrogênio nas panículas, uma vez que nessas panículas ocorre aumento da atividade das enzimas glutamina sintetase (GS), glutamato sintase (GOGAT) e glutamato desidrogenase (GDH). Além disso, o e[CO₂]

aumenta a expressão dos genes *OsAMT1.1*, *OsAMT1.2*, *OsAMT1.3* e *OsNRT*, os quais codificam proteínas transportadoras de amônio e nitrato (WANG *et al.*, 2019b). Por outro lado, o menor número de espiguetas em genótipos que apresentam baixa resposta ao e[CO₂] pode ser atribuído ao decréscimo na atividade das raízes, o que resulta na redução da síntese de citocininas que atuam no desenvolvimento das panículas (ZHU *et al.*, 2015).

Foi constatada interação significativa entre CO₂ e genótipo para a variável de esterilidade de espiguetas, tanto no experimento de 2017/18 ($p\leq 0,01$) quanto em 2018/19 ($p\leq 0,05$). Em 2017/18 a esterilidade de espiguetas em SCS 115 CL foi significativamente superior aos demais genótipos nas duas condições de CO₂ (Figura 11A). Por outro lado, o genótipo EP 106 apresentou o menor percentual de esterilidade dentre os genótipos, em ambas as concentrações de CO₂ estudadas. Considerando o efeito da concentração de CO₂, verificou-se que o e[CO₂] causou um aumento significativo na esterilidade de espiguetas do genótipo IRGA 416.

No experimento de 2018/19, na condição normal de CO₂, os genótipos SCS 115 CL e Querência apresentaram os maiores percentuais de esterilidade de espiguetas (Figura 11B), diferindo de Atalanta e EP 106, que apresentaram os menores valores de esterilidade de espiguetas na mesma condição de CO₂. Em e[CO₂], os maiores percentuais de esterilidade de espiguetas foram atingidos por SCS 115 CL e IRGA 424 RI. Já os genótipos Atalanta e EP 106 apresentaram os menores percentuais de esterilidade de espiguetas ($p\leq 0,05$) em comparação aos demais genótipos cultivados em e[CO₂]. Em relação ao efeito das concentrações de CO₂ sobre cada genótipo, constatou-se que e[CO₂] desencadeou uma elevação no percentual de esterilidade de espiguetas dos genótipos IRGA 424 RI e SCS 115 CL.

O e[CO₂] pode aumentar a temperatura do dossel devido ao fechamento dos estômatos, resultando na redução da gs. A redução da gs causa redução da transpiração e, consequentemente, pode haver aumento da temperatura da planta. De acordo com Yoshimoto *et al.* (2005), nas plantas em e[CO₂] a temperatura das folhas foi entre 1 e 2°C mais elevada do que na condição a[CO₂], enquanto nas panículas a temperatura foi entre 0,5 e 1°C mais elevada na condição de e[CO₂] durante a antese. Essa elevação na temperatura dos tecidos vegetais causada pelo e[CO₂], é considerada suficiente para induzir a esterilidade de espiguetas. As alterações causadas pelo e[CO₂] nas espiguetas durante a floração também afetam

negativamente o processo de polinização, através da redução no número de grãos de pólen depositados sobre o estigma (KOBAYASI *et al.*, 2019).

Neste sentido, possivelmente o incremento na esterilidade de espiguetas observado nos genótipos IRGA 424 RI e SCS 115 CL sob $e[CO_2]$ deve ter sido resultante da elevação da temperatura das panículas durante a antese, uma vez que, estes genótipos apresentaram uma redução significativa da gs (Figura 3). Já a esterilidade observada em IRGA 416 em $e[CO_2]$ pode ter sido incrementada por uma possível redução no número de grãos de pólen depositados sobre os estigmas.

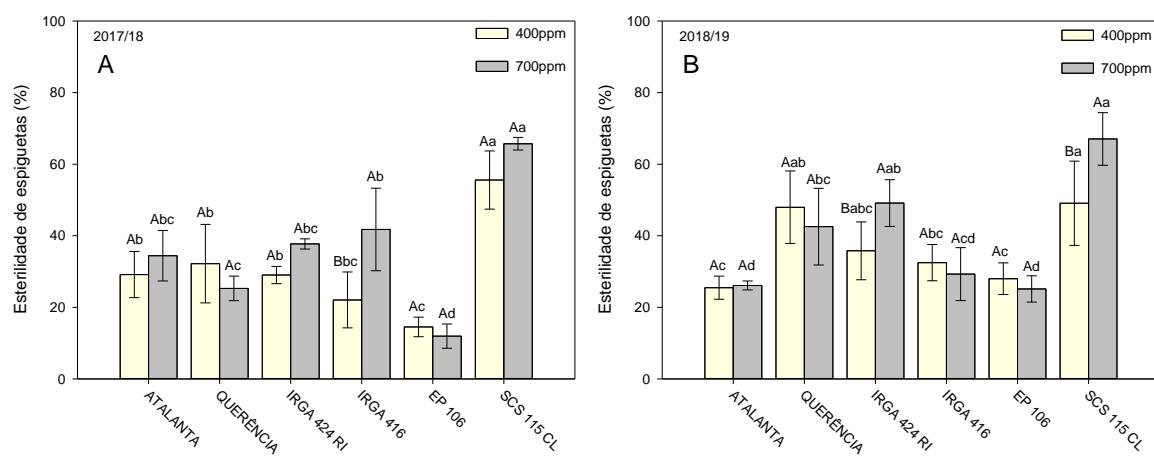


Figura 11 - Percentual de esterilidade de espiguetas de seis genótipos de arroz irrigado cultivados em câmaras de topo aberto com concentração ambiente de CO_2 (400ppm) e concentração elevada de CO_2 (700ppm) no ano experimental de 2017/18 (A), e 2018/19 (B). Letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa entre as concentrações de CO_2 dentro de cada genótipo e letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa entre os genótipos em cada concentração de CO_2 pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$). As linhas verticais indicam o intervalo de confiança (IC95%).

Na variável peso de mil grãos (PMG) não foi constatada interação entre os fatores CO_2 e genótipo em nenhum dos experimentos. No experimento de 2017/18, os resultados mostram que SCS 115 CL obteve o maior valor de PMG dentre os genótipos (Figura 12A), enquanto os valores de PMG em IRGA 416 e 424 RI foram significativamente menores que os demais genótipos. No experimento de 2018/19, foi observado significância apenas no efeito simples dos fatores CO_2 ($p \leq 0,05$) e genótipo ($p \leq 0,001$). No fator genótipo, SCS 115 CL apresentou o maior valor de PMG (30 g) (Figura 12B), sendo que o PMG de IRGA 416 (21 g) foi significativamente menor comparado a todos os genótipos avaliados.

Em relação à concentração de CO_2 , no geral, o PMG foi significativamente maior na condição de $e[CO_2]$ em relação ao $a[CO_2]$. Esse resultado corrobora com

dados apresentados por Zhu *et al.* (2015), onde foi verificado que o e[CO₂] causou um incremento significativo de 3,5% no peso individual de grãos em relação à condição de a[CO₂]. Entretanto, assim como no experimento 2017/18, os resultados obtidos por Yoshinaga *et al.* (2020), também mostram que o e[CO₂] não apresentou efeito sobre o PMG de cinco genótipos de arroz avaliados.

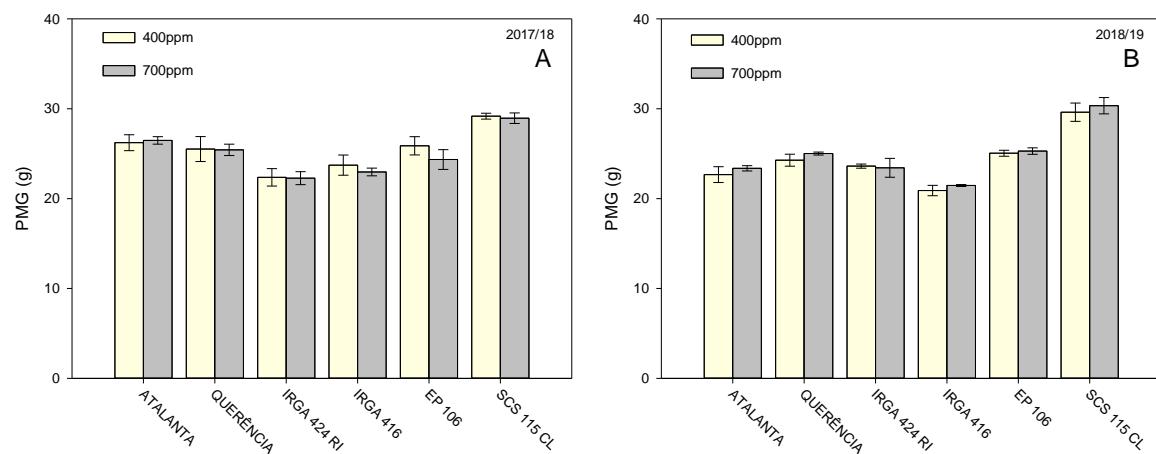


Figura 12 - Peso de mil grãos de seis genótipos de arroz irrigado cultivados em câmaras de topo aberto com concentração ambiente de CO₂ (400ppm) e concentração elevada de CO₂ (700ppm) no ano experimental de 2017/18 (A), e 2018/19 (B). As linhas verticais indicam o intervalo de confiança (IC95%).

Na variável produtividade de grãos, foi observada interação significativa entre os fatores nos dois experimentos ($p \leq 0,05$). Na condição de a[CO₂] no experimento de 2017/18, os genótipos Atalanta, Querência, IRGA 424 RI, IRGA 416 e EP106 apresentaram produtividades de grãos superiores ao genótipo SCS 115 CL (Figura 13A). Na condição de e[CO₂] os genótipos Querência e EP 106 obtiveram as maiores produtividades de grãos. E assim como na condição de a[CO₂], o genótipo SCS 115 CL obteve a menor produtividade de grãos entre os seis genótipos. Avaliando as respostas de cada genótipo em relação às concentrações de CO₂, constatou-se que Querência e EP 106 foram responsivos ao e[CO₂], mostrando incremento de 37 e 31% na produtividade de grãos, respectivamente.

No experimento 2018/19, na concentração a[CO₂], a produtividade de grãos de IRGA 424 RI foi significativamente superior ao SCS 115 CL (Figura 13B), mas não diferindo dos demais genótipos. Já na condição e[CO₂] o genótipo Atalanta obteve

produtividade de grãos significativamente superior aos genótipos IRGA 424 RI e SCS 115 CL, porém não diferindo da produtividade de Querência, EP 106 e IRGA 416. Em 2018/19, apenas o genótipo Querência apresentou responsividade ao e[CO₂], com um incremento de cerca de 35% na produtividade de grãos. Por outro lado, o genótipo SCS 115 CL foi impactado de maneira negativa pelo e[CO₂], condição que causou redução de 35% na produtividade de grãos.

A produtividade de grãos da cultura do arroz é determinada pelos componentes de rendimento como o número de panículas, número de grãos cheios por panícula e peso individual de grão (SATAPATHY *et al.*, 2015). Em se tratando do efeito do e[CO₂], um levantamento recente mostra que o incremento do número de panículas contribui com 86% no aumento da produtividade em cultivares japônica, enquanto para cultivares índica e híbridos a contribuição é de 41%. Em relação ao número de espiguetas por panícula, a contribuição sobre a produtividade de híbridos e cultivares índica é de 36%, e de apenas 2% em cultivares japônica (LV *et al.*, 2020).

O incremento de produtividade em e[CO₂] é resultado do desempenho das plantas desde os estádios iniciais até a maturação. O e[CO₂] aumenta a atividade de enzimas importantes, como a sacarose fosfato sintase, promovendo o incremento de carboidratos solúveis totais e amido, consequentemente estimulando a produção de perfilhos e panículas. Enquanto, os fotoassimilados sintetizados durante o estádio de emissão das panículas começam a ser exportados para as panículas para dar sequência ao processo de desenvolvimento dos grãos (SUJATHA *et al.*, 2008).

Portanto, como observado neste estudo o incremento de produtividade de grãos em e[CO₂] no genótipo Querência foi devido principalmente ao aumento no número de panículas. Enquanto, o incremento de produtividade em EP106 está relacionado com maior NGP, corroborando com resultados obtidos por Uprety *et al.* (2003), onde o aumento de 40% na produtividade em função do e[CO₂] foi atribuído principalmente ao incremento no número de grãos, proporcionado pelo maior fluxo de carboidratos das folhas fontes para a produção de grãos. Resultados similares foram obtidos por Hasegawa *et al.* (2013), onde os dois genótipos mais responsivos ao e[CO₂] também mostraram mecanismos distintos para incrementar a produtividade de grãos, no genótipo Takanari a realocação dos recursos foi direcionada para aumentar a produção de espiguetas por panícula, enquanto Akita 63 realocou os fotoassimilados para incrementar a massa individual de grão. E por fim, a redução do NGP em SCS 115 CL foi responsável pelo decréscimo na sua produtividade em e[CO₂].

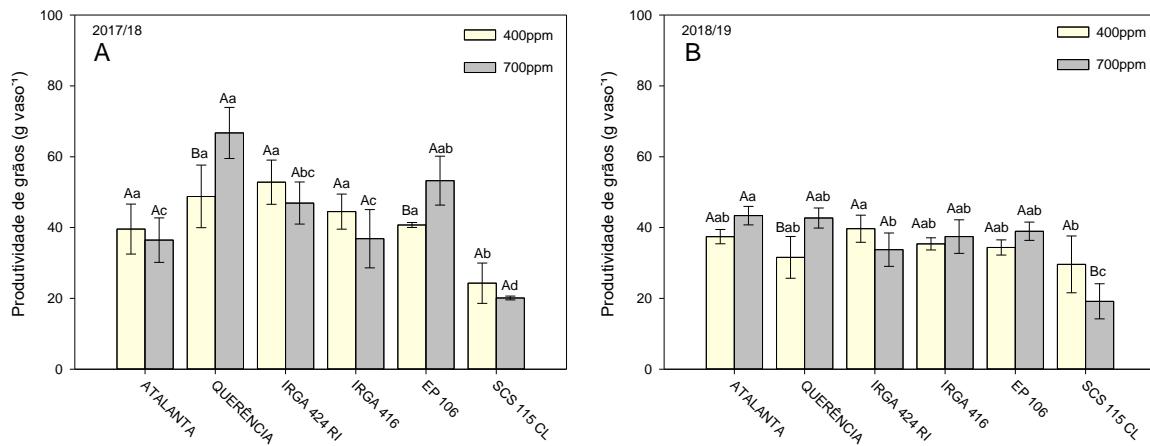


Figura 13 - Produtividade de grãos (g vaso^{-1}) de seis genótipos de arroz irrigado cultivados em câmaras de topo aberto com concentração ambiente de CO_2 (400ppm) e concentração elevada de CO_2 (700ppm) no ano experimental de 2017/18 (A), e 2018/19 (B). Letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa entre as concentrações de CO_2 dentro de cada genótipo e letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa entre os genótipos em cada concentração de CO_2 pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$). As linhas verticais indicam o intervalo de confiança (IC95%).

O $e[\text{CO}_2]$ causa incremento da atividade de importantes enzimas envolvidas no metabolismo dos carboidratos. Dessa forma, o incremento na atividade das enzimas sacarose fosfato sintase e sacarose sintase, e na expressão dos genes *SPS1* e *RSUS1*, causa forte aumento no conteúdo de sacarose, hexose e amido. O incremento destes fotoassimilados possibilita uma aceleração do crescimento e da transição da função dreno para a função fonte das folhas mais novas, contribuindo para o incremento de produtividade (LI *et al.*, 2008).

Neste estudo o parâmetro da razão fonte/dreno apresentou interação significativa nos dois experimentos ($p \leq 0,01$). Em 2017/18, tanto na condição normal de CO_2 , quanto em $e[\text{CO}_2]$ a maior razão fonte/dreno foi constatada no genótipo SCS 115 CL (Figura 14A). Os demais genótipos não diferiram um do outro nas condições de CO_2 . Considerando a resposta de cada genótipo nas duas concentrações de CO_2 foi possível verificar que IRGA 416 e SCS 115 CL apresentaram maior razão fonte/dreno na condição de $e[\text{CO}_2]$, mostrando que nesses dois genótipos possivelmente a realocação de assimilados não foi direcionada suficientemente dos colmos e folhas para as espiguetas.

No experimento de 2018/19, no cultivo em $a[\text{CO}_2]$, os genótipos SCS 115 CL, Querência apresentaram valores para razão fonte/dreno significativamente maiores

do que a razão fonte/dreno de IRGA 416 e Atalanta (Figura 14B). Na condição de e[CO₂] o genótipo SCS 115 CL obteve a maior razão fonte/dreno entre os genótipos avaliados. Da mesma forma, IRGA 424 RI apresentou uma razão fonte/dreno significativamente maior quando comparado com o genótipo Atalanta. Em relação aos efeitos das concentrações de CO₂ em cada genótipo, foi constatado que o e[CO₂] causou incremento significativo na razão fonte/dreno dos genótipos IRGA 424 RI e SCS 115 CL em relação as plantas destes genótipos cultivadas em a[CO₂]. Assim como SCS 115 CL e IRGA 416, o genótipo IRGA 424 RI não apresentou eficiência na realocação de assimilados para produção de grãos.

Apesar dos genótipos Querência e EP106 apresentarem maior incremento de produtividade em resposta ao e[CO₂], a relação fonte/dreno, mesmo que tenha sido menor em e[CO₂], não diferiu da condição a[CO₂].

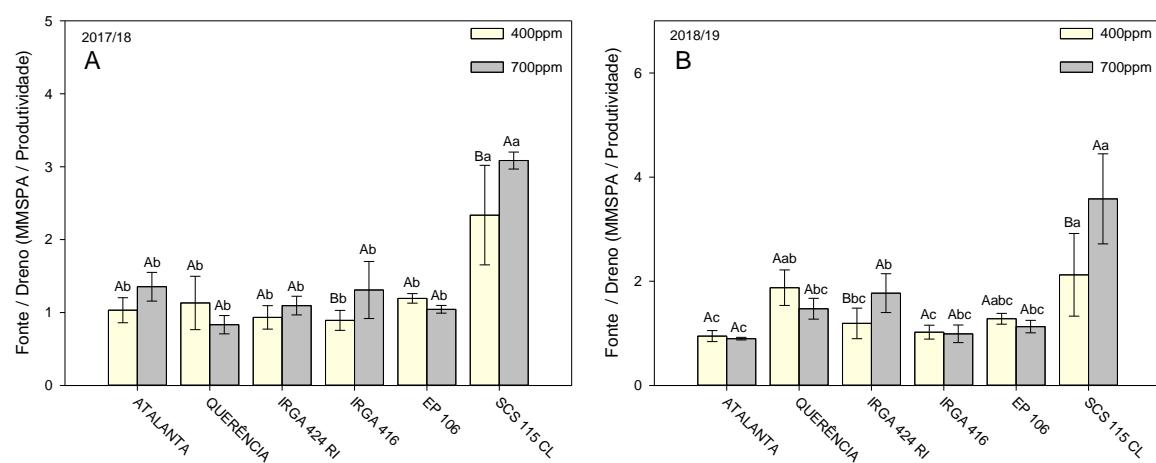


Figura 14 – Relação fonte:dreno (MMSPA:Produtividade de grãos) de seis genótipos de arroz irrigado cultivados em câmaras de topo aberto com concentração ambiente de CO₂ (400ppm) e concentração elevada de CO₂ (700ppm) no ano experimental de 2017/18 (A), e 2018/19 (B). Letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa entre as concentrações de CO₂ dentro de cada genótipo e letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa entre os genótipos em cada concentração de CO₂ pelo teste Tukey ($p\leq 0,05$). As linhas verticais indicam o intervalo de confiança (IC95%).

Quanto à capacidade dreno, não foi observada interação entre os fatores no experimento de 2017/18. A significância foi observada nos efeitos simples de genótipo ($p\leq 0,001$) e CO₂ ($p\leq 0,001$). Dentre os genótipos, Querência e IRGA 424 RI apresentaram capacidade dreno significativamente superior aos demais (Figura 15A). Considerando os genótipos nas duas concentrações de CO₂, Querência e EP106 apresentaram incremento significativo da capacidade dreno na condição de e[CO₂] em comparação a condição de a[CO₂].

Já no experimento de 2018/19, foi detectada interação entre os fatores ($p \leq 0,001$). Na condição de $a[\text{CO}_2]$, os genótipos IRGA 424 RI, Querência e SCS 115 CL apresentaram os maiores valores de capacidade dreno (Figura 15B). Enquanto, na condição de $e[\text{CO}_2]$, Querência e IRGA 424 RI apresentaram capacidade dreno significativamente superior aos demais. Em relação ao efeito da concentração de CO_2 , o incremento significativo na capacidade dreno em $e[\text{CO}_2]$ foi constatado nos genótipos Querência e Atalanta.

A resposta mais eficiente das plantas a uma condição de $e[\text{CO}_2]$ está relacionada com a capacidade dreno e a habilidade para manter a capacidade fotossintética durante o desenvolvimento dos grãos. A continuidade da estimulação fotossintética pode estar associada a redução da relação fonte/dreno do carbono e integrada a manutenção dos níveis de expressão do gene *RBCL* (codificante da maior subunidade da RUBISCO), do conteúdo da RUBISCO e da atividade de carboxilação (ZHU *et al.*, 2014). Além disso, outro estudo revelou que em condição de $e[\text{CO}_2]$ o incremento da expressão dos genes *OsSUT1* e *OsSUT2* pode estar associado à manutenção da capacidade fotossintética da folha bandeira durante o enchimento de grãos de arroz. Esses genes codificam transportadores de sacarose que podem atuar para evitar o acúmulo excessivo de carboidratos nos tecidos fonte (ZHANG *et al.*, 2020a). Cao *et al.* (2020), observaram que as plantas de arroz em $e[\text{CO}_2]$ são capazes de aumentar a síntese e o acúmulo de carboidratos não-estruturais nos colmos, porém o incremento da produtividade de grãos foi limitado pela pouca capacidade dreno da planta. Portanto, os resultados de maior capacidade dreno obtidos no presente estudo sugerem que os genótipos Querência e EP 106 em atmosfera enriquecida com CO_2 são capazes de manter elevada a atividade fotossintética ao longo do ciclo, especialmente na fase de enchimento de grãos, e dessa forma atingir patamares superiores de produtividade.

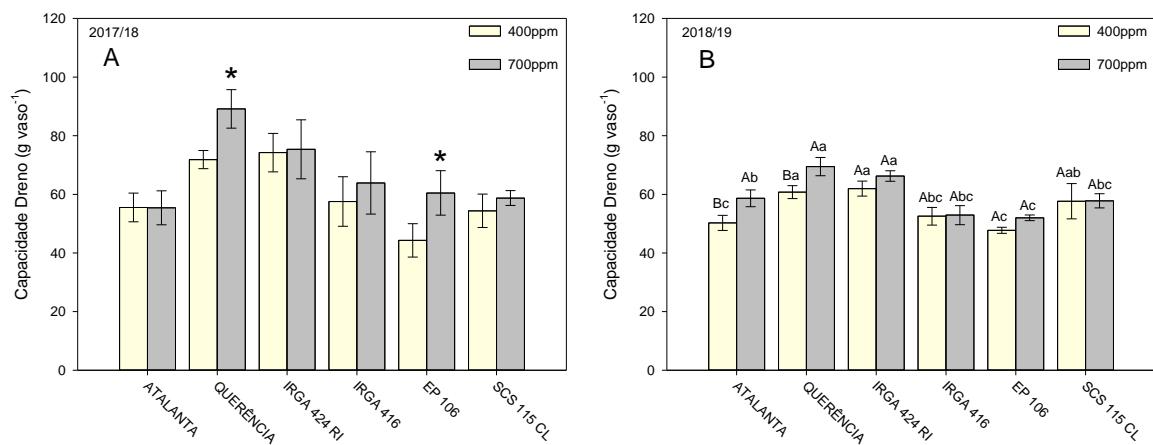


Figura 15 – Análise da capacidade dreno de seis genótipos de arroz irrigado cultivados em câmaras de topo aberto com concentração ambiente de CO₂ (400ppm) e concentração elevada de CO₂ (700ppm) no ano experimental de 2017/18 (A), e 2018/19 (B). Letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa entre as concentrações de CO₂ dentro de cada genótipo e letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa entre os genótipos em cada concentração de CO₂ pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$). As linhas verticais indicam o intervalo de confiança (IC95%). * Denota diferença significativa pelo teste t ($p \leq 0,05$) na comparação entre as duas concentrações de CO₂ no mesmo genótipo.

3.3.3 Experimento de qualidade de sementes

O desenvolvimento da semente pode ser considerado como um processo descontínuo e gradual, onde inúmeras fases ocorrem em sucessão para formar uma unidade reprodutiva funcional. Todo esse processo de desenvolvimento da semente é muito complexo e altamente coordenado, que integra rotas de sinalizações genéticas, metabólicas e fisiológicas, as quais podem ser afetadas tanto por sinais endógenos, quanto estímulos ambientais (SABELLI, 2012).

Por sua vez, a germinação das sementes, sendo crucial para o estabelecimento das plântulas e crescimento das plantas da próxima geração, é um evento pré-requisito para a produtividade da cultura (HAN; YANG, 2015). A germinação é um processo fisiológico e bioquímico complexo que envolve uma série de transdução de sinais e regulação da expressão gênica. O processo de germinação das sementes inicia de fato com a absorção de água e é finalizado com a protrusão da radícula. Ao todo esse processo abrange três fases. A primeira é a fase de rápida absorção de água, a segunda fase consiste da reativação do metabolismo e a fase três comprehende a emergência da radícula (HE; YANG, 2013).

Durante o processo de germinação ocorre uma série de eventos de mobilização de reservas como amido, proteínas e lipídeos, que inicia logo após a embebição,

quando o embrião começa a sintetizar giberelina, esse hormônio então difunde para a camada de aleurona onde inicia uma cascata de sinalização que leva a síntese α-amilases e outras enzimas hidrolíticas. Por fim, essas enzimas atuam no endosperma degradando os compostos de reserva (HE; YANG, 2013). A demanda energética para sustentar a germinação e o crescimento inicial da plântula de arroz é suprida através da disponibilidade de moléculas de ATP, oriundas da glicólise, do ciclo dos ácidos tricarboxílicos e da fermentação (HE *et al.*, 2011; YANG *et al.*, 2007).

No presente estudo a variável percentual de germinação aos 5 dias, apresentou interação entre CO₂ e genótipo apenas em sementes oriundas do experimento de 2018/19 ($p \leq 0,05$). Enquanto para sementes do experimento de 2017/18 foi constatado o efeito simples dos fatores CO₂ ($p \leq 0,01$) e genótipo ($p \leq 0,01$) (Tabela 6).

Tabela 6 - Valor-*p* dos efeitos simples e da interação entre os fatores para as variáveis dos experimentos de qualidade de sementes de arroz produzidas em câmaras de topo aberto em 2017/18 e 2018/19

	2017/18			
	Germinação 5d	Germinação 14d	Comp. Plântula	MMSP
CO ₂	0,007	0,128	0,073	0,918
Genótipo	0,004	0,244	0,000	0,000
CO ₂ xGenótipo	0,282	0,429	0,513	0,204
	2018/19			
	Germinação 5d	Germinação 14d	Comp. Plântula	MMSP
CO ₂	0,000	0,993	0,781	0,004
Genótipo	0,000	0,000	0,000	0,000
CO ₂ xGenótipo	0,033	0,386	0,001	0,415

Dentre os genótipos, na avaliação aos 5 dias o maior percentual de germinação foi alcançado por EP 106 (Figura 16A) não diferindo significativamente apenas do genótipo Querência. Nas concentrações de CO₂ nas quais as plantas mães foram submetidas, foi verificado que para IRGA 424 RI e SCS 115 CL a[CO₂] reduziu o percentual de germinação das sementes aos 5 dias. No experimento com sementes de 2018/19, na condição a[CO₂] o maior percentual de germinação foi verificado em Atalanta com diferença significativa para o percentual de germinação dos genótipos Querência e SCS 115 CL (Figura 16B). Na condição de e[CO₂] os genótipos Atalanta e IRGA 416 apresentaram germinação superior aos genótipos Querência e SCS 115 CL. Analisando o efeito do CO₂ sobre as sementes produzidas de cada genótipo foi

possível constatar que o e[CO₂] impactou negativamente o percentual de germinação de Atalanta, Querência e SCS 115 CL em comparação com a germinação de sementes provenientes da condição de a[CO₂].

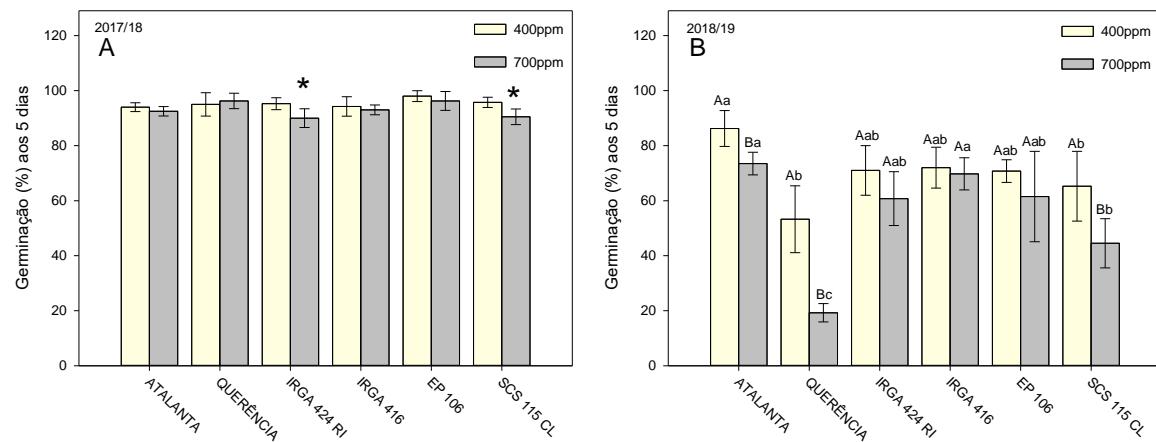


Figura 16 - Percentual de germinação aos 5 dias após início do teste de germinação de sementes de arroz oriundas de plantas cultivadas em câmaras de topo aberto com concentração ambiente de CO₂ (400ppm) e concentração elevada de CO₂ (700ppm) no ano experimental de 2017/18 (A), e 2018/19 (B). Letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa entre as concentrações de CO₂ dentro de cada genótipo e letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa entre os genótipos em cada concentração de CO₂ pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$). As linhas verticais indicam o intervalo de confiança (IC95%). * Denota diferença significativa pelo teste t ($p \leq 0,05$) na comparação entre as duas concentrações de CO₂ no mesmo genótipo.

A avaliação do percentual de germinação aos 14 dias não apresentou interação significativa entre os fatores. Em relação a avaliação das sementes de 2018/19, o fator genótipo foi significativo para o percentual de germinação aos 14 dias. O genótipo EP 106 atingiu 99,5% de germinação não diferindo significativamente de Atalanta, porém maior do que a germinação dos demais genótipos (Figura 17B).

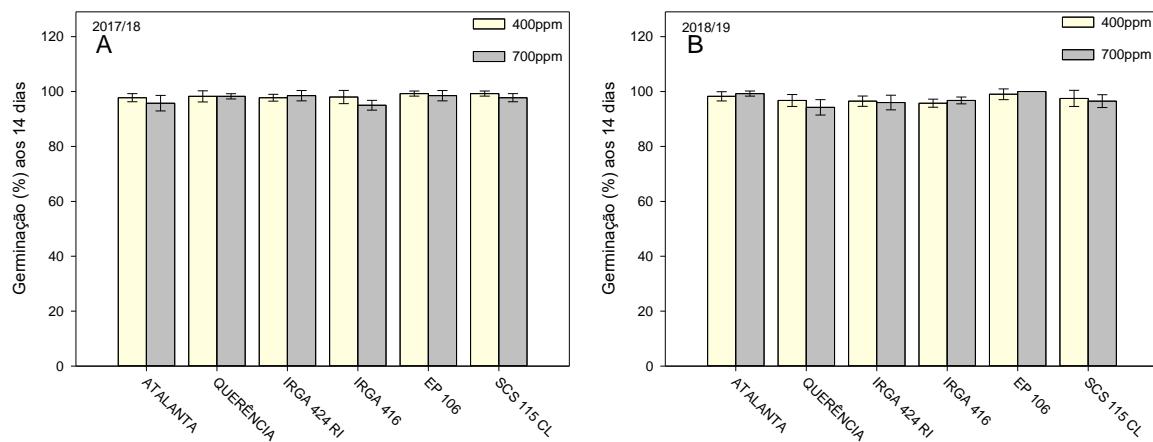


Figura 17 - Percentual de germinação aos 14 dias após início do teste de germinação de sementes de arroz oriundas de plantas cultivadas em câmaras de topo aberto com concentração ambiente de CO₂ (400ppm) e concentração elevada de CO₂ (700ppm) no ano experimental de 2017/18 (A), e 2018/19 (B). As linhas verticais indicam o intervalo de confiança (IC95%).

Está elucidado que no processo de germinação o hormônio ABA apresenta função antagônica a giberelina. Uma vez que, ABA impede que a giberelina atue induzindo a expressão de *GAMyb*, um fator de transcrição que regula a transativação da expressão de genes das α-amilases. Ou seja, ABA atua inibindo ou atrasando a germinação (GÓMEZ-CADENAS *et al.*, 2001; HAN; YANG, 2015; YE *et al.*, 2012a). Neste sentido, resultados de estudo revelam que a presença de alta concentração de glicose durante a embebição de sementes de arroz é capaz de suprimir a expressão de *OsABA8ox2* e *OsABA8ox3*, os quais são genes chaves para a regulação do catabolismo de ABA. Como consequência, os níveis de ABA são mantidos relativamente elevados, ao ponto de atrasar a germinação das sementes de arroz (ZHU; YE; ZHANG, 2009).

Sabendo que em condição de e[CO₂] pode ocorrer um incremento significativo no conteúdo de amilose no endosperma de sementes de arroz (CHATURVEDI *et al.*, 2017b; SENEWEERA *et al.*, 1996), o menor percentual de germinação inicial verificado em alguns genótipos no presente estudo pode estar relacionado com a manutenção dos níveis de ABA desencadeada pela sinalização causada pelo acúmulo de carboidratos solúveis liberados via degradação do amido no endosperma. Visto que, o percentual de germinação baixo foi verificado apenas no período inicial, ao passo que a germinação final não foi impactada pelo efeito parental do e[CO₂]. Além

disso, a redução no teor de N e proteínas também parecem impactar a germinação de sementes produzidas em e[CO₂].

Um estudo realizado por Lamichaney *et al.* (2019) mostra que quando as plantas de arroz foram cultivadas em e[CO₂] houve redução da germinação e do vigor das sementes produzidas. Estas respostas foram associadas diretamente à redução no conteúdo de N e no teor e translocação de carboidratos. No entanto, os autores destacam a necessidade ampliar o número de genótipos avaliados, visto que os resultados estão limitados a um único genótipo. Resultados obtidos em trigo mostram que o e[CO₂] não é capaz de impactar o percentual de germinação final, porém reduz a velocidade de germinação. Neste caso, o atraso na germinação foi relacionado com a redução do teor de proteínas, combinado com o aumento na oxidação de proteínas (VERRILLO *et al.*, 2017).

Em relação ao comprimento de plântulas, não houve interação significativa para as plântulas de sementes oriundas de 2017/18 (Figura 18A). Houve interação significativa entre CO₂ e genótipo ($p \leq 0,001$) para o comprimento de plântulas oriundas das sementes do experimento de 2018/19. As sementes de IRGA 424 RI produzidas sob a concentração a[CO₂] originaram plântulas com maior comprimento do que plântulas de IRGA 416 e Querência (Figura 18B). Nas plântulas originadas de sementes produzidas em e[CO₂] Querência diferiu significativamente dos demais genótipos, apresentando o menor comprimento de plântulas. Considerando o efeito da concentração de CO₂ em cada genótipo, verificou-se que plântulas de Querência originadas a partir de sementes produzidas em e[CO₂] apresentaram alterações no comprimento, com plântulas significativamente menores em comparação às plântulas oriundas das sementes produzidas em a[CO₂].

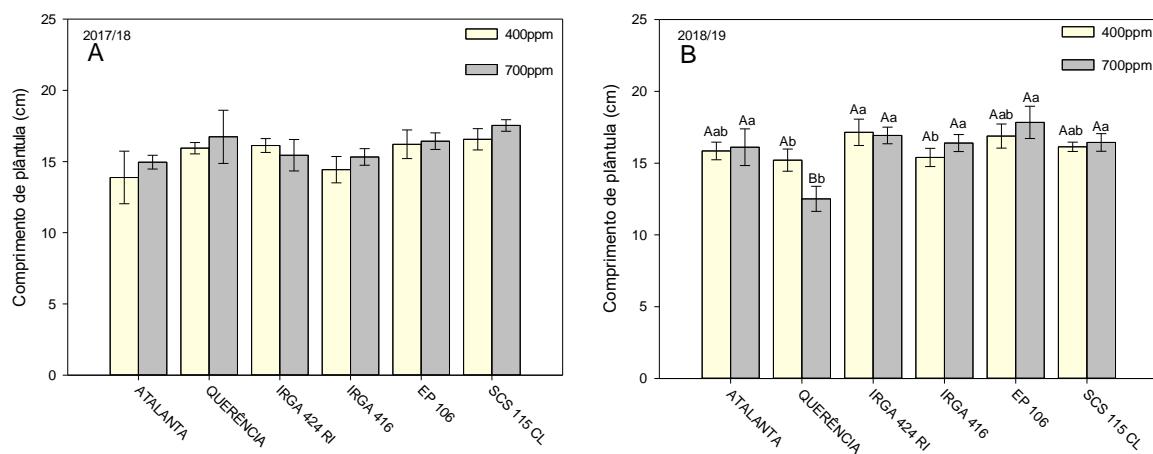


Figura 18 – Comprimento de plântulas (cm) aos 14 dias após início do teste de germinação de sementes de arroz oriundas de plantas cultivadas em câmaras de topo aberto com concentração ambiente de CO₂ (400ppm) e concentração elevada de CO₂ (700ppm) no ano experimental de 2017/18 (A), e 2018/19 (B). Letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa entre as concentrações de CO₂ dentro de cada genótipo e letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa entre os genótipos em cada concentração de CO₂ pelo teste Tukey ($p\leq 0,05$). As linhas verticais indicam o intervalo de confiança (IC95%).

A massa da matéria seca de plântulas (MMSP) não apresentou interação entre os fatores. No experimento com sementes de 2017/18, o fator genótipo foi significativo ($p\leq 0,001$). Entre os genótipos, as plântulas de SCS 115 CL apresentaram maior MMSP, diferindo significativamente de EP 106, IRGA 424 RI e IRGA 416 (Figura 19A). No experimento com sementes de 2018/19, o efeito simples dos fatores CO₂ ($p\leq 0,01$) e genótipo ($p\leq 0,001$) foram significativos. O SCS 115 CL apresentou a maior MMSP entre os genótipos, sendo que a menor MMSP foi verificada em IRGA 416 (Figura 19B). Quando considerado o efeito da concentração de CO₂, constatou-se efeito significativo do e[CO₂] sobre o incremento de MMSP nos genótipos Querência e IRGA 416, em relação a MMSP na condição de a[CO₂]. Segundo resultados reportados por Cui *et al.* (2002), a massa seca de plântulas de arroz apresenta correlações positivas com a atividade total das enzimas amilases, atividade da α-amilase e conteúdo de açúcares redutores. Por outro lado, o conteúdo de açúcares redutores apresenta correlação negativa com a taxa de germinação. Estes aspectos possivelmente explicam o atraso na germinação e o incremento da MMSP observados em Querência.

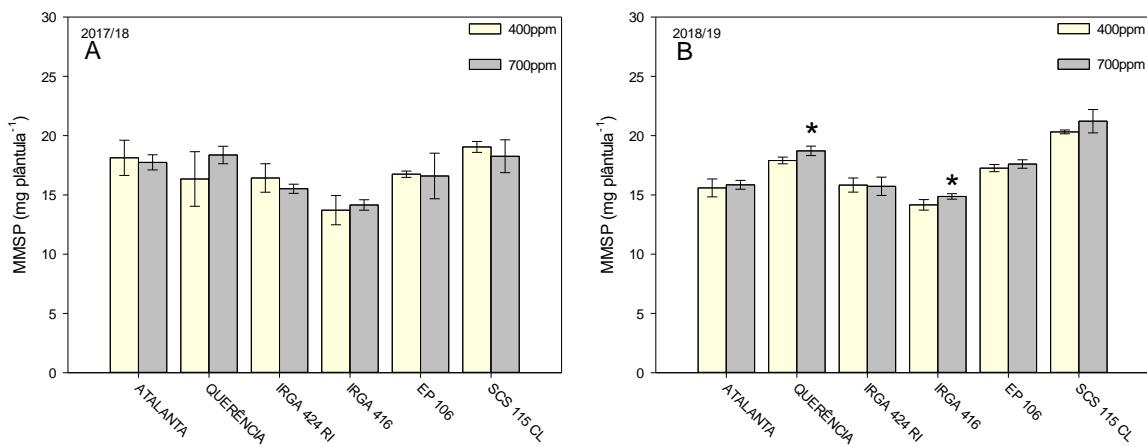


Figura 19 – Massa da matéria seca de plântula (mg) aos 14 dias após início do teste de germinação de sementes de arroz oriundas de plantas cultivadas em câmaras de topo aberto com concentração ambiente de CO₂ (400ppm) e concentração elevada de CO₂ (700ppm) no ano experimental de 2017/18 (A), e 2018/19 (B). As linhas verticais indicam o intervalo de confiança (IC95%). * Denota diferença significativa pelo teste t ($p \leq 0,05$) na comparação entre as duas concentrações de CO₂ no mesmo genótipo.

3.4 Conclusões

Os genótipos com maior resposta de produtividade de grãos em condição de baixa densidade de plantas a campo, também tendem a apresentar maior responsividade ao e[CO₂] em condições de OTC.

Genótipos de arroz irrigado apresentam respostas contrastantes em relação à responsividade ao cultivo em e[CO₂]. Os genótipos Querência e EP106 apresentam maior responsividade ao e[CO₂] em relação a produtividade de grãos com potencial para serem utilizados em programas de melhoramento visando a obtenção de materiais responsivos ao e[CO₂].

O efeito do e[CO₂] sobre plantas-mães impacta a germinação de sementes no período inicial e o crescimento de plântulas.

4 Capítulo 2 - Déficit hídrico no estádio vegetativo como potencial indutor da tolerância cruzada com o estresse causado por alta temperatura durante a antese do arroz e o impacto do incremento do CO₂ atmosférico

4.1 Introdução

O efeito estufa no planeta Terra é causado por vários componentes da atmosfera, porém os mais importantes são o vapor d'água que contribui com cerca de 50% para a ocorrência desse fenômeno, seguido por 25% de contribuição das nuvens, compostas por gotículas de água e micro cristais de gelo, e pelo CO₂, responsável por 20%. Nesse contexto, o incremento previsto para a concentração de CO₂ atmosférico pode contribuir significativamente para o agravamento das mudanças climáticas (SCHMIDT *et al.*, 2010).

Além de impactar de maneira direta, a alta concentração de CO₂ também contribui indiretamente para desencadear as mudanças climáticas. O incremento de CO₂ impacta a fisiologia das plantas, induzindo o fechamento estomático e resultando na redução da evapotranspiração, o que altera o teor de vapor de água na atmosfera, a formação das nuvens, e os fluxos radiativos, que consequentemente causam mudanças na temperatura e no ciclo hidrológico (CAO *et al.*, 2010; SOLOMON *et al.*, 2009). Neste sentido, pesquisas a respeito das mudanças climáticas estimam que, até o final deste século, a temperatura média da superfície terrestre sofra um incremento entre 2,6°C e 4,8°C em relação a temperatura média global, referente ao período entre os anos de 1986-2005 (IPCC, 2014).

Por se tratarem de organismos sésseis, as plantas estão continuamente sujeitas a experimentar uma ampla gama de estresses bióticos e abióticos (SUZUKI *et al.*, 2014). Os estresses causados pelo déficit hídrico e pelas temperaturas elevadas são os mais importantes estresses ambientais que vem impactando fortemente a agricultura mundial, principalmente por afetarem o crescimento e a produtividade das principais culturas (AWASTHI *et al.*, 2014; FAHAD *et al.*, 2017; HU; XIONG, 2014). Sabe-se que a cultura do arroz (*O. sativa*) apresenta suscetibilidade tanto ao déficit hídrico, quanto ao estresse por calor. Estes estresses podem afetar a cultura em todos os estádios de desenvolvimento da planta, mas principalmente, durante o estádio reprodutivo. Dependendo da severidade dos estresses pode ocorrer desde a inibição momentânea do crescimento e desenvolvimento, redução da produtividade de grãos e até a morte da planta em casos mais severos (NAHAR; SAHOO; TANTI, 2018;

SATAKE; YOSHIDA, 1978; YANG *et al.*, 2019; ZHANG *et al.*, 2018). Em condições naturais, a combinação de um ou mais estresses como, por exemplo, a ocorrência de seca e extremos de temperatura são comuns em muitas áreas agrícolas ao redor do mundo (SUZUKI *et al.*, 2014) e, por conta das mudanças climáticas, a probabilidade das plantas serem expostas à condições mais severas de estresses combinados será ainda maior no futuro próximo (ZANDALINAS *et al.*, 2018).

Os estresses por déficit hídrico e temperatura elevada afetam o metabolismo vegetal de maneira muito similar em determinados aspectos. Sob tais condições de estresse os processos mais afetados são as reações fotoquímicas e o metabolismo do carbono. O funcionamento do fotossistema II e a atividade de enzimas do ciclo de Calvin são extremamente prejudicados em virtude do incremento dos danos oxidativos em razão do desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) e a capacidade funcional dos mecanismos antioxidantes (BALFAGÓN *et al.*, 2020; FAHAD *et al.*, 2017; LUKIĆ *et al.*, 2020; PANDEY; SHUKLA, 2015).

As plantas respondem aos estresses por calor e seca através de um ajuste progressivo no estado fisiológico, com alterações metabólicas transitórias ou permanentes (JIN *et al.*, 2016). Desta forma, alguns mecanismos em comum estão envolvidos na percepção, sinalização e tolerância aos estresses por déficit hídrico e temperatura elevada como, por exemplo, o aumento da síntese de antioxidantes, eliminação das EROs, acúmulo de solutos, ativação de uma cascata de sinalização para a síntese de chaperonas, como as proteínas *Heat Shock* (HSPs) e *Late Embryogenesis Abundant* (LEA) (ASHOUB *et al.*, 2015; CASARETTO *et al.*, 2016). Além disso, há a ação dos fatores de transcrição responsivos à seca, os DREBs (*dehydration-responsive element binding protein*), que também proporcionam tolerância ao estresse térmico (NAKASHIMA; YAMAGUCHI-SHINOZAKI; SHINOZAKI, 2014) pois regulam positivamente a expressão dos fatores de transcrição HSFs (*Heat-Shock Transcription Factors*), como o HSFA3 que é induzido por DREB2A (GUERRA *et al.*, 2015; JACOB; HIRT; BENDAHMANE, 2017). Os HSFs por sua vez atuam regulando a expressão de inúmeros genes responsivos a diversos estresses, mas principalmente na regulação dos genes HSPs (GUO *et al.*, 2016). Atualmente os HSFs são divididos em três Classes (A, B e C), sendo que os HSFs pertencentes a Classe A são aqueles que desempenham função primordial de ativação transcricional (ZHAO *et al.*, 2021).

Um estudo com *Arabidopsis thaliana* foi conduzido com o objetivo de verificar os efeitos dos estresses por seca e calor combinados em ambiente com diferentes concentrações de CO₂. Nestas condições os resultados mostram que o CO₂ elevado apresenta potencial para mitigar os efeitos negativos causados pela combinação dos estresses hídrico e térmico, principalmente pela capacidade de melhorar a atividade do sistema antioxidante enzimático, bem como reduzir a fotorrespiração, que contribui para a redução dos danos celulares oxidativos (ZINTA *et al.*, 2014, 2018).

No entanto, além de serem frequentemente expostas a dois ou mais fatores de estresses simultaneamente, as plantas também podem experimentar diferentes condições de estresses sequencialmente durante o decorrer do seu ciclo, ou seja, nestas circunstâncias as plantas são impactadas por estresses cruzados. Recentemente, o estudo do fenômeno de tolerância cruzada entre estresses tem ganhado mais atenção. Este fenômeno é caracterizado pela aquisição da tolerância a um segundo estresse mais severo, após uma prévia exposição a um estresse primário de natureza diferente e de intensidade mais leve (HOSSAIN *et al.*, 2017; WALTER *et al.*, 2013). A exposição ao estresse primário desencadeia um processo conhecido como *priming*. O efeito *priming*, por sua vez, induz a uma memória do estresse por meio de alterações no metabolismo vegetal em nível bioquímico, molecular e epigenético (KIM *et al.*, 2015; LLORENS *et al.*, 2020). Essas alterações são ativadas principalmente via cascata de sinalização regulada por EROs que, em concentrações baixas à moderadas, atuam como mensageiros secundários, com destaque para a ação do peróxido de hidrogênio (H₂O₂) que atua modulando a expressão de genes envolvidos na tolerância a diversos estresses (HOSSAIN *et al.*, 2017; XIONG *et al.*, 2018).

A ocorrência de tolerância cruzada entre estresse causado por déficit hídrico e calor tem sido reportada em diferentes espécies. Em plantas de *Festuca arundinacea*, a tolerância cruzada entre déficit hídrico e estresse térmico (calor) está relacionada com a fosforilação de inúmeras proteínas que apresentam importantes funções metabólicas, incluindo proteínas envolvidas no processamento do pré-mRNA (RNA *splicing*), no controle da transcrição, além de proteínas de proteção e sinalização aos estresses, como as HSPs (ZHANG *et al.*, 2020d). Em trigo (*Triticum aestivum*), as plantas previamente expostas ao déficit hídrico desenvolvem a tolerância cruzada ao segundo estresse causado por calor, quando então são capazes de apresentar maior potencial de água nas folhas e conteúdo de clorofilas, além de manter elevada a taxa

fotossintética durante o estresse em comparação com as plantas que não são submetidas ao *priming* (LIU *et al.*, 2017). O *priming* induzido através de estresse hídrico no estádio vegetativo inicial também é capaz de desencadear o mecanismo de tolerância cruzada ao estresse por frio na fase de alongamento do colmo do trigo, principalmente pelo fato do efeito *priming* causar aumento na atividade do sistema antioxidante enzimático, protegendo o aparato fotossintético contra possíveis danos oxidativos durante o enfrentamento do segundo estresse (LI *et al.*, 2015).

A pré-exposição de plantas de *Poa pratensis* ao déficit hídrico também induz a capacidade de tolerar um subsequente estresse por calor. Novamente, neste caso de tolerância cruzada, foi observado melhora do desempenho das enzimas antioxidantes (SOD, CAT e APX) nas plantas submetidas ao primeiro estresse. Além disso, os autores enfatizam o importante envolvimento da proteína HSP90, protegendo os componentes celulares contra os danos causados pelo estresse térmico (PENG *et al.*, 2012).

No entanto, os estudos desenvolvidos para avaliar a ocorrência do fenômeno de tolerância cruzada, em geral, não têm levado em consideração o aumento previsto da concentração de CO₂ atmosférico. Neste contexto, a primeira hipótese proposta neste estudo é que plantas de arroz desenvolvem tolerância cruzada aos estresses térmicos moderado e severo causados por temperatura elevada no florescimento após serem previamente expostas a um período de estresse por déficit hídrico no estádio vegetativo inicial, induzindo incremento na atividade do sistema antioxidante enzimático e de proteínas de choque térmico. A segunda hipótese sugere que o aumento da concentração de CO₂ atmosférico favorece o desenvolvimento desse tipo de tolerância cruzada, induzindo a maior eficiência do sistema antioxidante enzimático e da atividade de proteínas de choque térmico em relação à condição de CO₂ ambiente.

Portanto, os objetivos desse estudo foram avaliar os efeitos do estresse por déficit hídrico no estádio vegetativo e estresses térmicos moderado e severo no florescimento sobre as respostas morfológicas, bioquímicas e moleculares em plantas de arroz, a fim de verificar possível desenvolvimento da tolerância cruzada entre os estresses. Além disso, avaliar o impacto do aumento da concentração do CO₂ atmosférico sobre a ocorrência de estresse cruzado por déficit hídrico no estádio vegetativo e temperatura elevada na antese em plantas de arroz.

4.2 Material e métodos

Neste estudo foram desenvolvidos dois experimentos, ambos conduzidos em câmaras de crescimento de plantas (CCP 8410 - Instalafrío®), com área interna de 8,2 m², equipadas com placas de led (contendo luz vermelha, azul e verde), e com sistema automatizado de controle de temperatura, umidade do ar, fotoperíodo e concentração de CO₂. Os experimentos foram realizados em vasos plásticos com capacidade de 8 L, previamente preenchidos com 7 kg de solo seco classificado como PLANOSOLO HÁPLICO (EMBRAPA, 2018), proveniente de área experimental de lavoura orizícola. Conforme análise físico-química o solo apresentava os seguintes valores dos parâmetros analisados: pH 5,3; cálcio (2,4 cmol_c dm⁻³); magnésio (1,4 cmol_c dm⁻³); fósforo (7,9 mg dm⁻³); potássio (24 mg dm⁻³); 0,83% de matéria orgânica, 18% de argila; CTC_{pH 7} (7,1) e saturação por bases de 57%. A coleta foi realizada na profundidade de 0-20cm do perfil do solo e peneirado em peneira com abertura de malha de 1x1cm. Foram semeadas oito sementes de arroz por pote e após a emergência das plântulas foi realizado o procedimento de desbaste, afim de ajustar a população final para cinco plantas por pote.

Neste estudo foram utilizadas sementes de arroz do cultivar BRS Querência. As plantas foram cultivadas em temperatura de 28/25°C (dia/noite) durante todo ciclo, exceto durante período de estresse térmico para o grupo de plantas submetidas ao calor, procedimento detalhado abaixo. A umidade relativa do ar nas câmaras foi ajustada em 75% e o fotoperíodo foi regulado para 14h de duração (14/10h – dia/noite). Durante a condução dos experimentos as placas de led foram mantidas a uma distância de aproximadamente 70 cm acima do dossel das plantas, fornecendo cerca de 800 µmol m⁻² s⁻¹ de densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos. A adubação dos ensaios foi realizada em três etapas, a primeira no momento da semeadura na qual foi realizada adubação de base nos vasos com aplicação de 0,06 g de N, 0,26 g de P₂O₅ e 0,26 g de K₂O por vaso na forma de adubo formulado (5-20-20). As adubações de cobertura foram realizadas no estádio (V4) com aplicação de 0,28 g de N por vaso na forma de ureia (45% N), e no estádio (R1) quando foram aplicados mais 0,28 g de N por vaso.

Os experimentos foram conduzidos em delineamento experimental inteiramente casualizado, com esquema fatorial de 2x2x2, totalizando 8 tratamentos (Tabela 7), composto por oito repetições, sendo cada pote considerado como uma

repetição. O primeiro fator foi constituído por duas concentrações de CO₂ atmosférico (400 e 700ppm); o segundo fator foi composto por duas condições hídricas: irrigado (controle) e déficit hídrico, e o terceiro fator constituído por duas condições de temperatura do ar na antese: temperatura ideal e estresse térmico por temperatura elevada. No estádio de antese foram marcadas 10 panículas e as respectivas folhas bandeiras para realização de coletas e avaliações.

Tabela 7 - Descrição dos tratamentos aplicados nos experimentos de estresse cruzado

Tratamento	Descrição
CONTROLE 400	400ppm de CO ₂ ; irrigado e sem estresse térmico
CTA 400	400ppm de CO ₂ ; irrigado e com estresse térmico
DHV 400	400ppm de CO ₂ ; déficit hídrico e sem estresse térmico
DHVTA 400	400ppm de CO ₂ ; déficit hídrico e com estresse térmico
CONTROLE 700	700ppm de CO ₂ ; irrigado e sem estresse térmico
CTA 700	700ppm de CO ₂ ; irrigado e com estresse térmico
DHV 700	700ppm de CO ₂ ; déficit hídrico e sem estresse térmico
DHVTA 700	700ppm de CO ₂ ; déficit hídrico e com estresse térmico

Procedimentos para o estabelecimento das condições hídricas e temperaturas para o experimento 1: Estresse térmico transiente severo

As condições hídricas e temperaturas impostas nos tratamentos são representadas na Figura 20. A condição hídrica controle foi caracterizada pela manutenção da umidade do solo na capacidade de vaso desde a semeadura até estádio V5-6. Após este período foi imposta a irrigação por inundação, com a manutenção contínua de uma lâmina com 3 cm de água até a maturação da cultura. O déficit hídrico foi imposto pela restrição da irrigação a partir do estádio V4-5. A condição de estresse por déficit hídrico foi definida como o momento em que as plantas estressadas apresentaram uma redução de aproximadamente 70% da condutância estomática em relação às plantas irrigadas (Figura 21A). Ao fim do déficit hídrico, as plantas foram reirrigadas por inundação, conforme descrito acima para o tratamento controle. A condutância estomática também foi monitorada as 24 e 48 horas após a reidratação, para avaliar a recuperação das plantas. O monitoramento da condutância estomática foi realizado através de um porômetro foliar (SC-1 Leaf Porometer - Decagon Device, Inc.), as leituras foram realizadas na face abaxial da

porção mediana do limbo foliar da última folha completamente expandida das plantas, sendo que em cada período foram avaliadas duas plantas por repetição.

Em relação às condições de temperatura, para as plantas que não sofreram estresse térmico (Controle e DHv), a condição ideal foi caracterizada como temperatura diurna de 28°C e noturna de 25°C. As plantas submetidas ao estresse térmico (CTA e DHvTA) foram cultivadas sob temperatura ideal até o estádio R4. Ao atingirem a antese estas plantas foram transferidas para uma câmara de crescimento com temperatura ajustada em 38/28°C (dia/noite), sendo que a transição das temperaturas foi realizada através de uma curva de temperatura (Figura 22A) e mantidas por um período de 72h. Após esse período quatro repetições foram novamente colocadas em condições de temperatura ideal até final do ciclo e quatro repetições foram utilizadas para coleta de material vegetal. Durante a antese a temperatura dos tecidos vegetais foi verificada nas duas condições de temperatura através da utilização de uma câmera termográfica por infravermelho (Flir® - modelo: E5).

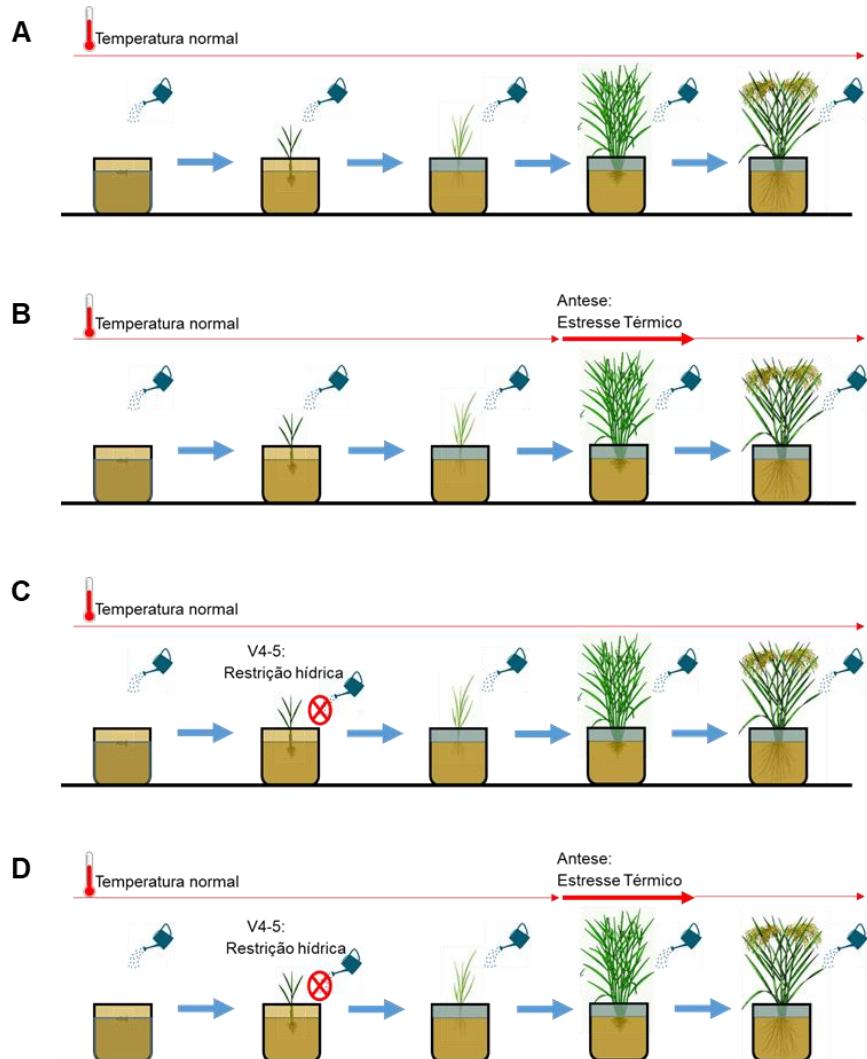


Figura 20 - Representação gráfica das condições hídricas e temperaturas dos tratamentos: Controle (A), CTA (B), DHv (C) e DHvTA (D).

Procedimentos para estabelecimento das condições hídricas e temperaturas para o experimento 2: Estresse térmico transiente moderado

As condições hídricas e temperaturas impostas nos tratamentos são representadas na Figura 20. A condição hídrica controle foi caracterizada pela manutenção da umidade do solo na capacidade de vaso desde a semeadura até estádio V4-5, a partir deste estádio foi imposta a irrigação por inundação, com a manutenção contínua de uma lâmina com 3 cm de água até a maturação da cultura. O déficit hídrico foi imposto pela restrição da irrigação a partir do estádio V4-5. A condição de estresse por déficit hídrico foi definida como o momento em que as plantas estressadas apresentaram uma redução de aproximadamente 70% da condutância estomática em relação às plantas irrigadas (Figura 21B). Ao atingirem o

déficit hídrico as plantas foram reirrigadas por inundação, conforme descrito acima. A condutância estomática também foi monitorada as 24 e 48 horas após a reidratação, para avaliar a recuperação das plantas. O monitoramento da condutância estomática foi realizado através de um porômetro foliar (SC-1 Leaf Porometer - Decagon Device, Inc.), as leituras foram realizadas na face abaxial da porção mediana do limbo foliar da última folha completamente expandida das plantas, sendo que em cada período foram avaliadas duas plantas por repetição.

Em relação às condições de temperatura, para as plantas que não foram submetidas ao estresse térmico (Controle e DHv), a condição ideal foi caracterizada como temperatura diurna de 28°C e noturna de 25°C. As plantas submetidas ao estresse térmico (CTA e DHvTA) foram cultivadas sob temperatura ideal até o estádio R4. Ao atingirem a antese estas plantas foram transferidas para uma câmara de crescimento com temperatura ajustada em 35/28°C (dia/noite), sendo que a transição das temperaturas foi realizada através de uma curva de temperatura (Figura 22B) e mantidas por um período de 72h. Após esse período quatro repetições foram novamente colocadas em condições de temperatura ideal até final do ciclo e quatro repetições foram utilizadas para coleta de material vegetal.

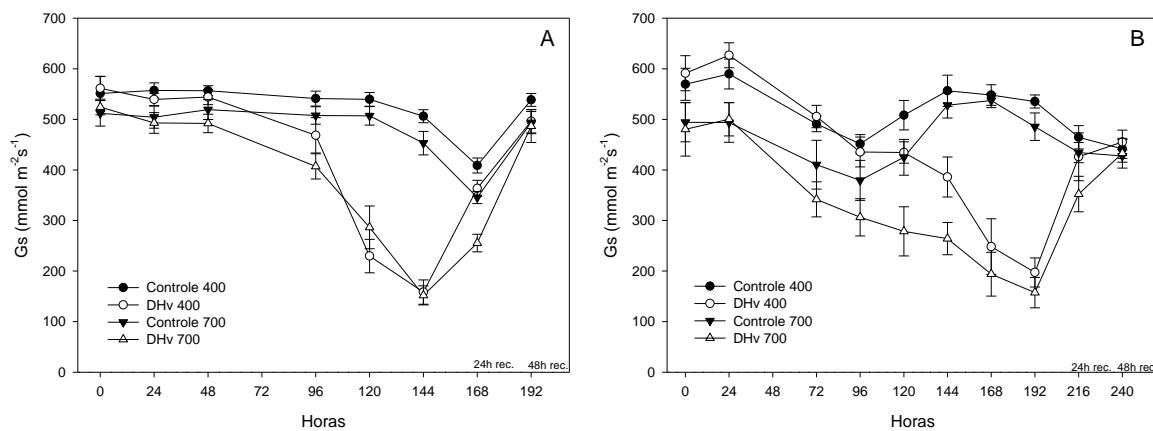


Figura 21 - Condutância estomática (g_s) de plantas de arroz no estádio V4-5 cultivadas em condição hídrica irrigada (Controle) em 400 e 700ppm de CO_2 atmosférico, e plantas submetidas a restrição hídrica (DHv) em 400 e 700ppm de CO_2 no experimento 1 (A) e experimento 2 (B). As linhas verticais em cada ponto indicam intervalo de confiança (IC95%).

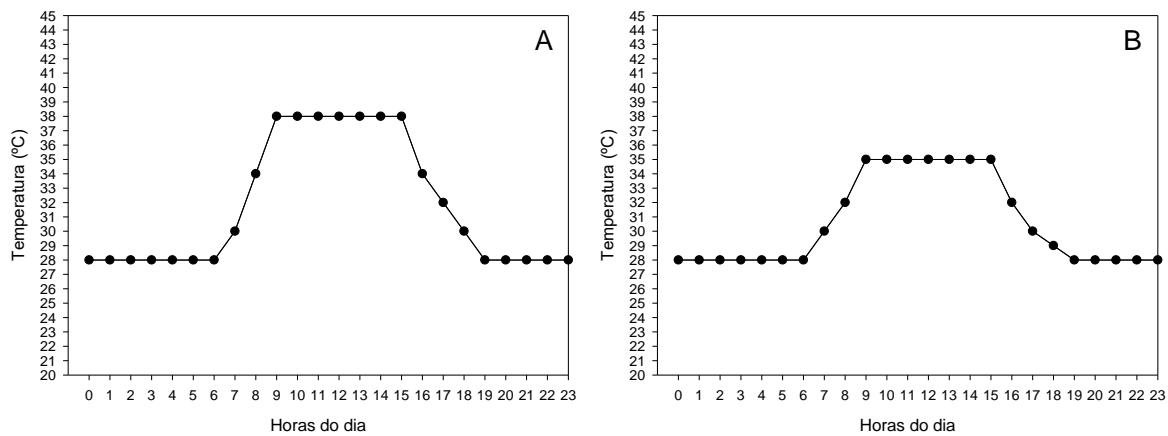


Figura 22 – Configuração da rampa de temperatura diária para o tratamento de estresse térmico no experimento 1 (A) e experimento 2 (B).

Avaliações dos experimentos

Aos três dias após a antese (final do estresse térmico), o material vegetal de quatro repetições de cada tratamento foi coletado para as análises bioquímicas (folhas bandeiras) e expressão gênica (folhas bandeiras e espiguetas). O material vegetal coletado foi rapidamente colocado em caixa térmica contendo nitrogênio líquido e em seguida armazenado em ultrafreezer em temperatura de -80°C para posterior realização das análises.

Avaliações dos componentes de rendimento e acúmulo de biomassa:

No estádio de maturação da cultura as panículas foram coletadas e determinados o número de panículas por vaso. A partir de 10 panículas marcadas quando atingiram a antese (estresse térmico) foram determinados o número de grãos cheios por panícula, percentual de esterilidade de espiguetas, peso de mil grãos e produtividade de grãos por panícula.

O material vegetal da parte aérea (folhas e colmos) e do sistema radicular foram coletados e secos em estufa com circulação de ar forçado com temperatura regulada a 65°C, pelo período de 72h. Após a secagem o material foi pesado em balança analítica para determinação da massa da matéria seca da parte aérea (MMSPA) e da massa da matéria seca das raízes (MMSR), com os resultados expressos em g por vaso.

Avaliações Bioquímicas:

Quantificação do conteúdo de peróxido de hidrogênio e peroxidação lipídica:

O material para quantificação de peróxido de hidrogênio e peroxidação lipídica foi obtido a partir de 250 mg de material vegetal fresco (folhas bandeiras) que foram macerados e homogeneizados em 2 mL de ácido tricloroacético (TCA a 0,1%) e centrifugados a 12.000 x g por 20 min, a temperatura de 4°C. A quantificação de peróxido de hidrogênio foi realizada conforme descrito por Loreto e Velikova (2001), para o qual foi preparado um meio de reação contendo tampão fosfato de potássio 10 mM (pH 7,0), iodeto de potássio 1 M e extrato da amostra, a reação foi mantida em 30°C por 10 min. O H₂O₂ foi determinado realizando-se leitura de absorbância a 390 nm e os resultados expressos em nmol H₂O₂ g⁻¹ de massa fresca.

A peroxidação lipídica foi determinada por meio da quantificação das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), especificamente pelo acúmulo de malondialdeído (MDA), conforme descrito por Heath e Packer (1968). As TBARS foram quantificadas adicionando-se 300 µL de extrato de amostra ao meio de reação contendo 1,7 mL de ácido tiobarbitúrico (TBA) (0,5% m/v) preparado em TCA (10% m/v). Após, a reação foi mantida em banho-maria a temperatura de 90°C, por 20 minutos, em seguida a reação foi paralisada através do resfriamento rápido em gelo por 10 minutos, e a absorbância determinada a 535 nm e 600 nm. O conteúdo de MDA foi calculado através da seguinte equação: [MDA] = (A₅₃₅ - A₆₀₀ - A_{Branco})/(ξ.b), onde: ξ (coeficiente de extinção = 155 mM⁻¹ cm⁻¹) e b: (comprimento ótico = 1). Por fim, a peroxidação lipídica foi expressa em nmol de MDA g⁻¹ de massa fresca.

Enzimas antioxidantes:

Para a extração das enzimas antioxidantes, foram utilizados 250 mg de material vegetal fresco (folhas bandeiras), que foram macerados com polivinilpolipirrolidona (PVPP) (10 % p/p) e homogeneizados em 2 mL de tampão de extração, composto por tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 7,8), EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético) 0,1 mM, ácido ascórbico 10 mM e água destilada. Após a maceração, o material foi centrifugado a 12.000 x g, por 20 minutos a 4°C. O sobrenadante resultante da centrifugação foi coletado e utilizado para realização da determinação da atividade enzimática da superóxido dismutase (SOD) (EC 1.15.1.1), catalase (CAT) (EC 1.11.1.6) e ascorbato peroxidase (APX) (EC 1.11.1.11) e para quantificação de proteínas totais.

A atividade da SOD foi avaliada pela capacidade da enzima inibir a fotorredução do azul de nitrotetrazólio (NBT) (GIANNOPOLITIS; RIES, 1977), em um

meio de incubação composto por tampão fosfato de potássio 50 mM (pH 7,8), metionina 14 mM, EDTA 0,1 µM, NBT 75 µM e riboflavina 2 µM, água destilada e extrato enzimático das amostras. Em microplacas de 96 poços as amostras contendo meio de reação e os controles contendo apenas meio de reação foram iluminados durante 10 minutos acondicionados em uma caixa térmica adaptada contendo uma lâmpada fluorescente de 20W, enquanto o padrão de referência (branco) foi mantido no escuro. As leituras foram realizadas a 560 nm. Sendo que uma unidade de SOD foi definida como a quantidade de enzima capaz de inibir em 50% a fotorredução do NBT nas condições do ensaio, e o resultado foi expresso em unidades min^{-1} mg de proteína $^{-1}$.

A atividade da CAT foi avaliada conforme Hovir e McHale (1987), baseada no consumo de H_2O_2 . O meio de reação foi composto por tampão de incubação de fosfato de potássio 100 mM (pH 7,0), H_2O_2 (12,5 mM), água destilada e extrato enzimático. A atividade foi quantificada pelo decréscimo na absorbância a 240 nm durante o período de três minutos, utilizando o coeficiente molar de extinção do H_2O_2 ($\epsilon = 36 \mu\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$), sendo o resultado da atividade expresso em $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1}$ mg de proteína $^{-1}$.

A avaliação da atividade da APX foi realizada segundo Nakano e Asada (1981), relacionada com a taxa de oxidação do ascorbato, o meio de reação foi constituído por tampão fosfato de potássio 37,5 mM (pH 7,0), ácido ascórbico (0,25 mM), H_2O_2 (5 mM), água destilada e o extrato enzimático. A oxidação do ascorbato foi monitorada pelo decréscimo na absorbância a 290 nm durante três minutos e a atividade da APX foi calculada usando coeficiente molar de extinção $\epsilon = 2,8 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. Os resultados foram expressos em $\mu\text{mol ASA min}^{-1}$ mg de proteína $^{-1}$. A quantificação de proteínas totais foi realizada pelo método descrito por Bradford (1976), a absorbância foi ajustada em 595 nm, e como padrão foi utilizado albumina de soro bovino.

Quantificação de clorofila a, clorofila b e carotenoides:

Os pigmentos foram quantificados pelo método de Dimetilsulfóxido (DMSO) (HISCOX; ISRAELSTAM, 1979; WELLBURN, 1994). Para a quantificação foram utilizadas 20 mg de massa fresca, obtidas através de secções de tecido foliar com aproximadamente 1,5 cm de comprimento. Para extração dos pigmentos foram adicionados 7 mL de dimetilsulfóxido em tubos de ensaio contendo o tecido foliar. Os tubos foram mantidos no escuro em temperatura de 65°C por 120 minutos. Em

seguida foram realizadas leituras em 480, 649 e 665 nm, e as quantificações de cada pigmento foram calculadas utilizando-se as equações descritas por Wellburn (1994).

As leituras de todas reações e quantificações mencionadas acima foram realizadas em espectrofotômetro com leitor de microplaca (Molecular Devices SpectraMax®).

Análise da expressão gênica:

Extração de RNA, síntese de cDNA e reações de RT-qPCR

Para a extração de RNA foram utilizadas 100 mg de material vegetal (folhas bandeiras e espiguetas). O RNA vegetal total foi extraído e isolado utilizando-se o reagente PureLink Plant RNA (Invitrogen®) de acordo com as recomendações do fabricante. A concentração e a qualidade do RNA foram avaliadas em espectrofotometria utilizando NanoVue™ (GE Healthcare). Foram utilizadas apenas amostras com razão 260/280 (indicação de contaminação com proteína) e razão 260/230 (indicação de contaminação com reagente) entre 1.8 e 2.2. A integridade das amostras de RNA foi aferida em eletroforese em gel de agarose. Para a remoção de possível contaminação com DNA genômico, 1µg de RNA foi tratado com DNase I (Invitrogen) antes da transcrição reversa. Cada amostra foi convertida em cDNA utilizando oligo(dT) e o kit SuperScript™ III First-Strand Synthesis System (Invitrogen), de acordo com as recomendações do fabricante.

A quantificação da expressão gênica em RT-qPCR foi realizada de acordo com o MIQE Guidelines (BUSTIN *et al.*, 2009), utilizando oligonucleotídeos para os genes alvo e genes de referência (Tabela 8). Para determinar a eficiência de amplificação e especificidade de cada oligonucleotídeo, experimentos de validação foram realizados para cada oligonucleotídeo utilizando quatro diluições de cDNA. Os oligonucleotídeos que apresentaram eficiência entre 90 e 110% e pico único na curva de dissociação foram utilizados para as análises de quantificação da expressão gênica.

Os experimentos de expressão gênica foram realizados no termociclador LightCycler® 480 Instrument II (Roche) com três repetições biológicas e três repetições técnicas. As reações foram realizadas contendo 1 µL de cDNA na diluição 1:25 (determinada no experimento de validação), 11.0 µL de UltraPure™ DNase/RNase-Free Distilled Water (Invitrogen), 0.25 µL de ROX Reference Dye (Invitrogen), 2.0 µL de 10X PCR Buffer, 1.5 µL de cloreto de magnésio 50 mM, 0.05

μ L PlatinumTM Taq DNA Polymerase, 0.2 μ L dNTPs, 3.0 μ L SYBR Green I (Invitrogen) e 1.5 μ L de cada oligonucleotídeo (forward e reverse) em uma reação de 20 μ L de volume final. Reações sem cDNA também foram realizadas para cada par de oligonucleotídeos e utilizadas como controle negativo. As reações de PCR foram realizadas nas seguintes condições: uma desnaturação inicial a 95 °C por 5 minutos, 45 ciclos de 95 °C por 20 segundos, 60 °C por 15 segundos e 72 °C por 20 segundos em placas LightCycler® 480 Multiwell Plates 96 (Roche).

A quantificação da expressão gênica dos genes codificantes para HSPs foi calculada utilizando o método $\Delta\Delta CT$ (LIVAK; SCHMITTGEN, 2001), utilizando como baseline a expressão do tratamento irrigado em 400ppm de CO₂ na temperatura 28/25°C (Controle) de cada tecido (folha bandeira e espigueta) e normalizada em relação aos genes de referência *Os18S*, *OsEF1 α* e *OsUBQ5* (JAIN *et al.*, 2006).

Tabela 8 - Oligonucleotídeos para os genes OsHSPs utilizados nas reações de RT-qPCR

Gene	ID		Oligonucleotídeo - (5'-3')	Referência
<i>SMALL HEAT-SHOCK PROTEIN 16.9A</i>	OsHSP16.9A	Forward	CATTCTCCCTCGACCTCTGG	Chen <i>et al.</i> (2014)
		Reverse	GGTGCCACTTGTGTTCTTGT	
<i>SMALL HEAT-SHOCK PROTEIN 17.9A</i>	OsHSP17.9A	Forward	GGCAGCATCTTCCCCTGCCTT	Chen <i>et al.</i> (2014)
		Reverse	CGTCGTCCACCTCCACCTTG	
<i>SMALL HEAT-SHOCK PROTEIN 20</i>	OsHSP20	Forward	AAGTTCTCCGCAGGTTCC	Guo <i>et al.</i> (2020)
		Reverse	GAGCACGCCGTTCTCCAT	
<i>SMALL HEAT-SHOCK PROTEIN 24.15</i>	OsHSP24.15	Forward	GATCAAGGCAGGAGATGAAGAAC	Ye <i>et al.</i> (2012b)
		Reverse	ACTCGACGTTGACCTGGAAGA	
<i>HEAT-SHOCK PROTEIN 70CP1</i>	OsHSP70CP1	Forward	CCAGGGCATGTGAAGGGTAA	Kim e An (2013)
		Reverse	CAGCATCGATGACATCACCT	
<i>HEAT-SHOCK PROTEIN 70.1</i>	OsHSP70.1	Forward	TCGAGCTCTCCGGCATCCCT	Sarkar <i>et al.</i> (2013)
		Reverse	TCACGTAGGACCACCACCAAGCT	
<i>HEAT-SHOCK PROTEIN 70.6</i>	OsHSP70.6	Forward	GATCAACGTCTGCTTCGACA	Sarkar <i>et al.</i> (2013)
		Reverse	AGTCGACCTCCTCGATCTTG	
<i>18S ribosomal RNA</i>	Os18S	Forward	CTACGTCCCTGCCCTTGTACA	Jain <i>et al.</i> (2006)
		Reverse	ACACTTCACCGGACCATTCAA	
<i>Elongation Factor 1-α</i>	OsEF1 α	Forward	TTTCACTCTGGTGTGAAGCAGAT	Jain <i>et al.</i> (2006)
		Reverse	GACTTCCTTCACGATTCATCGTAA	
<i>Ubiquitin 5</i>	OsUBQ5	Forward	ACCACTTCGACCGCCACTACT	Jain <i>et al.</i> (2006)
		Reverse	ACGCCTAAGCCTGCTGGTT	

4.2.1 Análises estatísticas dos experimentos

Para fins de análise estatística os dados referentes ao parâmetro percentual de esterilidade de espiguetas foram transformados em $xT = \sqrt{x+1}$. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo teste F com 5% de nível de significância. As análises foram realizadas utilizando-se o software estatístico R (www.r-project.org/). Os dados dos tratamentos CTA e DHvTA em cada concentração de CO₂ foram submetidos a análise pelo teste t ($p\leq 0,05$) para verificação do efeito de tolerância cruzada.

4.3 Resultados e discussão

4.3.1 Experimento 1: Estresse térmico transiente severo

Neste experimento foi analisada a capacidade do efeito *priming* via déficit hídrico na fase vegetativa em desenvolver tolerância cruzada para o estresse térmico severo durante a fase reprodutiva. Os resultados de probabilidade da análise de variância de cada fator e suas interações para os parâmetros analisados no experimento são apresentados na tabela 9. Na Figura 23 são apresentadas as imagens termográficas indicando a temperatura das folhas bandeiras e panículas em todos os tratamentos durante a antese (estresse térmico em CTA e DHvTA).

Tabela 9 - Valor-*p* dos efeitos simples e da interação entre os fatores concentração de CO₂, condição hídrica (CH) e temperatura (TEMP) para as variáveis do experimento 1

Variável	CO ₂	CH	TEMP	CO ₂ xCH	CO ₂ xTEMP	CHxTEMP	CO ₂ xCHxTEMP
MMSPA	0,014	0,012	0,033	0,731	0,950	0,190	0,064
MMSR	0,052	0,626	0,735	0,800	0,607	0,770	0,653
Panículas vaso ⁻¹	0,003	0,001	0,006	0,405	0,326	0,018	0,405
Grãos panícula ⁻¹	0,371	0,848	0,004	0,531	0,438	0,445	0,784
Esterilidade (%)	0,002	0,136	0,000	0,643	0,373	0,913	0,245
PMG	0,135	0,134	0,358	0,078	0,596	0,403	0,681
Produtividade panícula ⁻¹	0,271	0,969	0,005	0,357	0,380	0,369	0,825
H ₂ O ₂	0,001	0,863	0,699	0,285	0,183	0,241	0,284
MDA	0,014	0,110	0,117	0,258	0,627	0,615	0,563
SOD	0,000	0,241	0,316	0,323	0,003	0,953	0,015
CAT	0,000	0,001	0,003	0,853	0,542	0,170	0,198
APX	0,000	0,000	0,098	0,010	0,813	0,876	0,319
Clorofila <i>a</i>	0,107	0,423	0,022	0,190	0,651	0,358	0,135
Clorofila <i>b</i>	0,317	0,325	0,018	0,346	0,511	0,372	0,265
Clorofila Total	0,149	0,390	0,020	0,226	0,606	0,359	0,164
Carotenoides	0,030	0,633	0,263	0,040	0,420	0,773	0,054

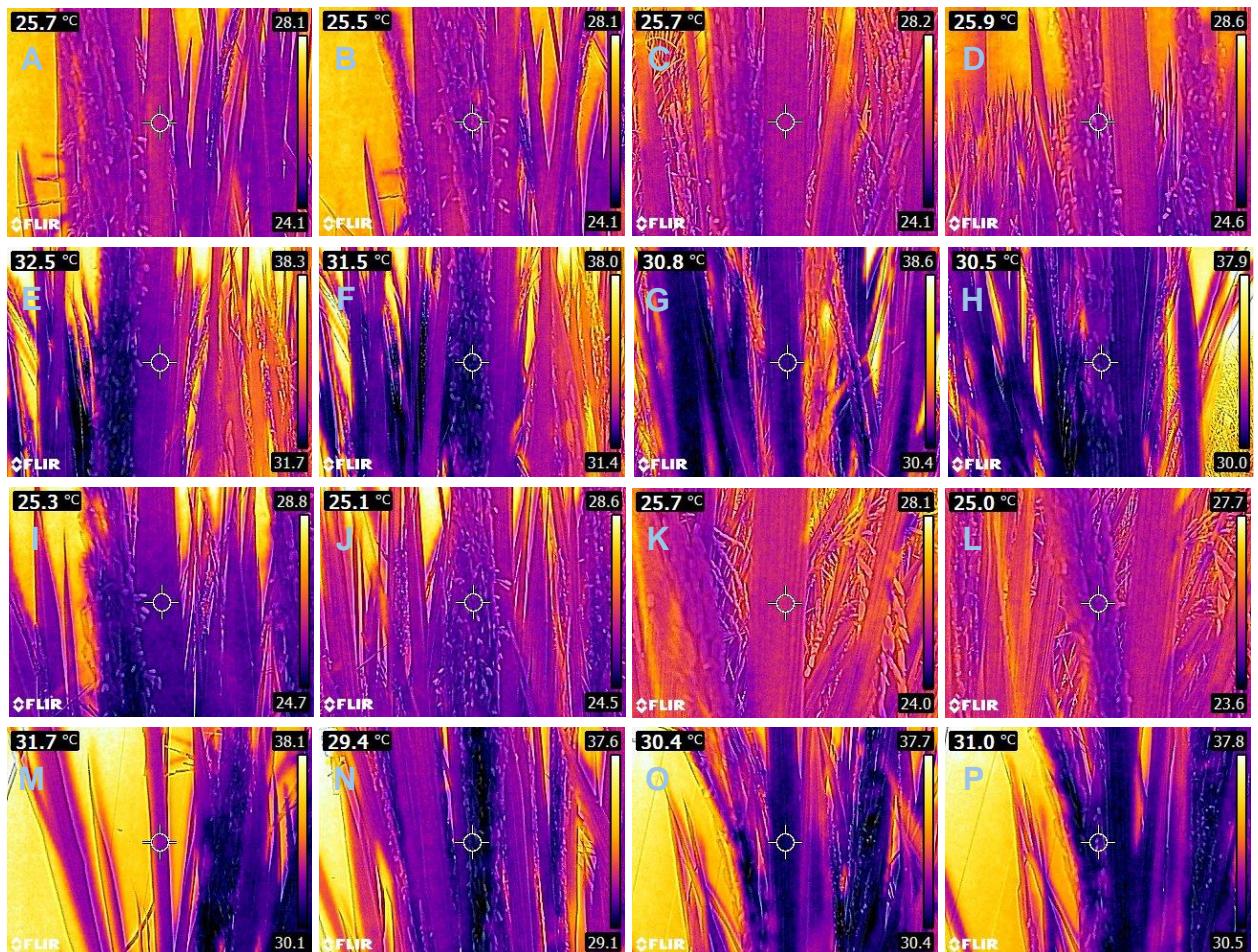


Figura 23 - Imagens termográficas indicando as temperaturas nas plantas de arroz (genótipo BRS Querência) durante a antese nos tratamentos. Controle 400ppm, folha bandeira (A) e panícula (B); controle 700ppm, folha bandeira (C) e panícula (D); CTA 400ppm, folha bandeira (E) e panícula (F); CTA 700ppm, folha bandeira (G) e panícula (H); DHv 400ppm, folha bandeira (I) e panícula (J); DHv 700ppm, folha bandeira (K) e panícula (L); DHvTA 400ppm, folha bandeira (M) e panícula (N); DHvTA 700ppm, folha bandeira (O) e panícula (P).

Na variável MMSPA foi observado que na condição em que as plantas foram submetidas ao déficit hídrico no período vegetativo e estresse térmico no reprodutivo (DHvTA) o incremento do CO₂ possibilitou maior acúmulo de biomassa em comparação às plantas cultivadas em CO₂ ambiente (Figura 24A). Já o déficit hídrico no estádio vegetativo na condição de 400ppm de CO₂ induziu maior acúmulo de biomassa na parte aérea em comparação ao tratamento controle. Em relação à variável MMSR, não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos (Figura 24B).

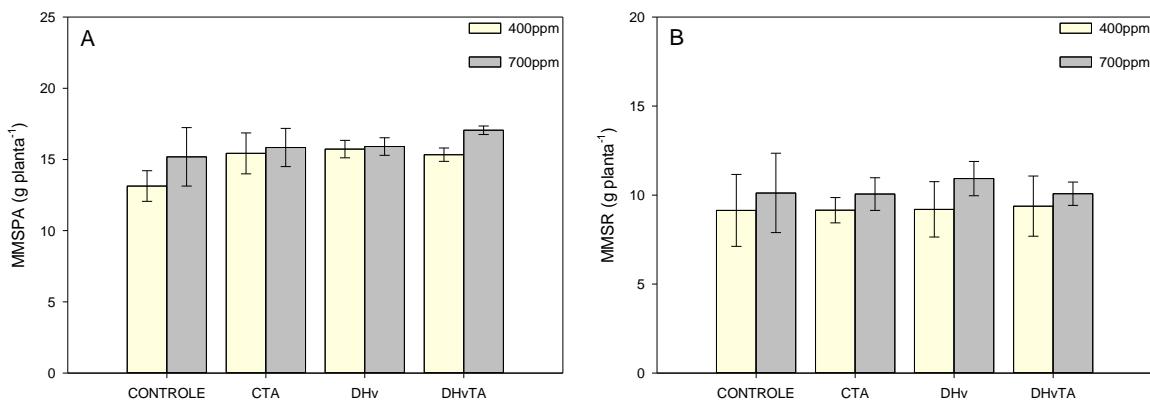


Figura 24 - Massa da matéria seca da parte aérea (MMSPA) (A) e massa da matéria seca do sistema radicular (MMSR) (B) de plantas de arroz (genótipo BRS Querência) cultivadas em duas concentrações de CO₂ atmosférico (400 e 700ppm) e submetidas a diferentes condições de cultivo. Controle (irrigação normal e temperatura ideal durante todo cultivo); CTA (irrigação normal durante todo ciclo e estresse térmico na antese por 72h); DHv (déficit hídrico em V4-5 e temperatura ideal durante todo cultivo) e DHvTA (déficit hídrico em V4-5 e estresse térmico na antese por 72h). As linhas verticais indicam o intervalo de confiança (IC95%).

No parâmetro número de panículas, foi observada interação entre condição hídrica e temperatura, sendo que o déficit hídrico (DHv) causou incremento no número de panículas em comparação ao controle nas duas condições de CO₂ (Figura 25A). O incremento no crescimento da parte aérea em plantas que foram submetidas ao déficit hídrico no estádio vegetativo pode ser explicado pelo mecanismo do crescimento compensatório, caracterizado por uma aceleração e compensação no crescimento após o fim de um período de déficit hídrico, com suprimento suficiente de água. Em plantas de milho (*Zea mays*) por exemplo, o crescimento compensatório é promovido principalmente pelo incremento na síntese de citocinina nas raízes, a qual é prontamente transportada via xilema para as folhas, onde induz o crescimento da parte aérea (WANG *et al.*, 2018b, 2018c). O efeito compensatório em algodão, além de envolver a giberelina que atua promovendo o alongamento celular e crescimento, parece depender também da alta atividade da enzima catalase após o período de déficit hídrico (NIU *et al.*, 2018). Além disso, foi verificado em *Arachis hypogaea* que o gene *AhGLK1* (*GOLDEN2-LIKE 1*) possui papel fundamental no período após déficit hídrico, reestabelecendo principalmente a biossíntese das clorofилas e a atividade fotossintética (LIU *et al.*, 2018b).

O estresse térmico afetou o número de grãos por panícula, sendo que esse estresse resultou diretamente na redução do número de grãos por panícula nos

tratamentos com estresse térmico durante a antese (CTA e DHvTA) (Figura 25B), mostrando que a exposição inicial de plantas ao déficit hídrico não acarretou em benefício para o enfrentamento do estresse térmico, considerando a resposta do número de grãos.

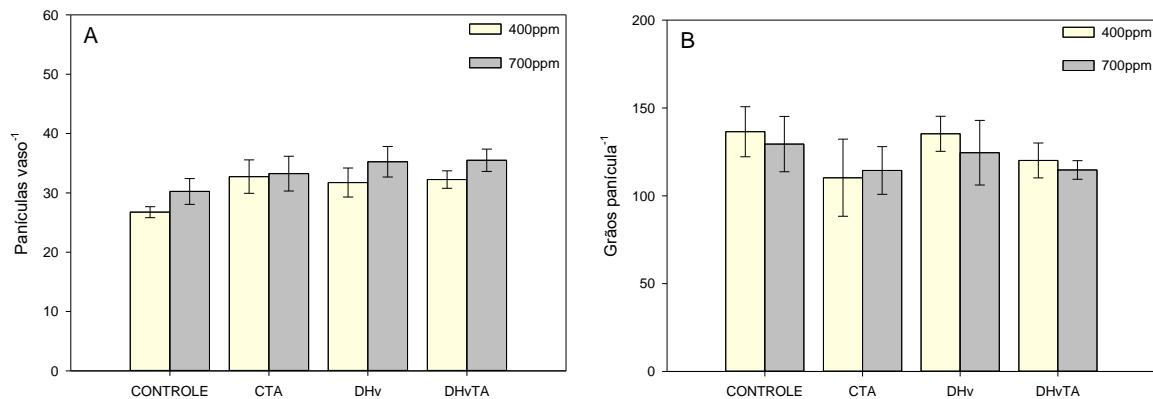


Figura 25 - Número de panículas por vaso (A) e número de grãos por panícula (B) de plantas de arroz (genótipo BRS Querência) cultivadas em duas concentrações de CO₂ atmosférico (400 e 700ppm) e submetidas a diferentes condições de cultivo. Controle (irrigação normal e temperatura ideal durante todo cultivo); CTA (irrigação normal durante todo ciclo e estresse térmico na antese por 72h); DHv (déficit hídrico em V4-5 e temperatura ideal durante todo cultivo) e DHvTA (déficit hídrico em V4-5 e estresse térmico na antese por 72h). As linhas verticais indicam o intervalo de confiança (IC95%).

O aumento do CO₂ causou maior esterilidade de espiguetas comparando o efeito dentro dos tratamentos Controle, DHv e DHvTA (Figura 26A). Segundo Okada *et al.* (2005), o aumento da esterilidade de espiguetas em elevado CO₂ está associado com incremento no número de espiguetas. Por outro lado, resultados apresentados por Matsui *et al.* (1997) revelam que o incremento de CO₂ reduziu a deposição de grãos de pólen sobre o estigma em espiguetas de arroz porém, sem efeito sobre o percentual de grãos de pólen germinados em alta temperatura.

Em relação à condição de temperatura durante a antese, foi possível observar o aumento significativo da esterilidade de espiguetas nas plantas submetidas ao estresse térmico (CTA e DHvTA) em comparação com as plantas que não foram submetidas ao estresse térmico. A cultura do arroz é altamente suscetível ao estresse térmico durante a fase reprodutiva, principalmente durante a antese (JAGADISH *et al.*, 2010). O incremento significativo no percentual de esterilidade de espiguetas ocorre quando as plantas são expostas a condições de temperatura a partir de 35°C por mais de uma hora (YOSHIDA, 1981). A redução na fertilidade das espiguetas das plantas de arroz expostas ao estresse por altas temperaturas é causada

principalmente pelo atraso na deiscência das anteras, redução da viabilidade dos grãos de pólen e dos estigmas (WU *et al.*, 2019).

Na condição de 700ppm foi observado um menor percentual de espiguetas estéreis no tratamento CTA (29%) quando comparado ao tratamento DHvTA (35%), sendo assim, esses resultados sugerem que os efeitos do déficit hídrico agravaram os impactos causados pelo estresse térmico em termos de fertilidade das espiguetas. Apesar de avaliarem o efeito simultâneo do déficit hídrico e estresse por calor, Awasthi *et al.* (2014) reportaram que a combinação dos dois estresses aumentou a severidade dos danos nas plantas em comparação com estresse térmico isolado. Segundo Li *et al.* (2015a), em arroz a combinação de estresse por seca e calor afeta a fertilidade de espiguetas principalmente pela regulação negativa da expressão de genes de proteínas importantes com função no transporte e metabolismo de carboidratos como, por exemplo, o *SUT3* que atua como transportador de sacarose, o *MST8* um transportador de monossacarídeos específico da antera, e uma enzima invertase de parede celular (*INV4*). A menor expressão destes genes causa um desequilíbrio no metabolismo de carboidratos, afetando a disponibilidade de sacarose para os órgãos florais. Na variável PMG não foi observado efeito significativo entre os tratamentos (Figura 26B).

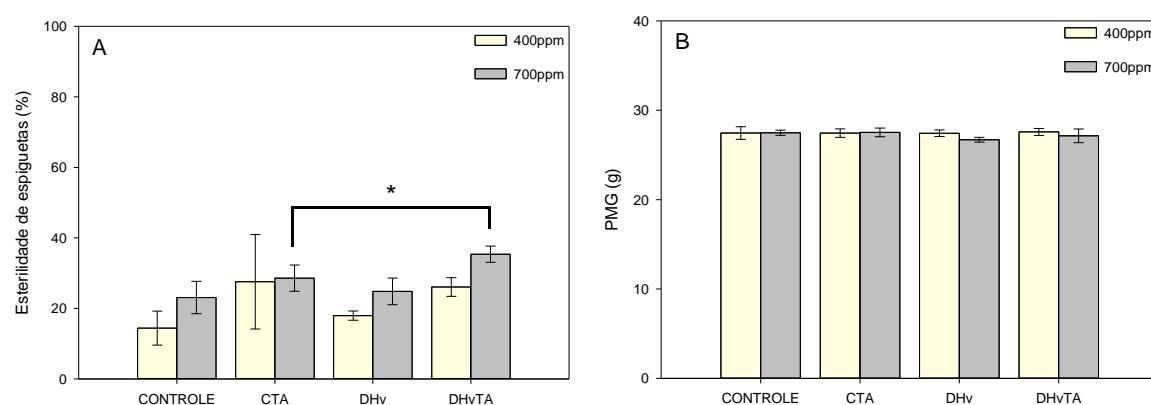


Figura 26 - Percentual de esterilidade de espiguetas (A) e peso de mil grãos (PMG) (B) de plantas de arroz (genótipo BRS Querência) cultivadas em duas concentrações de CO₂ atmosférico (400 e 700ppm) e submetidas a diferentes condições de cultivo. Controle (irrigação normal e temperatura ideal durante todo cultivo); CTA (irrigação normal durante todo ciclo e estresse térmico na antese por 72h); DHv (déficit hídrico em V4-5 e temperatura ideal durante todo cultivo) e DHvTA (déficit hídrico em V4-5 e estresse térmico na antese por 72h). As linhas verticais indicam o intervalo de confiança (IC95%). * Denota diferença pelo teste t ($p \leq 0,05$) entre o par de tratamentos indicado.

No parâmetro produtividade de grãos por panícula (Figura 27), o efeito simples do fator temperatura foi significativo (Tabela 9), mostrando que o estresse térmico (CTA e DHvTA) foi capaz de reduzir a produtividade de grãos por panícula em ambas as concentrações de CO₂. Estudo realizado por Cai *et al.* (2016) mostrou que o aumento da concentração de CO₂ não foi capaz de compensar o efeito negativo causado pelo estresse por temperatura elevada sobre a produtividade de grãos de arroz, principalmente devido ao menor número de grãos cheios produzidos. Portanto, analisando de forma geral as respostas em relação aos componentes de rendimento foi possível constatar que neste experimento a exposição das plantas de arroz ao déficit hídrico durante o estádio vegetativo inicial não foi suficiente para induzir tolerância cruzada ao estresse térmico durante a antese. Da mesma forma, o cultivo em e[CO₂] não foi capaz de influenciar o desenvolvimento de tolerância cruzada entre déficit hídrico e estresse térmico severo no genótipo Querência em termos de componentes de rendimento.

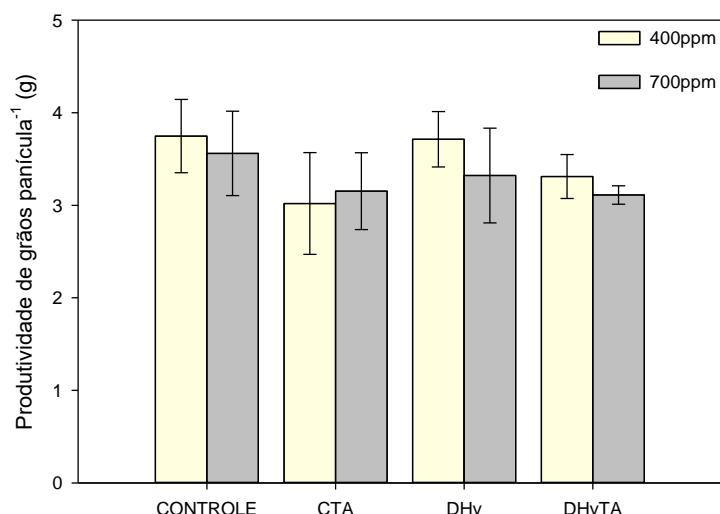


Figura 27 - Produtividade de grãos por panícula (g) de plantas de arroz (genótipo BRS Querência) cultivadas em duas concentrações de CO₂ atmosférico (400 e 700ppm) e submetidas a diferentes condições de cultivo. Controle (irrigação normal e temperatura ideal durante todo cultivo); CTA (irrigação normal durante todo ciclo e estresse térmico na antese por 72h); DHv (déficit hídrico em V4-5 e temperatura ideal durante todo cultivo) e DHvTA (déficit hídrico em V4-5 e estresse térmico na antese por 72h). As linhas verticais indicam o intervalo de confiança (IC95%).

Nas plantas que crescem em condições ambientais ideais as EROs são produzidas em baixo nível nos cloroplastos, mitocôndrias e peroxissomos, mas quando ocorre uma condição de estresse a produção destas moléculas é rapidamente incrementada. Entretanto, o acúmulo das EROs durante um estresse depende

principalmente do balanço entre a produção e a decomposição destas moléculas (MILLER *et al.*, 2010). Dentre as principais EROs destacam-se o radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$), o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), o oxigênio singlete (1O_2), o radical hidroperoxila (HO_2^{\cdot}) e o radical hidroxila (OH^{\cdot}), os quais são extremamente reativos e tóxicos, podendo causar danos em proteínas, lipídeos, carboidratos, no DNA e, como resultado final, a morte celular (GILL; TUTEJA, 2010). Apesar da toxicidade em altas concentrações nas células, a alteração da homeostase redox também pode ativar importantes vias de sinalização, desencadeando respostas de aclimatação a diversos fatores de estresse de maneira que, dependendo do local onde são produzidas, as EROs podem induzir vias de sinalização específicas (CZARNOCKA; KARPIŃSKI, 2018).

Para manter a homeostase dos níveis de EROs nas células as plantas possuem um sistema antioxidante. Esse sistema é dividido em enzimático e não enzimático. No sistema enzimático atuam várias enzimas, das quais destacam-se a Superóxido dismutase (SOD), a Catalase (CAT), a Ascorbato peroxidase (APX), a Peroxidase (POD), a Polifenol oxidase (PPO) e a Glutationa redutase (GR). Já o sistema não enzimático é constituído por diversas moléculas como os carotenos, o ácido ascórbico e os α -tocoferois (MEHLA *et al.*, 2017). A eficiente detoxificação de H_2O_2 é essencial para evitar a formação do radical OH^{\cdot} por meio da reação de Fenton, uma vez que este radical é altamente reativo (SELOTE; KHANNA-CHOPRA, 2010). Entretanto, o H_2O_2 , por ser uma ERO mais estável em relação às demais e moderadamente reativa, possui a capacidade de difundir e atravessar membranas celulares via aquaporinas, possibilitando desempenhar função na sinalização de mecanismos de defesa e aclimatação a vários estresses e em diferentes compartimentos celulares (CZARNOCKA; KARPIŃSKI, 2018; JANKU; LUHOVÁ; PETRIVALSKÝ, 2019).

Os resultados obtidos de conteúdo de H_2O_2 neste estudo mostraram um efeito significativo da concentração de CO_2 , indicando que em elevado CO_2 ocorreu uma redução do conteúdo de H_2O_2 nas condições Controle, CTA e DHV (Figura28A). Este resultado pode estar relacionado com a redução significativa da fotorrespiração e da atividade da NADPH oxidase em plantas C3 cultivadas na presença de elevada concentração do CO_2 atmosférico, uma vez que, tanto a fotorrespiração quanto a NADPH oxidase são as principais geradoras de H_2O_2 (ABDELGAWAD *et al.*, 2015; CZARNOCKA; KARPIŃSKI, 2018). Além disso, o incremento de CO_2 pode aumentar

a utilização de energia nos fotossistemas, resultando na redução da disponibilidade de elétrons livres (SINGH; AGRAWAL, 2015).

Na concentração de 400ppm de CO₂ o tratamento DHvTA mostrou redução de cerca de 23% no conteúdo de H₂O₂ em relação ao tratamento CTA. Esses resultados sugerem que a exposição prévia ao déficit hídrico no estádio vegetativo possibilitou que plantas submetidas ao estresse térmico severo na antese acumulassem menor conteúdo de EROs.

O malondealdeído (MDA) é o produto final da peroxidação de ácidos graxos polinsaturados, e sua quantificação é muito utilizada para estimar a peroxidação lipídica em vários organismos, inclusive em plantas (DAVEY *et al.*, 2005; HIGASHI; SAITO, 2019; KHOSHGOFTARMANESH; KHODARAHMI; HAGHIGHI, 2014; MØLLER; JENSEN; HANSSON, 2007). Neste experimento, apesar de não diferir significativamente, o tratamento DHvTA apresentou uma tendência de redução no conteúdo de MDA em relação ao tratamento CTA na condição de 400ppm de CO₂ (Figura 28B), resultado provavelmente relacionado ao menor acúmulo no conteúdo de EROs observado em DHvTA. Além disso, o conteúdo de MDA foi menor ($p \leq 0,05$) no tratamento DHvTA na concentração de 400ppm em relação a 700ppm. Em plantas de alfafa (*Medicago sativa*) o incremento de CO₂ também causou maior peroxidação lipídica (FARFAN-VIGNOLO; ASARD, 2012). No entanto, esse resultado não corrobora com dados reportados por Xu *et al.* (2014) que mostram que o incremento de CO₂ em condições ambientais normais não tem efeito sobre a peroxidação lipídica e, em condições de calor e déficit hídrico, o aumento de CO₂ impede a peroxidação lipídica exacerbada. Além disso, sob estresse térmico, o incremento de CO₂ parece manter a homeostase redox por induzir a maior atividade da enzima glutatona redutase, bem como pelo aumento da razão ascorbato / dehidroascorbato (LI *et al.*, 2015a).

Por outro lado, o estudo realizado por Qiu *et al.* (2008) mostrou que o incremento de CO₂ foi capaz de causar estresse oxidativo em folhas de *A. thaliana* e *Glycine max*, resultando no aumento da carbonilação de proteínas, sugerindo que há o envolvimento de outros compostos atuando em favor do estresse oxidativo como, por exemplo, o radical carbonato (CO₃⁻) e o íon peroxymonocarbonato (HCO₄⁻).

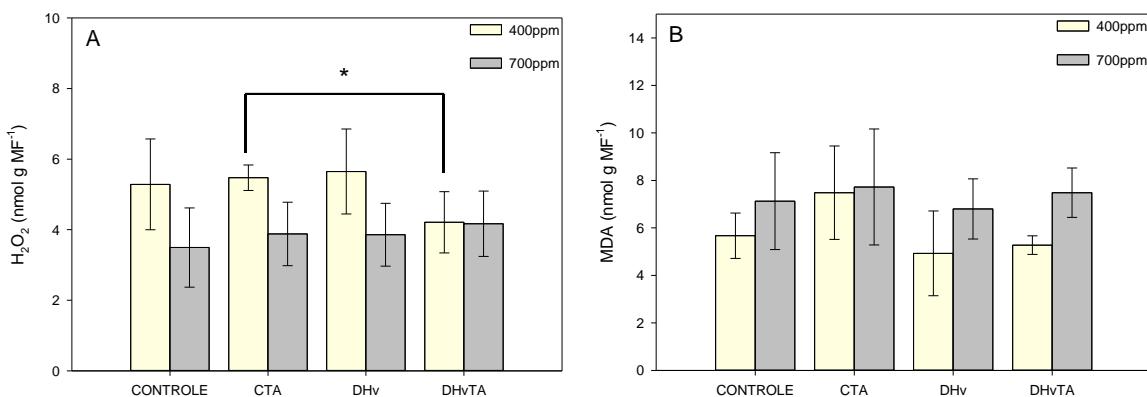


Figura 28 - Conteúdo de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (A) e conteúdo de malondealdeído (MDA) (B) em folhas bandeira de plantas de arroz (genótipo BRS Querência) cultivadas em duas concentrações de CO_2 atmosférico (400 e 700ppm) e submetidas a diferentes condições de cultivo. Controle (irrigação normal e temperatura ideal durante todo cultivo); CTA (irrigação normal durante todo ciclo e estresse térmico na antese por 72h); DHv (déficit hídrico em V4-5 e temperatura ideal durante todo cultivo) e DHvTA (déficit hídrico em V4-5 e estresse térmico na antese por 72h). As linhas verticais indicam o intervalo de confiança (IC95%). * Denota diferença pelo teste t ($p \leq 0,05$) entre o par de tratamentos indicado.

A SOD é uma metaloenzima chave do sistema antioxidante encontrada em todas as células das plantas, atuando na primeira linha de defesa contra o estresse oxidativo, catalisando a reação que converte o radical superóxido, que é altamente reativo, em moléculas de H_2O_2 e oxigênio (GILL *et al.*, 2015; WANG *et al.*, 2016a). A atividade da SOD foi significativamente maior no tratamento DHvTA em 700ppm de CO_2 em relação a DHvTA em 400ppm (Figura 29A). Além disso, a atividade da SOD em DHvTA em 400ppm foi menor que a atividade observada no tratamento DHv na mesma concentração de CO_2 .

Na concentração de 700ppm de CO_2 as plantas que foram previamente submetidas ao déficit hídrico no estádio vegetativo e ao estresse térmico no reprodutivo (DHvTA) apresentaram incremento de 27% na atividade da SOD em relação as plantas que foram submetidas ao estresse térmico sem prévia exposição ao déficit hídrico (CTA).

As enzimas CAT e APX tem como função primordial manter controlada a concentração de H_2O_2 nas células. A CAT e APX catalisam as reações que convertem as moléculas de H_2O_2 em $\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$, e $\text{H}_2\text{O} + \text{dehidroascorbato}$, respectivamente que, por sua vez, não são prejudiciais para as plantas. As duas enzimas possuem diferenças nas propriedades catalíticas. Enquanto a APX possui maior afinidade pelo

H_2O_2 e durante a reação necessita da presença do cofator ascorbato, a CAT possui baixa afinidade pelo H_2O_2 e a reação catalisada não necessita de cofatores, ou seja, não consome poder redutor (SINGH; MISHRA, 2020; WILLEKENS *et al.*, 1997). No presente estudo, o aumento do CO_2 causou redução na atividade de CAT e APX. A redução da atividade da CAT em elevado CO_2 parece estar relacionada diretamente com a redução da reação oxigenase da RUBISCO (LAMBREVA; CHRISTOV; TSONEV, 2006). E esta regulação negativa na atividade da CAT em elevado CO_2 possivelmente é mediada pela síntese, inativação ou até mesmo a degradação desta enzima (HAVIR; MCHALE, 1989). De maneira similar, a redução da atividade da APX em elevado CO_2 parece estar relacionada com o que os autores denominam de “relaxamento na produção de H_2O_2 ” (FARFAN-VIGNOLO; ASARD, 2012). Na concentração de 700ppm de CO_2 a atividade da CAT foi significativamente maior no tratamento DHvTA (0,27) em comparação ao controle (0,13), DHv (0,15) e CTA (0,15) (Figura 29B). Novamente, esse resultado sugere que as plantas que foram submetidas ao déficit hídrico durante o estádio vegetativo tornaram-se capazes de incrementar a atividade enzimática ao longo do segundo estresse. Por outro lado, a atividade da CAT no tratamento DHvTA em 400ppm de CO_2 foi maior apenas em relação a atividade dessa enzima nas plantas do tratamento Controle.

De acordo com Lukić *et al.* (2020), a memória do estresse a longo prazo em plantas está diretamente interligada aos elevados níveis das enzimas do sistema antioxidante e, de fato, as plantas de *Alopecurus pratensis* quando submetidas ao *priming* via déficit hídrico sofrem menos danos oxidativos quando são expostas ao segundo estresse por seca devido, principalmente, a maior atividade das enzimas SOD e POD durante o período de seca. Em oliveiras (*Olea europaea* L.) também foi constatado que as plantas são capazes de armazenar por longo prazo os efeitos do *priming* por déficit hídrico, o que resulta no menor impacto deletério dos efeitos de um segundo estresse hídrico enfrentado aos 60 dias após o processo de *priming* devido, principalmente, a melhor eficiência do sistema antioxidante, através do incremento da atividade das enzimas SOD, CAT e GP (guaiacol peroxidase) e da alta concentração de polifenóis, prolina e carboidratos totais, contribuindo dessa maneira para manter a integridade do fotossistema II contra os danos oxidativos do déficit hídrico (ABDALLAH *et al.*, 2017).

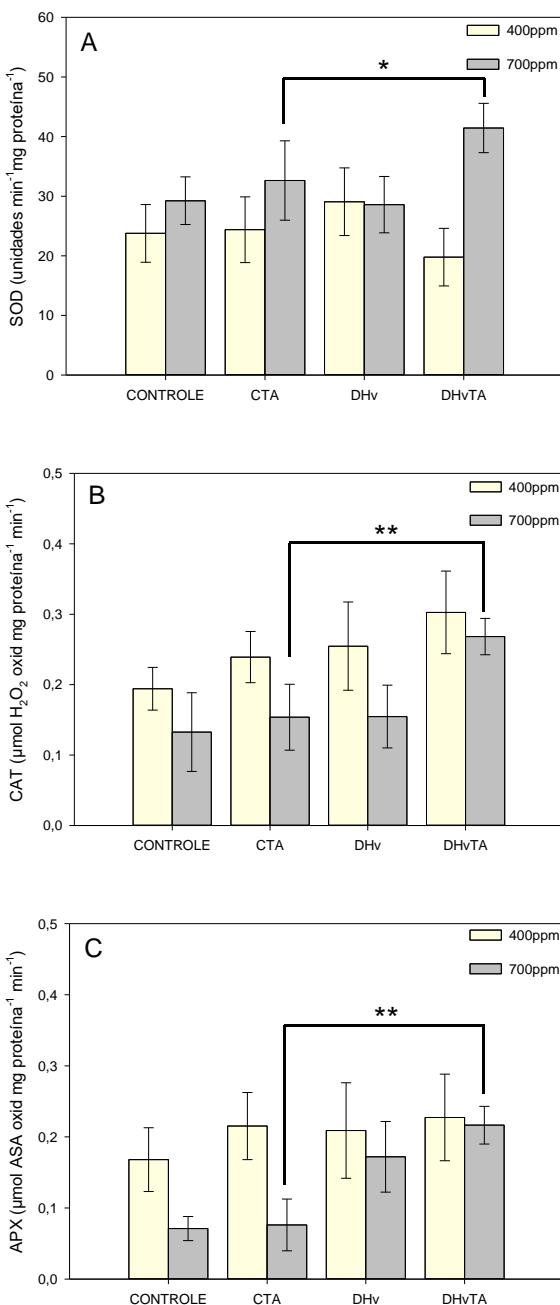


Figura 29 - Atividade enzimática da Superóxido dismutase (SOD) (A), catalase (CAT) (B) e ascorbato peroxidase (APX) (C) em folhas bandeira de plantas de arroz (genótipo BRS Querência) cultivadas em duas concentrações de CO₂ atmosférico (400 e 700ppm) e submetidas a diferentes condições de cultivo. Controle (irrigação normal e temperatura ideal durante todo cultivo); CTA (irrigação normal durante todo ciclo e estresse térmico na antese por 72h); DHv (déficit hídrico em V4-5 e temperatura ideal durante todo cultivo) e DHvTA (déficit hídrico em V4-5 e estresse térmico na antese por 72h). As linhas verticais indicam o intervalo de confiança (IC95%). * Denota diferença pelo teste t ($p\leq 0,05$) e ** ($p\leq 0,01$) entre o par de tratamentos indicado.

A atividade da APX foi significativamente maior nas condições controle e CTA em 400ppm de CO₂ em comparação com os tratamentos controle e CTA em 700ppm (Figura 29C). Em elevado CO₂ a ocorrência de déficit hídrico no período vegetativo

induziu uma maior resposta na atividade de APX de plantas submetidas ao estresse térmico na antese (DHvTA), diferindo significativamente da atividade enzimática das plantas controle e CTA. Isso indica que, ao nível bioquímico em folhas bandeiras de arroz, pode ocorrer respostas para induzir o desenvolvimento do fenômeno de tolerância cruzada entre déficit hídrico e estresse térmico por calor em elevado CO₂. Em *A. thaliana* o desenvolvimento da memória ao estresse térmico envolve principalmente a memória transcricional sobre a expressão do gene APX2 (ASCORBATE PEROXIDASE2), o qual apresenta um incremento significativo da expressão em plantas que são submetidas ao *priming* e, posteriormente, ao estresse térmico. A memória transcricional de APX2 é induzida pelo fator de transcrição HSFA1 (HEAT SHOCK FACTOR A1) que atua principalmente nos mecanismos de respostas ao estresse térmico. Além disso, foi constatado que a memória transcricional é mantida por um período de dias devido a uma modificação epigenética via hipermetilação da histona H3K4 (LIU *et al.*, 2018a).

Para os parâmetros conteúdo de clorofila *a*, clorofila *b* e clorofila total foi observado o efeito simples da condição de temperatura, onde as plantas submetidas ao estresse térmico apresentaram uma tendência de incremento no conteúdo de clorofilas (Figura 30A, B e C). Junto com as clorofilas, os carotenoides são compostos indispensáveis para o funcionamento do aparato fotossintético. Eles absorvem a energia da luz e transferem energia no estado singuleto de excitação para as clorofilas por meio da transferência de excitação singuleto-singuleto, essa transferência possui um estado de baixa energia que pode ser utilizada na fotossíntese. Além disso, os carotenoides também atuam como pigmentos fotoprotetores, pois absorvem o excesso de energia das clorofilas no estado tripleto através de uma transferência tripleto-triplet e dissipam a energia pela cadeia de polieno. De maneira semelhante, os carotenoides também possuem a capacidade de extinguir oxigênio singuleto, evitando danos oxidativos em membranas e proteínas (CAZZONELLI, 2011; MAOKA, 2020).

Na literatura os resultados mostram que o conteúdo de carotenoides pode aumentar, reduzir ou mesmo permanecer inalterado dependendo da espécie e do tecido específicos em resposta à elevada concentração de CO₂ (DHAMI; CAZZONELLI, 2020). No presente estudo foi possível constatar que o conteúdo de carotenoides nas folhas bandeiras das plantas do tratamento DHvTA na concentração de 400ppm de CO₂ foi maior em comparação ao conteúdo de carotenoides das plantas

do tratamento DHvTA em elevado CO₂ (Figura 30D). Em plantas de tomateiro (*Solanum lycopersicum*) o incremento na concentração de CO₂ atmosférico também resultou na redução do conteúdo de carotenoides (LANOUE *et al.*, 2018). Entretanto, em *A. thaliana* o aumento do CO₂ causou incremento de carotenoides em folhas jovens, ao passo que em folhas velhas não foi observado incremento deste pigmento (DHAMI; TISSUE; CAZZONELLI, 2018). Uma meta-análise realizada recentemente por Loladze *et al.* (2019), abrangendo 33 espécies, mostra que o elevado CO₂ é capaz de reduzir em 15% a concentração de carotenoides, o estudo ainda reporta a redução na expressão de 16 genes envolvidos na rota de síntese dos carotenoides, sugerindo que a regulação gênica negativa via CO₂ pode ser um mecanismo ativo que mantém baixo os níveis destes pigmentos.

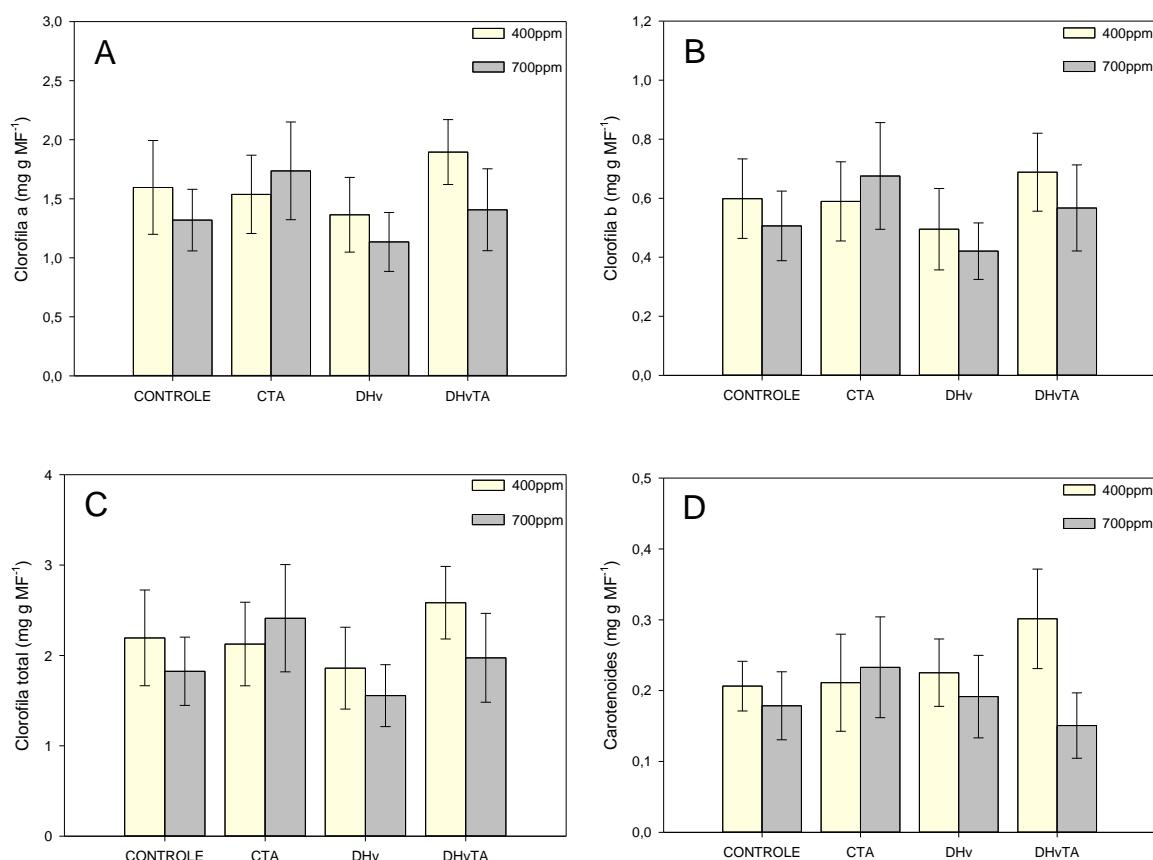


Figura 30 - Conteúdo de clorofila a (A), clorofila b (B), clorofila total (C) e carotenoides (D) em folhas bandeira de plantas de arroz (genótipo BRS Querência) cultivadas em duas concentrações de CO₂ atmosférico (400 e 700ppm) e submetidas a diferentes condições de cultivo. Controle (irrigação normal e temperatura ideal durante todo cultivo); CTA (irrigação normal durante todo ciclo e estresse térmico na antese por 72h); DHv (déficit hídrico em V4-5 e temperatura ideal durante todo cultivo) e DHvTA (déficit hídrico em V4-5 e estresse térmico na antese por 72h). As linhas verticais indicam o intervalo de confiança (IC95%).

As *Heat Shock Proteins* (HSPs) são altamente conservadas e funcionam constitutivamente como chaperonas moleculares, auxiliando na dinâmica do dobramento e agregação de proteínas. Para isto, as HSPs se ligam ao substrato de maneira reversível e funcionam consumindo moléculas de ATP podendo promover o dobramento para o estado nativo, induzir a desagregação e a proteólise de proteínas substratos sem fazer parte do produto final (CHAUDHARY *et al.*, 2019). Além do estresse térmico por calor, a expressão das *HSPs* é induzida por outros fatores estressantes como, por exemplo, salinidade, hipóxia, luz UV, temperatura baixa e estresse hídrico (ASTHIR, 2015; KHAN; SHAHWAR, 2020; WANG *et al.*, 2015). As HSPs são agrupadas em cinco famílias e, em função das suas massas moleculares, são classificadas como Hsp60, Hsp70, Hsp90, Hsp100 e a família das pequenas Hsps (*small Hsp - sHsp*) (WANG *et al.*, 2004).

A expressão dos genes *HSPs* é controlada por fatores de transcrição *HSFs* (*Heat Shock Factors*). Em condições ambientais favoráveis, os *HSFs* ficam localizados no citoplasma na forma inativa (monômero). A partir da exposição a uma condição de estresse como o calor, por exemplo, estes fatores de transcrição migram para o núcleo onde são ativados no estado trímero. Então, os *HSFs* se ligam na região promotora do genoma na qual estão localizados os *Heat Shock Elements* (*HSE*) que ativam a expressão das *HSPs* (HASANUZZAMAN *et al.*, 2013; JACOB; HIRT; BENDAHMANE, 2017; LIU *et al.*, 2013; UL HAQ *et al.*, 2019).

Neste experimento foram avaliadas as expressões de três genes *OsHSPs* (*OsHSP16.9A*, *OsHSP24.15* e *OsHSP70CP1*). Os resultados referentes a análise da expressão gênica revelam que as expressões dos genes das HSPs foram reguladas negativamente, tanto na folha bandeira quanto nas espiguetas dos tratamentos que foram submetidos ao estresse térmico por 72h a partir da antese (Figura 31). A repressão da expressão das HSPs analisadas pode estar relacionada com o período relativamente longo de 3 dias sob regime de estresse térmico. A repressão de *HSPs* sob condições de estresse térmico tem sido relatada na literatura. Em soja (*Glycine max*), a expressão de 18 genes pertencentes às famílias HSP70 e HSP90 foi negativamente regulada após 12h sob condição de estresse térmico (38°C), indicando que os genes respondem e reduzem a expressão rapidamente (SONG; YIM; LEE, 2017). Resultados reportados por Zou *et al.* (2009) mostram diferentes perfis de expressão das HSPs em plantas de arroz submetidas a temperatura elevada, onde foi constatado que sete genes (*OsHSP80.2*, *OsHSP74.8*, *OsHSP50.2*, *OsHSP58.7*,

OsHSP23.7, *OsHSP26.7* e *OsHSP17*) mantiveram alta expressão durante 24h de estresse térmico (42°C), enquanto os níveis de transcritos de outras duas HSPs (*OsHSP71.1* e *OsHSP24.1*) foram significativamente reduzidos no mesmo período, indicando que as diferentes HSPs possuem diferentes funções atribuídas ao estresse térmico. Também em plantas de arroz, o gene *Os02g32520*, membro da família HSP100, foi regulado positivamente por estresse salino e seca, no entanto, foi reprimido pelo calor e frio, confirmando que existe uma expressão gênica diferencial das HSPs sob diferentes condições (HU; HU; HAN, 2009).

Além disso, sabe-se que vários genes *HSPs* são expressos constitutivamente em condições ambientais favoráveis. Portanto, em certos casos, são observados níveis de transcritos iguais ou menores na condição de estresse em relação à condição normal. Em estudos anteriores foi reportado que *HSP15.4-CV* é um gene constitutivamente expresso em *A. thaliana*, entretanto, em condições de estresse térmico por calor a sua expressão é fortemente reprimida em tecidos florais (SIDDIQUE *et al.*, 2008).

No presente estudo foram observadas diferenças no grau de repressão da expressão em função do tipo de HSPs, tecido e tratamento. Foi observado que as expressões de *OsHSP16.9A* (Figura 31D) e *OsHSP70CP1* (Figura 31F) nas espiguetas das plantas do tratamento DHvTA 400ppm sofreram uma repressão maior em relação a expressão destes genes nas espiguetas do tratamento CTA 400ppm. Já o gene *OsHSP24.15* sofreu maior supressão da expressão nos tecidos das folhas bandeiras (Figura 31B) e espiguetas (Figura 31E) do tratamento DHvTA 700ppm em comparação ao tratamento CTA 700ppm. Ainda na condição de 700ppm de CO₂, os resultados mostram uma regulação semelhante na expressão de *OsHSP16.9A* nas espiguetas, com maior supressão da expressão observada nas espiguetas do tratamento DHvTA em relação ao tratamento CTA. Por outro lado, no tratamento DHV 700ppm, a expressão dos genes *OsHSP24.15* e *OsHSP70CP1* (Figura 31C) foi induzida na folha bandeira. Sabe-se que as HSPs70 são altamente conservadas e que alguns membros desta família são constitutivamente expressos, porém, em trigo a expressão foi significativamente alterada quando houve a imposição de déficit hídrico por um período de 7 dias, induzindo um incremento de cerca de oito vezes da proteína HSP70 em relação as plantas controle (GRIGOROVA *et al.*, 2011).

Na condição controle em 700ppm ocorreu incremento da expressão de *OsHSP24.15* nas espiguetas. Em *S. lycopersicum* o incremento de CO₂ atmosférico

causou a indução significativa sobre a expressão de *HSP90*, *HSP70*, *HSP21*, *HSP17.6* e *HSP17.4*. No entanto, sob condição de estresse térmico (42°C) e elevado CO₂ a expressão das *HSPs* parece ser regulada por *ERF1* (*ethylene response factor*) (PAN *et al.*, 2019), regulação que pode ter sido inibida no presente experimento. Conforme resultados reportados por Geissler *et al.* (2010), em plantas de *Aster tripolium*, além do efeito do estresse salino sobre a regulação das *HSPs*, o elevado CO₂ causou um incremento ainda maior no conteúdo da proteína HSP20 em relação a condição normal de CO₂, essa resposta foi proporcionada provavelmente pelo incremento na produção de energia celular para a síntese de enzimas e proteínas.

Os resultados da expressão gênica sugerem que a exposição ao déficit hídrico no estádio vegetativo contribuiu para suprimir mais fortemente a expressão de genes *HSPs* durante o estresse térmico severo (38°C) no florescimento em ambas as concentrações de CO₂. Neste sentido, é importante destacar que o estímulo *priming* pode desencadear a memória em nível transcracional através da indução de alterações sustentadas sobre a expressão de genes, seja ela por ativação ou repressão (LÄMKE; BÄURLE, 2017). Além disso, deve ser considerado que durante o período de recuperação após um tratamento *priming* a planta pode redefinir (*resetting*) o seu transcriptoma, de tal maneira que acaba por não desenvolver a memória do estresse, retornando para uma condição metabólica semelhante ao *pré-priming*. Esse processo pode ser desencadeado através do metabolismo do RNA, do silenciamento gênico pós-transcricional ou ainda por metilação do DNA (CRISP *et al.*, 2016). Além disso, as plantas podem ativar um mecanismo *resetting* celular ao nível de proteoma por meio do processo de autofagia que atua mediando a degradação de *HSPs* específicas, sugerindo que durante a fase de memória (isto é, o período entre o *priming* e o segundo estresse) esse mecanismo por reestabelecer o proteoma celular ao nível anterior ao *priming* e, assim, direcionar os recursos em favor do crescimento, em detrimento da memória (SEDAGHATMEHR *et al.*, 2019). Em *A. thaliana* por exemplo, a autofagia da proteína HSP90 após um procedimento de *priming* ocorre especificamente através das interações com uma co-chaperona denominada rotamase FKBP1 (*ROF1*), e com NBR1 (*next-to-BRCA1*), o qual atua como um receptor seletivo para a autofagia (THIRUMALA IKUMAR *et al.*, 2020).

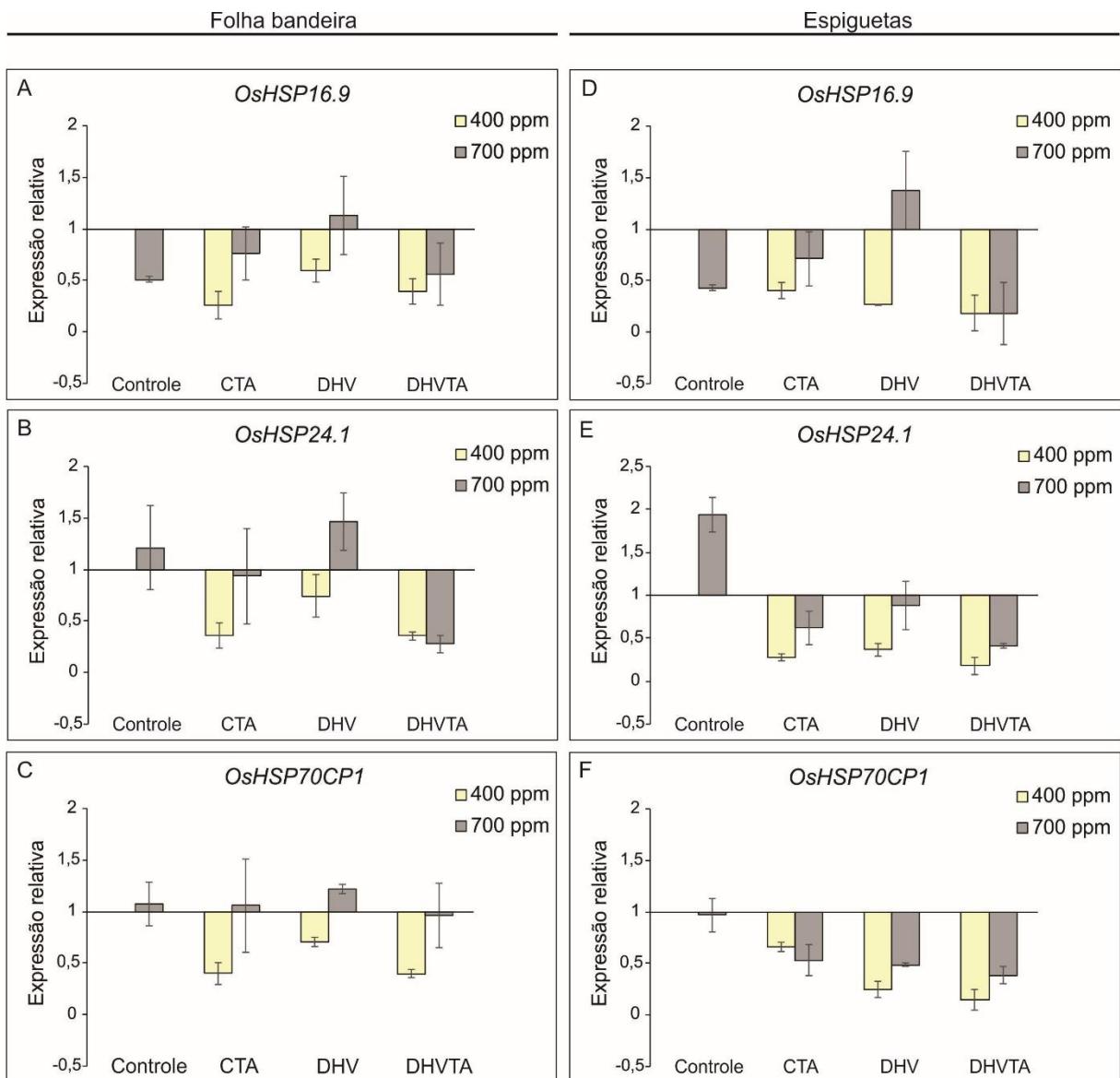


Figura 31 - Expressão relativa de genes *OsHSPs* em folhas bandeira (A, B, C) e espiguetas (D, E, F) de plantas de arroz (genótipo BRS Querência) cultivadas em duas concentrações de CO₂ atmosférico (400 e 700ppm) e submetidas a diferentes condições de cultivo. Controle (irrigação normal e temperatura ideal durante todo cultivo); CTA (irrigação normal durante todo ciclo e estresse térmico na antese por 72h); DHv (déficit hídrico em V4-5 e temperatura ideal durante todo cultivo) e DHvTA (déficit hídrico em V4-5 e estresse térmico na antese por 72h). As linhas verticais indicam o desvio padrão (n=3).

4.3.2 Experimento 2: Estresse térmico transiente moderado

Neste segundo experimento foi analisada a capacidade do efeito *priming* via déficit hídrico em desenvolver tolerância cruzada para o estresse térmico moderado. Os resultados de probabilidade da análise de variância de cada fator e suas interações para os parâmetros analisados no experimento são apresentados na Tabela 10.

A produção de biomassa é resultado do balanço entre a fotossíntese líquida e a respiração. Neste experimento os resultados obtidos referentes a produção de

biomassa da parte aérea mostram que os tratamentos com irrigação normal (Controle e CTA) cultivados em 700ppm de CO₂ obtiveram MMSPA superiores as plantas dos tratamentos controle e CTA em 400ppm (Figura 32A). Esses resultados, demonstram que o aumento de CO₂ induz maior produção de biomassa na cultura do arroz. Resultados apresentados por Roy *et al.* (2012) também confirmam o efeito positivo do incremento de CO₂ sobre a produção de biomassa em plantas de arroz. Essa resposta é desencadeada principalmente pelo aumento do índice de área foliar e da taxa de assimilação líquida de carbono. Considerando os tratamentos na concentração de 400ppm de CO₂ os resultados mostram que o déficit hídrico induziu maior acúmulo de biomassa na parte aérea em relação aos tratamentos sem déficit hídrico. No parâmetro MMSR não foi constatada a significância no efeito simples dos fatores e nas suas interações.

Tabela 10 - Valor-*p* dos efeitos simples e da interação entre os fatores concentração de CO₂, condição hídrica (CH) e temperatura (TEMP) para as variáveis do experimento 2

Variável	CO ₂	CH	TEMP	CO ₂ xCH	CO ₂ xTEMP	CHxTEMP	CO ₂ xCHxTEMP
MMSPA	0,058	0,734	0,666	0,010	0,496	0,721	0,891
MMSR	0,141	0,076	0,620	0,381	0,706	0,715	0,460
Panículas vaso ⁻¹	0,001	0,608	0,373	0,309	0,522	0,373	0,898
Grãos panícula ⁻¹	0,000	0,000	0,958	0,886	0,756	0,000	0,126
Esterilidade (%)	0,003	0,805	0,495	0,961	0,189	0,526	0,972
PMG	0,017	0,008	0,135	0,959	0,785	0,381	0,571
Produtividade panícula ⁻¹	0,001	0,005	0,579	0,848	0,893	0,001	0,133
H ₂ O ₂	0,010	0,191	0,400	0,253	0,745	0,674	0,327
MDA	0,468	0,720	0,014	0,401	0,643	0,039	0,448
SOD	0,001	0,131	0,871	0,708	0,863	0,117	0,860
CAT	0,026	0,102	0,043	0,733	0,055	0,369	0,252
APX	0,083	0,364	0,313	0,458	0,488	0,844	0,881
Clorofila <i>a</i>	0,004	0,228	0,518	0,064	0,371	0,718	0,723
Clorofila <i>b</i>	0,007	0,181	0,530	0,090	0,245	0,870	0,583
Clorofila Total	0,005	0,214	0,520	0,070	0,333	0,757	0,684
Carotenoides	0,102	0,183	0,294	0,024	0,175	0,581	0,996

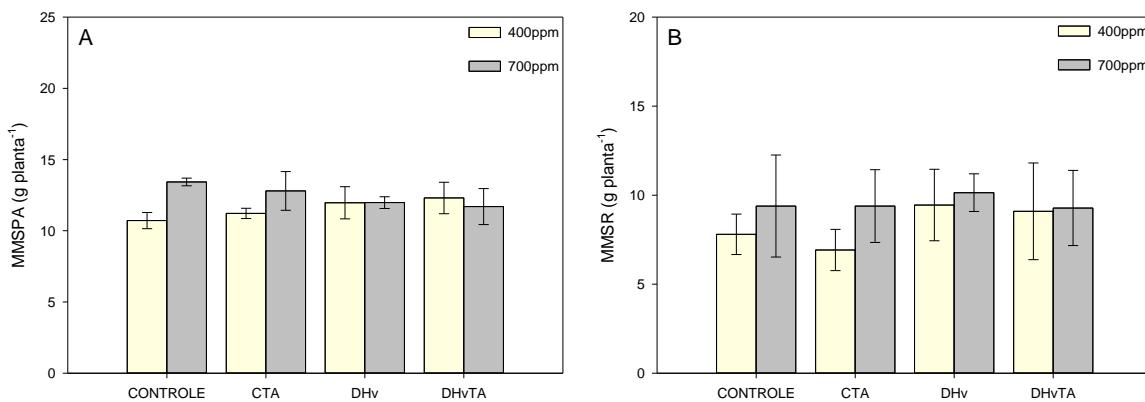


Figura 32 - Massa da matéria seca da parte aérea (MMSPA) (A) e massa da matéria seca do sistema radicular (MMSR) (B) de plantas de arroz (genótipo BRS Querência) cultivadas em duas concentrações de CO₂ atmosférico (400 e 700ppm) e submetidas a diferentes condições de cultivo. Controle (irrigação normal e temperatura ideal durante todo cultivo); CTA (irrigação normal durante todo ciclo e estresse térmico na antese por 72h); DHv (déficit hídrico em V4-5 e temperatura ideal durante todo cultivo) e DHvTA (déficit hídrico em V4-5 e estresse térmico na antese por 72h). As linhas verticais indicam o intervalo de confiança (IC95%).

Para a variável do número de panículas foi observado apenas o efeito simples do fator CO₂ (Tabela 10), com incremento no número de panículas sendo observado na concentração de 700ppm de CO₂ (Figura 33A). Sob cultivo em elevado CO₂ a produção de panículas é um dos componentes de rendimento do arroz que apresenta maior incremento (LV *et al.*, 2020), corroborando com resultados de Zhang *et al.* (2015), os quais mostram um incremento significativo no número de panículas em plantas de três genótipos (Akita 63, Koshihikari e Takanari) cultivados em atmosfera com elevado CO₂.

Quanto ao número de grãos por panícula nos tratamentos controle e DHvTA, o aumento do CO₂ atmosférico resultou em menor número de grãos por panícula em comparação com o controle e DHvTA em 400ppm de CO₂ (Figura 33B). As plantas que não sofreram o déficit hídrico e foram expostas ao estresse térmico (CTA) foram impactadas pela temperatura elevada, resultado observado pelo menor número de grãos produzidos em relação ao tratamento controle em ambas concentrações de CO₂. Estudo realizado por Wang *et al.* (2018a) revela que o aumento do CO₂ foi capaz de reduzir em cerca de 8% o número de espiguetas por panícula, enquanto apenas a temperatura elevada causou redução de 4% e a combinação entre elevado CO₂ e temperatura elevada resultou na redução de 13%. Estes resultados estão relacionados com os efeitos negativos do elevado CO₂ e temperatura elevada sobre o desenvolvimento das panículas, pois ambos causam a redução da diferenciação das

ramificações primárias e redução das espiguetas, bem como aumentam a degeneração destas estruturas da panícula.

Pode-se observar ainda que a exposição ao déficit hídrico durante o estádio vegetativo possibilitou uma melhor condição para a produção de grãos por panícula das plantas submetidas ao estresse térmico na antese em ambas condições de CO₂, visto que o número de grãos por panícululas nos tratamentos DHvTA 400 e DHvTA 700 foi 115 e 103, respectivamente, enquanto CTA 400 e CTA 700 produziram 96 e 89 grãos por panícula, respectivamente. Em trigo por exemplo, o *priming* induzido por déficit hídrico no estádio vegetativo melhora o desenvolvimento de grãos em condições de déficit hídrico no estádio de pós-antese, principalmente por manter elevada a concentração de citocininas, auxinas e giberelinas, bem como, baixo conteúdo de ABA durante o desenvolvimento inicial dos grãos. Isto resulta em maior tamanho de dreno inicial e enchimento de grãos final, comparado com plantas que não foram submetidas ao *priming* (ABID *et al.*, 2017). A citocinina por exemplo, tem importante função sobre a regulação do número de grãos por panícula em arroz, neste sentido, a redução na expressão do gene (*OsCKX11*) que codifica a enzima citocinina oxigenase/desidrogenase, resulta no incremento de grãos por panícula (ZHANG *et al.*, 2020c).

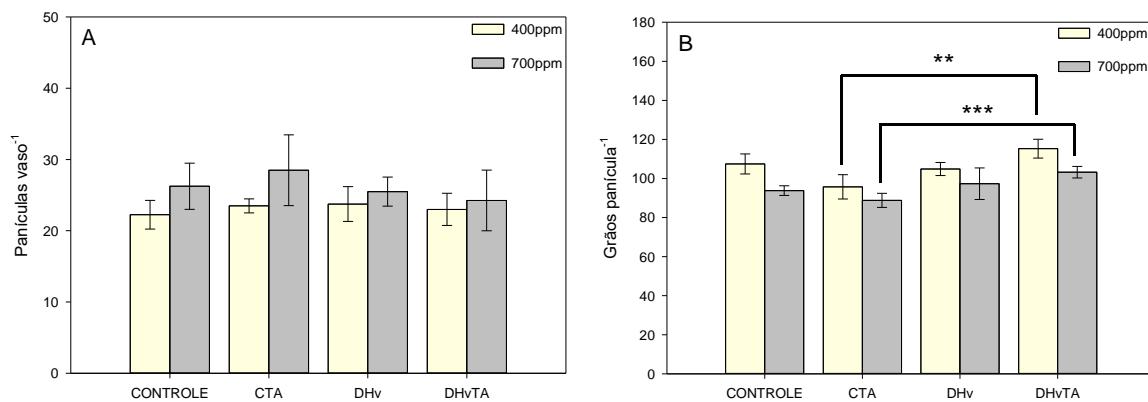


Figura 33 - Número de panículas por vaso (A) e número de grãos por panícula (B) de plantas de arroz (genótipo BRS Querência) cultivadas em duas concentrações de CO₂ atmosférico (400 e 700ppm) e submetidas a diferentes condições de cultivo. Controle (irrigação normal e temperatura ideal durante todo cultivo); CTA (irrigação normal durante todo ciclo e estresse térmico na antese por 72h); DHv (déficit hídrico em V4-5 e temperatura ideal durante todo cultivo) e DHvTA (déficit hídrico em V4-5 e

estresse térmico na antese por 72h). As linhas verticais indicam o intervalo de confiança (IC95%). ** Denota diferença pelo teste t ($p \leq 0,01$) e *** ($p \leq 0,001$) entre o par de tratamentos indicado.

Para o parâmetro esterilidade de espiguetas foi observado o efeito simples do CO₂. Os resultados obtidos no tratamento DHvTA mostram que o incremento de CO₂ resultou em menor esterilidade de espiguetas em comparação as plantas submetidas a mesma condição hídrica e temperatura cultivadas em atmosfera com 400ppm de CO₂ (Figura 34A). Neste sentido, resultados obtidos em plantas de trigo reportam que o aumento do CO₂ atmosférico é capaz de reduzir a mortalidade de flores, sugerindo que a viabilidade das flores é suportada pela maior disponibilidade de fotoassimilados translocados para os órgãos florais (DIAS DE OLIVEIRA *et al.*, 2015). Portanto, o menor percentual de esterilidade de espiguetas em elevado CO₂ obtido no presente experimento possivelmente foi devido ao maior suprimento de fotoassimilados para os órgãos reprodutivos durante a antese. Uma vez que, em arroz a esterilidade de espiguetas pode ocorrer pela baixa disponibilidade de fotoassimilados durante a floração (KOBATA *et al.*, 2013).

No parâmetro PMG foi observada efeito significativo simples dos fatores CO₂ e condição hídrica. Os resultados do presente estudo mostram uma tendência de incremento no PMG dos tratamentos submetidos ao elevado CO₂ (Figura 34B). Estes resultados corroboram com dados reportados em estudos anteriores que mostram que o elevado CO₂ propicia incremento no peso do grão (LV *et al.*, 2020; WANG *et al.*, 2019a). Estudo realizado por Yang *et al.* (2006) revelou que o elevado CO₂ induziu um incremento pequeno (1,3%) no peso do grão, porém significativo em relação ao CO₂ ambiente, resultado atribuído principalmente ao incremento na proporção de espiguetas produzidas nas ramificações primárias e na razão fonte-dreno durante a emissão das panículas. Por outro lado, no presente estudo a exposição das plantas ao déficit hídrico no estádio vegetativo causou redução dos valores de PMG. Conforme Bhutta *et al.* (2019), em 20 genótipos de arroz analisados o estresse por déficit hídrico causou uma redução entre 9 e 56% no PMG, neste caso o efeito foi desencadeado possivelmente pela redução na assimilação e na disponibilidade de nitrogênio para órgãos reprodutivos.

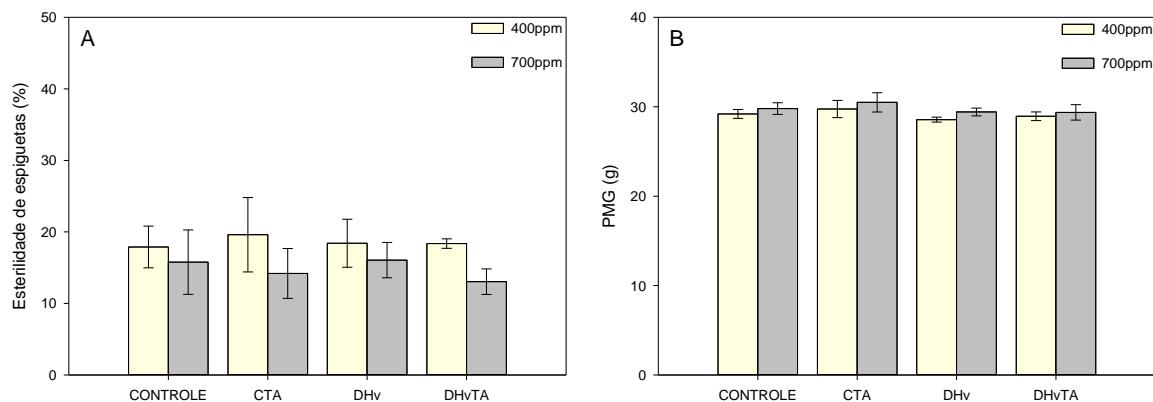


Figura 34 - Percentual de esterilidade de espiguetas (A) e peso de mil grãos (PMG) (B) de plantas de arroz (genótipo BRS Querência) cultivadas em duas concentrações de CO₂ atmosférico (400 e 700ppm) e submetidas a diferentes condições de cultivo. Controle (irrigação normal e temperatura ideal durante todo cultivo); CTA (irrigação normal durante todo ciclo e estresse térmico na antese por 72h); DHv (déficit hídrico em V4-5 e temperatura ideal durante todo cultivo) e DHvTA (déficit hídrico em V4-5 e estresse térmico na antese por 72h). As linhas verticais indicam o intervalo de confiança (IC95%).

Quanto à produtividade de grãos por panícula foi observada menor produtividade no tratamento controle em 700ppm de CO₂ em relação ao controle cultivado em atmosfera com 400ppm (Figura 35). Os resultados também mostram que a temperatura elevada reduziu a produtividade de grãos em plantas submetidas ao estresse térmico durante a antese (CTA) quando comparadas às produtividades das plantas controle. Estes resultados estão relacionados principalmente com o menor número de grãos por panícula nestas condições. Entretanto, de acordo com estudo realizado por Wang *et al.* (2019c) a ocorrência de temperatura elevada sozinha ou em combinação com elevado CO₂ reduz o acúmulo de massa seca e a produtividade do arroz, neste caso, os resultados foram atribuídos principalmente à redução do índice de área foliar em tais condições.

Por outro lado, as plantas que experimentaram a condição de déficit hídrico no estádio vegetativo e posteriormente foram submetidas ao estresse térmico na antese (DHvTA) apresentaram maior produtividade de grãos por panículas em relação às plantas que não foram impostas ao déficit hídrico antecedendo o estresse térmico (CTA). Neste caso, foi verificado que em DHvTA 400 a produtividade foi cerca de 17% superior em relação a produtividade das plantas submetidas ao tratamento CTA 400. Enquanto em DHvTA 700 o incremento de produtividade foi de 12% em relação a CTA 700. Neste contexto, foi verificado que em plantas de trigo o *priming* por déficit hídrico durante o estádio de alongamento do colmo é capaz desencadear a tolerância

cruzada ao estresse térmico por calor no estádio de enchimento de grãos, este *priming* causa um efeito de aumento da taxa de carboxilação e reduz a perda de produtividade de grãos em comparação com plantas submetidas ao estresse térmico sem passar pelo *priming* (WANG *et al.*, 2014b).

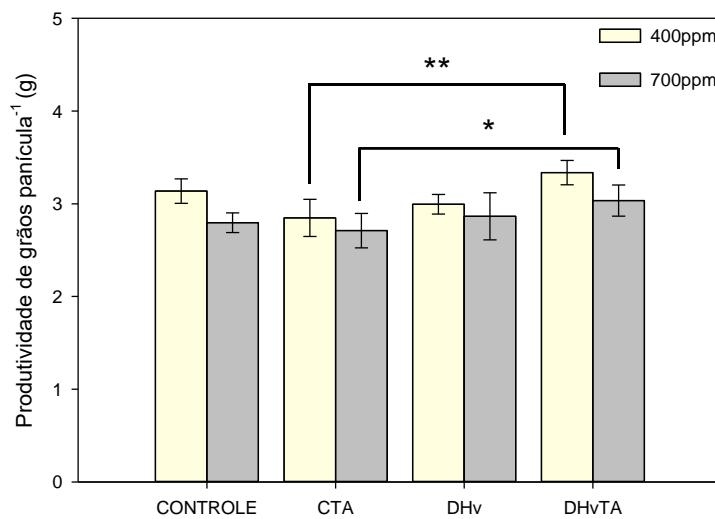


Figura 35 - Produtividade de grãos por panículas (g) de plantas de arroz (genótipo BRS Querência) cultivadas em duas concentrações de CO₂ atmosférico (400 e 700ppm) e submetidas a diferentes condições de cultivo. Controle (irrigação normal e temperatura ideal durante todo cultivo); CTA (irrigação normal durante todo ciclo e estresse térmico na antese por 72h); DHv (déficit hídrico em V4-5 e temperatura ideal durante todo cultivo) e DHvTA (déficit hídrico em V4-5 e estresse térmico na antese por 72h). As linhas verticais indicam o intervalo de confiança (IC95%). * Denota diferença pelo teste t ($p\leq 0,05$) e ** ($p\leq 0,01$) entre o par de tratamentos indicado.

Para o conteúdo de H₂O₂ foi verificado o efeito significativo simples do fator CO₂. Os tratamentos submetidos ao déficit hídrico em 700ppm de CO₂ apresentaram maior conteúdo de H₂O₂ em relação as plantas que foram submetidas ao déficit hídrico em 400ppm (Figura 36A). Em relação a avaliação da peroxidação lipídica as plantas sujeitas ao déficit hídrico e temperatura elevada (DHvTA) apresentaram maior conteúdo de MDA em comparação com as plantas submetidas apenas ao estresse por déficit hídrico (DHv) (Figura 36B). Os resultados revelam que na concentração de 400ppm de CO₂ o estresse térmico causou maior peroxidação lipídica nas plantas que foram expostas ao déficit hídrico inicial (DHvTA) em relação a peroxidação lipídica nas células das plantas do tratamento CTA. Portanto, para esta variável a exposição inicial ao déficit hídrico não foi capaz de induzir uma resposta mais eficiente contra a peroxidação lipídica desencadeada em função do estresse térmico. Entretanto, sabe-se que o fenômeno de tolerância cruzada pode ocorrer mesmo quando os sistemas

de defesa vegetal não são capazes de prevenir danos oxidativos significativos em moléculas e organelas celulares. Isto pode ocorrer, por exemplo, através da ativação de mecanismos de reparo celular. Esse comportamento foi observado em plantas de trigo, que ao sofrerem a indução de *priming* por déficit hídrico leve, apresentam maior eficiência na ativação do mecanismo de reparo do DNA danificado após exposição ao estresse térmico por temperatura elevada. A enzima *Ape1L* (*Apurinic/apyrimidinic endonuclease*) tem sido considerada uma componente chave na regulação desse mecanismo (GUPTA *et al.*, 2020).

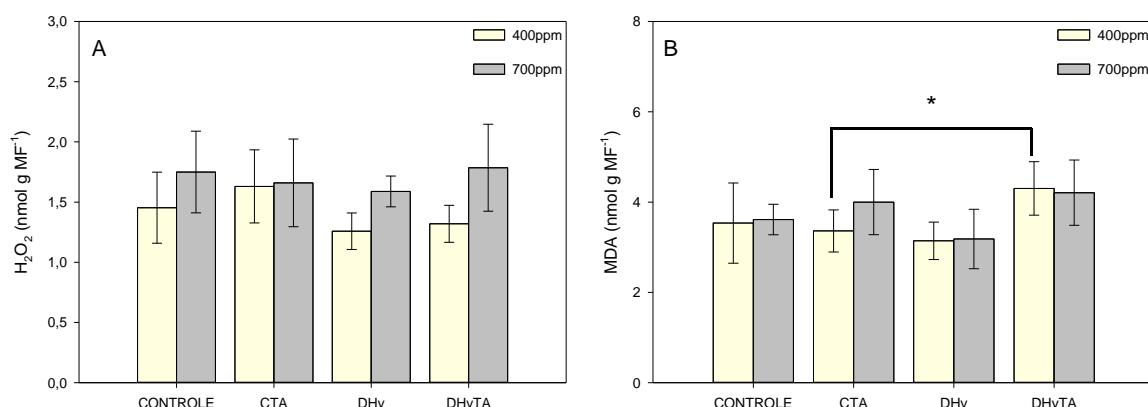


Figura 36 - Conteúdo de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (A) e conteúdo de malondealdeído (MDA) (B) em folhas bandeira de plantas de arroz (genótipo BRS Querência) cultivadas em duas concentrações de CO_2 atmosférico (400 e 700ppm) e submetidas a diferentes condições de cultivo. Controle (irrigação normal e temperatura ideal durante todo cultivo); CTA (irrigação normal durante todo ciclo e estresse térmico na antese por 72h); DHv (déficit hídrico em V4-5 e temperatura ideal durante todo cultivo) e DHvTA (déficit hídrico em V4-5 e estresse térmico na antese por 72h). As linhas verticais indicam o intervalo de confiança (IC95%). * Denota diferença pelo teste t ($p\leq 0,05$) entre o par de tratamentos indicado.

Em relação a atividade da enzima SOD foi observado efeito simples do fator CO_2 . Sendo que os resultados mostram que a atividade da SOD foi maior nas plantas controle e CTA cultivadas em 700ppm de CO_2 em relação à atividade enzimática da SOD de plantas controle e CTA em 400ppm (Figura 37A).

Os resultados deste experimento também revelam que a atividade da SOD foi cerca de 35% superior nas plantas submetidas previamente ao déficit hídrico e posteriormente ao estresse térmico (DHvTA) em 400ppm, quando comparada a atividade da SOD de plantas expostas somente ao estresse térmico na antese (CTA). No entanto, como visto acima, o incremento da atividade da SOD em plantas do tratamento DHvTA em 400ppm não foi suficiente para reduzir a peroxidação lipídica nas células do tecido da folha bandeira.

O potencial do efeito *priming* em induzir um aprimoramento do sistema antioxidante durante um segundo estresse tem sido amplamente confirmado, especialmente em espécies pertencentes a família Poaceae. Um estudo recente mostrou que a tolerância ao estresse por seca induzida por *priming* à base de déficit hídrico em plantas de trigo envolve uma regulação hormonal *crosstalk* entre ABA e jasmonato, os quais atuam regulando positivamente a expressão de genes e a atividade de componentes do sistema de defesa celular, como calmodulinas, CAT, SOD e HSP70 (WANG *et al.*, 2020b). Além disso, plantas de trigo com tratamento *priming* por déficit hídrico apresentam menores perdas de produtividade de grãos quando sofrem a incidência de estresse por seca no estádio de pós-antese, principalmente pelo fato destas plantas apresentarem melhor status hídrico, causado pelo incremento do conteúdo de osmoprotetores (prolina e sacarose), agregado a maior atividade do sistema antioxidante enzimático, com destaque para a atividade das enzimas SOD, CAT e APX que atuam na redução dos danos oxidativos sobre as membranas celulares através da detoxificação das EROs. E por fim, esse mecanismo *priming* ainda possibilita maior eficiência da cadeia de transporte de elétrons da fotossíntese, bem como, maior atividade de carboxilação da enzima RUBISCO (CUI *et al.*, 2019b; WANG *et al.*, 2019d). Estes mecanismos ativados pelo efeito do *priming* durante o estresse por seca, são importantes também para a ativação da termotolerância em plantas submetidas ao estresse por calor. Em plantas de arroz, por exemplo, o desenvolvimento da termotolerância envolve a ação de enzimas antioxidantes como SOD, CAT, APX e POD, em conjunto com a atividade de proteínas de choque térmico (HSP70) (ALI *et al.*, 2017; SHAH *et al.*, 2011; WAHAB *et al.*, 2020; XUE *et al.*, 2012).

Na atividade da enzima CAT foi observado efeito simples do CO₂ e da temperatura. Neste experimento a atividade da CAT foi superior nas plantas do tratamento DHvTA em 700ppm de CO₂ em comparação com as plantas submetidas ao tratamento DHvTA em 400ppm (Figura 37B). Além disso, a atividade da CAT em plantas do tratamento DHvTA 700ppm foi maior do que o valor obtido em plantas submetidas apenas ao déficit hídrico em 700ppm. O efeito do elevado CO₂ sobre a atividade de enzimas antioxidantes também já foi observado em estudo realizado com plantas de tomateiro (*S. lycopersicum*), no qual foi observado que o aumento de CO₂ atmosférico em condições de cultivo sem estresse acarretou um incremento de 23, 47 e 44% na atividade da SOD, POD e CAT, respectivamente (ZHANG *et al.*, 2020e). Já

em plântulas de *Robinia pseudoacacia* o alto CO₂ incrementou a atividade da SOD e CAT, e por outro lado reduziu a atividade da POD, indicando a variabilidade de efeitos do CO₂ sobre o sistema antioxidante enzimático (JIA *et al.*, 2017). No presente estudo, em relação a atividade da enzima APX os resultados mostram que os fatores não apresentaram interação significativa e efeito simples significativo nas condições deste experimento.

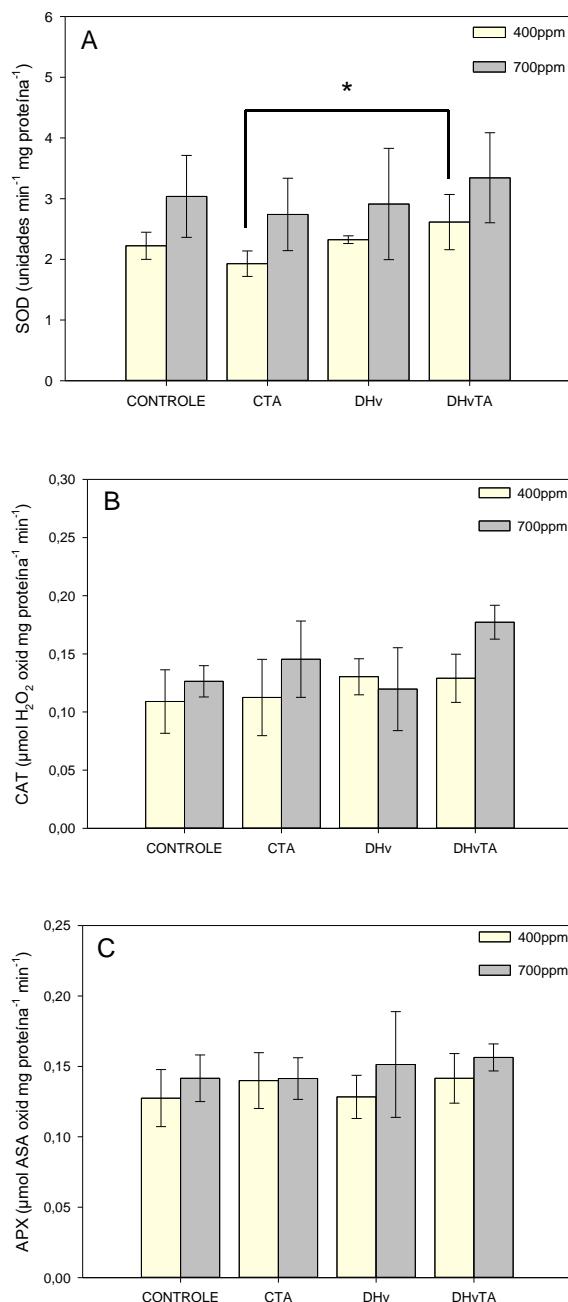


Figura 37 - Atividade enzimática da superóxido dismutase (SOD) (A), catalase (CAT) (B) e ascorbato peroxidase (APX) (C) em folhas bandeira de plantas de arroz (genótipo BRS Querência) cultivadas em duas concentrações de CO₂ atmosférico (400 e 700ppm) e submetidas a diferentes condições de cultivo. Controle (irrigação normal e temperatura ideal durante todo cultivo); CTA (irrigação normal

durante todo ciclo e estresse térmico na antese por 72h); DHv (déficit hídrico em V4-5 e temperatura ideal durante todo cultivo) e DHvTA (déficit hídrico em V4-5 e estresse térmico na antese por 72h). As linhas verticais indicam o intervalo de confiança (IC95%). * Denota diferença pelo teste t ($p \leq 0,05$) entre o par de tratamentos indicado.

Em relação ao conteúdo de clorofila *a*, clorofila *b* e clorofila total foi observado o efeito simples do fator CO₂. O conteúdo de clorofila foi significativamente menor em plantas do tratamento DHvTA em 700ppm de CO₂ em relação às plantas do tratamento DHvTA em 400ppm (Figura 38A, B e C). Um estudo anterior constatou que em folhas bandeiras de arroz e trigo o elevado CO₂ pode causar uma aceleração na degradação das clorofilas e subsequente senescência, isto sugere que sob elevado CO₂, após a transição para o estádio reprodutivo ocorre uma translocação maior do nitrogênio presente na folha bandeira em direção a panícula para suprir a demanda para o desenvolvimento dos grãos (ZHU *et al.*, 2012). Além disso, sob elevado CO₂ pode ocorrer uma limitação na absorção de N causada pelo declínio na transpiração, e somado a isto ainda, pode ocorrer também um aumento na razão C:N, causando uma diluição da concentração de N na folha, o que consequentemente reduz o conteúdo de clorofilas (KUMARI; AGRAWAL; TIWARI, 2013; YU *et al.*, 2014). Cabe destacar que em um estudo anterior foi constatado que a redução do conteúdo de clorofilas em plantas de arroz parece não causar prejuízo sobre a produtividade de grãos e ainda favorece o aumento da taxa fotossintética, resultando na maior eficiência fotossintética do uso de N em condições de alta intensidade luminosa (GU *et al.*, 2017).

Para carotenoides foi observada interação entre CO₂ e déficit hídrico. Os resultados do conteúdo de carotenoides mostram que nas plantas submetidas ao déficit hídrico o aumento do CO₂ causou redução de carotenoides em relação as plantas submetidas ao déficit hídrico em 400ppm (Figura 38D). Na concentração elevada de CO₂ o conteúdo de carotenoides foi maior nas plantas que não foram submetidas ao déficit hídrico em comparação com a resposta das plantas que passaram pelo déficit hídrico. Os carotenoides são pigmentos importantes para a proteção dos fotossistemas contra danos oxidativos, de maneira que eles são responsáveis pela absorção do excesso de energia por meio de rápido *quenching* do estado excitado triplete das clorofilas (RAMEL *et al.*, 2012). No entanto, em condição de seca tem sido observado que o conteúdo de carotenoides sofre redução tanto em

genótipo sensível, quanto em genótipo tolerante à seca (KHAN *et al.*, 2017; NASRIN *et al.*, 2020).

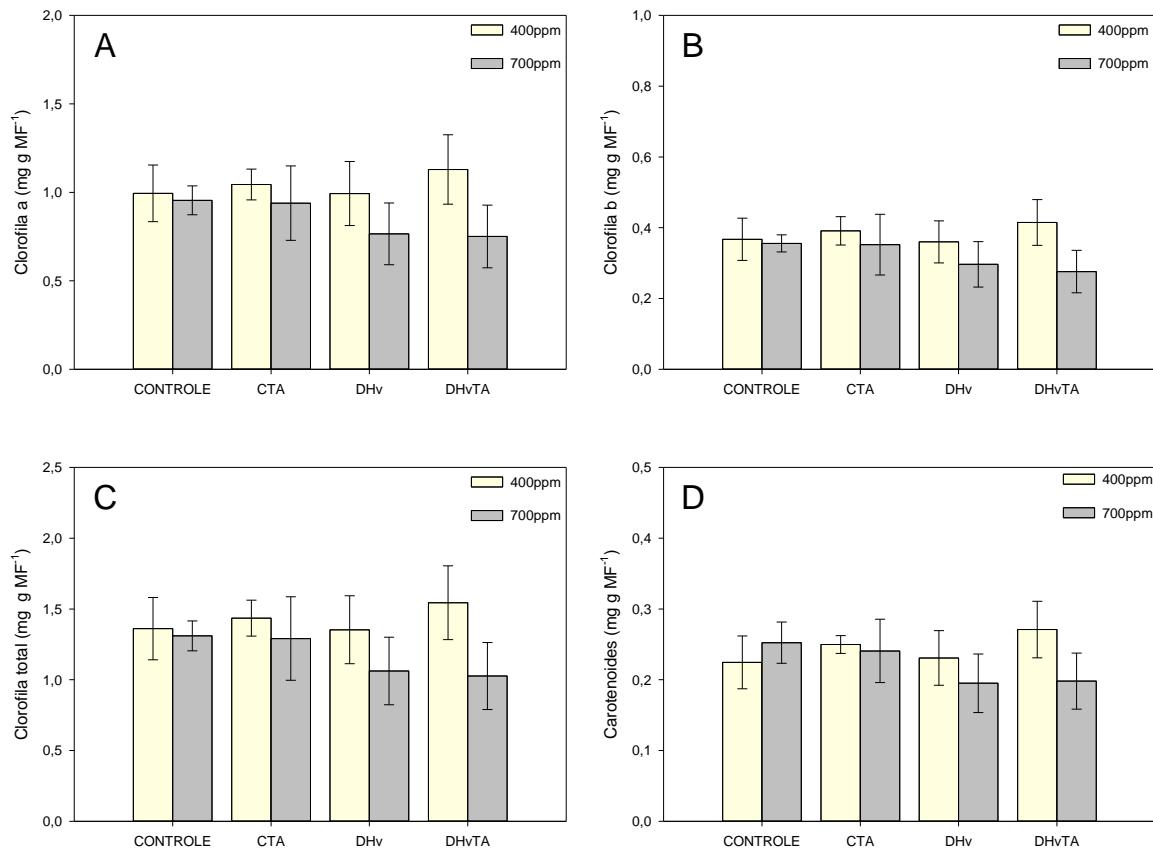


Figura 38 - Conteúdo de clorofila a (A), clorofila b (B), clorofila total (C) e carotenoides (D) em folhas bandeira de plantas de arroz (genótipo BRS Querência) cultivadas em duas concentrações de CO₂ atmosférico (400 e 700ppm) e submetidas a diferentes condições de cultivo. Controle (irrigação normal e temperatura ideal durante todo cultivo); CTA (irrigação normal durante todo ciclo e estresse térmico na antese por 72h); DHv (déficit hídrico em V4-5 e temperatura ideal durante todo cultivo) e DHvTA (déficit hídrico em V4-5 e estresse térmico na antese por 72h). As linhas verticais indicam o intervalo de confiança (IC95%).

Neste experimento foram analisadas as expressões de 7 genes OsHSPs (OsHSP16.9A, OsHSP17.9A, OsHSP20, OsHSP24.15, OsHSP70CP1, OsHSP70.1 e OsHSP70.6). Os resultados da expressão gênica neste experimento mostram que em folhas bandeiras no tratamento DHv 400ppm houve regulação positiva nos genes OsHSP17.9A, OsHSP20, OsHSP24.15, OsHSP70.1 e OsHSP70.6 (Figura 39B, C, D, F e G). Além disso, na mesma condição foi observada regulação positiva dos genes OsHSP20 e OsHSP70.6 nas espiguetas (Figura 40C e G). Em folhas bandeiras de plantas submetidas aos tratamentos CTA e DHvTA 400ppm o gene OsHSP70.6

também sofreu regulação positiva, porém, nas plantas que foram submetidas ao déficit hídrico e estresse térmico a expressão deste gene foi significativamente inferior. Por outro lado, nas espiguetas a expressão de *OsHSP70.6* foi reprimida no tratamento CTA 400ppm, enquanto em DHvTA 400ppm a expressão foi regulada positivamente, sugerindo que os efeitos do déficit hídrico contribuíram para induzir a expressão deste gene durante o estresse térmico.

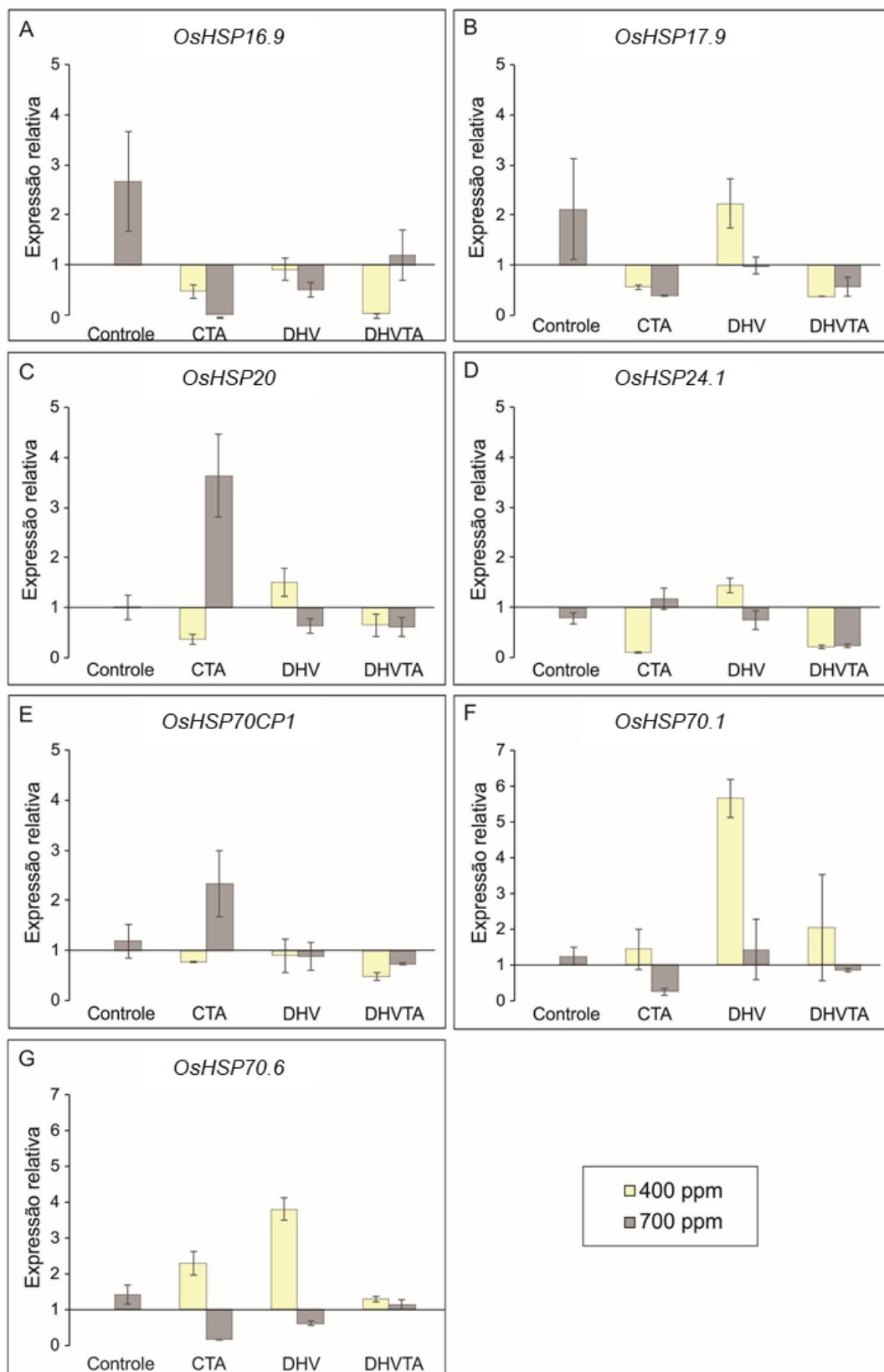


Figura 39 - Expressão relativa dos genes *OsHSP16.9A* (A), *OsHSP17.9A* (B), *OsHSP20* (C), *OsHSP24.15* (D), *OsHSP70CP1* (E), *OsHSP70.1* (F) e *OsHSP70.6* (G) em folhas bandeira de plantas de arroz (genótipo BRS Querência) cultivadas em duas concentrações de CO₂ atmosférico (400 e 700ppm) e submetidas a diferentes condições de cultivo. Controle (irrigação normal e temperatura ideal durante todo cultivo); CTA (irrigação normal durante todo ciclo e estresse térmico na antese por 72h);

DHv (déficit hídrico em V4-5 e temperatura ideal durante todo cultivo) e DHvTA (déficit hídrico em V4-5 e estresse térmico na antese por 72h). As linhas verticais indicam o desvio padrão.

Nas folhas bandeiras do tratamento controle 700ppm ocorreu a regulação positiva dos genes *OsHSP16.9A* e *OsHSP70.6*. Ao passo que o tratamento CTA 700 regulou positivamente a expressão de *OsHSP20* e *OsHSP70CP1*, contrastando com a redução significativa da expressão destes genes no tratamento DHvTA 700.

Nas espiguetas os genes *OsHSP20* e *OsHSP24.15* foram regulados positivamente pelos tratamentos controle 700 e DHv 700, já *OsHSP70CP1* apresentou regulação positiva nos tratamentos controle 700 e DHvTA 700, destacando neste tratamento o incremento significativo nos níveis de transcritos, sugerindo que o déficit hídrico possibilita maior expressão deste gene durante exposição ao segundo estresse a longo prazo. No tratamento CTA 700 a expressão dos genes *OsHSP70.1* e *OsHSP70.6* também foi significativamente induzida, enquanto em DHvTA 700 a expressão destes dois genes foi reprimida.

Nos tratamentos CTA 400 e DHvTA 400 as expressões dos genes *OsHSP16.9A* (folha bandeira), *OsHSP17.9A* (folha bandeira e espigueta), *OsHSP24.15* (folha bandeira e espiguetas) e *OsHSP70CP1* (folha bandeira) foram reguladas negativamente, porém observa-se que para *OsHSP16.9A*, *OsHSP17.9A* e *OsHSP70CP1* a repressão foi mais forte nas plantas submetidas ao déficit hídrico e estresse térmico. Por outro lado, para *OsHSP24.15* a menor expressão foi observada nas plantas submetidas apenas ao estresse térmico.

As expressões de *OsHSP24.15* (espigueta) e *OsHSP70.1* (folha bandeira) foram reguladas negativamente nos tratamentos CTA 700 e DHvTA 700. No entanto, em CTA 700 a expressão destes dois genes foi ainda significativamente inferior em relação a expressão deles em DHvTA 700.

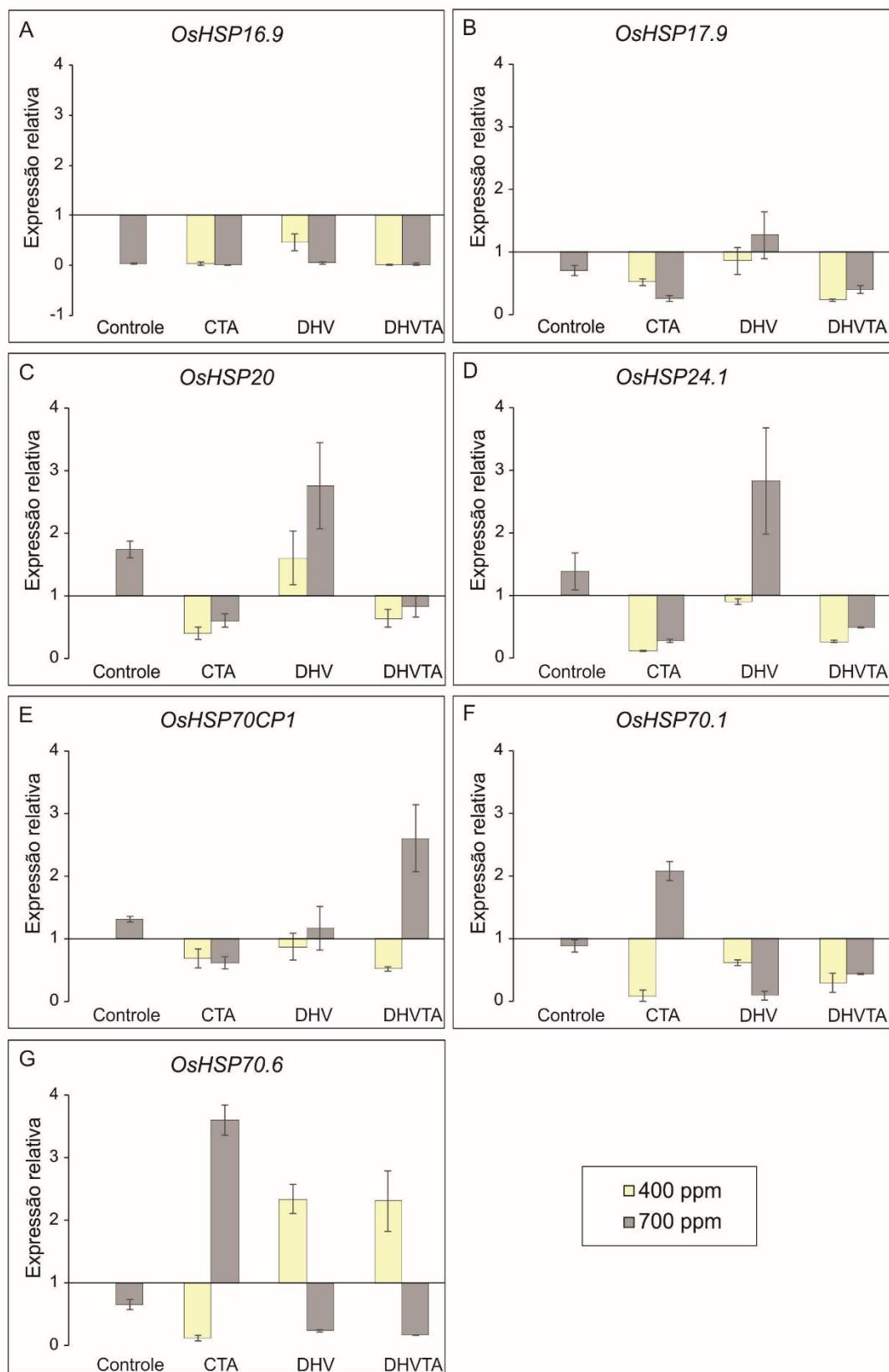


Figura 40 - Expressão relativa dos genes *OsHSP16.9A* (A), *OsHSP17.9A* (B), *OsHSP20* (C), *OsHSP24.15* (D), *OsHSP70CP1* (E), *OsHSP70.1* (F) e *OsHSP70.6* (G) em espiguetas de plantas de arroz (genótipo BRS Querência) cultivadas em duas concentrações de CO₂ atmosférico (400 e 700ppm) e submetidas a diferentes condições de cultivo. Controle (irrigação normal e temperatura ideal durante

todo cultivo); CTA (irrigação normal durante todo ciclo e estresse térmico na antese por 72h); DHv (déficit hídrico em V4-5 e temperatura ideal durante todo cultivo) e DHvTA (déficit hídrico em V4-5 e estresse térmico na antese por 72h). As linhas verticais indicam o desvio padrão ($n=3$).

O fenômeno de tolerância cruzada entre estresses envolve a coativação sinérgica de rotas específicas de respostas que permitem um incremento geral na tolerância aos estresses (HOSSAIN; MOSTOFA; FUJITA, 2013). Neste sentido, analisando os dados de expressão gênica do presente experimento podemos observar que os genes *OsHSP70.6* e *OsHSP70CP1* dos tecidos das espiguetas dos tratamentos DHvTA 400 e 700, respectivamente, apresentaram efeito de memória transcracional por indução. O fato interessante é que estes dois genes codificam proteínas da mesma família. Portanto, destacando neste estudo a importância da HSP70 para ativação e regulação da tolerância cruzada a nível molecular.

A expressão dos genes da superfamília HSP70, quando induzida por alta temperatura apresenta respostas diversas significativas, sendo que essa variabilidade de resposta pode estar relacionada aos elementos *cis* localizados no domínio promotor que regula a expressão dos genes (USMAN *et al.*, 2017). Atualmente sabe-se que a expressão de genes *HSPs70* pode ser induzida por vários estresses abióticos como calor, frio, salinidade e seca, bem como, por estresses bióticos causados por fungos, bactérias e vírus (RANA *et al.*, 2018).

Alguns estudos têm constatado o envolvimento das HSPs na rede de sinalização da memória do estresse. Em *A. thaliana*, o aumento da expressão dos genes *HSP18.2* e *HSP21* ativa uma rede de transdução de sinais para regular e induzir a memória do estresse térmico (SHAHNEJAT-BUSHEHRI; MUELLER-ROEBER; BALAZADEH, 2012). Especificamente a expressão de *HSP70* foi observada como componente fundamental para desenvolvimento da tolerância cruzada entre estresse por arsênio e calor, neste caso, a pré-exposição de plântulas de arroz ao arsênio melhorou a capacidade das plantas expressarem o gene *HSP70* de maneira eficiente durante o estresse subsequente, indicando aspectos em comum na cascata de transdução de sinais entre os diferentes estresses (GOSWAMI; BANERJEE; RAHA, 2010). Além disso, parece que o prolongamento da memória pós-transcional de algumas HSPs necessita de interação com outros componentes celulares. Em *A. thaliana* por exemplo, a interação entre *HSP101* e *HSA32* (*heat-stress-associated 32-kD*), acaba retardando a degradação de *HSP101*, de maneira que esse mecanismo possibilita o prolongamento da memória do estresse térmico (WU *et al.*, 2013).

4.4 Conclusões

Respostas bioquímicas e moleculares evidenciam o desenvolvimento de tolerância cruzada entre estresses causados por déficit hídrico e alta temperatura. A e[CO₂] não incrementa às respostas relacionadas à tolerância cruzada.

Na concentração de 400ppm de CO₂ o estresse prévio por déficit hídrico no estádio vegetativo reflete na redução do conteúdo de H₂O₂ em folhas bandeiras quando as plantas são expostas ao estresse térmico severo na antese. Em condição de e[CO₂] o sistema antioxidante enzimático a nível de folha bandeira apresenta maior atividade sob estresse térmico severo na antese quando as plantas são previamente submetidas ao déficit hídrico no estádio vegetativo.

Em plantas cultivadas tanto em 400ppm, quanto 700ppm de CO₂ atmosférico a exposição prévia ao déficit hídrico evita a redução do número de grãos e da produtividade por panícula causada pelo estresse térmico moderado durante a antese.

O incremento na atividade da SOD na folha bandeira, a maior expressão de *OsHSP70.6* nas espiguetas na concentração de 400ppm de CO₂ e o incremento da expressão de *OsHSP70CP1* nas espiguetas na concentração de 700ppm de CO₂ atuam favorecendo a tolerância cruzada em nível bioquímico e molecular entre déficit hídrico e estresse térmico moderado.

5 Considerações finais

As mudanças climáticas são um dos principais desafios enfrentados na produção de alimentos no mundo. No entanto, se confirmadas as projeções futuras de aumento de CO₂ atmosférico, em determinadas circunstâncias nota-se que esse incremento de CO₂ poderá mitigar alguns efeitos deletérios causados por diferentes tipos de estresses abióticos, podendo dessa forma, reduzir a severidade dos impactos das mudanças climáticas sobre a produtividade das culturas. Neste estudo foi constatado que genótipos de arroz irrigado apresentam diferenças quanto à capacidade de responder ao incremento de CO₂ atmosférico. Portanto, a seleção de genótipos com alta responsividade ao elevado CO₂ é fundamental para dar início ao enfrentamento das condições ambientais futuras.

Além disso, independente da concentração de CO₂ foi observado que o déficit hídrico no estádio vegetativo de plantas de arroz do genótipo Querência pode contribuir até certo ponto na preparação para induzir a tolerância ao estresse térmico na antese em termos de atividade do sistema antioxidante enzimático e da indução da expressão de HSPs. Por fim, sabe-se que existe uma grande variabilidade genética na cultura do arroz, ao mesmo tempo há uma complexidade metabólica envolvida no desenvolvimento do fenômeno de tolerância cruzada a estresses.

Portanto, existe a necessidade de ampliação dos estudos de tolerância cruzada com diferentes genótipos e diferentes tipos de estresses, integrando a estes estudos análises de um grupo maior de componentes envolvidos nas rotas de sinalização e mecanismos *cross-talk* de respostas contra estresses abióticos, como por exemplo os fitormônios.

6 Referências bibliográficas

- ABDALLAH, Mariem Ben *et al.* Drought priming improves subsequent more severe drought in a drought-sensitive cultivar of olive cv. Chétoui. **Scientia Horticulturae**, [S. I.], v. 221, n. September 2016, p. 43–52, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.04.021>
- ABDELGAWAD, Hamada *et al.* Elevated CO₂ mitigates drought and temperature-induced oxidative stress differently in grasses and legumes. **Plant Science**, [S. I.], v. 231, n. 2014, p. 1–10, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2014.11.001>
- ABDELGAWAD, Hamada *et al.* Future Climate CO₂ Levels Mitigate Stress Impact on Plants : Increased Defense or Decreased Challenge? **Frontiers in Plant Science**, [S. I.], v. 7, n. May, p. 1–7, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00556>
- ABID, Muhammad *et al.* Improved tolerance to post-anthesis drought stress by pre-drought priming at vegetative stages in drought-tolerant and -sensitive wheat cultivars. **Plant Physiology et Biochemistry**, [S. I.], v. 106, p. 218–227, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.05.003>
- ABID, Muhammad *et al.* Pre-drought priming sustains grain development under post-anthesis drought stress by regulating the growth hormones in winter wheat (*Triticum aestivum* L.). **Planta**, [S. I.], v. 246, n. 3, p. 509–524, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00425-017-2698-4>
- ADAVI, Sandeep B.; SATHEE, Lekshmy. Elevated CO₂-induced production of nitric oxide differentially modulates nitrate assimilation and root growth of wheat seedlings in a nitrate dose-dependent manner. **Protoplasma**, [S. I.], v. 256, n. 1, p. 147–159, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00709-018-1285-2>
- ADAVI, Sandeep B.; SATHEE, Lekshmy. Elevated CO₂ alters tissue balance of nitrogen metabolism and downregulates nitrogen assimilation and signalling gene expression in wheat seedlings receiving high nitrate supply. **Protoplasma**, [S. I.], v. 258, n. 1, p. 219–233, 2021.
- AINSWORTH, Elizabeth A. *et al.* Testing the “source-sink” hypothesis of down-regulation of photosynthesis in elevated [CO₂] in the field with single gene substitutions in *Glycine max*. **Agricultural and Forest Meteorology**, [S. I.], v. 122, n. 1–2, p. 85–94, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2003.09.002>
- AINSWORTH, Elizabeth A.; ROGERS, Alistair. The response of photosynthesis and stomatal conductance to rising [CO₂]: mechanisms and environmental interactions. **Plant, Cell and Environment**, [S. I.], n. 30, p. 258–270, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2007.01641.x>
- ALI, Farman; BANO, Asghari; FAZAL, Aliya. Recent methods of drought stress tolerance in plants. **Plant Growth Regulation**, [S. I.], v. 82, n. 3, p. 363–375, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10725-017-0267-2>
- ALI, Muhammad Kazim *et al.* Differential expression of molecular chaperon (HSP70) and antioxidant enzymes: Inducing thermotolerance in rice (*Oryza sativa*). **Pak. J. Bot.**, [S. I.], v. 49, p. 229–238, 2017.
- AMARAL, Marcelo Nogueira *et al.* Long-term somatic memory of salinity unveiled from physiological, biochemical and epigenetic responses in two contrasting rice genotypes.

Physiologia Plantarum, [S. I.J, v. 170, n. 2, p. 248–268, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/ppl.13149>

ANDALO, Christophe *et al.* Elevated CO₂ decreases seed germination in *Arabidopsis thaliana*. **Global Change Biology**, [S. I.J, v. 2, n. 2, p. 129–135, 1996. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.1996.tb00057.x>

ARANJUELO, Iker *et al.* Does ear C sink strength contribute to overcoming photosynthetic acclimation of wheat plants exposed to elevated CO₂? **Journal of Experimental Botany**, [S. I.J, v. 62, n. 11, p. 3957–3969, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jxb/err095>

ASHOUB, Ahmed *et al.* Characterization of common and distinctive adjustments of wild barley leaf proteome under drought acclimation, heat stress and their combination. **Plant Molecular Biology**, [S. I.J, v. 87, n. 4–5, p. 459–471, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11103-015-0291-4>

ASPINWALL, Michael J. *et al.* Utilizing intraspecific variation in phenotypic plasticity to bolster agricultural and forest productivity under climate change. **Plant, Cell and Environment**, [S. I.J, v. 38, p. 1752–1764, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/pce.12424>

ASTHIR, B. Mechanisms of heat tolerance in crop plants. **Biologia Plantarum**, [S. I.J, v. 59, n. 4, p. 620–628, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10535-015-0539-5>

AULER, Priscila Ariane *et al.* Molecular responses to recurrent drought in two contrasting rice genotypes. **Planta**, [S. I.J, v. 246, n. 5, p. 899–914, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00425-017-2736-2>

AVILA, Rodrigo T. *et al.* Coffee plants respond to drought and elevated [CO₂] through changes in stomatal function, plant hydraulic conductance, and aquaporin expression. **Environmental and Experimental Botany**, [S. I.J, v. 177, n. June, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2020.104148>

AWASTHI, R. *et al.* Individual and combined effects of transient drought and heat stress on carbon assimilation and seed filling in chickpea. **Functional Plant Biology**, [S. I.J, v. 41, n. 11, p. 1148–1167, 2014.

BAI, Y. *et al.* Variations in germination and grain quality within a rust resistant common wheat germplasm as affected by parental CO₂ conditions. **Environmental and Experimental Botany**, [S. I.J, v. 50, n. 2, p. 159–168, 2003. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0098-8472\(03\)00022-4](https://doi.org/10.1016/S0098-8472(03)00022-4)

BAKER, Jeffrey T. Yield responses of southern US rice cultivars to CO₂ and temperature. **Agricultural and Forest Meteorology**, [S. I.J, v. 122, n. 3–4, p. 129–137, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2003.09.012>

BALFAGÓN, Damián *et al.* High temperatures modify plant responses to abiotic stress conditions. **Physiologia Plantarum**, [S. I.J, v. 170, n. 3, p. 335–344, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/ppl.13151>

BANTI, Valeria *et al.* Heat acclimation and cross-tolerance against anoxia in *Arabidopsis*. **Plant, Cell and Environment**, [S. I.J, v. 31, n. 7, p. 1029–1037, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2008.01816.x>

- BANTI, Valeria *et al.* The heat-inducible transcription factor HsfA2 enhances anoxia tolerance in *Arabidopsis*. **Plant Physiology**, [S. I.], v. 152, n. 3, p. 1471–1483, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1104/pp.109.149815>
- BARNABY, Jinyoung Yang *et al.* Combined effects of drought and CO₂ enrichment on foliar metabolites of potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivars. **Journal of Plant Interactions**, [S. I.], v. 14, n. 1, p. 110–118, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/17429145.2018.1562110>
- BARTOLI, C. G. *et al.* Interactions between hormone and redox signalling pathways in the control of growth and cross tolerance to stress. **Environmental and Experimental Botany**, [S. I.], p. 16, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2012.05.003>
- BEGCY, Kevin; DRESSELHAUS, Thomas. Epigenetic responses to abiotic stresses during reproductive development in cereals. **Plant Reproduction**, [S. I.], v. 31, n. 4, p. 343–355, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00497-018-0343-4>
- BENCKE-MALATO, Marta *et al.* Short-term responses of soybean roots to individual and combinatorial effects of elevated [CO₂] and water deficit. **Plant Science**, [S. I.], v. 280, p. 283–296, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2018.12.021>
- BERNACCHI, Carl J. *et al.* Decreases in stomatal conductance of soybean under open-air elevation of [CO₂] are closely coupled with decreases in ecosystem evapotranspiration. **Plant Physiology**, [S. I.], v. 143, n. 1, p. 134–144, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1104/pp.106.089557>
- BHADOURIYA, Sneha Lata *et al.* Role of Chromatin Architecture in Plant Stress Responses: An Update. **Frontiers in Plant Science**, [S. I.], v. 11, n. January, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.603380>
- BHUTTA, M. A. *et al.* Correlation and path analysis of morphological parameters contributing to yield in rice (*Oryza sativa*) under drought stress. **Pakistan Journal of Botany**, [S. I.], v. 51, n. 1, p. 73–80, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.30848/PJB2019>
- BOKHARI, Saleem A. *et al.* Proteomic response of rice seedling leaves to elevated CO₂ levels. **Journal of Proteome Research**, [S. I.], v. 6, n. 12, p. 4624–4633, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/pr070524z>
- BOOKER, Fitzgerald *et al.* The Ozone Component of Global Change : Potential Effects on Agricultural and Horticultural Plant Yield , Product Quality and Interactions with Invasive Species. **Journal of Integrative Plant Biology**, [S. I.], v. 51, n. 4, p. 337–351, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1744-7909.2008.00805.x>
- BOWLER, Chris; FLUHR, Robert. The role of calcium and activated oxygens as signals for controlling cross-tolerance. **Trends in Plant Science**, [S. I.], v. 5, n. 6, p. 241–246, 2000. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(00\)01628-9](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(00)01628-9)
- BRADFORD, Marion M. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. **Analytical Biochemistry**, [S. I.], v. 254, n. 72, p. 248–254, 1976.
- BRADSHAW, A. D. Evolutionary Significance of Phenotypic Plasticity in Plants. **Advances in Genetics**, [S. I.], v. 13, p. 115–155, 1965. Disponível em:

[https://doi.org/10.1016/S0065-2660\(08\)60048-6](https://doi.org/10.1016/S0065-2660(08)60048-6)

BRASIL. **Regras para Análise de Sementes.** Brasília: [s. n.], 2009. E-book.

BROUGHTON, Katrina J. et al. The effect of elevated atmospheric [CO₂] and increased temperatures on an older and modern cotton cultivar. **Functional Plant Biology**, [S. I.], v. 44, n. 12, p. 1207–1218, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1071/FP17165>

BRUCE, Toby J. A. et al. Stressful “ memories ” of plants : Evidence and possible mechanisms. **Plant Science**, [S. I.], v. 173, p. 603–608, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2007.09.002>

BRZEZINKA, Krzysztof; ALTMANN, Simone; BÄURLE, Isabel. BRUSHY1/TONSOKU/MGOUN3 is required for heat stress memory. **Plant Cell and Environment**, [S. I.], v. 42, n. 3, p. 771–781, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/pce.13365>

BUCHANAN, Bob B.; GRUISSEM, Wilhelm; JONES, Russel L. **Biochemistry & Molecular Biology of Plants**. 2ed. 1264p., 2015.

BUNCE, James A. Contrasting responses of seed yield to elevated carbon dioxide under field conditions within *Phaseolus vulgaris*. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, [S. I.], v. 128, n. 4, p. 219–224, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.agee.2008.06.003>

BUNCE, James A. Variation in yield responses to elevated CO₂ and a brief high temperature treatment in quinoa. **Plants**, [S. I.], v. 26, n. 6, p. 442–453, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/plants6030026>

BURGESS, P. et al. Stimulation of growth and alteration of hormones by elevated carbon dioxide for creeping bentgrass exposed to drought. **Crop Science**, [S. I.], v. 59, n. 4, p. 1672–1680, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.2135/cropsci2018.07.0470>

BURKART, S. et al. Elevated CO₂ effects on canopy and soil water flux parameters measured using a large chamber in crops grown with free-air CO₂ enrichment. **Plant Biology**, [S. I.], v. 13, n. 2, p. 258–269, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1438-8677.2010.00360.x>

BUSTIN, Stephen A. et al. The MIQE guidelines: Minimum information for publication of quantitative real-time PCR experiments. **Clinical Chemistry**, [S. I.], v. 55, n. 4, p. 611–622, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1373/clinchem.2008.112797>

CAI, Chuang et al. Responses of wheat and rice to factorial combinations of ambient and elevated CO₂ and temperature in FACE experiments. **Global Change Biology**, [S. I.], n. 22, p. 856–874, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/gcb.13065>

CAO, Long et al. Importance of carbon dioxide physiological forcing to future climate change. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [S. I.], v. 107, n. 21, p. 9513–9518, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1073/pnas.0913000107>

CAO, P. et al. Effects of Elevated CO₂ Concentration and Nitrogen Application Levels on the Accumulation and Translocation of Non-Structural Carbohydrates in Japonica Rice. **Sustainability**, [S. I.], v. 12, p. 1–15, 2020.

- CASARETTO, José A. *et al.* Expression of OsMYB55 in maize activates stress-responsive genes and enhances heat and drought tolerance. **BMC Genomics**, [S. I.], v. 17, n. 1, p. 1–15, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12864-016-2659-5>
- CAZZONELLI, Christopher I. Carotenoids in nature: insights from plants and beyond. **Functional Plant Biology**, [S. I.], v. 38, p. 833–847, 2011.
- CHANG, Ya Nan *et al.* Epigenetic regulation in plant abiotic stress responses. **Journal of Integrative Plant Biology**, [S. I.], v. 62, n. 5, p. 563–580, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/jipb.12901>
- CHATER, Caspar *et al.* Elevated CO₂-Induced Responses in Stomata Require ABA and ABA Signaling. **Current Biology**, [S. I.], v. 25, n. 20, p. 1–8, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cub.2015.09.013>
- CHATURVEDI, Ashish K. *et al.* High temperature stress during flowering and grain filling offsets beneficial impact of elevated CO₂ on assimilate partitioning and sink-strength in rice. **Scientific Reports**, [S. I.], n. June, p. 1–13, 2017 a. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-07464-6>
- CHATURVEDI, Ashish K. *et al.* Elevated CO₂ and heat stress interactions affect grain yield, quality and mineral nutrient composition in rice under field conditions. **Field Crops Research**, [S. I.], v. 206, p. 149–157, 2017 b. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2017.02.018>
- CHAUDHARY, Reeku *et al.* Genome-wide identification and expression analysis of Hsp70, Hsp90, and Hsp100 heat shock protein genes in barley under stress conditions and reproductive development. **Functional and Integrative Genomics**, [S. I.], v. 19, n. 6, p. 1007–1022, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10142-019-00695-y>
- CHEN, Chen *et al.* Seed vigor of contrasting rice cultivars in response to elevated carbon dioxide. **Field Crops Research**, [S. I.], v. 178, p. 63–68, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2015.03.023>
- CHEN, Guang *et al.* Oshak1, a high-affinity potassium transporter, positively regulates responses to drought stress in rice. **Frontiers in Plant Science**, [S. I.], v. 8, p. 1–17, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01885>
- CHEN, Po Yu *et al.* Possible involvement of MAP kinase pathways in acquired metal-tolerance induced by heat in plants. **Planta**, [S. I.], v. 228, n. 3, p. 499–509, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00425-008-0753-x>
- CHEN, Wei *et al.* Silicon Alleviates Drought Stress of Rice Plants by Improving Plant Water Status, Photosynthesis and Mineral Nutrient Absorption. **Biol Trace Elem Res**, [S. I.], p. 67–76, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12011-010-8742-x>
- CHEN, Xinhai *et al.* Expression and interaction of small heat shock proteins (sHsps) in rice in response to heat stress. **Biochimica et Biophysica Acta**, [S. I.], n. 4, p. 818–828, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2014.02.010>
- CHENG, Weiguo *et al.* Interactions of elevated [CO₂] and night temperature on rice growth and yield. **Agricultural and Forest Meteorology**, [S. I.], v. 149, n. 1, p. 51–58, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2008.07.006>
- CHO, Eun Kyung; CHOI, Young Ju. A nuclear-localized HSP70 confers

thermoprotective activity and drought-stress tolerance on plants. **Biotechnology Letters**, [S. I.], v. 31, n. 4, p. 597–606, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10529-008-9880-5>

CHUA, Alysha; FITZHENRY, Laurence; DALY, Cara T. Sorting the Wheat From the Chaff: Programmed Cell Death as a Marker of Stress Tolerance in Agriculturally Important Cereals. **Frontiers in Plant Science**, [S. I.], v. 10, n. November, p. 1–19, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01539>

CRISP, Peter A. et al. Reconsidering plant memory: Intersections between stress recovery, RNA turnover, and epigenetics. **Science Advances**, [S. I.], v. 2, n. 2, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1126/sciadv.1501340>

CUI, K. H. et al. Molecular dissection of seedling-vigor and associated physiological traits in rice. **Theoretical and Applied Genetics**, [S. I.], v. 105, n. 5, p. 745–753, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00122-002-0908-2>

CUI, Qingqing et al. Physiological and iTRAQ based proteomics analyses reveal the mechanism of elevated CO₂ concentration alleviating drought stress in cucumber (*Cucumis sativus L.*) seedlings. **Plant Physiology and Biochemistry**, [S. I.], v. 143, n. July, p. 142–153, 2019 a. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.08.025>

CUI, Yakun et al. Drought priming during the vegetative stage can enhance post-anthesis drought tolerance by improving photosynthetic capacity in winter wheat. **Arid Land Research and Management**, [S. I.], v. 33, n. 2, p. 1–17, 2019 b. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/15324982.2018.1531440>

CZARNOCKA, Weronika; KARPIŃSKI, Stanisław. Friend or foe? Reactive oxygen species production, scavenging and signaling in plant response to environmental stresses. **Free Radical Biology and Medicine**, [S. I.], v. 122, n. October 2017, p. 4–20, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2018.01.011>

DAVEY, M. W. et al. High-throughput determination of malondialdehyde in plant tissues. **Analytical Biochemistry**, [S. I.], v. 347, n. 2, p. 201–207, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ab.2005.09.041>

DE COSTA, W. A. J. M. et al. Genotypic variation in the response of rice (*Oryza sativa L.*) to increased atmospheric carbon dioxide and its physiological basis. **Journal of Agronomy and Crop Science**, [S. I.], v. 193, n. 2, p. 117–130, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1439-037X.2007.00255.x>

DHAMI, Namraj; CAZZONELLI, Christopher I. Environmental impacts on carotenoid metabolism in leaves. **Plant Growth Regulation**, [S. I.], v. 92, p. 455–477, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10725-020-00661-w>

DHAMI, Namraj; TISSUE, David T.; CAZZONELLI, Christopher I. Leaf-age dependent response of carotenoid accumulation to elevated CO₂ in *Arabidopsis*. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, [S. I.], v. 647, p. 67–75, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.abb.2018.03.034>

DHANYA THOMAS, T. T.; DINAKAR, Challabathula; PUTHUR, Jos T. Effect of UV-B priming on the abiotic stress tolerance of stress-sensitive rice seedlings: Priming imprints and cross-tolerance. **Plant Physiology and Biochemistry**, [S. I.], v. 147, p. 21–30, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.12.002>

- DIAS DE OLIVEIRA, Eduardo *et al.* Elevated CO₂ reduced floret death in wheat under warmer average temperatures and terminal drought. **Frontiers in Plant Science**, [S. I.], v. 6, p. 1–12, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.01010>
- DU, Qi Shi *et al.* A possible CO₂ conducting and concentrating mechanism in plant stomata SLAC1 channel. **PLoS ONE**, [S. I.], v. 6, n. 9, p. 1–8, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0024264>
- DUSENGE, M. E.; DUARTE, A. G.; WAY, D. A. Plant carbon metabolism and climate change : elevated CO₂ and temperature impacts on photosynthesis , photorespiration and respiration. **New Phytologist**, [S. I.], v. 221, p. 32–49, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/nph.15283>
- DWIVEDI, Sharad Kumar *et al.* Influence of Rising Atmospheric CO₂ Concentrations and Temperature on Morpho-Physiological Traits and Yield of Rice Genotypes in Sub Humid Climate of Eastern India. **American Journal of Plant Sciences**, [S. I.], v. 6, p. 2339–2349, 2015.
- EL-ESAWI, Mohamed A.; ALAYAFI, Aisha A. Overexpression of rice Rab7 gene improves drought and heat tolerance and increases grain yield in rice (*Oryza sativa* L.). **Genes**, [S. I.], v. 10, n. 1, p. 1–16, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/genes10010056>
- EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 5. ed. Brasília: [s. n.], 2018. E-book.
- ESHGHIZADEH, Hamid Reza; ZAHEDI, Morteza; MOHAMMADI, Samaneh. Differential Growth Responses of Wheat Seedlings to Elevated CO₂. **Notulae Scientia Biologicae**, [S. I.], v. 10, n. 3, p. 400–409, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.15835/nsb10310286>
- FAHAD, Shah *et al.* Crop Production under Drought and Heat Stress : Plant Responses and Management Options. **Frontiers in Plant Science**, [S. I.], v. 8, n. June, p. 1–16, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01147>
- FAN, Guizhi *et al.* Detection of elevated CO₂ responsive QTLs for yield and its components in rice. **African Journal of Biotechnology**, [S. I.], v. 7, n. 11, p. 1707–1711, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.5897/ajb08.300>
- FAN, Y. *et al.* Heat Priming During Early Reproductive Stages Enhances Thermo-Tolerance to Post-anthesis Heat Stress via Improving Photosynthesis and Plant Productivity in Winter Wheat (*Triticum aestivum* L.). **Frontiers in Plant Science**, [S. I.], v. 9, n. June, p. 1–17, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00805>
- FAO. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**. [s. I.], 2019. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>.
- FARFAN-VIGNOLO, Evelyn Roxana; ASARD, Han. Effect of elevated CO₂ and temperature on the oxidative stress response to drought in *Lolium perenne* L. and *Medicago sativa* L. **Plant Physiology and Biochemistry**, [S. I.], v. 59, p. 55–62, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2012.06.014>
- FOYER, Christine H. *et al.* Cross-tolerance to biotic and abiotic stresses in plants : a focus on resistance to aphid infestation. **Journal of Experimental Botany**, [S. I.], p. 1–13, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jxb/erw079>

FRIEDRICH, Thomas *et al.* Chromatin - based mechanisms of temperature memory in plants. **Plant, Cell and Environment**, [S. I.], v. 42, n. March 2018, p. 762–770, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/pce.13373>

GAMAGE, Dananjali *et al.* New insights into the cellular mechanisms of plant growth at elevated atmospheric carbon dioxide concentrations. **Plant Cell and Environment**, [S. I.], v. 41, n. 6, p. 1233–1246, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/pce.13206>

GEISSLER, Nicole; HUSSIN, Sayed; KOYRO, Hans Werner. Elevated atmospheric CO₂ concentration enhances salinity tolerance in *Aster tripolium* L. **Planta**, [S. I.], v. 231, n. 3, p. 583–594, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00425-009-1064-6>

GHASEMZADEH, Ali; JAAFAR, Hawa Z. E.; RAHMAT, Asmah. Elevated Carbon Dioxide Increases Contents of Flavonoids and Phenolic Compounds, and Antioxidant Activities in Malaysian Young Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe.) Varieties. **Molecules**, [S. I.], v. 15, n. 11, p. 7907–7922, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules15117907>

GIANNOPOLITIS, Constantine N.; RIES, Stanley K. Superoxide Dismutases. **Plant Physiology**, [S. I.], v. 59, p. 309–314, 1977.

GIANOLI, Ernesto; VALLADARES, Fernando. Studying phenotypic plasticity: The advantages of a broad approach. **Biological Journal of the Linnean Society**, [S. I.], v. 105, n. 1, p. 1–7, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.2011.01793.x>

GILL, Sarvajeet Singh *et al.* Superoxide dismutase—mentor of abiotic stress tolerance in crop plants. **Environmental Science and Pollution Research**, [S. I.], v. 22, n. 14, p. 10375–10394, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11356-015-4532-5>

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

GÓMEZ-CADENAS, A. *et al.* Gibberellin/abscisic acid antagonism in barley aleurone cells: Site of action of the protein kinase PKABA1 in relation to gibberellin signaling molecules. **Plant Cell**, [S. I.], v. 13, n. 3, p. 667–679, 2001. Disponível em: <https://doi.org/10.1105/tpc.13.3.667>

GORNALL, Jemma *et al.* Implications of climate change for agricultural productivity in the early twenty-first century. **Phil. Trans. R. Soc. B**, [S. I.], p. 2973–2989, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1098/rstb.2010.0158>

GOSWAMI, Alakananda; BANERJEE, Rahul; RAHA, Sanghamitra. Mechanisms of plant adaptation / memory in rice seedlings under arsenic and heat stress: expression of heat-shock protein gene HSP70. **AoB Plants**, [S. I.], v. 2010, p. 1–9, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/aobpla/plq023>

GOUFO, Piebiep *et al.* Effect of elevated carbon dioxide (CO₂) on phenolic acids, flavonoids, tocopherols, tocotrienols, γ-oryzanol and antioxidant capacities of rice (*Oryza sativa* L.). **Journal of Cereal Science**, [S. I.], v. 59, n. 1, p. 15–24, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2013.10.013>

GRAY, Julie E. *et al.* The HIC signalling pathway links CO₂ perception to stomatal development. **Nature**, [S. I.], v. 408, n. 6813, p. 713–716, 2000. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/35047071>

GRIGOROVA, B. *et al.* Combined drought and heat stress in wheat: Changes in some heat shock proteins. **Biologia Plantarum**, [S. I.], v. 55, n. 1, p. 105–111, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10535-011-0014-x>

GRÜNZWEIG, José M.; DUMBUR, Rita. Seed traits, seed-reserve utilization and offspring performance across pre-industrial to future CO₂ concentrations in a Mediterranean community. **Oikos**, [S. I.], v. 121, n. 4, p. 579–588, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2011.19770.x>

GU, Junfei *et al.* Rice (*Oryza sativa* L.) with reduced chlorophyll content exhibit higher photosynthetic rate and efficiency , improved canopy light distribution , and greater yields than normally pigmented plants. **Field Crops Research**, [S. I.], v. 200, p. 58–70, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2016.10.008>

GUERRA, Davide *et al.* Post-transcriptional and post-translational regulations of drought and heat response in plants: A spider's web of mechanisms. **Frontiers in Plant Science**, [S. I.], v. 6, n. FEB, p. 1–14, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00057>

GUO, Liu-ming *et al.* A class I cytosolic HSP20 of rice enhances heat and salt tolerance in different organisms. **Scientific Reports**, [S. I.], v. 10, p. 1–13, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-58395-8>

GUO, Meng *et al.* The plant heat stress transcription factors (HSFs): Structure, regulation, and function in response to abiotic stresses. **Frontiers in Plant Science**, [S. I.], v. 114, n. 7, p. 1–13, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00114>

GUPTA, Sonu K. *et al.* Priming alleviates high temperature induced oxidative DNA damage and repair using Apurinic/apyrimidinic endonuclease (Ape1L) homologue in wheat (*Triticum aestivum* L.). **Plant Physiology and Biochemistry**, [S. I.], v. 156, p. 304–313, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.08.050>

HABERMANN, Eduardo *et al.* Stomatal development and conductance of a tropical forage legume are regulated by elevated [CO₂] under moderate warming. **Frontiers in Plant Science**, [S. I.], v. 10, n. May, p. 1–17, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00609>

HAN, C.; YANG, P. Studies on the molecular mechanisms of seed germination. **Proteomics**, [S. I.], v. 15, n. 10, p. 1–23, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/pmic.201400375>.This

HASAN, Md Kamrul *et al.* Responses of plant proteins to heavy metal stress—a review. **Frontiers in Plant Science**, [S. I.], v. 8, n. September, p. 1–16, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01492>

HASANUZZAMAN, Mirza *et al.* Physiological, biochemical, and molecular mechanisms of heat stress tolerance in plants. **International Journal of Molecular Sciences**, [S. I.], v. 14, n. 5, p. 9643–9684, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms14059643>

HASEGAWA, Toshihiro *et al.* Rice cultivar responses to elevated CO₂ at two free-air CO₂ enrichment (FACE) sites in Japan. **Functional Plant Biology**, [S. I.], v. 40, p. 148–159, 2013.

HASEGAWA, Toshihiro *et al.* A High-Yielding Rice Cultivar “Takanari” Shows No N Constraints on CO₂ Fertilization. **Frontiers in Plant Science**, [S. I.], v. 10, n. April, p. 1–15, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00361>

HAVIR, Evelyn A.; MCHALE, Neil A. Biochemical and Developmental Characterization of Multiple Forms of Catalase in Tobacco Leaves. **Plant Physiology**, [S. I.], v. 84, n. 2, p. 450–455, 1987. Disponível em: <https://doi.org/10.1104/pp.84.2.450>

HAVIR, Evelyn A.; MCHALE, Neil A. Regulation of Catalase Activity in Leaves of *Nicotiana sylvestris* by High CO₂. **Plant Physiology**, [S. I.], v. 89, p. 952–957, 1989.

HAYHOE, K. *et al.* Climate Models, Scenarios, and Projections. In: **Climate Science Special Report: Fourth National Climate Assessment**. Washington, DC, USA: [s. n.], 2017. v. 1p. 133–160. E-book. Disponível em: <https://doi.org/10.7930/J0WH2N54.U.S>.

HE, Dongli *et al.* Constructing the metabolic and regulatory pathways in germinating rice seeds through proteomic approach. **Proteomics**, [S. I.], v. 11, n. 13, p. 2693–2713, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/pmic.201000598>

HE, Dongli; YANG, Pingfang. Proteomics of rice seed germination. **Frontiers in Plant Science**, [S. I.], v. 4, n. JUL, p. 1–9, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00246>

HE, Jingjing *et al.* The BIG protein distinguishes the process of CO₂-induced stomatal closure from the inhibition of stomatal opening by CO₂. **New Phytologist**, [S. I.], v. 218, n. 1, p. 232–241, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/nph.14957>

HEATH, RL; PACKER, L. PHOTOPEROXIDATION IN ISOLATED CHLOROPLASTS .I. KINETICS AND STOICHIOMETRY OF FATTY ACID PEROXIDATION. **ARCHIVES OF BIOCHEMISTRY AND BIOPHYSICS**, [S. I.], v. 125, n. 1, p. 189–198, 1968.

HIGASHI, Yasuhiro; SAITO, Kazuki. Lipidomic studies of membrane glycerolipids in plant leaves under heat stress. **Progress in Lipid Research**, [S. I.], v. 75, n. August, p. 1–15, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2019.100990>

HILKER, Monika *et al.* Priming and memory of stress responses in organisms lacking a nervous system. **Biological Reviews**, [S. I.], v. 91, n. 4, p. 1118–1133, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/brv.12215>

HILKER, Monika; SCHMÜLLING, Thomas. Stress priming, memory, and signalling in plants. **Plant Cell and Environment**, [S. I.], v. 42, n. 3, p. 753–761, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/pce.13526>

HISCOX, J. D.; ISRAELSTAM, G. F. A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. **Canadian Journal of Botany**, [S. I.], v. 57, n. 3, p. 1332–1334, 1979. Disponível em: <https://doi.org/10.1139/b80-044>

HOSSAIN, M. A. *et al.* **Drought Stress Tolerance in Plants, Physiology and Biochemistry**. [S. I.: s. n.]. v. 1 E-book. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/978-3-319-28899-4>

HOSSAIN, Mohammad Anwar *et al.* Heat or cold priming-induced cross-tolerance to abiotic stresses in plants : key regulators and possible mechanisms. **Protoplasma**, [S. I.], p. 1–14, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00709-017-1150-8>

HOSSAIN, Mohammad Anwar; MOSTOFA, Mohammad Golam; FUJITA, Masayuki. Heat-shock positively modulates oxidative protection of salt and drought-stressed mustard (*Brassica campestris* L.) seedlings. **Journal of Plant Science & Molecular Breeding**, [S. I.], n. March, p. 1–14, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.7243/2050-2389-2-2>

HSU, Po Kai *et al.* Abscisic acid-independent stomatal CO₂ signal transduction pathway and convergence of CO₂ and ABA signaling downstream of OST1 kinase. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [S. I.], v. 115, n. 42, p. 9971–9980, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1073/pnas.1809204115>

HU, Honghong *et al.* Carbonic Anhydrases are Upstream Regulators in Guard Cells of. **Nature Cell Biology**, [S. I.], v. 12, n. 1, p. 1–18, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/ncb2009.Carbonic>

HU, Honghong; XIONG, Lizhong. Genetic engineering and breeding of drought-resistant crops. **Annual Review of Plant Biology**, [S. I.], v. 65, p. 715–741, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050213-040000>

HU, Shaowu; WANG, Yunxia; YANG, Lianxin. Response of rice yield traits to elevated atmospheric CO₂ concentration and its interaction with cultivar, nitrogen application rate and temperature: a meta-analysis of 20 years FACE studies. **Science of The Total Environment**, [S. I.], 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142797>

HU, Wenhao; HU, Guocheng; HAN, Bin. Genome-wide survey and expression profiling of heat shock proteins and heat shock factors revealed overlapped and stress specific response under abiotic stresses in rice. **Plant Science**, [S. I.], v. 176, n. 4, p. 583–590, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2009.01.016>

HUSSAIN, Hafiz A. *et al.* Chilling and Drought Stresses in Crop Plants : Implications , Cross Talk , and Potential Management Opportunities. **Frontiers in Plant Science**, [S. I.], v. 9, n. 393, p. 1–21, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00393>

IPCC. Long-term Climate Change: Projections, Commitments and Irreversibility. In: **Climate Change 2013: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change**. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA.: [s. n.], 2013. p. 1029–1136. E-book.

IPCC. **Climate Change 2014: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change**. Geneva: [s. n.], 2014. E-book. Disponível em: <https://doi.org/10.1017/CBO9781139177245.003>

JACOB, Pierre; HIRT, Heribert; BENDAHMANE, Abdelhafid. The heat-shock protein/chaperone network and multiple stress resistance. **Plant Biotechnology Journal**, [S. I.], v. 15, n. 4, p. 405–414, 2017. Disponível em:

<https://doi.org/10.1111/pbi.12659>

JAGADISH, S. V. K. et al. Physiological and proteomic approaches to address heat tolerance during anthesis in rice (*Oryza sativa L.*). **Journal of Experimental Botany**, [S. I.], v. 61, n. 1, p. 143–156, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jxb/erp289>

JAGADISH, S. V. K.; MURTY, M. V. R.; QUICK, W. P. Rice responses to rising temperatures - challenges, perspectives and future directions. **Plant, Cell and Environment**, [S. I.], v. 38, n. 9, p. 1686–1698, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/pce.12430>

JAGADISH, S. V. Krishna et al. Spikelet Proteomic Response to Combined Water Deficit and Heat Stress in Rice (*Oryza sativa* cv . N22). **Rice**, [S. I.], v. 4, p. 1–11, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12284-011-9059-x>

JAIN, Mukesh et al. Validation of housekeeping genes as internal control for studying gene expression in rice by quantitative real-time PCR. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, [S. I.], v. 345, p. 646–651, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2006.04.140>

JANKU, Martina; LUHOVÁ, Lenka; PETRIVALSKÝ, Marek. On the origin and fate of reactive oxygen species in plant cell compartments. **Antioxidants**, [S. I.], v. 8, n. 4, p. 1–15, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/antiox8040105>

JIA, X. et al. Leaf defense system of *Robinia pseudoacacia* L . seedlings exposed to 3 years of elevated atmospheric CO 2 and Cd-contaminated soils. **Science of the Total Environment journal**, [S. I.], v. 606, n. 126, p. 48–57, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.06.172>

JIN, Rui et al. Physiological and metabolic changes of purslane (*Portulaca oleracea L.*) in response to drought, heat, and combined stresses. **Frontiers in Plant Science**, [S. I.], v. 6, n. JAN2016, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.01123>

KACIENÉ, Giedrė et al. Different crop and weed performance under single and combined effects of elevated CO2 and temperature. **Crop Science**, [S. I.], v. 57, n. 2, p. 935–944, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.2135/cropsci2016.07.0598>

KAZEMI, Sheidollah; ESHGHIZADEH, Hamid Reza; ZAHEDI, Morteza. Responses of Four Rice Varieties to Elevated CO2 and Different Salinity Levels. **Rice Science**, [S. I.], v. 25, n. 3, p. 142–151, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.rsci.2018.04.002>

KHAN, Furqan et al. Physiological performance of two contrasting rice varieties under water stress. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, [S. I.], v. 23, n. 1, p. 85–97, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12298-016-0399-2>

KHAN, Z.; SHAHWAR, D. Role of Heat Shock Proteins (HSPs) and Heat Stress Tolerance in Crop Plants. In: ROYCHOWDHURY, Rajib et al. (org.). **Sustainable Agriculture in the Era of Climate Change**. [S. I.]: Springer Nature Switzerland, 2020. p. 211–234. E-book.

KHOSHGOFTARMANESH, Amir Hossein; KHODARAHMI, Somayeh; HAGHIGHI, Maryam. Effect of silicon nutrition on lipid peroxidation and antioxidant response of cucumber plants exposed to salinity stress. **Archives of Agronomy and Soil Science**, [S. I.], v. 60, n. 5, p. 639–653, 2014. Disponível em:

<https://doi.org/10.1080/03650340.2013.822487>

KIBA, Takatoshi *et al.* Sugar-induced de novo cytokinin biosynthesis contributes to Arabidopsis growth under elevated CO₂. **Scientific Reports**, [S. I.], v. 9, n. May, p. 1–15, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-44185-4>

KIKUCHI, Shinji *et al.* Genome-wide association mapping for phenotypic plasticity in rice. **Plant Cell and Environment**, [S. I.], v. 40, n. 8, p. 1565–1575, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/pce.12955>

KILLI, Dilek *et al.* Adaptation to high temperature mitigates the impact of water deficit during combined heat and drought stress in C3 sunflower and C4 maize varieties with contrasting drought tolerance. **Physiologia Plantarum**, [S. I.], v. 150, p. 130–147, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/ppl.12490>

KIM, HAN-YONG *et al.* Impacts of climate change on paddy rice yield in a temperate climate. **Global Change Biology**, [S. I.], n. 19, p. 548–562, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/gcb.12047>

KIM, Jong Myong *et al.* Chromatin changes in response to drought, salinity, heat, and cold stresses in plants. **Frontiers in Plant Science**, [S. I.], v. 6, n. MAR, p. 1–12, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00114>

KIM, Sung-ryul; AN, Gynheung. Rice chloroplast-localized heat shock protein 70 , OsHsp70CP1 , is essential for chloroplast development under high-temperature conditions. **Journal of Plant Physiology**, [S. I.], v. 170, n. 9, p. 854–863, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2013.01.006>

KIMBALL, B. A.; KOBAYASHI, K.; BINDI, M. **RESPONSES OF AGRICULTURAL CROPS TO FREE -AIR CO₂ ENRICHMENT**. [S. I.]: Elsevier Inc., 2002. v. 77E-book. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(02\)77017-X](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(02)77017-X)

KIMBALL, Bruce A. Crop responses to elevated CO₂ and interactions with H₂O, N, and temperature. **Current Opinion in Plant Biology**, [S. I.], v. 31, p. 36–43, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2016.03.006>

KOBATA, Tohru *et al.* Spikelet sterility is associated with a lack of assimilate in high-spikelet-number rice. **Agronomy Journal**, [S. I.], v. 105, n. 6, p. 1821–1831, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.2134/agronj2013.0115>

KOBAYASI, Kazuhiro *et al.* Effects of free-air CO₂ enrichment on heat-induced sterility and pollination in rice. **Plant Production Science**, [S. I.], v. 22, n. 3, p. 374–381, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/1343943X.2018.1563496>

KORRES, Nicholas E. *et al.* Cultivars to face climate change effects on crops and weeds : a review. **Agronomy for Sustainable Development**, [S. I.], v. 36, n. 12, p. 1–22, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s13593-016-0350-5>

KUMAR, Anjani *et al.* Effects of elevated CO₂ concentration on water productivity and antioxidant enzyme activities of rice (*Oryza sativa* L.) under water deficit stress. **Field Crops Research**, [S. I.], v. 212, n. July, p. 61–72, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2017.06.020>

KUMAR, Ashish *et al.* Genome-wide Identification and Characterization of Heat Shock Protein Family Reveals Role in Development and Stress Conditions in *Triticum aestivum* L. **Scientific Reports**, [S. I.], v. 10, n. 1, p. 1–12, 2020. Disponível em:

<https://doi.org/10.1038/s41598-020-64746-2>

KUMAR, Manoj. Impact of climate change on crop yield and role of model for achieving food security. **Environmental Monitoring and Assessment**, [S. I.], p. 1–14, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10661-016-5472-3>

KUMAR, Ranjeet R. et al. Characterizing the putative mitogen-activated protein kinase (MAPK) and their protective role in oxidative stress tolerance and carbon assimilation in wheat under terminal heat stress. **Biotechnology Reports**, [S. I.], n. February, p. e00597, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.btre.2021.e00597>

KUMARI, Sumita; AGRAWAL, Madhoolika; TIWARI, Supriya. Impact of elevated CO₂ and elevated O₃ on *Beta vulgaris* L.: Pigments, metabolites, antioxidants, growth and yield. **Environmental Pollution**, [S. I.], v. 174, p. 279–288, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2012.11.021>

KUSUMI, K. et al. Increased leaf photosynthesis caused by elevated stomatal conductance in a rice mutant deficient in SLAC1, a guard cell anion channel protein. **Journal of Experimental Botany**, [S. I.], v. 63, n. 15, p. 5635–5644, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jxb/err313>

KUSUMI, Kensuke et al. Contribution of the S-type anion channel SLAC1 to stomatal control and its dependence on developmental stage in rice. **Plant and Cell Physiology**, [S. I.], v. 58, n. 12, p. 2085–2094, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/pcp/pcx142>

LAMBREVA, M.; CHRISTOV, K.; TSONEV, T. Short-term effect of elevated CO₂ concentration and high irradiance on the antioxidant enzymes in bean plants. **Biologia plantarum**, [S. I.], v. 50, n. 4, p. 617–623, 2006. Disponível em: https://bp.ueb.cas.cz/artkey/bpl-200604-0021_Short-term-effect-of-elevated-CO2-concentration-and-high-irradiance-on-the-antioxidant-enzymes-in-b.php

LAMICHANEY, Amrit et al. Elevated atmospheric carbon-dioxide affects seed vigour of rice (*Oryza sativa* L.). **Environmental and Experimental Botany**, [S. I.], v. 157, p. 171–176, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2018.10.011>

LÄMKE, Jörn; BÄURLE, Isabel. Epigenetic and chromatin-based mechanisms in environmental stress adaptation and stress memory in plants. **Genome Biology**, [S. I.], v. 18, n. 1, p. 1–11, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s13059-017-1263-6>

LANOUE, J. et al. Effect of elevated CO₂ and spectral quality on whole plant gas exchange patterns in tomatoes. **PLoS ONE**, [S. I.], p. 1–22, 2018.

LAWLOR, D. W.; MITCHELL, R. A. C. The effects of increasing CO₂ on crop photosynthesis and productivity: a review of field studies. **Plant, Cell and Environment**, [S. I.], v. 14, n. 8, p. 807–818, 1991. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.1991.tb01444.x>

LEAKY, Andrew D. B. et al. Elevated CO₂ effects on plant carbon, nitrogen, and water relations: six important lessons from FACE. **Journal of Experimental Botany**, [S. I.], v. 60, n. 10, p. 2859–2876, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jxb/erp096>

LEAKY, Andrew D. B. et al. **Photosynthesis: Plastid Biology, Energy Conversion**

and Carbon Assimilation, Advances in Photosynthesis and Respiration. [S. I.: s. n.]. E-book. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/978-94-007-1579-0>

LEE, Yang Seok *et al.* Rice miR172 induces flowering by suppressing OsIDS1 and SNB, two AP2 genes that negatively regulate expression of Ehd1 and florigens. **Rice**, [S. I.], v. 7, p. 1–13, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12284-014-0031-4>

LEI, Yan-bao; SONG, Song-quan; FU, Jia-rui. Possible Involvement of Anti-Oxidant Enzymes in the Cross-Tolerance of the Germination / Growth of Wheat Seeds to Salinity and Heat Stress. **Journal of Integrative Plant Biology**, [S. I.], v. 47, n. 10, p. 1211–1219, 2005.

LI, Chengyong *et al.* Waterlogging pretreatment during vegetative growth improves tolerance to waterlogging after anthesis in wheat. **Plant Science**, [S. I.], v. 180, n. 5, p. 672–678, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2011.01.009>

LI, Jikai *et al.* Roles of heat shock protein and reprogramming of photosynthetic carbon metabolism in thermotolerance under elevated CO₂ in maize. **Environmental and Experimental Botany**, [S. I.], v. 168, n. June, 2019 a. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2019.103869>

LI, Jun Ying *et al.* Effects of elevated CO₂ on growth, carbon assimilation, photosynthate accumulation and related enzymes in Rice leaves during sink-source transition. **Journal of Integrative Plant Biology**, [S. I.], v. 50, n. 6, p. 723–732, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1744-7909.2008.00666.x>

LI, Shuhao *et al.* Response of water balance and nitrogen assimilation in cucumber seedlings to CO₂ enrichment and salt stress. **Plant Physiology and Biochemistry**, [S. I.], v. 139, p. 256–263, 2019 b. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jplphys.2019.03.028>

LI, Shuhao *et al.* Effects of CO₂ enrichment on non-structural carbohydrate metabolism in leaves of cucumber seedlings under salt stress. **Scientia Horticulturae**, [S. I.], v. 265, n. October 2018, p. 1–8, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109275>

LI, X. *et al.* Carbon dioxide enrichment alleviates heat stress by improving cellular redox homeostasis through an ABA-independent process in tomato plants. **Plant Biology**, [S. I.], v. 17, n. 1, p. 81–89, 2015 a. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/plb.12211>

LI, X.; LIU, F. Drought Stress Memory and Drought Stress Tolerance in Plants: Biochemical and Molecular Basis. In: HOSSAIN, Mohammad Anwar *et al.* (org.). **Drought Stress Tolerance in Plants, Vol 1: Physiology and Biochemistry**. [S. I.: s. n.]. v. 1p. 17–44. E-book. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/978-3-319-28899-4>

LI, Xia *et al.* Metabolic and transcriptomic signatures of rice floral organs reveal sugar starvation as a factor in reproductive failure under heat and drought stress. **Plant, Cell and Environment**, [S. I.], v. 38, n. 10, p. 2171–2192, 2015 b. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/pce.12545>

LI, Xiangnan *et al.* Drought priming at vegetative stage improves the antioxidant capacity and photosynthesis performance of wheat exposed to a short-term low temperature stress at jointing stage. **Plant and Soil**, [S. I.], v. 393, n. 1–2, p. 307–318, 2015 c. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11104-015-2499-0>

LI, Xiangnan *et al.* Elevated CO₂ modulates the effects of drought and heat stress on plant water relations and grain yield in wheat. **Journal of Agronomy and Crop Science**, [S. I.], v. 205, n. 4, p. 362–371, 2019 c. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/jac.12330>

LI, Yuting *et al.* Effects of elevated CO₂ on rice grain yield and yield components: Is non-flooded plastic film mulching better than traditional flooding? **European Journal of Agronomy**, [S. I.], v. 85, p. 25–30, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.eja.2017.01.003>

LI, Zhong Guang; GONG, Ming. Mechanical Stimulation-Induced Cross-Adaptation in Plants: An Overview. **Journal of Plant Biology**, [S. I.], v. 54, n. 6, p. 358–364, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12374-011-9178-3>

LIU, Hongjiang *et al.* Yield formation of CO₂-enriched hybrid rice cultivar Shanyou 63 under fully open-air field conditions. **Field Crops Research**, [S. I.], v. 108, n. 1, p. 93–100, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2008.03.007>

LIU, Hsiang-chin *et al.* Distinct heat shock factors and chromatin modifications mediate the organ-autonomous transcriptional memory of heat stress. **The Plant Journal**, [S. I.], v. 95, n. 3, p. 401–413, 2018 a. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/tpj.13958>

LIU, S. *et al.* Drought Priming at Vegetative Growth Stage Enhances Nitrogen-Use Efficiency Under Post-Anthesis Drought and Heat Stress in Wheat. **Journal of Agronomy and Crop Science**, [S. I.], v. 203, n. 1, p. 29–40, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/jac.12190>

LIU, Xing *et al.* AhGLK1 affects chlorophyll biosynthesis and photosynthesis in peanut leaves during recovery from drought. **Scientific Reports**, [S. I.], v. 8, n. 1, p. 1–11, 2018 b. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-20542-7>

LIU, Yanfang *et al.* *Arabidopsis* heat shock factor HsfA1a directly senses heat stress, pH changes, and hydrogen peroxide via the engagement of redox state. **Plant Physiology and Biochemistry**, [S. I.], v. 64, p. 92–98, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2012.12.013>

LIVAK, Kenneth J.; SCHMITTGEN, Thomas D. Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the 2-ΔΔCT Method. **Methods**, [S. I.], v. 25, p. 402–408, 2001. Disponível em: <https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262>

LLORENS, Eugenio *et al.* Priming mediated stress and cross-stress tolerance in plants: Concepts and opportunities. In: **Priming-Mediated Stress and Cross-Stress Tolerance in Crop Plants**. [S. I.]: Elsevier Inc., 2020. p. 1–20. E-book. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817892-8.00001-5>

LOLADZE, Irakli *et al.* Rising Atmospheric CO₂ Lowers Concentrations of Plant Carotenoids Essential to Human Health: A Meta-Analysis. **Molecular Nutrition e Food Research**, [S. I.], v. 1801047, p. 1–9, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/mnfr.201801047>

LORETO, Francesco; VELIKOVA, Violeta. Isoprene Produced by Leaves Protects the Photosynthetic Apparatus against Ozone Damage , Quenches Ozone Products , and Reduces Lipid Peroxidation of Cellular Membranes 1. **Plant Physiology**, [S. I.], v. 127, p. 1781–1787, 2001. Disponível em: <https://doi.org/10.1104/pp.010497.Sharkey>

- LUKIĆ, Nataša *et al.* Plant stress memory is linked to high levels of anti-oxidative enzymes over several weeks. **Environmental and Experimental Botany**, [S. I.], v. 178, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2020.104166>
- LV, Chunhua *et al.* Response of rice yield and yield components to elevated [CO₂]: A synthesis of updated data from FACE experiments. **European Journal of Agronomy**, [S. I.], v. 112, n. July 2019, p. 125961, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.eja.2019.125961>
- MANALO, P. A. *et al.* Atmospheric CO₂ and temperature effects on development and growth of rice. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, [S. I.], v. 51, n. 3, p. 339–347, 1994. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0167-8809\(94\)90145-7](https://doi.org/10.1016/0167-8809(94)90145-7)
- MAOKA, Takashi. Carotenoids as natural functional pigments. **Journal of Natural Medicines**, [S. I.], v. 74, n. 1, p. 1–16, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11418-019-01364-x>
- MARTINEZ-MEDINA, Ainhoa *et al.* Recognizing Plant Defense Priming. **Trends in Plant Science**, [S. I.], v. 21, n. 10, p. 818–822, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.07.009>
- MARTY, Charles; BASSIRIRAD, Hormoz. Seed germination and rising atmospheric CO₂ concentration: A meta-analysis of parental and direct effects. **New Phytologist**, [S. I.], v. 202, n. 2, p. 401–414, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/nph.12691>
- MASUYA, Yusuke *et al.* Dry matter partitioning to leaves differentiates African and Asian rice genotypes exposed to elevated CO₂. **Journal of Agronomy and Crop Science**, [S. I.], n. August, p. 1–8, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/jac.12445>
- MATSUI, Tsutomu *et al.* Effects of high temperature and CO₂ concentration on spikelet sterility in indica rice. **Field Crops Research**, [S. I.], v. 51, n. 3, p. 213–219, 1997. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0378-4290\(96\)03451-X](https://doi.org/10.1016/S0378-4290(96)03451-X)
- MAY, Patrick *et al.* The effects of carbon dioxide and temperature on microRNA expression in *Arabidopsis* development. **Nature Communications**, [S. I.], v. 4, p. 1–11, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/ncomms3145>
- MCGRATH, Justin M.; LOBELL, David B. Regional disparities in the CO₂ fertilization effect and implications for crop yields. **Environmental Research Letters**, [S. I.], v. 8, n. 1, p. 0–9, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1088/1748-9326/8/1/014054>
- MEHLA, N. *et al.* An Introduction to Antioxidants and Their Roles in Plant Stress Tolerance. In: KHAN, M. I. R.; KHAN, N. A. (org.). **Reactive Oxygen Species and Antioxidant Systems in Plants: Role and Regulation under Abiotic Stress**. [S. I.]: Springer Nature, 2017. p. 1–23. E-book. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/978-981-10-5254-5>
- MERILO, Ebe *et al.* PYR/RCAR receptors contribute to ozone-, reduced air humidity-, darkness-, and CO₂-induced stomatal regulation. **Plant Physiology**, [S. I.], v. 162, n. 3, p. 1652–1668, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1104/pp.113.220608>
- MILLER, Gad *et al.* Reactive oxygen species homeostasis and signalling during drought and salinity stresses. **Plant, Cell and Environment**, [S. I.], v. 33, n. 4, p. 453–467, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2009.02041.x>

- MINAKUCHI, Kosuke *et al.* FINE CULM1 (FC1) works downstream of strigolactones to inhibit the outgrowth of axillary buds in rice. **Plant and Cell Physiology**, [S. I.], v. 51, n. 7, p. 1127–1135, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/pcp/pcq083>
- MIYAGI, Atsuko *et al.* Oxalate contents in leaves of two rice cultivars grown at a free-air CO₂ enrichment (FACE) site. **Plant Production Science**, [S. I.], v. 22, n. 3, p. 407–411, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/1343943X.2019.1598272>
- MØLLER, Ian M.; JENSEN, Poul Erik; HANSSON, Andreas. Oxidative modifications to cellular components in plants. **Annual Review of Plant Biology**, [S. I.], v. 58, p. 459–481, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.58.032806.103946>
- MOZGOVA, I. *et al.* Epigenetic Mechanisms of Abiotic Stress Response and Memory in Plants. In: ALVAREZ-VENEGAS, R.; DE-LA-PEÑA, C.; CASAS-MOLLANO, J. A. (org.). **Epigenetics in Plants of Agronomic Importance: Fundamentals and Applications**. 2. ed. [S. I.]: Springer Nature Switzerland AG, 2019. p. 1–64. E-book. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/978-3-319-07971-4>
- MUNNÉ-BOSCH, Sergi; ALEGRE, Leonor. Cross-stress tolerance and stress “memory” in plants: An integrated view. **Environmental and Experimental Botany**, [S. I.], p. 2, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2013.02.002>
- MURAKAMI, Toyotaka *et al.* Over-expression of a small heat shock protein, sHSP17.7, confers both heat tolerance and UV-B resistance to rice plants. **Molecular Breeding**, [S. I.], v. 13, n. 2, p. 165–175, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1023/B:MOLB.0000018764.30795.c1>
- NAHAR, Shamsun; SAHOO, Lingaraj; TANTI, Bhaben. Screening of drought tolerant rice through morpho-physiological and biochemical approaches. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, [S. I.], v. 15, p. 150–159, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2018.06.002>
- NAKAMURA, H. *et al.* Performance of the enlarged Rice-FACE system using pure CO₂ installed in Tsukuba, Japan. **J. Agric. Meteorol.**, [S. I.], v. 1, n. 68, p. 15–23, 2012.
- NAKANO, Hiroshi *et al.* Quantitative trait loci for large sink capacity enhance rice grain yield under free-air CO₂ enrichment conditions. **Scientific Reports**, [S. I.], v. 7, n. 1, p. 1–10, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-01690-8>
- NAKANO, Yoshiyuki; ASADA, Kozi. Hydrogen Peroxide is Scavenged by Ascorbate-specific Peroxidase in Spinach Chloroplasts. **Plant Cell Physiology**, [S. I.], v. 22, n. 5, p. 867–880, 1981.
- NAKASHIMA, Kazuo; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, Kazuko; SHINOZAKI, Kazuo. The transcriptional regulatory network in the drought response and its crosstalk in abiotic stress responses including drought, cold, and heat. **Frontiers in Plant Science**, [S. I.], v. 5, n. MAY, p. 1–7, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00170>
- NASRIN, S. *et al.* Impacts of drought stress on growth, protein, proline, pigment content and antioxidant activities in rice (*Oryza sativa* L. var. BRRI DHAN-24). **Dhaka University J. Biol. Sci.**, [S. I.], v. 29, n. 1, p. 117–123, 2020.
- NAUDTS, Author K. *et al.* Combined effects of warming and elevated CO₂ on the impact of drought in grassland species. **Plant Soil**, [S. I.], v. 369, n. 1, p. 497–507,

2013.

NICOTRA, A. B. *et al.* Plant phenotypic plasticity in a changing climate. **Trends in Plant Science**, [S. I.], v. 15, n. 12, p. 684–692, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2010.09.008>

NIU, Jing *et al.* The compensation effects of physiology and yield in cotton after drought stress. **Journal of Plant Physiology**, [S. I.], v. 224–225, n. March, p. 30–48, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2018.03.001>

OKADA, M. *et al.* Effects of elevated CO₂ on floral sterility of rice plants caused by low temperature.pdf. **Journal of Agricultural Meteorology**, [S. I.], v. 60, n. 5, p. 589–592, 2005.

PAN, Caizhe *et al.* Role of ethylene biosynthesis and signaling in elevated CO₂-induced heat stress response in tomato. **Planta**, [S. I.], v. 250, n. 2, p. 563–572, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00425-019-03192-5>

PANDEY, Veena; SHUKLA, Alok. Acclimation and Tolerance Strategies of Rice under Drought Stress. **Rice Science**, [S. I.], v. 22, n. 4, p. 147–161, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.rsci.2015.04.001>

PANIGRAHI, S. *et al.* Diminution of photosynthesis in rice (*Oryza sativa* L.) seedlings under elevated CO₂ concentration and increased temperature. **Photosynthetica**, [S. I.], v. 54, n. 3, p. 359–366, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11099-016-0190-1>

PANTUWAN, G. *et al.* Yield response of rice (*Oryza sativa* L.) genotypes to drought under rainfed lowlands 2 . Selection of drought resistant genotypes. **Field Crops Research**, [S. I.], v. 73, p. 169–180, 2002.

PASTORI, Gabriela M.; FOYER, Christine H. Common Components, Networks, and Pathways of Cross-Tolerance to Stress. The Central Role of “Redox” and Abscisic Acid-Mediated Controls. **Plant Physiology**, [S. I.], v. 129, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1104/pp.011021.460>

PENG, Yan *et al.* Improved heat tolerance through drought preconditioning associated with changes in lipid composition, antioxidant enzymes, and protein expression in Kentucky bluegrass. **Crop Science**, [S. I.], v. 52, n. 2, p. 807–817, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.2135/cropsci2011.06.0327>

POORTER, Hendrik. Interspecific variation in the growth response of plants to an elevated ambient CO₂ concentration. **Vegetatio**, [S. I.], v. 104–105, n. 1, p. 77–97, 1993. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/BF00048146>

QIN, Feifei; XU, Hui-lian; CI, Dunwei. Drought stimulation by hypocotyl exposure altered physiological responses to subsequent drought stress in peanut seedlings. **Acta Physiologiae Plantarum**, [S. I.], v. 39, n. 7, p. 1–15, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11738-017-2447-0>

QIU, Quan Sheng *et al.* Increased protein carbonylation in leaves of *Arabidopsis* and soybean in response to elevated [CO₂]. **Photosynthesis Research**, [S. I.], v. 97, n. 2, p. 155–166, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11120-008-9310-5>

RAMEL, Fanny *et al.* Chemical Quenching of Singlet Oxygen by Carotenoids in Plants. **Plant Physiology**, [S. I.], v. 158, p. 1267–1278, 2012. Disponível em:

<https://doi.org/10.1104/pp.111.182394>

RANA, R. M. et al. HSP70 Mediated Stress Modulation in Plants. In: ASEA, Alexzander A. A.; KAUR, Punit (org.). **Heat Shock Proteins and Stress**. [S. I.]: Springer, Cham, 2018. p. 281–290. E-book.

RANG, Z. W. et al. Effect of high temperature and water stress on pollen germination and spikelet fertility in rice. **Environmental and Experimental Botany**, [S. I.], v. 70, n. 1, p. 58–65, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2010.08.009>

ROBREDO, Anabel et al. **Elevated CO₂ alleviates the impact of drought on barley improving water status by lowering stomatal conductance and delaying its effects on photosynthesis**. [S. I.: s. n.] Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2006.01.001>

ROY, K. S. et al. Combined effect of elevated CO₂ and temperature on dry matter production, net assimilation rate, C and N allocations in tropical rice (*Oryza sativa* L.). **Field Crops Research**, [S. I.], v. 139, p. 71–79, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2012.10.011>

SABELLI, P. A. Seed Development: A Comparative Overview on Biology of Morphology, Physiology, and Biochemistry Between Monocot and Dicot Plants. In: AGRAWAL, G. K.; RAKWAL, R. (org.). **Seed Development: OMICS Technologies Toward Improvement of Seed Quality and Crop Yield**. 1. ed. [S. I.]: Springer Netherlands, 2012. p. 3–25. E-book.

SAINI, Rashmi et al. Cross-priming accentuates key biochemical and molecular indicators of defense and improves cold tolerance in chickpea (*Cicer arietinum* L.). **Acta Physiologiae Plantarum**, [S. I.], v. 41, n. 11, p. 1–13, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11738-019-2971-1>

SALAZAR-PARRA, C. et al. Climate change (elevated CO₂, elevated temperature and moderate drought) triggers the antioxidant enzymes ' response of grapevine cv. Tempranillo, avoiding oxidative. **Physiologia Plantarum**, [S. I.], v. 144, p. 99–110, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2011.01524.x>

SANYAL, Ravi P.; MISRA, Hari S.; SAINI, Ajay. Heat-stress priming and alternative splicing-linked memory. **Journal of Experimental Botany**, [S. I.], n. Box 1, p. 0–3, 2018.

SARKAR, Neelam K.; KUNDNANI, Preeti; GROVER, Anil. Functional analysis of Hsp70 superfamily proteins of rice (*Oryza sativa*). **Cell Stress and Chaperones**, [S. I.], v. 18, p. 427–437, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12192-012-0395-6>

SATAKE, T.; YOSHIDA, S. High Temperature-Induced Sterility in Indica Rices at Flowering. **Japan Journal Crop Science**, [S. I.], v. 47, n. 1, p. 6–17, 1978.

SATAPATHY, Sushree Sagarika et al. Effect of elevated [CO₂] and nutrient management on wet and dry season rice production in subtropical India. **Crop Journal**, [S. I.], v. 3, n. 6, p. 468–480, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cj.2015.08.002>

SCHEFFER, Marten; BROVKIN, Victor; COX, Peter M. Positive feedback between global warming and atmospheric CO₂ concentration inferred from past climate change.

Geophysical Research Letters, [S. I.], v. 33, n. 10, p. 2–5, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1029/2005GL025044>

SCHMIDT, Gavin A. et al. Attribution of the present-day total greenhouse effect. **Journal of Geophysical Research**, [S. I.], v. 115, n. 20, p. 1–6, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1029/2010JD014287>

SCHÜTZ, M.; FANGMEIER, A. Growth and yield responses of spring wheat (*Triticum aestivum* L. cv. Minaret) to elevated CO₂ and water limitation. **Environmental Pollution**, [S. I.], v. 114, p. 187–194, 2001.

SEDAGHATMEHR, Mastoureh et al. A regulatory role of autophagy for resetting the memory of heat stress in plants. **Plant Cell and Environment**, [S. I.], v. 42, n. 3, p. 1054–1064, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/pce.13426>

SEHGAL, Akanksha et al. Drought or/and Heat-Stress Effects on Seed Filling in Food Crops : Impacts on Functional Biochemistry , Seed Yields , and Nutritional Quality. **Frontiers in Plant Science**, [S. I.], v. 9, n. November, p. 1–19, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01705>

SELOTE, Devarshi S.; KHANNA-CHOPRA, Renu. Antioxidant response of wheat roots to drought acclimation. **Protoplasma**, [S. I.], v. 245, p. 153–163, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00709-010-0169-x>

SENEWEERA, S. et al. Influence of rising atmospheric CO₂ and phosphorus nutrition on the grain yield and quality of rice (*Oryza sativa* cv. Jarrah). **Cereal Chemistry**, [S. I.], v. 73, n. 2, p. 239–243, 1996.

SENEWEERA, S. et al. Involvement of ethylene in the morphological and developmental response of rice to elevated atmospheric CO₂ concentrations. **Plant Growth Regulation**, [S. I.], v. 39, n. 2, p. 143–153, 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1023/A:1022525918305>

SENEWEERA, Saman. Effects of elevated CO₂ on plant growth and nutrient partitioning of rice (*Oryza sativa* L.) at rapid tillering and physiological maturity. **Journal of Plant Interactions**, [S. I.], v. 6, p. 35–42, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/17429145.2010.513483>

SENEWEERA, Saman et al. New insight into photosynthetic acclimation to elevated CO₂: The role of leaf nitrogen and ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase content in rice leaves. **Environmental and Experimental Botany**, [S. I.], v. 71, n. 2, p. 128–136, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2010.11.002>

SENEWEERA, Saman P.; CONROY, Jann P. Growth, grain yield and quality of rice (*Oryza sativa* L.) in response to elevated CO₂ and phosphorus nutrition. **Soil Science and Plant Nutrition**, [S. I.], v. 43, n. SPEC. ISS., p. 1131–1136, 1997. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/00380768.1997.11863730>

SEWELAM, Nasser; KAZAN, Kemal; SCHENK, Peer M. Global plant stress signaling: Reactive oxygen species at the cross-road. **Frontiers in Plant Science**, [S. I.], v. 7, n. FEB2016, p. 1–21, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00187>

SHAH, F. et al. Impact of high-temperature stress on rice plant and its traits related to tolerance. **Journal of Agricultural Science**, [S. I.], v. 149, n. 2011, p. 545–556, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1017/S0021859611000360>

SHAHNEJAT-BUSHEHRI, Sara; MUELLER-ROEBER, Bernd; BALAZADEH, Salma. *Arabidopsis* NAC transcription factor JUNGBRUNNEN1 affects thermomemory-associated genes and enhances heat stress tolerance in primed and unprimed conditions. **Plant Signaling and Behavior**, [S. I.], v. 7, n. 12, p. 1518–1521, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.4161/psb.22092>

SHI, W. et al. Acquired Thermo-Tolerance and Trans-Generational Heat Stress Response at Flowering in Rice. **Journal of Agronomy and Crop Science**, [S. I.], v. 202, n. 4, p. 309–319, 2015 a. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/jac.12157>

SHI, W. et al. Popular Rice (*Oryza sativa* L.) Cultivars Show Contrasting Responses to Heat Stress at Gametogenesis and Anthesis. **Crop Science**, [S. I.], v. 55, n. 2, p. 589–596, 2015 b. Disponível em: <https://doi.org/10.2135/cropsci2014.01.0054>

SHIMONO, Hiroyuki et al. Genotypic variation in rice yield enhancement by elevated CO₂ relates to growth before heading, and not to maturity group. **Journal of Experimental Botany**, [S. I.], v. 60, n. 2, p. 523–532, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jxb/ern288>

SHIMONO, Hiroyuki. Rice genotypes that respond strongly to elevated CO₂ also respond strongly to low planting density. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, [S. I.], v. 141, n. 1–2, p. 240–243, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.agee.2011.02.028>

SHIMONO, Hiroyuki et al. Lower responsiveness of canopy evapotranspiration rate than of leaf stomatal conductance to open-air CO₂ elevation in rice. **Global Change Biology**, [S. I.], v. 19, n. 8, p. 2444–2453, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/gcb.12214>

SHIMONO, Hiroyuki et al. Planting geometry as a pre-screening technique for identifying CO₂ responsive rice genotypes: a case study of panicle number. **Physiologia Plantarum**, [S. I.], v. 152, p. 520–528, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/ppl.12202>

SHIMONO, Hiroyuki et al. Prescreening in large populations as a tool for identifying elevated CO₂-responsive genotypes in plants. **Functional Plant Biology**, [S. I.], v. 46, n. 1, p. 1–14, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1071/FP18087>

SHIMONO, Hiroyuki; BUNCE, James A. Acclimation of nitrogen uptake capacity of rice to elevated atmospheric CO₂ concentration. **Annals of Botany**, [S. I.], v. 103, n. 1, p. 87–94, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/aob/mcn209>

SHRESTHA, Roshi et al. Molecular control of seasonal flowering in rice, arabidopsis and temperate cereals. **Annals of Botany**, [S. I.], v. 114, n. 7, p. 1445–1458, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/aob/mcu032>

SICHER, Richard; BUNCE, James; MATTHEWS, Benjamin. Differing responses to carbon dioxide enrichment by a dwarf and a normal-sized soybean cultivar may depend on sink capacity. **Canadian Journal of Plant Science**, [S. I.], v. 90, n. 3, p. 257–264, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.4141/CJPS09091>

SIDDIQUE, Masood et al. The plant sHSP superfamily: Five new members in *Arabidopsis thaliana* with unexpected properties. **Cell Stress and Chaperones**, [S. I.], v. 13, n. 2, p. 183–197, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12192-008-0032-6>

SINGH, Aradhana; AGRAWAL, Madhoolika. Effects of ambient and elevated CO₂ on growth , chlorophyll fluorescence , photosynthetic pigments , antioxidants , and secondary metabolites of *Catharanthus roseus* (L .) G Don . grown under three different soil N levels. **Environmental Science and Pollution Research**, [S. I.], v. 22, p. 3936–3946, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3661-6>

SINGH, Khushwant; MISHRA, Ranjit K. High temperature stress induces conformational change in catalase of *Vigna mungo* (L.) Hepper which is reversed by simultaneous exposure to salt stress. **Plant Physiology Reports**, [S. I.], v. 25, n. 2, p. 216–221, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s40502-020-00512-w>

SOARES, José *et al.* Growth and nutritional responses of bean and soybean genotypes to elevated CO₂ in a controlled environment. **Plants**, [S. I.], v. 8, n. 11, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/plants8110465>

SOHAG, Abdullah Al Mamun *et al.* Exogenous salicylic acid and hydrogen peroxide attenuate drought stress in rice. **Plant, Soil and Environment**, [S. I.], v. 66, n. 1, p. 7–13, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.17221/472/2019-PSE>

SOLOMON, Susan *et al.* Irreversible climate change due to carbon dioxide emissions. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [S. I.], v. 106, n. 6, p. 1704–1709, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1073/pnas.0812721106>

SONG, Kitae; YIM, Won Cheol; LEE, Byung-Moo. Expression of Heat Shock Proteins by Heat Stress in Soybean. **Plant Breeding and Biotechnology**, [S. I.], v. 5, n. 4, p. 344–353, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.9787/pbb.2017.5.4.344>

SONG, S. Q.; LEI, Y. B.; TIAN, X. R. Proline Metabolism and Cross-Tolerance to Salinity and Heat Stress in Germinating Wheat Seeds. **Russian Journal of Plant Physiology**, [S. I.], v. 52, n. 6, p. 793–800, 2005.

SOSBAI. **ARROZ IRRIGADO: Recomendações Técnicas da Pesquisa para o Sul do Brasil**. 200p., 2016.

SOSBAI. **Arroz Irrigado: Recomendações técnicas da pesquisa para o Sul do Brasil**. Farroupilha. 205p., 2018.

SPRINGER, Clint J.; WARD, Joy K. Flowering time and elevated atmospheric CO₂. **New Phytologist**, [S. I.], v. 176, n. 2, p. 243–255, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2007.02196.x>

STEINGER, Thomas; GALL, Rolf; SCHMID, Bernhard. Maternal and direct effects of elevated CO₂ on seed provisioning, germination and seedling growth in *Bromus erectus*. **Oecologia**, [S. I.], v. 123, p. 475–480, 2000.

SUJATHA, K. B. *et al.* Up-regulation of photosynthesis and sucrose-P synthase in rice under elevated carbon dioxide and temperature conditions. **Plant, Soil and Environment**, [S. I.], v. 54, n. 4, p. 155–162, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.17221/388-pse>

SUN, Luying *et al.* Cold Priming Induced Tolerance to Subsequent Low Temperature Stress is Enhanced by Melatonin Application during Recovery in Wheat. **Molecules**, [S. I.], v. 23, p. 1–11, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules23051091>

SUZUKI, Nobuhiro *et al.* Abiotic and biotic stress combinations. **New Phytologist**, [S.

I.J., v. 203, p. 32–43, 2014.

TABASSUM, Tahira *et al.* Seed priming and transgenerational drought memory improves tolerance against salt stress in bread wheat. **Plant Physiology and Biochemistry**, [S. I.J., v. 118, p. 362–369, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.07.007>

TAIZ, L. *et al.* **Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal**. 6. ed. 858p., 2017.

TAKAGI, Mizuki *et al.* Elevated CO₂ concentration alleviates salinity stress in tomato plant. **Acta Agriculturae Scandinavica**, [S. I.J., v. 59, p. 87–96, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/09064710801932425>

THIRUMALAIKUMAR, Venkatesh P. *et al.* Selective autophagy regulates heat stress memory in *Arabidopsis* by NBR1-mediated targeting of HSP90 and ROF1. **Autophagy**, [S. I.J., v. 00, n. 00, p. 1–16, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/15548627.2020.1820778>

THOMPSON, Michael *et al.* Effects of elevated carbon dioxide on photosynthesis and carbon partitioning: A Perspective on root sugar sensing and hormonal crosstalk. **Frontiers in Physiology**, [S. I.J., v. 8, n. AUG, p. 1–13, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00578>

UL HAQ, Saeed *et al.* Heat shock proteins: Dynamic biomolecules to counter plant biotic and abiotic stresses. **International Journal of Molecular Sciences**, [S. I.J., v. 20, n. 21, p. 1–31, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms20215321>

UPRETY, D. C. *et al.* Responses of rice cultivars to the elevated CO₂. **Biologia Plantarum**, [S. I.J., v. 46, n. 1, p. 35–39, 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1023/A:1022349814670>

USMAN, Magaji G. *et al.* Molecular analysis of Hsp70 mechanisms in plants and their function in response to stress. **Biotechnology and Genetic Engineering Reviews**, [S. I.J., v. 33, n. 1, p. 26–39, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/02648725.2017.1340546>

VARANASI, Aruna; PRASAD, P. V. Vara; JUGULAM, Mithila. **Impact of Climate Change Factors on Weeds and Herbicide Efficacy**. [S. I.J.: Elsevier Inc., 2016. v. 135E-book. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/bs.agron.2015.09.002>

VERRILLO, Francesca *et al.* Elevated field atmospheric CO₂ concentrations affect the characteristics of winter wheat (cv. Bologna) grains. **Crop and Pasture Science**, [S. I.J., v. 68, n. 8, p. 713–725, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1071/CP17156>

WAHAB, M. M. S. *et al.* Identification of differentially expressed genes under heat stress conditions in rice (*Oryza sativa* L.). **Molecular Biology Reports**, [S. I.J., v. 47, n. 3, p. 1935–1948, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11033-020-05291-z>

WALTER, Julia *et al.* Ecological stress memory and cross stress tolerance in plants in the face of climate extremes. **Environmental and Experimental Botany**, [S. I.J., v. 94, p. 3–8, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2012.02.009>

WANG, Anquan *et al.* Overexpression of a small heat-shock-protein gene enhances tolerance to abiotic stresses in rice. **Plant Breeding**, [S. I.J., v. 134, n. 4, p. 384–393, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/pbr.12289>

WANG, Bin *et al.* Leaf photosynthesis and stomatal conductance acclimate to elevated [CO₂] and temperature thus increasing dry matter productivity in a double rice cropping system. **Field Crops Research**, [S. I.], v. 248, n. January, 2020 a. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2020.107735>

WANG, Jianqing *et al.* Changes in grain protein and amino acids composition of wheat and rice under short-term increased [CO₂] and temperature of canopy air in a paddy from East China. **New Phytologist**, [S. I.], v. 222, n. 2, p. 726–734, 2019 a. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/nph.15661>

WANG, W. *et al.* Gene expression characteristics and regulation mechanisms of superoxide dismutase and its physiological roles in plants under stress. **Biochemistry (Moscow)**, [S. I.], v. 81, n. 5, p. 465–480, 2016 a. Disponível em: <https://doi.org/10.1134/S0006297916050047>

WANG, Wangxia *et al.* Role of plant heat-shock proteins and molecular chaperones in the abiotic stress response. **Trends in Plant Science**, [S. I.], v. 9, n. 5, p. 244–252, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2004.03.006>

WANG, Weilu *et al.* Elevated CO₂ cannot compensate for japonica grain yield losses under increasing air temperature because of the decrease in spikelet density. **European Journal of Agronomy**, [S. I.], v. 99, n. December 2017, p. 21–29, 2018 a. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.eja.2018.06.005>

WANG, Weilu *et al.* Elevated CO₂-induced changes in cytokinin and nitrogen metabolism are associated with different responses in the panicle architecture of two contrasting rice genotypes. **Plant Growth Regulation**, [S. I.], v. 89, n. 2, p. 119–129, 2019 b. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10725-019-00511-4>

WANG, Weilu *et al.* Yield, dry matter distribution and photosynthetic characteristics of rice under elevated CO₂ and increased temperature conditions. **Field Crops Research**, [S. I.], v. 248, p. 1–11, 2019 c. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2019.107605>

WANG, Xiao *et al.* Multiple heat priming enhances thermo-tolerance to a later high temperature stress via improving subcellular antioxidant activities in wheat seedlings. **Plant Physiology et Biochemistry**, [S. I.], v. 74, p. 185–192, 2014 a. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2013.11.014>

WANG, Xiao *et al.* Drought priming at vegetative growth stages improves tolerance to drought and heat stresses occurring during grain filling in spring wheat. **Plant Growth Regulation**, [S. I.], 2014 b. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10725-014-9969-x>

WANG, Xiao *et al.* Heat Priming Induces Trans-generational Tolerance to High Temperature Stress in Wheat. **Frontiers in Plant Science**, [S. I.], v. 7, n. April, p. 1–12, 2016 b. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00501>

WANG, Xiao *et al.* Osmolyte accumulation plays important roles in the drought priming induced tolerance to post-anthesis drought stress in winter wheat (*Triticum aestivum* L.). **Environmental and Experimental Botany**, [S. I.], v. 166, n. July, p. 1–10, 2019 d. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2019.103804>

WANG, Xiao *et al.* Abscisic acid and jasmonic acid are involved in drought priming-induced tolerance to drought in wheat. **The Crop Journal**, [S. I.], n. 1–13, 2020 b.

Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cj.2020.06.002>

WANG, Xiao Ling *et al.* No post-drought compensatory growth of corns with root cutting based on cytokinin induced by roots. **Agricultural Water Management**, [S. I.], v. 205, n. April, p. 9–20, 2018 b. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2018.04.035>

WANG, Xiao Ling *et al.* Effects of plant population density and root-induced cytokinin on the corn compensatory growth during post-drought rewatering. **PLoS ONE**, [S. I.], v. 13, n. 6, p. 1–16, 2018 c. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0198878>

WANG, Xiulin *et al.* Parental Drought-Priming Enhances Tolerance to Post-anthesis Drought in Offspring of Wheat. **Frontiers in Plant Science**, [S. I.], v. 9, n. March, p. 1–13, 2018 d. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00261>

WELLBURN, Alan R. The Spectral Determination of Chlorophylls a and b, as well as Total Carotenoids, Using Various Solvents with Spectrophotometers of Different Resolution. **Journal of Plant Physiology**, [S. I.], v. 144, n. 3, p. 307–313, 1994. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(11\)81192-2](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(11)81192-2)

WILLEKENS, Hilde *et al.* Catalase is a sink for H₂O₂ and is indispensable for stress defence in C₃ plants. **EMBO Journal**, [S. I.], v. 16, n. 16, p. 4806–4816, 1997. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/emboj/16.16.4806>

WU, Chao *et al.* Enclosed stigma contributes to higher spikelet fertility for rice (*Oryza sativa* L.) subjected to heat stress. **Crop Journal**, [S. I.], v. 7, n. 3, p. 335–349, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cj.2018.11.011>

WU, Jianqiang *et al.* Spermidine-mediated hydrogen peroxide signaling enhances the antioxidant capacity of salt-stressed cucumber roots. **Plant Physiology and Biochemistry**, [S. I.], v. 128, p. 152–162, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jplphys.2018.05.002>

WU, Ting-ying *et al.* Interplay between Heat Shock Proteins HSP101 and HSA32 Prolongs Heat Acclimation Memory. **Plant Physiology**, [S. I.], v. 161, n. April, p. 2075–2084, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1104/pp.112.212589>

WU, Zhiwei *et al.* Exogenous spermidine improves salt tolerance of pecan - grafted seedlings via activating antioxidant system and inhibiting the enhancement of - Na⁺/K⁺ ratio. **Acta Physiologiae Plantarum**, [S. I.], v. 42, p. 1–13, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11738-020-03066-4>

XING, Yongzhong; ZHANG, Qifa. Genetic and molecular bases of rice yield. **Annual Review of Plant Biology**, [S. I.], v. 61, p. 421–442, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042809-112209>

XIONG, Haiyan *et al.* Natural variation in OsLG3 increases drought tolerance in rice by inducing ROS scavenging. **Plant Physiology**, [S. I.], v. 178, n. 1, p. 451–467, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1104/pp.17.01492>

XU, Junxu *et al.* The interaction between nitrogen availability and auxin, cytokinin, and strigolactone in the control of shoot branching in rice (*Oryza sativa* L.). **Plant Cell Reports**, [S. I.], v. 34, n. 9, p. 1647–1662, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00299-015-1815-8>

XU, Mei Ling *et al.* Transcriptome Reveals the Rice Response to Elevated Free Air

CO₂ Concentration and TiO₂ Nanoparticles. **Environmental Science and Technology**, [S. I.], v. 53, n. 20, p. 11714–11724, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.est.9b02182>

XU, Zhenzhu *et al.* Effects of elevated CO₂, warming and precipitation change on plant growth, photosynthesis and peroxidation in dominant species from North China grassland. **Planta**, [S. I.], v. 239, n. 2, p. 421–435, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00425-013-1987-9>

XU, Zhenzhu *et al.* Elevated-CO₂ Response of Stomata and Its Dependence on Environmental Factors. **Frontiers in Plant Science**, [S. I.], v. 7, n. May, p. 1–15, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00657>

XUE, Da-wei *et al.* Characterization of physiological response and identification of associated genes under heat stress in rice seedlings. **Plant Physiology et Biochemistry**, [S. I.], v. 61, p. 46–53, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2012.08.011>

YADAV, Renu; JUNEJA, Sumandeep; KUMAR, Sanjeev. Cross priming with drought improves heat-tolerance in chickpea (*Cicer arietinum* L.) by stimulating small heat shock proteins and antioxidative defense. **Environmental Sustainability**, [S. I.], v. 4, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s42398-020-00156-4>

YAMAKAWA, Hiromoto; HAKATA, Makoto. Atlas of Rice Grain Filling-Related Metabolism under High Temperature: Joint Analysis of Metabolome and Transcriptome Demonstrated Inhibition of Starch Accumulation and Induction of Amino Acid Accumulation. **Plant and Cell Physiology**, [S. I.], v. 51, n. 5, p. 795–809, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/pcp/pcq034>

YAMORI, Wataru; HIKOSAKA, Kouki; WAY, Danielle A. Temperature response of photosynthesis in C3, C4, and CAM plants: Temperature acclimation and temperature adaptation. **Photosynthesis Research**, [S. I.], v. 119, n. 1–2, p. 101–117, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11120-013-9874-6>

YANG, Lianxin *et al.* The impact of free-air CO₂ enrichment (FACE) and N supply on yield formation of rice crops with large panicle. **Field Crops Research**, [S. I.], v. 98, n. 2–3, p. 141–150, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2005.12.014>

YANG, Lianxin *et al.* Seasonal changes in the effects of free-air CO₂ enrichment (FACE) on growth, morphology and physiology of rice root at three levels of nitrogen fertilization. **Global Change Biology**, [S. I.], v. 14, n. 8, p. 1844–1853, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2008.01624.x>

YANG, Lianxin *et al.* Impact of elevated CO₂ concentration on inter-subspecific hybrid rice cultivar Liangyoupeiji under fully open-air field conditions. **Field Crops Research**, [S. I.], v. 112, n. 1, p. 7–15, 2009 a. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2009.01.008>

YANG, Lianxin *et al.* Yield formation of CO₂-enriched inter-subspecific hybrid rice cultivar Liangyoupeiji under fully open-air field condition in a warm sub-tropical climate. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, [S. I.], v. 129, n. 1–3, p. 193–200, 2009 b. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.agee.2008.08.016>

YANG, Pingfang *et al.* Proteomic analysis of rice (*Oryza sativa*) seeds during germination. **Proteomics**, [S. I.], v. 7, n. 18, p. 3358–3368, 2007. Disponível em:

<https://doi.org/10.1002/pmic.200700207>

YANG, Xiaolong *et al.* The different influences of drought stress at the flowering stage on rice physiological traits, grain yield, and quality. **Scientific Reports**, [S. I.], v. 9, n. 1, p. 1–12, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-40161-0>

YANG, Xiaolong *et al.* Photosynthetic response mechanism of soil salinity-induced cross-tolerance to subsequent drought stress in tomato plants. **Plants**, [S. I.], v. 9, p. 1–15, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/plants9030363>

YE, Nenghui *et al.* Ascorbic acid and reactive oxygen species are involved in the inhibition of seed germination by abscisic acid in rice seeds. **Journal of Experimental Botany**, [S. I.], v. 63, n. 5, p. 1809–1822, 2012 a. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jxb/err336>

YE, S. *et al.* Expression profile analysis of 9 heat shock protein genes throughout the life cycle and under abiotic stress in rice. **Chinese Science Bulletin**, [S. I.], v. 57, n. 4, p. 336–343, 2012 b. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11434-011-4863-7>

YI, Changyu *et al.* High atmospheric carbon dioxide-dependent alleviation of salt stress is linked to RESPIRATORY BURST OXIDASE 1 (RBOH1) -dependent H₂O₂ production in tomato (*Solanum lycopersicum*). **Journal of Experimental Botany**, [S. I.], v. 66, n. 22, p. 7391–7404, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jxb/erv435>

YOSHIDA, S. **Fundamentals of Rice Crop Science**. 269p., 1981.

YOSHIMOTO, Mayumi *et al.* The Effects of FACE (Free-Air CO₂ Enrichment) on Temperatures and Transpiration of Rice Panicles at Flowering Stage. **Journal of Agricultural Meteorology**, [S. I.], v. 60, n. 5, p. 597–600, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.2480/agrmet.597>

YOSHINAGA, Satoshi *et al.* Analysis of factors related to varietal differences in the yield of rice (*Oryza sativa* L.) under Free-Air CO₂ Enrichment (FACE) conditions. **Plant Production Science**, [S. I.], v. 23, n. 1, p. 19–27, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/1343943X.2019.1683455>

YU, Jingjin *et al.* Photosynthesis and protein metabolism associated with elevated CO₂ -mitigation of heat stress damages in tall fescue. **Environmental and Experimental Botany**, [S. I.], v. 99, p. 75–85, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2013.09.007>

ZANDALINAS, Sara I. *et al.* Plant adaptations to the combination of drought and high. **Physiologia Plantarum**, [S. I.], v. 162, p. 2–12, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/ppl.12540>

ZHANG, Caixia *et al.* Heat stress induces spikelet sterility in rice at anthesis through inhibition of pollen tube elongation interfering with auxin homeostasis in pollinated pistils. **Rice**, [S. I.], v. 11, n. 1, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12284-018-0206-5>

ZHANG, Guoyou *et al.* Grain growth of different rice cultivars under elevated CO₂ concentrations affects yield and quality. **Field Crops Research**, [S. I.], v. 179, p. 72–80, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2015.04.006>

ZHANG, Huan *et al.* Stomatal movements are involved in elevated CO₂-mitigated high temperature stress in tomato. **Physiologia Plantarum**, [S. I.], v. 165, p. 569–583, 2019

- a. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/ppl.12752>
- ZHANG, Jishuang *et al.* The potential role of sucrose transport gene expression in the photosynthetic and yield response of rice cultivars to future CO₂ concentration. **Physiologia Plantarum**, [S. I.], v. 168, p. 218–226, 2020 a. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/ppl.12973>
- ZHANG, Jun Huan *et al.* Accumulation and subcellular localization of heat shock proteins in young grape leaves during cross-adaptation to temperature stresses. **Scientia Horticulturae**, [S. I.], v. 117, n. 3, p. 231–240, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2008.04.012>
- ZHANG, Peng *et al.* Association Mapping for Important Agronomic Traits in Core Collection of Rice (*Oryza sativa L.*) with SSR Markers. **Plos One**, [S. I.], v. 9, n. 10, p. 1–16, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0111508>
- ZHANG, Peng *et al.* Genome-wide association study of important agronomic traits within a core collection of rice (*Oryza sativa L.*). **BMC Plant Biology**, [S. I.], v. 19, n. 1, p. 1–12, 2019 b. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12870-019-1842-7>
- ZHANG, Qiang *et al.* Elevated CO₂ concentration affects the defense of tobacco and melon against lepidopteran larvae through the jasmonic acid signaling pathway. **Scientific Reports**, [S. I.], v. 10, p. 1–11, 2020 b. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-60749-1>
- ZHANG, Wei *et al.* Cytokinin oxidase/dehydrogenase OsCKX11 coordinates source and sink relationship in rice by simultaneous regulation of leaf senescence and grain number. **Plant Biotechnology Journal**, [S. I.], p. 1–16, 2020 c. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/pbi.13467>
- ZHANG, Xiaxiang *et al.* Protein phosphorylation associated with drought priming-enhanced heat tolerance in a temperate grass species. **Horticulture Research**, [S. I.], v. 7, n. 1, p. 1–12, 2020 d. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41438-020-00440-8>
- ZHANG, Yi *et al.* Elevated CO₂ improves antioxidant capacity , ion homeostasis , and polyamine metabolism in tomato seedlings under Ca (NO₃)₂ -induced salt stress. **Scientia Horticulturae**, [S. I.], v. 273, n. August, p. 1–7, 2020 e. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109644>
- ZHAO, Jianguo *et al.* Plant responses to heat stress: Physiology, transcription, noncoding rnas, and epigenetics. **International Journal of Molecular Sciences**, [S. I.], v. 22, n. 1, p. 1–14, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms22010117>
- ZHENG, Yunpu *et al.* Elevated CO₂ concentration induces photosynthetic down-regulation with changes in leaf structure, non-structural carbohydrates and nitrogen content of soybean. **BMC Plant Biology**, [S. I.], v. 19, n. 1, p. 1–18, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12870-019-1788-9>
- ZHOU, Yanhong *et al.* A novel CO₂-responsive systemic signaling pathway controlling plant mycorrhizal symbiosis. **New Phytologist**, [S. I.], v. 224, n. 1, p. 106–116, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/nph.15917>
- ZHU, Chunwu *et al.* The temporal and species dynamics of photosynthetic acclimation in flag leaves of rice (*Oryza sativa*) and wheat (*Triticum aestivum*) under elevated

carbon dioxide. **Physiologia Plantarum**, [S. I.], v. 145, n. 3, p. 395–405, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2012.01581.x>

ZHU, Chunwu *et al.* Vulnerability of lodging risk to elevated CO₂ and increased soil temperature differs between rice cultivars. **European Journal of Agronomy**, [S. I.], v. 46, p. 20–24, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.eja.2012.11.007>

ZHU, Chunwu *et al.* Biochemical and molecular characteristics of leaf photosynthesis and relative seed yield of two contrasting rice cultivars in response to elevated [CO₂]. **Journal of Experimental Botany**, [S. I.], v. 65, n. 20, p. 6049–6056, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jxb/eru344>

ZHU, Chunwu *et al.* An indica rice genotype showed a similar yield enhancement to that of hybrid rice under free air carbon dioxide enrichment. **Scientific Reports**, [S. I.], v. 5, n. July, p. 1–9, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/srep12719>

ZHU, Guohui; YE, Nenghui; ZHANG, Jianhua. Glucose-induced delay of seed germination in rice is mediated by the suppression of ABA catabolism rather than an enhancement of ABA biosynthesis. **Plant and Cell Physiology**, [S. I.], v. 50, n. 3, p. 644–651, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/pcp/pcp022>

ZINTA, Gaurav *et al.* Physiological, biochemical, and genome-wide transcriptional analysis reveals that elevated CO₂ mitigates the impact of combined heat wave and drought stress in *Arabidopsis thaliana* at multiple organizational levels. **Global Change Biology**, [S. I.], v. 20, n. 12, p. 3670–3685, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/gcb.12626>

ZINTA, Gaurav *et al.* Dynamics of metabolic responses to periods of combined heat and drought in *Arabidopsis thaliana* under ambient and elevated atmospheric CO₂. **Journal of Experimental Botany**, [S. I.], v. 69, n. 8, p. 2159–2170, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jxb/ery055>

ZISKA, Lewis H. *et al.* Security and climate change: On the potential to adapt global crop production by active selection to rising atmospheric carbon dioxide. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, [S. I.], v. 279, n. 1745, p. 4097–4105, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1098/rspb.2012.1005>

ZISKA, Lewis H. The role of climate change and increasing atmospheric carbon dioxide on weed management: Herbicide efficacy. **“Agriculture, Ecosystems and Environment”**, [S. I.], v. 231, p. 304–309, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.agee.2016.07.014>

ZISKA, Lewis H.; MANALO, Paz A.; ORDONEZ, Raymond A. Intraspecific variation in the response of rice (*Oryza sativa* L.) to increased CO₂ and temperature: Growth and yield response of 17 cultivars. **Journal of Experimental Botany**, [S. I.], v. 47, n. 302, p. 1353–1359, 1996. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jxb/47.9.1353>

ZISKA, Lewis H.; TERAMURA, Alan H. Intraspecific variation in the response of rice (*Oryza sativa*) to increased CO₂ - photosynthetic, biomass and reproductive characteristics. **Physiologia Plantarum**, [S. I.], n. 84, p. 269–276, 1992.

ZISKA, Lewis H.; TOMECEK, Martha B.; GEALY, David R. Assessment of cultivated and wild, weedy rice lines to concurrent changes in CO₂ concentration and air temperature : determining traits for enhanced seed yield with increasing atmospheric CO₂. **Functional Plant Biology**, [S. I.], n. 41, p. 236–243, 2014.

ZOU, Jie *et al.* Expression analysis of nine rice heat shock protein genes under abiotic stresses and ABA treatment. **Journal of Plant Physiology**, [S. I.], v. 166, n. 8, p. 851–861, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2008.11.007>

ZUTHER, Ellen *et al.* Molecular signatures associated with increased freezing tolerance due to low temperature memory in *Arabidopsis*. **Plant Cell and Environment**, [S. I.], v. 42, n. 3, p. 854–873, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/pce.13502>

Vita

Anderson da Rosa Feijó, nascido em 29 de janeiro de 1989 na cidade de Pelotas – Rio Grande do Sul. Filho do industrial João Carlos Tavares Feijó e da pedagoga Isabel Cristina da Rosa Feijó. No ano de 2009, logo após a conclusão do serviço militar obrigatório do Exército Brasileiro, deu início a sua vida acadêmica ingressando como aluno na Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), durante o período de graduação foi estagiário e bolsista de iniciação científica no Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas do Instituto de Biologia sob a orientação do Professor Dr. Valmor João Bianchi. No ano de 2014 tornou-se Engenheiro Agrônomo, e ainda no mesmo ano ingressou como aluno de mestrado no Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal (PPGFV - UFPel). Desenvolveu sua dissertação de mestrado com ênfase na área de Herbologia sob a orientação do Professor Ph.D. Luis Antonio de Avila. No ano de 2016 obteve o título de Mestre em Fisiologia Vegetal. E ainda em 2016 ingressou no curso de doutorado do PPGFV – UFPel, onde desenvolveu sua tese com ênfase em estudos dos impactos das mudanças climáticas sobre a cultura do arroz, também sob a orientação do Professor Avila.