

JURACY BARROSO NETO

**EFEITO DO AUMENTO DA CONCENTRAÇÃO DE CO₂ AMBIENTE NA
EFICIÊNCIA FOTOSSINTÉTICA E PROTEÇÃO OXIDATIVA EM PLANTAS
DE ARROZ SUBMETIDAS AO DÉFICIT HÍDRICO**

Serra Talhada – PE

2019

**B
A
R
R
O
S
O**

**N
E
T
O**

J

**E
F
E
I
T
O**

**C
O
2**

**2
0
1
9**

JURACY BARROSO NETO

**EFEITO DO AUMENTO DA CONCENTRAÇÃO DE CO₂ AMBIENTE NA
EFICIÊNCIA FOTOSSINTÉTICA E PROTEÇÃO OXIDATIVA EM PLANTAS
DE ARROZ SUBMETIDAS AO DÉFICIT HÍDRICO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Serra Talhada, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

Orientador: Sérgio Luiz Ferreira da Silva

Serra Talhada – PE

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE
Biblioteca da UAST, Serra Talhada-PE, Brasil

B277e Barroso Neto, Juracy

Efeito do aumento da concentração de CO₂ ambiente na eficiência fotossintética e proteção oxidativa em plantas de arroz submetidas ao déficit hídrico / Juracy Barroso Neto. - Serra Talhada, 2019.

99 f. : il.

Orientador: Sérgio Luiz Ferreira da Silva

Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Serra Talhada, Serra Talhada, PE, 2019.

Inclui referências.

1. Dióxido de carbono. 2. Déficit hídrico. 3. Fotossíntese. I. Silva, Sérgio Luiz Ferreira da, orient. II. Título.

CDD 631

EFEITO DO AUMENTO DA CONCENTRAÇÃO DE CO₂ AMBIENTE NA
EFICIÊNCIA FOTOSSINTÉTICA E PROTEÇÃO OXIDATIVA EM PLANTAS DE
ARROZ SUBMETIDAS AO DÉFICIT HÍDRICO

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Serra Talhada, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

APROVADO em ____ / ____ / ____.

Banca Examinadora

Prof. DSc. Sérgio Luiz Ferreira da Silva – UAST/UFRPE

Orientador

Prof. DSc. Adriano do Nascimento Simões – UAST/UFRPE

Examinador Interno

Prof. DSc. Milton Costa Lima Neto - UNESP

Examinador Externo

Ao todo poderoso, dono de toda ciência, sabedoria e poder: Deus;
Aos meus avós: Juracy Barroso (*in memoriam*) e Celina Bastos (*in memoriam*),
Miguel Rodrigues (*in memoriam*) e Maria Raimunda;
Aos meus pais, Juracy Filho e Mirian;

Dedico.

AGRADECIMENTOS

A DEUS, por tudo! Pelos melhores caminhos que me concede e por tantas pessoas de bom coração ao meu redor;

Aos meus pais, Juracy Filho e Mirian, por todo o amor e ensinamentos a mim investidos;

Às minhas irmãs, Pedrita e Celina, por toda torcida e fraternidade;

À Maiara Lima, minha namorada, por “...coisas que só entendi quando te conheci...”;

Ao meu orientador, Sérgio Luiz, pelo conhecimento compartilhado durante o período, e pela confiança e parceria;

Ao meu irmão preto e amigo, companheiro de moradia, Gilberto Sobral.

Aos meus 1 milhão de amigos, representados aqui por Júnior Marcos, Dilly, Mayanne, Tayryne, Juli, Tâmara, Anderson, Joan, Laécia, Joana e Jéssica;

Aos meus amigos e colegas do tempo de graduação, representados aqui por Giselle, Amanda, Marcelle, Tássio e Matheus;

À Thialla Laranjeira Amorim, minha irmã/amiga e companheira de mestrado/grupo de pesquisa;

Aos amigos (pérolas) da melhor turma de Produção Vegetal da UAST: Raliuson, Renilson, Maria Aparecida, Alexandre, George, Elisângela, Andréa e Naiara;

Aos amigos e técnicos administrativos Iago Pereira e Arnaldo Nogueira;

Aos meus amigos e colegas egressos do Mestrado (PPGPV), representados aqui por Samara, Franquiele, Denizard, Luana, Jorge e Aline.

Aos amigos futuros mestres do PPGPV, representados aqui por Cinara, Marcondes, Marcela, João Paulo, Laamon, Lypson, Mirna, Janaína e Cléa;

Aos alunos da graduação (Agronomia) da UAST, em especial aos amigos e colegas do grupo de pesquisa: Adriana, Manu, Pedro, Maiany, Thaís e Vitor;

Aos amigos que construí em Serra Talhada e região, representados aqui por Mery, Edinete, Aninha, Fernanda, Glícia, Ítala, Thayná, Maria, Luana, Marília, Olímpio e Marlos.

Aos Doutores, pela amizade e valiosa ajuda: Gabi, Kelem, Zé Neto, Thalyta e Alan;

Aos Professores da UAST e do PPGPV, aqui representados por Adriano, Rogério, Eduardo, André Lima, Thieres, Maurício, Alexandre, Guilherme e Vicente.

Aos servidores e terceirizados da UAST, aqui representados por Dona Lucy, Andréia, Marquinhos e Ricardo.

Olho para os montes e pergunto: de onde virá o meu socorro?
O meu socorro vem do Senhor, que fez os céus e a terra...
Ele, o seu Protetor, está sempre alerta e não deixará que você caia
O Protetor do povo de Israel nunca dorme, nem cochila
O Senhor guardará você. Ele está sempre ao teu lado para protegê-lo
O sol não lhe fará mal de dia, nem a lua de noite
O Senhor guardará você de todo perigo. Ele protegerá a sua vida
Ele te guardará quando você for e quando voltar, agora e para sempre!

RESUMO GERAL

A escassez de água e as mudanças previstas no clima, como o aumento das concentrações de CO₂ atmosférico, poderão afetar o crescimento e produtividade das plantas cultivadas e gerar variadas respostas, incluindo mudanças morfológicas, fisiológicas, bioquímicas e moleculares. O déficit hídrico afeta negativamente a fotossíntese, enquanto que o aumento do CO₂ pode beneficiar as plantas e atenuar os danos foto-oxidativos, principalmente em espécies de metabolismo C₃. No entanto, as respostas precisas à combinação de seca e CO₂ elevado ainda são pouco compreendidas e não podem ser extrapoladas diretamente dos efeitos de cada um desses agentes aplicados isoladamente. Este trabalho procurou compreender os efeitos benéficos do CO₂ nos mecanismos de resistência à seca em plantas de arroz. Para isso, a cultivar São Francisco foi cultivada em câmara climática, com condições de temperatura, umidade relativa e concentração de CO₂ controladas, e submetida a dois níveis de umidade no substrato (bem irrigado e déficit hídrico) e duas concentrações de CO₂ (ambiente e elevada), num esquema fatorial 2x2. O estudo encontrou resultados que confirmam os efeitos benéficos do incremento do CO₂ sobre as plantas e um efeito atenuante à seca em plantas de arroz. Este efeito está principalmente associado a manutenção do estado da água, maior eficiência fotossintética e regulação nos processos de absorção de luz e antioxidativos. Além disso, foi possível evidenciar a complexidade do processo de fotorrespiração, o qual pode ser regulado por outras vias alternativas, que podem influenciar a perda ou a recuperação de carbono durante as reações de sensibilidade ou resistência ao déficit hídrico.

Palavras-chave: CO₂ elevado; Déficit hídrico; Estresse Oxidativo; Fotossíntese; Fotorrespiração; *Oryza sativa*;

GENERAL ABSTRACT

Water scarcity and predicted climate changes, such as increased CO₂ atmospheric concentrations, may affect the growth and productivity of cultivated plants and generating varied responses, including changes morphological, physiological, biochemical and molecular. Water deficit negatively affects photosynthesis, whereas CO₂ increase can benefit plants and attenuate photo-oxidative damage, especially in C₃ metabolism species. However, precise responses to the combination of high CO₂ and water deficit are still poorly understood and cannot be extrapolated directly from the effects of each of these separately applied agents. This work aimed to understand the beneficial effects of increasing CO₂ on the mechanisms of resistance to drought in rice plants. The cv. San Francisco was cultivated in a climatic chamber, under controlled conditions of temperature, relative humidity and CO₂ concentration, and submitted to two moisture levels in the substrate (well-watered and water deficit) and two concentrations of CO₂ (environment and elevated), in a 2x2 factorial scheme. The study found results that confirm the beneficial effects of increased CO₂ on plants and an attenuating effect on water deficit in rice plants. This effect is mainly associated to the maintenance of the water state, greater photosynthetic efficiency and the regulation of light absorption and antioxidatives processes. In addition, it was possible to demonstrate the complexity of the photorespiration process, which can be regulated by other alternative routes, influencing the loss or recovery of carbon during the sensitivity or resistance to water deficit reactions.

Keywords: High CO₂; Water Deficit; Oxidative Stress; Photosynthesis; Photorespiration; *Oryza sativa*;

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

C_i	Concentração intercelular de carbono
Chl	Clorofila
$DFFF$	Densidade de fluxo de fótons fotossintéticos
E	Transpiração
ETR	Taxa relativa de transporte de elétrons
EUA	Eficiência no uso da água
$EIUA$	Eficiência intrínseca no uso da água
F_m	Fluorescência máxima
F_o	Fluorescência inicial
FSI	Fotossistema I
$FSII$	Fotossistema II
F_v/F_m	Eficiência quântica máxima do fotossistema II
g_s	Condutância estomática
g_m	Condutância mesofílica
$IRAR$	Índice relativo de assimilação de CO ₂ pela Rubisco
J_{max}	Taxa máxima de transporte fotossintético de elétrons
J_{max}/P_N	Relação de excesso de elétrons
LCP	Ponto de compensação de luz
NPQ	Quenching não fotoquímico
P_N	Assimilação líquida de CO ₂
P_{Nmax}	Taxa máxima de absorção de CO ₂
P_N/C_i	Eficiência de carboxilação
P_R	Taxa de fotorrespiração
qP	Quenching fotoquímico
$\Delta F/F_m'$	Eficiência quântica atual do FSII
ϕ	Rendimento quântico aparente
R_l	Respiração na presença de luz
R_d	Respiração no escuro
$RuBP$	Ribulose-1,5-bisfosfato
$Rubisco$	Ribulose-1,5-bisfosfatase carboxilase/oxigenase
$TBARS$	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
V_{Cmax}	Taxa máxima de carboxilação da Rubisco

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

Figura 1. Vias fotorrespiratória nativa (cinza) e alternativas (coloridas) no tabaco. Três vias alternativas [1 (vermelho), 2 (azul escuro) e 3 (azul claro)] foram introduzidas nos cloroplastos do tabaco para uma reciclagem mais eficiente do glicolato. O RNAi suprime o transportador nativo de glicolato/glicerato PLGG1 para evitar que o glicolato saia do cloroplasto e entre na via nativa (cinza). (SOUTH et al., 2019). _____ 28

Figura 2. Formação de diferentes espécies reativas de oxigênio e nitrogênio. O oxigênio atmosférico (O_2) é excitado ou reduzido formando o oxigênio singlete (1O_2), radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), sendo que este último interage com Fe^{2+} para formar radicais hidroxila (OH^{\cdot}) através da reação de Fenton (MITTLER, 2016). _____ 29

Figura 3. Produção de EROs na célula vegetal. AP, apoplasto; PM, membrana plasmática; CW, parede celular; MT, mitocôndria; CHL, cloroplasto; PX, peroxissomo; N, núcleo; AOX, oxidase alternativa; KCN, cianeto de potássio; PRXs, peroxidases; AQP, aquaporinas; PSI, fotossistema I; PSII, fotossistema II; PQ, plastoquinona; MV, paraquat; APX, peroxidase de ascorbato; CAT2, catalase2; SOD, superóxido dismutase; RBOH, homólogo de oxidase de explosão respiratória. (VAAHTERA et al., 2014). _ 30

Figura 4. Rotas de desintoxicação de espécies reativas de oxigênio (EROS) em plantas. (a) O ciclo água-água. (b) O ciclo ascorbato-glutationa. (c) O ciclo da glutatona peroxidase (GPX). (d) Catalase (CAT). (adaptado de MITTLER, 2006). _____ 33

Figura 5. Efeitos induzidos pelo CO_2 elevado na fotossíntese, condutância estomática e nas respostas do crescimento das plantas (círculo verde = cloroplasto; laranjas = células epidérmicas; semicírculos = estômatos; seta vermelha indica aumento; e seta azul indica diminuição) (GAMAGE et al., 2018). _____ 37

CAPÍTULO II

Figura 1. Aspecto visual de plantas e percentagem de alocação de biomassa em folhas, colmo e raízes de arroz submetidas a duas umidades do substrato (bem irrigado e déficit hídrico) e duas concentrações de CO_2 [(ambiente ($380 \mu mol mol^{-1}$) e elevada ($760 \mu mol mol^{-1}$)]], crescidas sob condições controladas por câmara de crescimento por 55 dias e 20 DT. _____ 90

Figura 2. Curvas de assimilação líquida de CO₂ (P_N), condutância estomática (g_s) e concentração intercelular de CO₂ (C_i) em resposta ao aumento da densidade de fluxo de fótons fotossintéticos – DFFF e a pressão intercelular parcial de CO₂ em plantas de arroz submetidas a duas umidades do substrato (bem irrigado e déficit hídrico) e duas concentrações de CO₂ [(ambiente (380 μmol mol⁻¹) e elevada (760 μmol mol⁻¹)], crescidas sob condições controladas por câmara de crescimento. O desvio padrão é mostrado quando superior ao símbolo. _____ 91

Figura 3. Curvas dos parâmetros fotoquímicos em resposta ao aumento da DFFF em folhas de plantas de arroz submetidas a duas umidades do substrato (bem irrigado e déficit hídrico) e duas concentrações de CO₂ [(ambiente (380 μmol mol⁻¹) e elevada (760 μmol mol⁻¹)], crescidas sob condições controladas por câmara de crescimento por 55 dias e 20 DT. Quenching fotoquímico (qP), eficiência quântica atual do FSII (ΔF/F_m'), quenching não fotoquímico (NPQ), taxa relativa de transporte de elétrons (ETR), e eficiência máxima do fotossistema II (F_v/F_m). O desvio padrão é mostrado quando superior ao símbolo. _____ 92

Figura 4. Relação do excesso de elétrons - J_{max}/P_N (A), taxa fotorrespiratória - P_R (B), substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico – TBARS (C), e atividade da glicolato oxidase – GO (D) em folhas de plantas de arroz submetidas a duas umidades do substrato (bem irrigado e déficit hídrico) e duas concentrações de CO₂ [(ambiente (380 μmol mol⁻¹) e elevada (760 μmol mol⁻¹)], crescidas sob condições controladas por câmara de crescimento por 55 dias e 20 DT. Letras diferentes mostram diferença significativa pelo teste de Tukey a p < 0,05. O desvio padrão é mostrado quando superior à barra. _____ 93

Figura 5. *Western blot* e abundância relativa das enzimas Rubisco (A), glutamina sintetase citosólica - GS1 (C) e glutamina sintetase cloroplastídica - GS2 (D), e índice relativo de absorção de CO₂ pela Rubisco (B) em folhas de plantas de arroz submetidas a duas umidades do substrato (bem irrigado e déficit hídrico) e duas concentrações de CO₂ [(ambiente (380 μmol mol⁻¹) e elevada (760 μmol mol⁻¹)], crescidas sob condições controladas por câmara de crescimento por 55 dias e 20 DT. Letras diferentes mostram diferença significativa pelo teste de Tukey a p < 0,05. O desvio padrão é mostrado quando superior à barra. _____ 94

Figura 6. Conteúdo de carboidratos solúveis totais em folhas (A) e raízes (B) de plantas de arroz submetidas a duas umidades do substrato (bem irrigado e déficit hídrico) e duas concentrações de CO₂ [(ambiente (380 μmol mol⁻¹) e elevada (760 μmol mol⁻¹)], crescidas sob condições controladas por câmara de crescimento por 55 dias e 20 DT. Letras diferentes mostram diferença significativa pelo teste de Tukey a p < 0,05. O desvio padrão é mostrado quando superior à barra. _____ 95

Figura 1S. Curvas de transpiração (E) em resposta ao aumento da densidade de fluxo de fótons fotossintéticos – DFFF e a pressão intercelular parcial de CO₂ em plantas de arroz submetidas a duas umidades do substrato (bem irrigado e déficit hídrico) e duas concentrações de CO₂ [(ambiente (380 μmol mol⁻¹) e elevada (760 μmol mol⁻¹)], crescidas sob condições controladas por câmara de crescimento por 55 dias e 20 DT. O desvio padrão é mostrado quando superior à barra. _____ 96

Figura 2S. Curvas de eficiência de carboxilação (P_N/C_I) em resposta ao aumento da densidade de fluxo de fótons fotossintéticos – DFFF e a pressão intercelular parcial de CO₂ em plantas de arroz submetidas a duas umidades do substrato (bem irrigado e déficit hídrico) e duas concentrações de CO₂ [(ambiente (380 μmol mol⁻¹) e elevada (760 μmol mol⁻¹)], crescidas sob condições controladas por câmara de crescimento por 55 dias e 20 DT. O desvio padrão é mostrado quando superior à barra. _____ 97

Figura 3S. Assimilação líquida de CO₂ relativa (A) e eficiência intrínseca no uso da água (B) em plantas de arroz submetidas a duas umidades do substrato (bem irrigado e déficit hídrico) e duas concentrações de CO₂ [(ambiente (380 μmol mol⁻¹) e elevada (760 μmol mol⁻¹)], crescidas sob condições controladas por câmara de crescimento por 55 dias e 20 DT. Letras diferentes mostram diferença significativa pelo teste de Tukey a p < 0,05. O desvio padrão é mostrado quando superior ao símbolo. _____ 97

Figura 4S. Curvas de indução dos parâmetros fotoquímicos em resposta ao aumento do tempo de exposição a luz actínica em folhas de plantas de arroz submetidas a duas umidades do substrato (bem irrigado e déficit hídrico) e duas concentrações de CO₂ [(ambiente (380 μmol mol⁻¹) e elevada (760 μmol mol⁻¹)], crescidas sob condições controladas por câmara de crescimento por 55 dias e 20 DT. Quenching fotoquímico (qP), eficiência quântica atual do FSII (ΔF/Fm'), quenching não fotoquímico (NPQ), e taxa relativa de transporte de elétrons (ETR). O desvio padrão é mostrado quando superior ao símbolo. _____ 98

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO II

Tabela 1. Conteúdo relativo de água (CRA), carotenóides, clorofila a, b e totais, e relação clorofila a/b em plantas de arroz submetidas a duas umidades do substrato (bem irrigado e déficit hídrico) e duas concentrações de CO₂ [(ambiente (380 μmol mol⁻¹) e elevada (760 μmol mol⁻¹)], crescidas sob condições controladas por câmara de crescimento por 55 dias e 20 DT. _____ 88

Tabela 2. Massa seca (MS) e percentual de massa seca em plantas de arroz submetidas a duas umidades do substrato (bem irrigado e déficit hídrico) e duas concentrações de CO₂ [(ambiente (380 μmol mol⁻¹) e elevada (760 μmol mol⁻¹)], crescidas sob condições controladas por câmara de crescimento por 55 dias e 20 DT. _____ 88

Tabela 3. Eficiência no uso da água (EUA), eficiência de carboxilação (PN/C_I) e parâmetros associados à eficiência fotossintética calculados a partir dos ajustes nas curvas P_N/PPFD e P_N/C_I em plantas de arroz submetidas a duas umidades do substrato (bem irrigado e déficit hídrico) e duas concentrações de CO₂ [(ambiente (380 μmol mol⁻¹) e elevada (760 μmol mol⁻¹)], crescidas sob condições controladas por câmara de crescimento por 55 dias e 20 DT. _____ 89

Tabela 4. Atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX) e catalase (CAT) e conteúdos de ascorbato reduzido (ASA) e glutathiona reduzida (GSH) em folhas em plantas de arroz submetidas a duas umidades do substrato (bem irrigado e déficit hídrico) e duas concentrações de CO₂ [(ambiente (380 μmol mol⁻¹) e elevada (760 μmol mol⁻¹)], crescidas sob condições controladas por câmara de crescimento por 55 dias e 20 DT. _____ 89

Tabela 1S. Fluorescência inicial (F_o) e máxima (F_m) em folhas de plantas de arroz submetidas a duas umidades do substrato (bem irrigado e déficit hídrico) e duas concentrações de CO₂ [(ambiente (380 μmol mol⁻¹) e elevada (760 μmol mol⁻¹)], crescidas sob condições controladas por câmara de crescimento por 55 dias e 20 DT. 96

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	19
HIPÓTESE E OBJETIVOS	21
HIPÓTESE.....	21
OBJETIVO GERAL	21
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	21
CAPÍTULO I	23
CAPÍTULO I - REVISÃO DE LITERATURA: IMPACTOS DA ESCASSEZ HÍDRICA E DO AUMENTO DA CONCENTRAÇÃO ATMOSFÉRICA DE CO₂ NA PRODUÇÃO VEGETAL	24
1. DÉFICIT HÍDRICO	24
1.1 Impactos da seca no rendimento agrícola	24
1.2 Distúrbios metabólicos, moleculares e restrições de crescimento	25
1.3 Mudanças na atividade fotorrespiratória.....	26
2. METABOLISMO OXIDATIVO.....	28
2.1 Geração de EROs na célula vegetal	28
2.2. Danos oxidativos	31
2.3. Mecanismos de proteção oxidativa	32
3. IMPACTOS DO AUMENTO DA CONCENTRAÇÃO DE CO ₂	34
3.1. Interação com as mudanças climáticas e agricultura	34
3.2. Mudanças potenciais no metabolismo vegetal.....	35
4. A CULTURA DO ARROZ	40
CAPÍTULO II	54
CAPÍTULO II - O CO₂ ELEVADO COMPENSA OS EFEITOS DA SECA, MANTENDO A FOTOSSÍNTESE, FAVORECENDO O CRESCIMENTO E ATENUANDO OS DANOS OXIDATIVOS EM PLANTAS DE ARROZ	55
RESUMO.....	55
1. INTRODUÇÃO	56
2. MATERIAL E MÉTODOS	58
2.1 Modelo vegetal e condições de crescimento	58
2.2 Desenho experimental e análise estatística	59
2.3 Conteúdo relativo de água (CRA), biomassa e carboidratos solúveis	59
2.4 Conteúdo de clorofilas a, b e totais e carotenóides	60
2.5 Trocas gasosas.....	60
2.6 Fluorescência da clorofila a e parâmetros fotoquímicos.....	61

2.7 Extração de proteínas e atividades enzimáticas	62
2.8 Conteúdo de ascorbato reduzido (ASA) e glutathiona reduzida (GSH)	63
2.9 Conteúdo de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)	64
2.10 Immunoblot da Rubisco e Glutamina sintetase, e índice relativo de assimilação de CO ₂ pela Rubisco (IRAR)	64
3. RESULTADOS	65
3.1 Crescimento e caracterização fisiológica de plantas de arroz quando expostas a efeitos combinados de seca e elevado CO ₂	65
3.2 Efeitos benéficos do CO ₂ elevado nas trocas gasosas em plantas de arroz submetidas ao déficit hídrico.....	66
3.3 Modulação bioquímica na fotossíntese e componentes de fotorrespiração relacionam-se com o dano oxidativo em plantas de arroz submetidas a déficit hídrico sob elevado CO ₂	69
3.4 Componentes enzimáticos e não enzimáticos modulam pela seca associada ao CO ₂ elevado em plantas de arroz	71
4. DISCUSSÃO	72
5. CONCLUSÃO	78
6. REFERÊNCIAS.....	78
TABELAS	88
FIGURAS	90
MATERIAL SUPLEMENTAR.....	96
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	99

INTRODUÇÃO GERAL

As condições ambientais adversas impostas pelos fatores abióticos às plantas podem limitar a produtividade das culturas e as regiões nas quais elas podem ser exploradas. Com isso, torna-se de extrema importância entender como as plantas respondem à estas condições, na esperança de melhorar seu potencial produtivo. A seca é uma problemática que afeta a segurança alimentar em todo o mundo (KOGAN, 2019), sendo mais evidenciada e preocupante em regiões com precipitação reduzida (PAIVA et al., 2018). Ao serem submetidas à restrição hídrica, as plantas podem ter o seu crescimento comprometido, uma vez que a água desempenha papel crucial em processos vitais para a sua sobrevivência, como a fotossíntese (MOSHELION et al., 2015).

Os distúrbios metabólicos nas plantas submetidas ao estresse hídrico estão diretamente associados ao fechamento estomático, à diminuição da capacidade de carboxilação devido às limitações do influxo de CO₂ e à restrição da atividade carboxilase da Ribulose 1,5-bifosfato carboxilase oxigenase (Rubisco) (LAWLOR E CORNIC, 2002; ANDRIANASOLO et al., 2016). Do mesmo modo, nestas condições a fotorrespiração é intensificada (OBATA et al., 2016). Este processo é atrelado metabolicamente à assimilação fotossintética de CO₂, através da oxigenase desta mesma enzima (ANDRIANASOLO et al., 2016), produzindo peróxido de hidrogênio (H₂O₂), uma das espécies reativas de oxigênio (EROs).

As EROs são produtos da excitação do oxigênio molecular e servem como agentes sinalizadores produzidos em vários compartimentos celulares, principalmente nas mitocôndrias, cloroplastos e peroxissomos (FOYER E NOCTOR, 2003). No entanto, sob estresse, as plantas concentram uma quantidade desequilibrada dessas substâncias, que podem causar danos às membranas celulares e alterações enzimáticas, comprometendo seu desenvolvimento (MITTLER, 2002). A regulação e reparação desses componentes é realizada pela ativação de mecanismos enzimáticos e não enzimáticos específicos do próprio metabolismo da planta (proteção oxidativa).

Uma possibilidade de atenuar a limitação fotossintética e os danos oxidativos sob estresse hídrico seria aumentar a concentração de CO₂ no ambiente de crescimento da planta, o que poderia aumentar a relação CO₂/O₂, estimular a assimilação líquida de carbono e diminuir a fotorrespiração. Embora teoricamente possível, essa suposição ainda não encontra relatos claros na literatura, bem como estudos que explicam como e quais mecanismos bioquímico-fisiológicos estão precisamente relacionados à resistência ao estresse quando as plantas crescem sob esta condição. Da mesma forma, o

comportamento das plantas à combinação de CO₂ elevado e déficit hídrico não é bem conhecido, principalmente porque seus efeitos nem sempre atuam sinergicamente, ou seja, a resposta das plantas não representa a soma dos efeitos de cada um dos agentes aplicados isoladamente (ZANDALINAS et al., 2018).

O aumento na concentração de CO₂ atmosférico é uma das previsões relatadas nas mudanças climáticas pelo Painel Intergovernamental sobre Mudanças Climáticas (IPCC), esperada que duplique até o fim do século (XU et al., 2016). As atividades antropogênicas, especialmente a queima de combustíveis fósseis, são os principais contribuintes para o aumento das emissões e conseqüentemente da concentração de carbono atmosférico nas últimas décadas, modificando os padrões climáticos de precipitação e temperatura, e deixando incerto o futuro da produção alimentar (IPCC, 2018).

O arroz (*Oryza sativa*) é um dos alimentos mais consumidos do mundo, estando entre os três principais cereais produzidos, juntamente com o milho e o trigo (FAO, 2017). Esta espécie apresenta grande complexidade quanto à eficiência fotossintética e respiratória, uma vez que apresenta maior intensidade na atividade fotorrespiratória (plantas de metabolismo C3) (BRÄUTIGAM E GOWIK, 2016). Sob estresse, estas plantas tem a fotossíntese mais afetada em comparação com outras espécies C4 e CAM, tornando-se particularmente importante o entendimento do seu comportamento quando são submetidas à concentração elevada de CO₂.

Este estudo procura, portanto, abordar os mecanismos fisiológicos e bioquímicos das plantas relacionados tanto à seca quanto ao CO₂ elevado e também investigar os benefícios da resistência ao estresse hídrico quando as plantas são crescidas em ambiente com elevada concentração de CO₂.

HIPÓTESE E OBJETIVOS

HIPÓTESE

O aumento da concentração de CO₂ atmosférico atenua danos foto-oxidativos em plantas de arroz submetidas ao estresse hídrico.

OBJETIVO GERAL

Elucidar os mecanismos fisiológicos relacionados à eficiência fotossintética e proteção oxidativa em plantas de arroz submetidas ao estresse hídrico quando crescidas em ambiente com concentração elevada de CO₂.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Determinar o conteúdo relativo de água (CRA) e dos pigmentos clorofilas e carotenóides em plantas de arroz submetidas ou não ao déficit hídrico crescidas na presença de concentração ambiente (380 μmol mol⁻¹) e elevada de CO₂ (760 μmol mol⁻¹);
- ✓ Elaborar curvas de fotossíntese líquida (P_N) em resposta ao aumento de CO₂ na câmara foliar (curvas P_N/CO₂) e ao incremento da luminosidade, densidade de fluxo de fótons fotossintético (DFFF) (curvas P_N/DFFF) em plantas de arroz submetidas ou não ao déficit hídrico crescidas na presença de concentração ambiente (380 μmol mol⁻¹) e elevada de CO₂ (760 μmol mol⁻¹);
- ✓ Avaliar as mudanças nos parâmetros de fluorescência da clorofila a em plantas de arroz submetidas ou não ao déficit hídrico crescidas na presença de concentração ambiente (380 μmol mol⁻¹) e elevada de CO₂ (760 μmol mol⁻¹);
- ✓ Estimar a respiração no escuro (R_d), eficiência quântica aparente (φ), ponto de compensação de luz (LCP), taxa máxima de assimilação de CO₂ (P_{Nmax}), taxa máxima de carboxilação de Rubisco (V_{cmax}), taxa máxima de transporte de elétrons fotossintéticos (regeneração da Rubisco) (J_{max}), respiração na presença de luz (R_d), condutância mesofílica (g_s) e a taxa fotorrespiratória (P_R) em plantas de arroz submetidas ou não ao déficit hídrico crescidas na presença de concentração ambiente (380 μmol mol⁻¹) e elevada de CO₂ (760 μmol mol⁻¹);

- ✓ Determinar a atividade da oxidase do glicolato (GO) e das enzimas antioxidativas CAT, SOD e APX em plantas de arroz submetidas ou não ao déficit hídrico crescidas na presença de concentração ambiente ($380 \mu\text{mol mol}^{-1}$) e elevada de CO_2 ($760 \mu\text{mol mol}^{-1}$);
- ✓ Medir o conteúdo dos antioxidantes não enzimáticos ascorbato reduzido (ASA) e glutatona reduzida (GSH) em plantas de arroz submetidas ou não ao déficit hídrico crescidas na presença de concentração ambiente ($380 \mu\text{mol mol}^{-1}$) e elevada de CO_2 ($760 \mu\text{mol mol}^{-1}$);
- ✓ Determinar o conteúdo de carboidratos solúveis totais em plantas de arroz submetidas ou não ao déficit hídrico crescidas na presença de concentração ambiente ($380 \mu\text{mol mol}^{-1}$) e elevada de CO_2 ($760 \mu\text{mol mol}^{-1}$);
- ✓ Determinar a expressão e abundância relativa das enzimas ribulose 1-5 bifosfato carboxilase oxigenase (Rubisco) e glutamina sintetase (GS1 e GS2) em plantas de arroz submetidas ou não ao déficit hídrico crescidas na presença de concentração ambiente ($380 \mu\text{mol mol}^{-1}$) e elevada de CO_2 ($760 \mu\text{mol mol}^{-1}$);
- ✓ Estimar a P_N relativa e índice relativo de assimilação de CO_2 pela Rubisco (IRAR) em plantas de arroz submetidas ou não ao déficit hídrico crescidas na presença de concentração ambiente ($380 \mu\text{mol mol}^{-1}$) e elevada de CO_2 ($760 \mu\text{mol mol}^{-1}$).

CAPÍTULO I

REVISÃO DE LITERATURA: IMPACTOS DA ESCASSEZ HÍDRICA E DO AUMENTO DA CONCENTRAÇÃO ATMOSFÉRICA DE CO₂ NA PRODUÇÃO VEGETAL

CAPÍTULO I - REVISÃO DE LITERATURA: IMPACTOS DA ESCASSEZ HÍDRICA E DO AUMENTO DA CONCENTRAÇÃO ATMOSFÉRICA DE CO₂ NA PRODUÇÃO VEGETAL

1. DÉFICIT HÍDRICO

1.1 Impactos da seca no rendimento agrícola

A limitação hídrica provocada pelas variações das condições meteorológicas, sobretudo da precipitação, tende a impactar a produção vegetal em muitas áreas, afetando a segurança alimentar em ambientes vulneráveis, como por exemplo regiões áridas e semiáridas, criando um nível de incerteza para os sistemas agrícolas (DARYANTO *et al.*, 2017). O desafio da seca é uma realidade global que afeta a agricultura, tanto em países desenvolvidos quanto em desenvolvimento, e deverá piorar se as mudanças climáticas persistirem (ELLIOTT *et al.*, 2017).

O padrão de precipitação vem sofrendo alterações, indicando uma tendência ao aumento na intensidade de chuvas, porém uma diminuição em sua frequência, sendo esta a que desempenha um maior papel na determinação dos padrões espaciais e variações do globo (CHEN; DAI, 2017). Paralelo a isso, o aquecimento global também é um forte contribuinte para intensificação da seca nos subtropicais (HANSEN; SATO, 2016), o que está diretamente relacionado com um aumento do aquecimento superficial e consequente evapotranspiração real das culturas, sendo o calor responsável pela crescente ocorrência de seca, estabelecendo-a com mais rapidez e intensidade (TRENBERTH *et al.*, 2013).

Um estudo sobre perdas nacionais de produção de cereais em todo o mundo, baseado em catástrofes climáticas extremas notificadas durante 1964-2007, revelou que a seca resultou numa redução de aproximadamente 10,1% de toda a produção, e que esse prejuízo está principalmente associado a uma diminuição na área colhida e nos rendimentos das culturas, de 5,1% e 4,1% respectivamente (LESK; ROWHANI; RAMANKUTTY, 2016). Outra estimativa assegura que na China, a perda média de grãos associada às secas chega a quase 39,2 bilhões de quilogramas por ano (LENG; TANG; RAYBURG, 2015).

Com base nisso, diferentes setores, incluindo a agricultura, estarão em pleno processo de adaptação para enfrentar as mudanças globais (LUDWIG; ASSENG, 2010), sendo o melhoramento vegetal uma alternativa tecnológica para produzir variedades que se adaptem bem sob estas condições restritivas de crescimento (LANGRIDGE;

REYNOLDS, 2015). Para tanto, os estudos sobre interações multifatoriais, tornam-se mais importantes do que análises isoladas, pois deles derivam-se as estratégias para subsidiar o desenvolvimento de cultivares cada vez mais resistentes, e minimizar o impacto destas e outras condições no futuro.

1.2 Distúrbios metabólicos, moleculares e restrições de crescimento

O estresse hídrico pode limitar a germinação e o desenvolvimento dos vegetais (VIBHUTI *et al.*, 2015) e, entre as diversas consequências da seca sobre o desenvolvimento de plantas, as alterações no crescimento, na matéria seca e no rendimento são comumente relatados (LIPIEC *et al.*, 2013; JALEEL *et al.*, 2009), sendo a tolerância dependente principalmente da espécie (MARÉCHAUX *et al.*, 2015). Essas alterações podem ser explicadas pelo mal funcionamento ou inibição de processos vitais das plantas sob estresse, os quais necessitam de água, como funções metabólicas, transporte de íons e nutrientes, desenvolvimento celular e translocação de solutos (ZARGAR *et al.*, 2017).

A análise dos padrões de desempenho das plantas sob estresse hídrico é importante, principalmente porque os impactos estão relacionados tanto aos fatores endógenos, como por exemplo, tamanho e densidade estomática, tamanho da raiz ou altura da planta, quanto com as condições ambientais, como temperatura do ar e do solo, umidade, e radiação fotossinteticamente ativa (PAR) (BOLLIG; FELLER, 2014). Em condições de déficit hídrico ocorre indução do fechamento estomático e consequente redução da condutância estomática, afetando o processo de trocas gasosas por restringir o influxo de CO₂ atmosférico para dentro dos sítios de carboxilação no mesófilo foliar (LAWLOR; CORNIC, 2002; ANDRIANASOLO *et al.*, 2016). Como consequência a assimilação líquida do CO₂ diminui, podendo resultar em significativo aumento da relação NADPH/NADP⁺ nos cloroplastos, como resultado da redução de atividade do ciclo de Calvin e restrição fotossintética (FOYER; NOCTOR, 2000).

Muitas espécies de plantas acumulam naturalmente algumas substâncias quando expostas a diferentes estresses abióticos, como o estresse hídrico. O ajustamento osmótico e a acumulação de solutos compatíveis são relacionados diretamente ao papel de adaptação da planta à desidratação, principalmente através da manutenção do turgor e da proteção de funções celulares específicas (BLUM, 2017). Esses compostos são conhecidos por desempenhar papel adaptativo na mediação osmótica e na proteção das estruturas sub-celulares quando a planta está sob estresse (VIBHUTI *et al.*, 2015).

Além da sinalização hormonal ocorrida e de adaptações anatômicas a nível celular provocadas pelo estresse hídrico, a acumulação desses compostos de baixa massa molecular (por exemplo, prolina e giberelinas) (LIPIEC *et al.*, 2013), bem como o aumento especificamente de carotenóides (JALEEL *et al.*, 2009) são importantes para a tolerância ao estresse. Blum (2017) afirma que a relação do ajustamento osmótico para produzir sob estresse mostra-se mediada por uma sustentação do turgor celular ou maior condutância estomática, confirmando que em algumas culturas, como o trigo, o milho, o sorgo e o girassol, esse ajuste está associado a um maior crescimento de raízes e consequente melhora na captação de água do solo.

Nas raízes, as plantas também manifestam numerosas mudanças adaptativas em resposta a desidratação. A diminuição na condutividade hidráulica da raiz é induzida, reduzindo o fluxo de água para a planta, ao mesmo passo que evita a perda de água da planta para o solo seco (LIPIEC *et al.*, 2013). Contudo, o tempo de exposição ao estresse também pode influenciar no tipo de resposta. À curto prazo a seca promove um maior crescimento da raiz como estratégia para melhorar a captação de água (COMAS *et al.*, 2013), tendo esse efeito contrário com a exposição prolongada, que resulta no encolhimento e deformações anatômicas da raiz, interrompendo os mecanismos de defesa e levando a planta a uma redução no rendimento ou até mesmo a morte (ZARGAR *et al.*, 2017).

1.3 Mudanças na atividade fotorrespiratória

Em condições de seca a atividade fotorrespiratória é intensificada, o que ocorre principalmente em espécies de metabolismo C3 (FOYER *et al.*, 2009). Nessas espécies, a atividade fotorrespiratória pode contribuir para dissipar o excesso de poder redutor e de energia proveniente da fase fotoquímica da fotossíntese (TAKAHASHI; BADGER, 2011; EMBIALE *et al.*, 2016). A atividade fotorrespiratória está presente tanto em espécies C4 como nas C3, sendo com maior intensidade nesta última, podendo ser aumentada em ambas as espécies por estresses abióticos como temperaturas elevadas, déficit hídrico e excesso de luminosidade (FOYER; NOCTOR, 2003; ZELITCH *et al.*, 2009; TAKAHASHI; BADGER, 2011; RIVAS *et al.*, 2016).

Em tese, a função metabólica mais aceita desempenhada pela fotorrespiração é a dissipação do excesso de poder redutor, que embora cause diminuição do rendimento quântico da fotossíntese pode ser considerada fisiologicamente favorável em condições de estresse hídrico (NOCTOR *et al.*, 2002). Essa dissipação de energia pela

fotorrespiração pode evitar danos como a fotoinibição devido ao excesso de luz, ao permitir que o metabolismo continue utilizando os produtos da cadeia transportadora de elétrons (TAKAHASHI; BAUWE; BADGER, 2007; WINGLER *et al.*, 2000).

A dissipação do excesso de energia pelo aumento da fotorrespiração ocorre associada com a produção de peróxido de hidrogênio nos peroxissomos, através da ação da enzima oxidase do glicolato (GO) (FOYER *et al.*, 2009). A GO é uma enzima fotorrespiratória que catalisa a oxidação do glicolato nos peroxissomos, produzindo, durante essa reação, quantidades equimolar de glioxilato e peróxido de hidrogênio (H₂O₂) (XU *et al.*, 2009), sendo dependente do fornecimento de glicolato através da oxigenação de ribulose 1,5-bifosfato (RuBP) no cloroplasto (Figura 1).

Em células fotossintetizantes os peroxissomos são considerados os principais sítios produtores de H₂O₂, seguido pelos cloroplastos e mitocôndrias, outras organelas potencialmente produtoras de H₂O₂ como subprodutos do metabolismo fotossintético e respiratório, respectivamente (FOYER; NOCTOR, 2003). Portanto, a atividade de GO é favorecida por condições que limitam a difusão de CO₂ do exterior da folha para células fotossintéticas, como o fechamento estomático provocado pelo estresse hídrico (NOCTOR; MHAMDI, 2017).

No entanto, este processo de reparo fotossintético causa perdas para a assimilação propriamente dita de carbono através da carboxilação da Rubisco. Cerca de 25% não é recuperado (HODGES *et al.*, 2016). Por isso, alguns estudos recentes lançam mão de várias estratégias para reduzir os custos da fotorrespiração. Plantas cultivadas em câmara e estufa com vias fotorrespiratórias alteradas dentro do cloroplasto mostraram resultados promissores, incluindo aumento das taxas fotossintéticas, tamanho da planta, e rendimento, como relatado em *Camelina sativa* (DALAL *et al.*, 2015). South *et al.* (2019), por exemplo, construíram vias metabólicas em plantas transgênicas de tabaco que são capazes de recapturar de forma mais eficiente os subprodutos improdutivo da fotossíntese com menos energia perdida (Figura 1). Em ensaios de campo, essas plantas de tabaco transgênico foram ~ 40% mais produtivas que as plantas de tabaco de tipo selvagem.

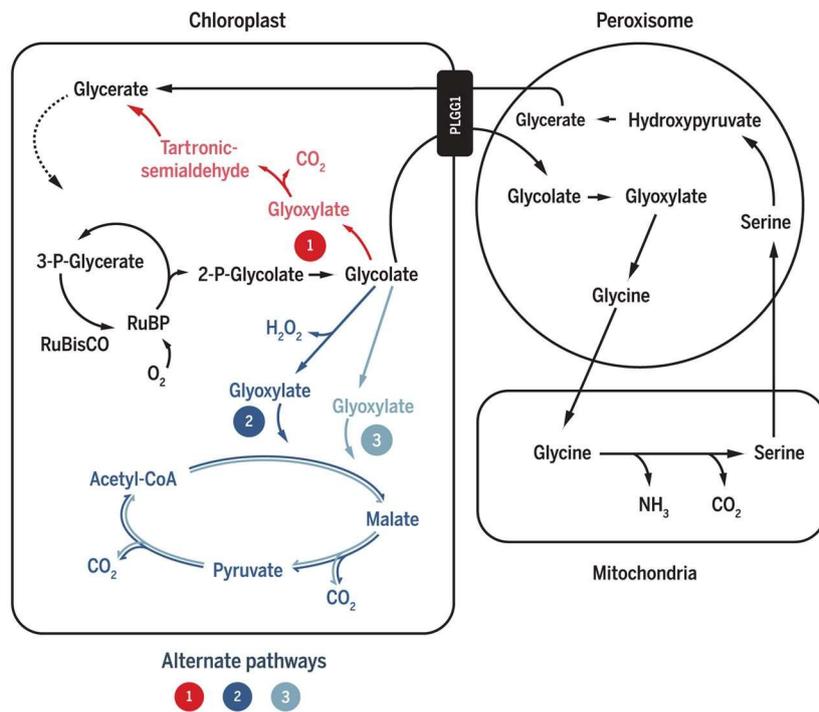


Figura 1. Vias fotorrespiratória nativa (cinza) e alternativas (coloridas) no tabaco. Três vias alternativas [1 (vermelho), 2 (azul escuro) e 3 (azul claro)] foram introduzidas nos cloroplastos do tabaco para uma reciclagem mais eficiente do glicolato. O RNAi suprime o transportador nativo de glicolato/glicerato PLGG1 para evitar que o glicolato saia do cloroplasto e entre na via nativa (cinza). (SOUTH et al., 2019).

2. METABOLISMO OXIDATIVO

2.1 Geração de EROs na célula vegetal

As espécies reativas de oxigênio (ERO's) são formas parcialmente reduzidas de oxigênio atmosférico (O_2), resultantes da excitação de O_2 formando o oxigênio singlete (O_2^1) ou da transferência de um, dois ou três elétrons para O_2 para formar, respectivamente, um radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) ou um radical hidroxila ($OH\cdot$) (MITTLER, 2002). Esses componentes são produzidos continuamente como subprodutos inevitáveis do metabolismo aeróbio de várias vias metabólicas que estão localizadas em diferentes compartimentos celulares, como cloroplastos, mitocôndrias e peroxissomos (FOYER; NOCTOR, 2003).

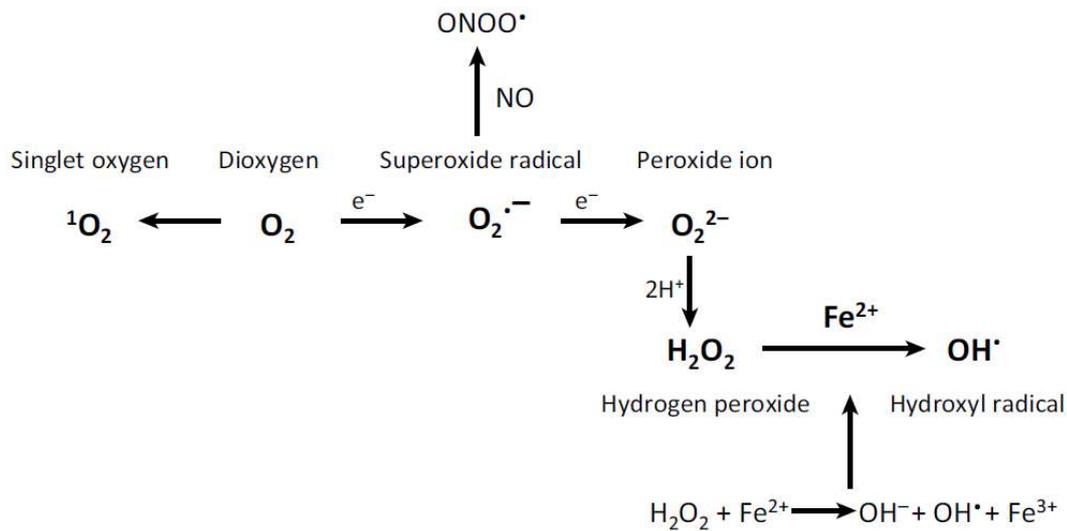


Figura 2. Formação de diferentes espécies reativas de oxigênio e nitrogênio. O oxigênio atmosférico (O_2) é excitado ou reduzido formando o oxigênio singlete (${}^1\text{O}_2$), radical superóxido ($\text{O}_2^{\bullet-}$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), sendo que este último interage com Fe^{2+} para formar radicais hidroxila (OH^\bullet) através da reação de Fenton (MITTLER, 2016).

Durante muito tempo imaginava-se que as EROs eram somente produtos indesejados e nocivos do metabolismo celular aeróbico, causando estresse oxidativo (MIGNOLET-SPRUYT *et al.*, 2016), contudo tornou-se evidente que elas desempenham um papel muito importante como mensageiros essenciais envolvidos na sinalização redox, o que tem sido amplamente discutido (MITTLER *et al.*, 2011). Encontrando-se a níveis estáveis na célula vegetal ou acumulada pelo estímulo de diversos estresses, as EROs são importantes indicadores, atuando na regulação de vários processos biológicos, como crescimento, desenvolvimento, defesa e aclimação a estresses bióticos e abióticos (DAS; ROYCHOUDHURY, 2014; BAXTER; MITTLER; SUZUKI, 2014).

Sob condições de estresse, as EROs são resultantes das vias como a fotorrespiração e respiração mitocondrial, podendo serem vistas como indicadores celulares do estresse e como mensageiros secundários envolvidos na via de transdução do sinal de resposta ao estresse (MITTLER, 2002). Nos processos metabólicos aeróbios celulares, essas espécies são produzidas em diversos processos, como a fotossíntese, por exemplo. Nela, um sistema de membrana de tilacóides altamente organizado que abrange todos os componentes do aparelho fotossintético conversor de luz a energia biológica podem produzir radical superóxido através da aceitação de elétrons ao oxigênio gerado

nos fotossistemas (GILL; TUTEJA, 2010), bem como a produção de oxigênio singlete através da excitação da clorofila (ASADA, 2006).

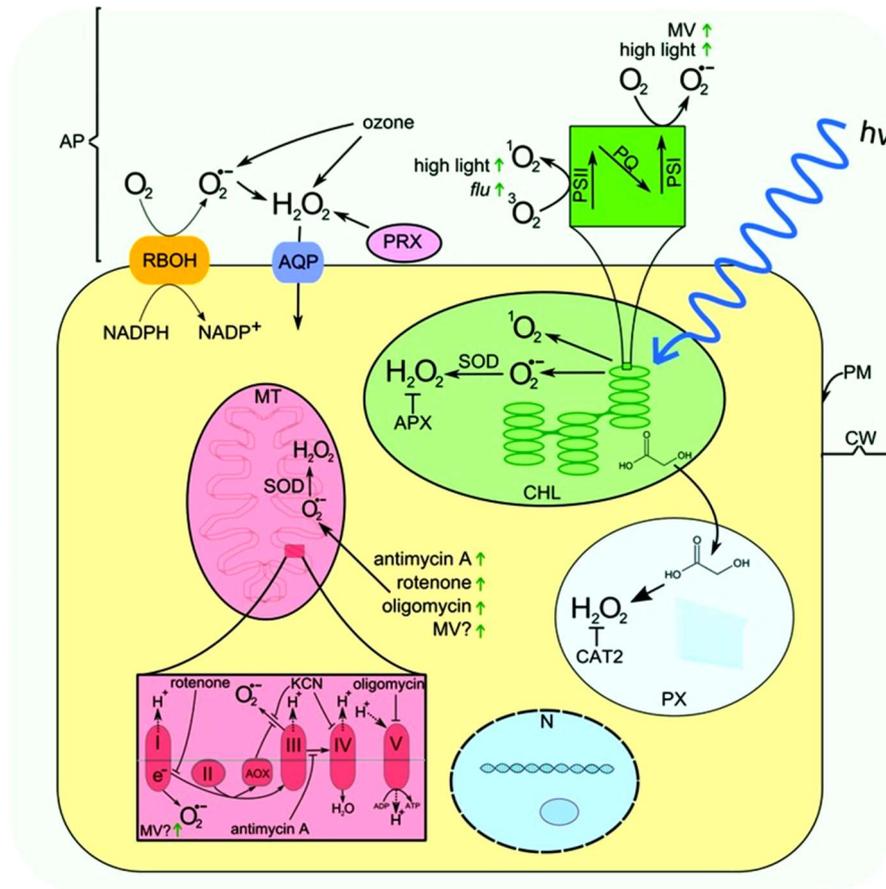


Figura 3. Produção de EROs na célula vegetal. AP, apoplasto; PM, membrana plasmática; CW, parede celular; MT, mitocôndria; CHL, cloroplasto; PX, peroxissomo; N, núcleo; AOX, oxidase alternativa; KCN, cianeto de potássio; PRXs, peroxidases; AQP, aquaporinas; PSI, fotossistema I; PSII, fotossistema II; PQ, plastoquinona; MV, paraquat; APX, peroxidase de ascorbato; CAT2, catalase2; SOD, superóxido dismutase; RBOH, homólogo de oxidase de explosão respiratória. (VAAHTERA et al., 2014).

Além dos compartimentos celulares já citados, o apoplasto também é uma importante estrutura em que são produzidas EROs, pois representa a primeira superfície de contato, onde muitas perturbações ambientais afetam primeiramente. Nele, as EROs são produzidas a partir da oxidação do NADPH por proteínas ligadas à membrana plasmática gerando $O_2^{\cdot-}$ e H_2O_2 , podendo este último ser transportado através da própria membrana para o citosol por canais específicos. No cloroplasto, $O_2^{\cdot-}$ é produzido no FSII, enquanto 1O_2 é produzido a partir do estado de excitação do oxigênio tripleto no FSII quando ocorre uma alta redução das quinonas. Nas mitocôndrias, as EROs, em especial

o radical superóxido, são produzidas em vários locais na cadeia transportadora de elétrons. E como produto resultante da oxigenação da Rubisco no cloroplasto, o glicolato é transportado para os peroxissomos onde rege a produção de H₂O₂. (VAAHTERA *et al.*, 2014).

As EROs apresentam particularidades específicas quanto ao tempo de vida e atuação nos compartimentos celulares, possuindo cada uma o seu conjunto específico de rotas de sinalização e interação com outros componentes. OH[·], gerado pela reação de Fenton e catalisado por metais de transição como Fe²⁺ e Fe³⁺, é a espécie mais instável reagindo rapidamente com todos os tipos de componentes celulares, como lipídios, DNA, carboidratos e proteínas, como reflete sua meia-vida de apenas 1 ns (MIGNOLET-SPRUYT *et al.*, 2016). O oxigênio singleto e o radical superóxido também interagem com a maioria das biomoléculas, como lipídios, proteínas e DNA/RNA, com meia-vidas extremamente curtas de ~4 μs (na água) e 2-4 μs, respectivamente, tendo o singleto preferência por regiões ricas em elétrons que confirmam uma forma de seletividade à sua interação (KOH; FLUHR, 2016; DAS; ROYCHOUDHURY, 2014).

Já o H₂O₂ produzido pelo metabolismo fotorrespiratório, nos peroxissomos, através da ação da oxidase do glicolato, é considerado um caso particular, pois possui uma meia-vida relativamente longa (1 ms), comparado às demais, e é permeável ao sistema de membranas das células, podendo percorrer distâncias mais longas (DAS; ROYCHOUDHURY, 2014; MØLLER; JENSEN; HANSSON, 2007), o que lhe confere o legado de espécie reativa com maior importância no que diz respeito às interações biomoleculares.

2.2. Danos oxidativos

Apesar de níveis consideráveis de EROs serem admitidos no interior da célula vegetal para o sistema de monitoramento, defesa e sinalização ao estresse, esse nível deve ser mantido sob um limiar restrito, pois a superacumulação de EROs pode resultar em danos oxidativos e até a morte celular. Os processos oxidativos mais comuns causados pelo acúmulo de EROs, tais como a peroxidação lipídica da membrana, oxidação proteica, inativação enzimática, perda de clorofila e danos aos ácidos nucleicos (DNA e RNA), podem resultar na morte celular induzida (BASU *et al.*, 2009; MITTLER, 2002). Entre estes, a oxidação dos lipídeos é particularmente perigosa porque propaga os radicais livres

através das chamadas "reações em cadeia", e é desencadeada pela abstração do átomo de hidrogênio da molécula lipídica (DEMIDCHIK, 2015).

A peroxidação lipídica da membrana celular é um processo causado pelo estresse oxidativo, e provoca alterações estruturais e funcionais da membrana, como principalmente a sua perda de integridade, permeabilidade e fluidez, podendo levar à morte celular (MORAES; SAMPAIO, 2010). Os produtos resultantes da peroxidação lipídica, como por exemplo, as substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico, são parâmetros importantes para o monitoramento do dano causado por espécies reativas de oxigênio (VASCONCELOS *et al.*, 2007), lançando-se mão de vários métodos para quantificação dessas substâncias.

Esses componentes também são capazes de modificar diversos aminoácidos, o que pode resultar na perda de determinada função desempenhada pelas proteínas, como atividades metabólicas, estruturais, de transporte ou de regulação específica (DEMIDCHIK, 2015). A oxidação de proteínas é definida como modificação covalente de uma proteína induzida por EROs ou subprodutos do estresse oxidativo (GILL; TUTEJA, 2010). Enquanto as lesões ao DNA por oxidação ocasionadas pelas EROs podem diretamente modificar a sua estrutura, principalmente alterar as bases nucleotídicas (MØLLER; JENSEN; HANSSON, 2007), como também podem ser indiretamente danificadas por reagirem com produtos reativos gerados pelo ataque de EROs a outras macromoléculas (ROLDÁN-ARJONA; ARIZA, 2009).

2.3. Mecanismos de proteção oxidativa

Um complexo sistema de defesa é responsável por realizar a proteção oxidativa e manutenção da homeostase redox celular. Para isso, as células desenvolveram mecanismos de eliminação sofisticados para eliminar ou desintoxicar a célula vegetal, envolvendo mecanismos enzimáticos e não enzimáticos. O sistema não enzimático é constituído principalmente pelos componentes ascorbato e glutathione, enquanto que a proteção enzimática é composta por uma gama de enzimas, presentes em várias organelas e atuando de forma coordenada na proteção, como as dismutases do superóxido (SOD), catalases (CAT), peroxidases de ascorbato (APX), redutases da glutathione (GR), redutases do monodeidroascorbato (MDHAR) e redutases do deidroascorbato (DHAR) (FOYER; NOCTOR, 2003).

Em diversos compartimentos, a SOD atua como o primeiro agente de defesa catalisando a dismutação de superóxido em peróxido de hidrogênio e oxigênio, sendo o

peróxido de hidrogênio oxidado por sua vez pelas peroxidases de ascorbato a água e oxigênio (BASU *et al.*, 2009; VAIDYANATHAN *et al.*, 2003). Já no peroxissomo, o excesso de H₂O₂ produzido é removido pela CAT, uma enzima específica dessa organela e que possui elevada atividade catalítica (MITTLER, 2002).

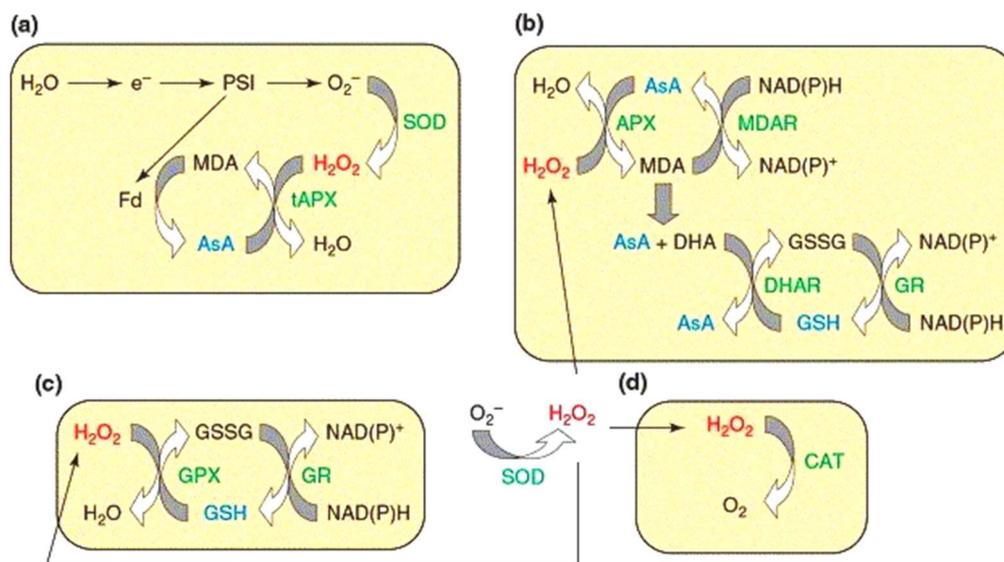


Figura 4. Rotas de desintoxicação de espécies reativas de oxigênio (EROS) em plantas. (a) O ciclo água-água. (b) O ciclo ascorbato-glutationa. (c) O ciclo da glutatona peroxidase (GPX). (d) Catalase (CAT). (adaptado de MITTLER, 2006).

Nesses processos, duas são as fontes potenciais de energia redutora utilizadas. No ciclo água-água é derivado da própria energia do aparelho fotossintético, na qual o radical monodehidroascorbato (MDA) resultante pode ser reduzido diretamente pelo PSI (NIYOGI, 2000), enquanto no ciclo ascorbato-glutationa há tanto a utilização dos elétrons diretamente do aparelho fotossintético quanto do NAD(P)H como potencial redutor (MITTLER, 2002), derivado da rota fotossintética e enzimas envolvidas na via pentose-fosfato (FREITAS-SILVA, de *et al.*, 2017).

O ciclo ascorbato-glutationa é uma importante via antioxidante celular, que fornecem às peroxidases equivalentes redutores para seu funcionamento, ou seja, um ciclo de regeneração de ascorbato (ASA) e/ou de glutatona (GSH), cruciais para a proteção oxidativa em plantas (WU *et al.*, 2015). Ao contrário da APX, a CAT não requer um fornecimento de equivalentes para desempenhar a sua função, podendo então não ser sensível ao status de homeostase redox das células, e sua função não é afetada durante o estresse (MITTLER, 2002).

3. IMPACTOS DO AUMENTO DA CONCENTRAÇÃO DE CO₂

3.1. Interação com as mudanças climáticas e agricultura

A concentração elevada de dióxido de carbono atmosférico (CO₂) é um dos principais componentes das alterações climáticas (IPCC, 2018), aumentando do nível pré-industrial de 280 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ em 1750 até 400 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ atualmente e com previsões para 900 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ no final do século XXI (XU *et al.*, 2016)(IPCC, 2007). Apesar de contestada, essa previsão tem gerado grande preocupação quanto ao comportamento das plantas, principalmente porque este aumento de CO₂ poderá vir combinado e/ou causar outras modificações no clima, como o aquecimento global e precipitação reduzida.

A temperatura, diretamente influenciada pelo aumento dos gases do efeito estufa, tem sofrido alterações atípicas nas últimas duas décadas, e está aquecendo quase 0,2 °C por década, o que é um ritmo 50 vezes mais acelerado do que o ciclo natural glacial-interglacial (NOBRE *et al.*, 2012). De acordo com o relatório do Painel Intergovernamental sobre Mudanças Climáticas (IPCC, 2007) a faixa provável de aumento de temperatura está entre 1,8 a 4,2 °C até o fim do século e o aquecimento aparece como inequívoco.

Espera-se que esta variação climática afete negativamente os rendimentos da agricultura devido as condições de crescimento imprevisíveis (DRAKE *et al.*, 2017). Se as previsões se confirmarem, o elevado CO₂ e a consequente elevação da temperatura poderão causar mudanças no desempenho vegetal, e nos piores cenários a elevação térmica poderá chegar a níveis e períodos de exposição insuportáveis para as plantas, o que será suficiente para causar danos permanentes ao seu crescimento e desenvolvimento (LIPIEC *et al.*, 2013). Um dos questionamentos que ainda persiste é se de fato as alterações no clima poderão permitir a aclimatação e adaptação das espécies, já que essas mudanças ocorrerão de forma gradual. Há quem afirme que provavelmente, em muitos casos, a adaptação das plantas não corresponda ao ritmo ou à magnitude das mudanças previstas no clima (JUMP; PEÑUELAS, 2005), o que pode provocar impactos consideráveis no rendimento das plantas cultivadas.

Por outro lado, há uma interação positiva entre as mudanças no clima e o aumento na concentração de CO₂, o que pode amortecer expressivamente a diminuição do PIB a nível mundial até o final do século XXI (PAN *et al.*, 2018). A combinação das mudanças climáticas com o aumento da concentração de CO₂ aumentaria a eficiência no uso da água (EUA) global, sugerindo que este aumento poderia mitigar o declínio da EUA

induzido pelas alterações no clima, principalmente nas regiões de alta latitude (WEIWEI et al., 2018). No entanto, estas respostas terão mais confiança quando obtivermos estudos mais detalhadas sobre a evapotranspiração em um ambiente com o dobro da concentração de CO₂ que temos nos dias atuais.

3.2. Mudanças potenciais no metabolismo vegetal

3.2.1. Crescimento e desenvolvimento

O aumento da concentração atmosférica de CO₂ provavelmente afetará o desenvolvimento e fisiologia das plantas (BROUGHTON *et al.*, 2017), estando associado geralmente a um aumento no crescimento vegetativo e da área foliar total, o que pode, conseqüentemente aumentar o uso de água pela planta (LEWIS *et al.*, 2013). Essa resposta ao crescimento é principalmente determinada pelo aumento da taxa de fotossíntese por unidade de área foliar e diminuição da área foliar específica (POORTER; NAVAS, 2003).

Apesar da aclimatação da capacidade fotossintética, medida pelas taxas máximas de carboxilação e de transporte de elétrons, os recentes estudos com elevadas concentrações de CO₂ em ambiente sobre as respostas fotossintéticas em plantas C₃ comprovam que a absorção de carbono fotossintético é reforçada (LEAKEY et al., 2009). Além disso, o enriquecimento de dióxido de carbono reduz frequentemente a transpiração das folhas, o que pode aumentar o teor de água no solo, aprimorando o desenvolvimento das plantas em ambientes com limitação hídrica, aumentando a produtividade das comunidades (FAY et al., 2015).

Duas são as reações comumente relacionadas aos efeitos do CO₂ elevado nas plantas: uma ligada aos efeitos estomáticos e outra a defesa antioxidante. A hipótese que inclui as alterações metabólicas, envolvendo os níveis de espécies reativas de oxigênio, sugerem que além de fornecer carbono extra e induzir o fechamento estomático, essa condição possivelmente resulta em maior oferta de moléculas de defesa antioxidante (ABDELGAWAD et al., 2016). Um estudo do sistema de defesa, analisado em *Arabidopsis thaliana*, revelou que o CO₂ elevado ativa alguns caminhos de defesa múltiplos, levando a uma maior resistência aos estresses bióticos e abióticos, porém ao analisar genes mutantes específicos não ficou clara a evidência de que a ativação desses caminhos de defesa da planta a esta condição fosse causada pelo fechamento estomático,

sendo parcialmente relacionada aos efeitos metabólicos que envolvem a sinalização redox (MHAMDI; NOCTOR, 2016).

Embora não se tenham concluídas as explicações dos caminhos bioquímicos cruciais que regulam essa sinalização ao elevado CO₂, o incremento no crescimento das plantas é frequentemente relatado. Em experimento com trigo, O'leary *et al.* (2015) observaram um expressivo aumento na biomassa, no índice de área foliar, e no índice de área fotossintética sob CO₂ elevado, e esse crescimento vegetativo aumentado resultou num acréscimo de 26% no rendimento de grãos. Apesar da maioria das respostas revelarem aumento no crescimento relacionados, esse efeito também é dependente da espécie e da sua possível tolerância a alguns estresses. Por exemplo, os efeitos da seca em três genótipos de milho também foram atenuados pelo enriquecimento de CO₂, porém foi observado um crescimento reduzido em um híbrido altamente resistente a seca, sendo o efeito nas primeiras relacionado à melhora da tolerância ao estresse, reduzindo a perda de água, melhorando o teor de umidade do solo e aumentando o potencial da água nas folhas (MONIKA; PAWLAK; SKRZYPULEC-PLINTA, 2013).

3.2.2. Trocas gasosas e funções estomáticas

A grande variabilidade nas respostas das plantas as elevadas concentrações de CO₂, principalmente entre espécies, conferem diferentes estratégias de controle das trocas gasosas, não estando claro ainda se há uma ação coordenada entre a fisiologia e morfologia dessas plantas. Estas respostas são principalmente dependentes da espécie, da idade da planta, do tipo de experimento, do tempo de exposição, disponibilidade nutricional e de outros fatores (AINSWORTH; LONG, 2005; NOWAK; ELLSWORTH; SMITH, 2004).

Muitos experimentos têm relatado um incremento na fotossíntese, evidenciado principalmente em plantas C3, atribuído a uma maior disponibilidade de carbono nos sítios de carboxilação, diminuindo o processo de fotorrespiração (GAMAGE *et al.*, 2018) e aumentando a biomassa (O'LEARY *et al.*, 2015). Além disso, uma diminuição da condutância estomática (g_s) geralmente é verificada quando as plantas são submetidas ao aumento na concentração de CO₂ elevado no ambiente de crescimento (FLEXAS *et al.*, 2007; GAO *et al.*, 2015; UDDIN *et al.*, 2018) (Figura 2).

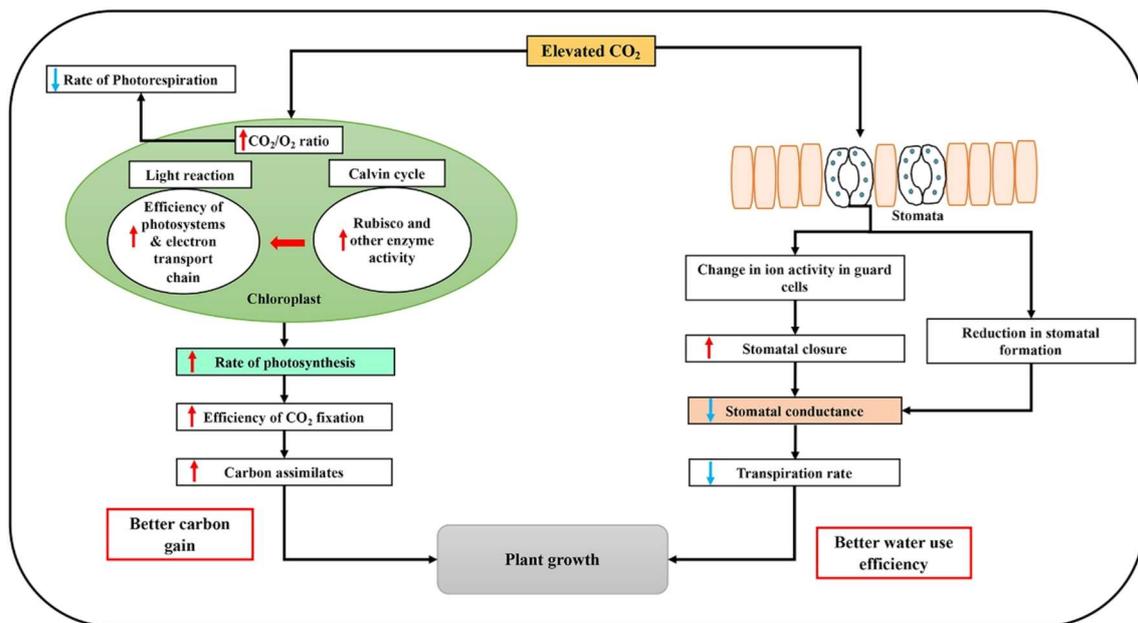


Figura 5. Efeitos induzidos pelo CO₂ elevado na fotossíntese, condutância estomática e nas respostas do crescimento das plantas (círculo verde = cloroplasto; laranjas = células epidérmicas; semicírculos = estômatos; seta vermelha indica aumento; e seta azul indica diminuição) (GAMAGE et al., 2018).

Uma resposta atípica a estes achados foi a encontrada por Lahive, Hadley e Daymond (2017), quando testaram essa condição no cacau, obtendo condutância estomática significativamente maior em plantas à CO₂ elevado, o que poderia ser explicado pelo reflexo do ambiente no qual a cultura é submetida (úmido). No entanto, contrariando esta hipótese, e apesar de ser uma resposta rara, uma maior condutância estomática associada ao incremento do CO₂ pode ocorrer também em espécies adaptadas a condições quentes e de baixa umidade (PURCELL et al., 2018).

Apesar de não interferir nos processos de absorção de carbono, o fechamento parcial dos estômatos sob CO₂ elevado pode alterar o balanço hídrico das plantas. Quando a condutância estomática diminui, automaticamente há uma menor transpiração, e consequente maior eficiência no uso da água (EASLON et al., 2015). Fato este explicado pela menor perda de água devido ao fechamento parcial dos estômatos sob maior concentração de CO₂. Este controle estomático é realizado através da regulação da abertura dos estômatos por meio de mudanças no turgor de células guarda e por alterações na densidade estomática e na área foliar durante o desenvolvimento (HAWORTH; ELLIOTT-KINGSTON; McELWAIN, 2013).

A temperatura aumentada pela concentração de gases do efeito estufa no ambiente também deverá influenciar as trocas gasosas nas plantas, pois a solubilidade do

CO₂ na água aumenta com a elevação do calor em menor intensidade se comparada com a solubilidade do O₂ nas mesmas condições. Assim, a elevação da temperatura pode reduzir a relação CO₂/O₂ na célula e pode levar a uma menor disponibilidade do CO₂ no sítio de carboxilação da Rubisco, o que favorece a atividade oxigenase da Rubisco e estimula a fotorrespiração (FOYER; NOCTOR, 2000). Além disso, o excesso de calor pode afetar as propriedades cinéticas da Rubisco, estimulando a atividade de oxigenase em detrimento da atividade de carboxilase (EHLERINGER et al., 1997).

Ora, se por um lado o aumento do dióxido de carbono ambiente facilita as questões hídricas de regulação estomática, aumentando a eficiência fotossintética (AINSWORTH; LONG, 2005), em contrapartida as altas temperaturas estimulam as reações do ciclo fotorrespiratório nas plantas (BETTI *et al.*, 2016; WALKER *et al.*, 2016). Essa heterogeneidade das respostas vegetais entre o CO₂ elevado e suas consequências no ambiente é uma questão pertinente e que vem sendo fortemente estudada, mostrando que outras variáveis climáticas, como o aumento projetado da temperatura global, podem anular os possíveis benefícios por si só da elevada concentração de CO₂ (ELLER *et al.*, 2014; WANG *et al.*, 2016).

Um questionamento recentemente levantado é o quanto o aumento das concentrações CO₂ influenciará a sensibilidade das plantas ao estresse hídrico, e se o aumento de crescimento pode significar uma menor necessidade de água nestas condições, através da melhor eficiência no seu uso. Como resultado da diminuição da transpiração e dos aumentos na fotossíntese líquida, as plantas têm demonstrado manter uma maior eficiência no uso da água quando cultivadas sob CO₂ elevado do que quando cultivadas em condições ambientes (TYREE; ALEXANDER, 1993), sendo considerado este o principal efeito do enriquecimento de CO₂ no aprimoramento do crescimento (MORGAN et al., 2001).

O elevado crescimento das plantas pelo aumento do CO₂, entretanto, pode ser limitado por outros aspectos, como a água disponível, tornando a presença de um efeito positivo de incremento de CO₂ dependente deste fator (REICH; HOBBIE; LEE, 2014). Lewis *et al.* (2013) sugerem em seus resultados com eucalipto que a *g_s* foi o principal fator que regulava os efeitos do aumento do CO₂ atmosférico nas respostas fotossintéticas à seca a curto prazo. Dentre os efeitos favoráveis, um incremento nas taxas líquidas de assimilação de CO₂ tem sido relatado, tanto na ausência (ASPINWALL et al., 2018) como na presença de estresses abióticos, como o déficit hídrico (PAUDEL et al., 2018). Oliveira *et al.* (2013) em seus resultados mostraram que incremento de CO₂ favoreceu a

manutenção do turgor de tecido, contribuindo para a manutenção de elevadas taxas de assimilação de CO₂ numa planta nativa do cerrado submetida a estresse hídrico.

Por outro lado, o tempo de exposição pode influenciar nas respostas das plantas ao CO₂ elevado. O incremento na fotossíntese nas fases iniciais de exposição a elevada concentração de CO₂ pode não ser mantida durante um período mais longo (GAMAGE et al., 2018). Esse fenômeno é conhecido como “aclimatação fotossintética” e tem sido amplamente divulgado na literatura, sendo atribuído a vários mecanismos, como o declínio no suprimento de nitrogênio para as folhas (SENEWEERA et al., 2011), acúmulo de carboidratos não estruturais, ou por inibição por feedback e danos físicos ao cloroplasto (DELUCIA; SASEK; STRAIN, 1985).

3.2.3. Modulação fotorrespiratória na ausência e sob seca

Como já foi dito, a fotorrespiração, via aumentada pelo estresse hídrico, é uma importante fonte de H₂O₂, e certamente é afetada pela mudança na concentração de CO₂ (ZINTA et al., 2014). Acredita-se então que o CO₂ elevado pode mitigar o impacto do estresse através da diminuição da fotorrespiração, resultando em menor produção de peróxido de hidrogênio (ABDELGAWAD *et al.*, 2016; FOYER *et al.*, 2009). As hipóteses que sustentam essas afirmações são que o elevado CO₂ aumenta o suprimento de aceitadores de elétrons no cloroplasto (MHAMDI; NOCTOR, 2016), o que pode, como último efeito, limitar o vazamento de elétrons ao oxigênio, garantindo a regeneração de NADP⁺ (FOYER et al., 2012), e evitando que ocorra a formação de espécies reativas de oxigênio em quantidades exacerbadas, evitando assim o consequente estresse oxidativo.

Esta via, contudo, não é a única produtora de peróxido de hidrogênio, o que pode não ser uma relação direta muito confiante. Além disso, a fotorrespiração parece ser uma parte da resposta ao estresse para prevenir a formação de EROs, apesar de ser fonte de produção em peroxissomos, sendo evidenciado a importância das reações fotorrespiratórias para manter os níveis de espécies reativas de oxigênio baixos e, portanto, proteger contra danos oxidativos sob uma variedade de condições de estresse (VOSS et al., 2013). Outro ponto importante é que a fotorrespiração também fornece metabólitos para outros processos do metabolismo vegetal, por exemplo, glicina para a síntese de glutatona, que também está envolvida na proteção contra estresse (WINGLER et al., 2000).

Esse impasse ainda persistente sobre o real papel da fotorrespiração se deve ao fato de que este processo envolve a comunicação metabólica entre vários compartimentos subcelulares (NOCTOR; MHAMDI, 2017). Além disso, alguns estudos recentes já lançaram mão de pesquisas que buscam vias alternativas para este processo, com o intuito de aumentar a fotossíntese nas plantas. Descobertas importantes têm sido feitas utilizando modelos geneticamente modificadas deficientes em várias enzimas da fotorrespiração, como os achados em *Araibdopsis thaliana*, e também para outras culturas, como o arroz.

4. A CULTURA DO ARROZ

O arroz (*Oryza sativa*) é um importante componente da alimentação humana, estando entre os principais cereais produzidos, alcançando a produção mundial de 769 milhões de toneladas em 2017, em 167 milhões de hectares de área colhida (FAO, 2017) sendo grande parte de forma inundada. No Brasil, a produção de arroz é destaque na América Latina, representando quase 50% de toda a produção do continente, com pouco mais de 11,75 milhões de toneladas produzidas em 1,8 milhões de hectares de área colhida em 2018, tendo o seu rendimento médio de 6.276 kg/ha, superando a produtividade média mundial, que é de 4.601,9 kg/há (FAO, 2017; IBGE, 2018).

Segundo a sua classificação botânica, o arroz é uma planta anual da família das gramíneas (Poaceae), do gênero *Oryza* e espécie *Oryza sativa* L., do subgrupo dos cereais, que pode atingir até cerca de um metro de altura. Sua descrição morfológica revela raízes fibrosas fasciculadas e caule cilíndrico do tipo colmo, com folhas dísticas, com nervuras paralelinérveas, presença de lígula membranosa, estreitas, pontiagudas e ásperas, e inflorescência do tipo panícula (HEINEMANN; PINHEIRO, 2017).

Em comparação com outros cereais, o arroz é o mais sensível ao menor teor de água no solo porque as cultivares de arroz foram historicamente cultivadas em condições de irrigação por inundação, sendo necessário grandes quantidades de água (TODAKA *et al.*, 2015). Embora a maior parte seja cultivada de forma inundada no Brasil, são considerados dois grandes ecossistemas para a cultura, que são o de várzeas (com sistema de irrigação por inundação) e o de terras altas, caracterizado pela condição aeróbica de desenvolvimento, ao passo que, sob condições de solo inundado, a consequente criação de uma condição anaeróbica implica uma série de transformações que influenciam não só o desenvolvimento como também a absorção de nutrientes e o manejo do solo (SANTOS, 2017).

Em algumas regiões brasileiras onde é predominante a produção de arroz de terras altas em sequeiro, a cultura pode sofrer períodos de deficiência hídrica ao longo do ciclo, que podem reduzir a produtividade (HEINEMANN et al., 2008). Há também a preocupação quanto a economia de água, já que a cultura quando implantada com irrigação por inundação consome uma elevada quantidade, cerca de duas ou três vezes mais em comparação com outras culturas de cereais, como trigo e milho (LIU et al., 2014).

REFERÊNCIAS

ABDELGAWAD, H.; ZINTA, G.; BEEMSTER, G. T. S.; JANSSENS, I. A.; ASARD, H. Future Climate CO₂ Levels Mitigate Stress Impact on Plants: Increased Defense or Decreased Challenge? **Frontiers in Plant Science**, v. 7, p. 556, 2016.

AINSWORTH, E. A.; LONG, S. P. What have we learned from 15 years of free-air CO₂ enrichment (FACE)? A meta-analytic review of the responses of photosynthesis, canopy properties and plant production to rising CO₂. **New Phytologist**, v. 165, n. 2, p. 351-372, 2005.

ANDRIANASOLO, F. N.; CASADEBAIG, P.; LANGLADE, N.; DEBAEKE, P.; MAURY, P. Effects of plant growth stage and leaf aging on the response of transpiration and photosynthesis to water deficit in sunflower. **Functional Plant Biology**, v. 43, n. 8, p. 797–805, 2016.

ASADA, K. Production and Scavenging of Reactive Oxygen Species in Chloroplasts and Their Functions. **Plant Physiology**, v. 141, n. 2, p. 391–396, 2006.

ASPINWALL, M. J.; BLACKMAN, C. J.; DE DIOS, V. R.; BUSCH, F. A.; RYMER, P. D.; LOIK, M. E.; DRAKE, J. E.; PFAUTSCH, S.; SMITH, R. A.; TJOELKER, M. G.; TISSUE, D. T. Photosynthesis and carbon allocation are both important predictors of genotype productivity responses to elevated CO₂ in *Eucalyptus camaldulensis*. **Tree Physiology**, v. 38, n. 9, p. 1286–1301, 2018.

BASU, S.; ROYCHOUDHURY, A.; SAHA, P. P.; SENGUPTA, D. N. Differential antioxidative responses of indica rice cultivars to drought stress. **Plant Growth Regulation**, v. 60, n. 1, p. 51–59, 2009.

BAXTER, A.; MITTLER, R.; SUZUKI, N. ROS as key players in plant stress signalling. **Journal of Experimental Botany**, v. 65, n. 5, p. 1229–1240, 2014.

BETTI, M.; BAUWE, H.; BUSCH, F. A.; FERNIE, A. R.; KEECH, O.; LEVEY, M.; ORT, D. R.; PARRY, M. A. J.; SAGE, R.; TIMM, S.; WALKER, B.; WEBER, A. P. M. Manipulating photorespiration to increase plant productivity: recent advances and perspectives for crop improvement. **Journal of Experimental Botany**, v. 67, n. 10, p. 2977-2988, 2016.

BLUM, A. Osmotic adjustment is a prime drought stress adaptive engine in support of plant production. **Plant, Cell & Environment**, v. 40, n. 1, p. 4–10, 2017.

BOLLIG, C.; FELLER, U. Impacts of drought stress on water relations and carbon assimilation in grassland species at different altitudes. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 188, p. 212–220, 2014.

BRÄUTIGAM, A.; GOWIK, U. Photorespiration connects C3 and C4 photosynthesis. **Journal of Experimental Botany**, v. 67, p. 2953–2962, 2016.

BROUGHTON, K. J.; SMITH, R. A.; DUURSMA, R. A.; TAN, D. K. Y.; PAYTON, P.; BANGE, M. P.; TISSUE, D. T. Warming alters the positive impact of elevated CO₂ concentration on cotton growth and physiology during soil water deficit. **Functional Plant Biology**, v. 44, n. 2, p. 267, 2017.

CHEN, D.; DAI, A. Dependence of estimated precipitation frequency and intensity on data resolution. **Climate Dynamics**, v. 50, n. 3, p. 3625–3647, 2017.

COMAS, L. H.; BECKER, S. R.; CRUZ, V. M. V.; BYRNE, P. F.; DIERIG, D. A. Root traits contributing to plant productivity under drought. **Frontiers in Plant Science**, v. 4, p. 442, 2013.

DALAL, J.; LOPEZ, H.; VASANI, N. B.; HU, Z.; SWIFT, J. E.; YALAMANCHILI, R.; DVORA, M.; LIN, X.; XIE, D.; QU, R.; SEDEROFF, H. W. A photorespiratory bypass increases plant growth and seed yield in biofuel crop *Camelina sativa*. **Biotechnology for Biofuels**, v. 8, n. 1, p. 175, 2015.

DARYANTO, S.; WANG, L.; JACINTHE, P. A. Global synthesis of drought effects on cereal, legume, tuber and root crops production: A review. **Agricultural Water Management**, v. 179, p. 18–33, 2017.

DAS, K.; ROYCHOUDHURY, A. Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants. **Frontiers in Environmental Science**, v. 2, p. 53, 2014.

DE FREITAS-SILVA, L.; RODRÍGUEZ-RUIZ, M.; HOUMANI, H.; DA SILVA, L. C.; PALMA, J. M.; CORPAS, F. J. Glyphosate-induced oxidative stress in *Arabidopsis thaliana* affecting peroxisomal metabolism and triggers activity in the oxidative phase of the pentose phosphate pathway (OxPPP) involved in NADPH generation. **Journal of**

Plant Physiology, v. 218, p. 196–205, 2017.

DELUCIA, E. H.; SASEK, T. W.; STRAIN, B. R. Photosynthetic inhibition after long-term exposure to elevated levels of atmospheric carbon dioxide. **Photosynthesis Research**, v. 7, n. 2, p. 175–184, 1985.

DEMIDCHIK, V. Mechanisms of oxidative stress in plants: From classical chemistry to cell biology. **Environmental and Experimental Botany**, v.109, p. 212-228, 2015.

DRAKE, B. L.; HANSON, D. T.; LOWREY, T. K.; SHARP, Z. D. The carbon fertilization effect over a century of anthropogenic CO₂ emissions: higher intracellular CO₂ and more drought resistance among invasive and native grass species contrasts with increased water use efficiency for woody plants in the US Southwest. **Global Change Biology**, v. 23, n. 2, p. 782–792, 2017.

EASLON, H. M.; CARLISLE, E.; MCKAY, J. K.; BLOOM, A. J. Does Low Stomatal Conductance or Photosynthetic Capacity Enhance Growth at Elevated CO₂ in Arabidopsis? **Plant Physiology**, v. 167, n. 3, p. 793–799, 2015.

EHLERINGER, J. R.; CERLING, T. E.; HELLIKER, B. R. C-4 photosynthesis, atmospheric CO₂ and climate. **Oecologia**, v. 112, n. 3, p. 285–299, 1997.

ELLER, F.; LAMBERTINI, C.; NGUYEN, L. X.; BRIX, H. Increased invasive potential of non-native *Phragmites australis*: Elevated CO₂ and temperature alleviate salinity effects on photosynthesis and growth. **Global Change Biology**, v. 20, n. 2, p. 531–543, 2014.

ELLIOTT, J.; GLOTTER, M.; RUANE, A. C.; BOOTE, K. J.; HATFIELD, J. L.; JONES, J. W.; ROSENZWEIG, C.; SMITH, L. A.; FOSTER, I. Characterizing agricultural impacts of recent large-scale US droughts and changing technology and management. **Agricultural Systems**, v. 159, p. 275-281, 2018.

EMBIALE, A.; HUSSEIN, M.; HUSEN, A.; SAHILE, S.; MOHAMMED, K. Differential sensitivity of *pisum sativum* L. cultivars to water-deficit stress: Changes in growth, water status, chlorophyll fluorescence and gas exchange attributes. **Journal of Agronomy**, v. 15, n. 2, p. 45–57, 2016.

FAO. **Faostat: Food Balance Sheets**. 2017. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data>>. Acesso em: 12 nov. 2018.

FAY, P. A.; NEWINGHAM, B. A.; POLLEY, H. W.; MORGAN, J. A.; LECAIN, D. R.;

NOWAK, R. S.; SMITH, S. D. Dominant plant taxa predict plant productivity responses to CO₂ enrichment across precipitation and soil gradients. **AoB PLANTS**, v. 7, p. 27, 2015.

FLEXAS, J.; DIAZ-ESPEJO, A.; GALMÉS, J.; KALDENHOFF, R.; MEDRANO, H.; RIBAS-CARBO, M. Rapid variations of mesophyll conductance in response to changes in CO₂ concentration around leaves. **Plant, Cell and Environment**, v. 30, n. 10, p. 1284–1298, 2007.

FOYER, C. H.; BLOOM, A. J.; QUEVAL, G.; NOCTOR, G. Photorespiratory Metabolism: Genes, Mutants, Energetics, and Redox Signaling. **Annual Review of Plant Biology**, v. 60, n. 1, p. 455–484, 2009.

FOYER, C. H.; NEUKERMANS, J.; QUEVAL, G.; NOCTOR, G.; HARBINSON, J. Photosynthetic control of electron transport and the regulation of gene expression. **Journal of Experimental Botany**, v. 63, n. 4, p. 1637–1661, 2012.

FOYER, C. H.; NOCTOR, G. Oxygen processing in photosynthesis: regulation and signalling. **New Phytologist**, v. 146, p. 359–388, 2000.

FOYER, C. H.; NOCTOR, G. Redox sensing and signalling associated with reactive oxygen in chloroplasts, peroxisomes and mitochondria. **Physiologia Plantarum**, v. 119, n. 3, p. 355–364, 2003.

GAMAGE, D.; THOMPSON, M.; SUTHERLAND, M.; HIROTSU, N.; MAKINO, A.; SENEWEERA, S. New insights into the cellular mechanisms of plant growth at elevated atmospheric carbon dioxide concentrations. **Plant, Cell & Environment**, v. 41, n. 6, p. 1233–1246, 2018.

GAO, J.; HAN, X.; SENEWEERA, S.; LI, P.; ZONG, Y. Z.; DONG, Q.; LIN, E. Da; HAO, X. Y. Leaf photosynthesis and yield components of mung bean under fully open-air elevated [CO₂]. **Journal of Integrative Agriculture**, v. 14, n. 5, p. 977–983, 2015.

GILL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 48, n. 12, p. 909–930, 2010.

HANSEN, J.; SATO, M. Regional climate change and national responsibilities. **Environmental Research Letters**, v. 11, n. 3, p. 034009, 2016.

HAWORTH, M.; ELLIOTT-KINGSTON, C.; MCELWAIN, J. C. Co-ordination of physiological and morphological responses of stomata to elevated [CO₂] in vascular plants. **Oecologia**, v. 171, n. 1, p. 71–82, 2013.

HEINEMANN, A. B.; DINGKUHN, M.; LUQUET, D.; COMBRES, J. C.; CHAPMAN, S. Characterization of drought stress environments for upland rice and maize in central Brazil. **Euphytica**, v. 162, n. 3, p. 395–410, 2008.

HEINEMANN, A. B.; PINHEIRO, B. da S. **Características da planta**. 2017. Disponível em:

<<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/arroz/arvore/CONT000fe75wint02wx5e007qw4xeclygdut.html>>. Acesso em: 14 out. 2017.

HODGES, M.; DELLERO, Y.; KEECH, O.; BETTI, M.; RAGHAVENDRA, A. S.; SAGE, R.; ZHU, X. G.; ALLEN, D. K.; WEBER, A. P. M. Perspectives for a better understanding of the metabolic integration of photorespiration within a complex plant primary metabolism network. *Journal Experimental Botany*, v. 67, n. 10, p. 3015-3026, 2016.

IBGE. **Produção Agrícola Municipal: Culturas temporárias e permanentes | Estatísticas | IBGE :: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. 2018. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/estatisticas-novoportal/economicas/agricultura-e-pecuaria/9117-producao-agricola-municipal-culturas-temporarias-e-permanentes.html?edicao=16787>>. Acesso em: 8 jan. 2019.

IPCC. **IPCC Fourth Assessment Report (AR4)**, v. 1, p. 976, 2007. Disponível em: <http://www.ipcc.ch/publications_and_data/publications_ipcc_fourth_assessment_report_wg2_report_impacts_adaptation_and_vulnerability.htm%5Cnhttp://www.ipcc.ch/pdf/assessment-report/ar4/wg2/ar4-wg2-spm.pdf>. Acesso em: 12 dez. 2018.

IPCC. **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. 2018. Disponível em: <<https://www.ipcc.ch/report/ar5/wg1/>>. Acesso em: 12 dez. 2018.

JALEEL, C. A.; MANIVANNAN, P.; WAHID, A.; FAROOQ, M.; AL-JUBURI, H. J.; SOMASUNDARAM, R.; PANNEERSELVAM, R. Drought stress in plants: A review

on morphological characteristics and pigments composition. **International Journal of Agriculture and Biology**, v. 11, n. 1, p. 100-105, 2009.

JUMP, A. S.; PEÑUELAS, J. Running to stand still: Adaptation and the response of plants to rapid climate change. **Ecology Letters**, v. 8, n. 9, p. 1010–1020, 2005.

KOGAN, F. Monitoring Drought from Space and Food Security. In: **Remote Sensing for Food Security**. Springer International Publishing, p. 75–113, 2019.

KOH, E.; FLUHR, R. Singlet oxygen detection in biological systems: Uses and limitations. **Plant Signaling & Behavior**, v. 11, n. 7, p. e1192742, 2016.

LAHIVE, F.; HADLEY, P.; DAYMOND, A. J. The impact of elevated CO₂ and water deficit stress on growth and photosynthesis of juvenile cacao (*Theobroma cacao* L.). **Photosynthetica**, v. 56, n. July, p. 1–10, 2017.

LANGRIDGE, P.; REYNOLDS, M. P. Genomic tools to assist breeding for drought tolerance. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 32, p. 130-135, 2015.

LAWLOR, D. W.; CORNIC, G. Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. **Plant, Cell & Environment**, v. 25, n. 2, p. 275–294, 2002.

LEAKEY, A. D. B.; AINSWORTH, E. A.; BERNACCHI, C. J.; ROGERS, A.; LONG, S. P.; ORT, D. R. Elevated CO₂ effects on plant carbon, nitrogen, and water relations: Six important lessons from FACE. **Journal of Experimental Botany**, v. 60, n. 10, p. 2859-2876, 2009

LENG, G.; TANG, Q.; RAYBURG, S. Climate change impacts on meteorological, agricultural and hydrological droughts in China. **Global and Planetary Change**, v. 126, p. 23–34, 2015.

LESK, C.; ROWHANI, P.; RAMANKUTTY, N. Influence of extreme weather disasters on global crop production. **Nature**, v. 529, n. 7584, p. 84–87, 2016.

LEWIS, J. D.; SMITH, R. A.; GHANNOUM, O.; LOGAN, B. A.; PHILLIPS, N. G.; TISSUE, D. T. Industrial-age changes in atmospheric [CO₂] and temperature differentially alter responses of faster- and slower-growing *Eucalyptus* seedlings to short-term drought. **Tree Physiology**, v. 33, n. 5, p. 475–488, 2013.

LIPIEC, J.; DOUSSAN, C.; NOSALEWICZ, A.; KONDRACKA, K. Effect of drought

and heat stresses on plant growth and yield: a review. **International Agrophysics**, v. 27, n. 4, p. 463–477, 2013.

LIU, H.; HUSSAIN, S.; ZHENG, M.; PENG, S.; HUANG, J.; CUI, K.; NIE, L. Dry direct-seeded rice as an alternative to transplanted-flooded rice in Central China. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 35, n. 1, p. 285–294, 2014.

LUDWIG, F.; ASSENG, S. Potential benefits of early vigor and changes in phenology in wheat to adapt to warmer and drier climates. **Agricultural Systems**, v. 103, n. 3, p. 127–136, 2010.

MARÉCHAUX, I.; BARTLETT, M. K.; SACK, L.; BARALOTO, C.; ENGEL, J.; JOETZJER, E.; CHAVE, J. Drought tolerance as predicted by leaf water potential at turgor loss point varies strongly across species within an Amazonian forest. **Functional Ecology**, v. 29, n. 10, p. 1268–1277, 2015.

MHAMDI, A.; NOCTOR, G. High CO₂ Primes Plant Biotic Stress Defences through Redox-Linked Pathways. **Plant Physiology**, v. 172, n. 2, p. 929–942, 2016.

MIGNOLET-SPRUYT, L.; XU, E.; IDÄNHEIMO, N.; HOEBERICHTS, F. A.; MÜHLENBOCK, P.; BROSCHE, M.; VAN BREUSEGEM, F.; KANGASJÄRVI, J. Spreading the news: subcellular and organellar reactive oxygen species production and signalling. **Journal of Experimental Botany**, v. 67, n. 13, p. 3831–3844, 2016.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science**, v. 7, n. 9, p. 405–410, 2002.

MITTLER, R. Abiotic stress, the field environment and stress combination. **Trends in Plant Science**, v. 11, n. 1, p. 15–19, 2006.

MITTLER, R. ROS Are Good. **Trends in Plant Science**, v. 22, n. 1, p. 11–19, 2017.

MITTLER, R.; VANDERAUWERA, S.; SUZUKI, N.; MILLER, G.; TOGNETTI, V. B.; VANDEPOELE, K.; GOLLERY, M.; SHULAEV, V.; VAN BREUSEGEM, F. ROS signaling: The new wave? **Trends in Plant Science**, v. 16, n. 6, p. 300–309, 2011.

MØLLER, I. M.; JENSEN, P. E.; HANSSON, A. Oxidative Modifications to Cellular Components in Plants. **Annual Review of Plant Biology**, v. 58, n. 1, p. 459–481, 2007.

MONIKA, B.; PAWLAK, A.; SKRZYPULEC-PLINTA, V. Obese Patients Er Ci Al Us E on Co M on L Co M M Er Al. **Health Psychology Research**, v. 1, n. 2, p. 59–68, 2013.

- MORAES, C. De; SAMPAIO, R. C. Estresse oxidativo e envelhecimento: papel do exercício físico. **Motriz: Revista de Educação Física**. UNESP, v. 16, n. 2, p. 506–515, 2010.
- MORGAN, J. A.; LECAIN, D. R.; MOSIER, A. R.; MILCHUNAS, D. G. Elevated CO₂ enhances water relations and productivity and affects gas exchange in C₃ and C₄ grasses of the Colorado shortgrass steppe. **Global Change Biology**, v. 7, n. 4, p. 451–466, 2001.
- MOSHELION, M.; HALPERIN, O.; WALLACH, R.; OREN, R.; WAY, D. A. Role of aquaporins in determining transpiration and photosynthesis in water-stressed plants: Crop water-use efficiency, growth and yield. **Plant, Cell & Environment**, v. 38, n. 9, p. 1785–1793, 2015.
- NIYOGI, K. K. Safety valves for photosynthesis. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 3, n. 6, p. 455–460, 2000.
- NOBRE, C. A.; REID, J.; VEIGA, A. P. S. **Fundamentos Científicos das Mudanças Climáticas**. v. 1, 2012, 44 p.
- NOCTOR, G.; MHAMDI, A. Climate Change, CO₂, and Defense: The Metabolic, Redox, and Signaling Perspectives. **Trends in Plant Science**, v. 22, n. 10, p. 857–870, 2017.
- NOCTOR, G.; VELJOVIC-JOVANOVIC, S.; DRISCOLL, S.; NOVITSKAYA, L.; FOYER, C. H. Drought and Oxidative Load in the Leaves of C₃ Plants: a Predominant Role for Photorespiration? **Annals of Botany**, v. 89, n. 7, p. 841–850, 2002.
- NOWAK, R. S.; ELLSWORTH, D. S.; SMITH, S. D. Functional responses of plants to elevated atmospheric CO₂- Do photosynthetic and productivity data from FACE experiments support early predictions? **New Phytologist**, v. 162, n. 2, p. 253-280, 2004.
- O'LEARY, G. J.; CHRISTY, B.; NUTTALL, J.; HUTH, N.; CAMMARANO, D.; STÖCKLE, C.; BASSO, B.; SHCHERBAK, I.; FITZGERALD, G.; LUO, Q.; FARRECODINA, I.; PALTA, J.; ASSENG, S. Response of wheat growth, grain yield and water use to elevated CO₂ under a Free-Air CO₂ Enrichment (FACE) experiment and modelling in a semi-arid environment. **Global Change Biology**, v. 21, n. 7, p. 2670–2686, 2015.

OBATA, T.; FLORIAN, A.; TIMM, S.; BAUWE, H.; FERNIE, A. R. On the metabolic interactions of (photo)respiration. **Journal of Experimental Botany**, v. 67, n. 10, p. 3003-3014, 2016.

OLIVEIRA, V. F.; SILVA, E. A.; ZAIDAN, L. B. P.; CARVALHO, M. A. M. Effects of elevated CO₂ concentration and water deficit on fructan metabolism in *Viguiera discolor* Baker. **Plant Biology**, v. 15, n. 3, p. 471–482, 2013.

PAIVA, E. P. De; SÁ, F. V. da S.; TORRES, S. B.; BRITO, M. E. B.; MOREIRA, R. C. L.; SILVA, L. de A.; PAIVA, E. P. De; SÁ, F. V. da S.; TORRES, S. B.; BRITO, M. E. B.; MOREIRA, R. C. L.; SILVA, L. de A. Germination and tolerance of cowpea (*Vigna unguiculata*) cultivars to water stress. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 22, n. 6, p. 407–411, 2018.

PAN, S.; CHEN, G.; REN, W.; DANGAL, S. R. S.; BANGER, K.; YANG, J.; TAO, B.; TIAN, H. Responses of global terrestrial water use efficiency to climate change and rising atmospheric CO₂ concentration in the twenty-first century. **International Journal of Digital Earth**, v. 11, n. 6, p. 558–582, 2018.

PAUDEL, I.; HALPERN, M.; WAGNER, Y.; RAVEH, E.; YERMIYAHU, U.; HOCH, G.; KLEIN, T. Elevated CO₂ compensates for drought effects in lemon saplings via stomatal downregulation, increased soil moisture, and increased wood carbon storage. **Environmental and Experimental Botany**, v. 148, p. 117–127, 2018.

POORTER, H.; NAVAS, M. L. Plant growth and competition at elevated CO₂: On winners, losers and functional groups. **New Phytologist**, v. 157, n. 2, p. 175-198, 2003.

PURCELL, C.; BATKE, S. P.; YIOTIS, C.; CABALLERO, R.; SOH, W. K.; MURRAY, M.; MCELWAIN, J. C. Increasing stomatal conductance in response to rising atmospheric CO₂. **Annals of Botany**, v. 121, n. 6, p. 1137-1149, 2018.

REICH, P. B.; HOBBIE, S. E.; LEE, T. D. Plant growth enhancement by elevated CO₂ eliminated by joint water and nitrogen limitation. **Nature Geoscience**, v. 7, n. 12, p. 920–924, 2014.

RIVAS, R.; FALCÃO, H. M.; RIBEIRO, R. V.; MACHADO, E. C.; PIMENTEL, C.; SANTOS, M. G. Drought tolerance in cowpea species is driven by less sensitivity of leaf gas exchange to water deficit and rapid recovery of photosynthesis after rehydration. **South African Journal of Botany**, v. 103, p. 101–107, 2016.

ROLDÁN-ARJONA, T.; ARIZA, R. R. Repair and tolerance of oxidative DNA damage in plants. **Mutation Research**, v. 681, n. 2-3, p. 169-179, 2009.

SANTOS, A. B. Dos. **Sistema de cultivo – EMBRAPA** . 2017. Disponível em: <<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/arroz/arvore/CONT000g1wcnzza02wx5ok0ha2lipwbeel46.html>>. Acesso em: 17 out. 2017.

SENEWEERA, S.; MAKINO, A.; HIROTSU, N.; NORTON, R.; SUZUKI, Y. 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**, v. 71, n. 2, p. 128–136, 2011.

SOUTH, P. F.; CAVANAGH, A. P.; LIU, H. W.; ORT, D. R. Synthetic glycolate metabolism pathways stimulate crop growth and productivity in the field. **Science**, v. 363, n. 6422, p. eaat9077, 2019.

TAKAHASHI, S.; BADGER, M. R. Photoprotection in plants: A new light on photosystem II damage. **Trends in Plant Science**, v. 16, n. 1, p. 53-60, 2011.

TAKAHASHI, S.; BAUWE, H.; BADGER, M. Impairment of the Photorespiratory Pathway Accelerates Photoinhibition of Photosystem II by Suppression of Repair But Not Acceleration of Damage Processes in Arabidopsis. **Plant Physiology**, v. 144, n. 1, p. 487–494, 2007.

TODAKA, D.; SHINOZAKI, K.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K. Recent advances in the dissection of drought-stress regulatory networks and strategies for development of drought-tolerant transgenic rice plants. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, 2015.

TRENBERTH, K. E.; DAI, A.; VAN DER SCHRIER, G.; JONES, P. D.; BARICHIVICH, J.; BRIFFA, K. R.; SHEFFIELD, J. Global warming and changes in drought. **Nature Climate Change**, v. 4, n. 1, p. 17–22, 2013.

TYREE, M.; ALEXANDER, J. Plant water relations and the effects of elevated CO₂: a review and suggestions for future research. **Vegetatio**, v. 104/105, n. 1, p. 47–62, 1993.

UDDIN, S.; LOEW, M.; PARVIN, S.; FITZGERALD, G. J.; TAUSZ-POSCH, S.; ARMSTRONG, R.; LEARY, G. O.; TAUSZ, M. Elevated [CO₂] mitigates the effect of surface drought by stimulating root growth to access sub-soil water. **Plos One**, v. 13, n. Dd, p. 1–20, 2018.

VAAHTERA, L.; BROSCHÉ, M.; WRZACZEK, M.; KANGASJÄRVI, J. Specificity in ROS Signaling and Transcript Signatures. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 21, n. 9, p. 1422–1441, 2014.

VAIDYANATHAN, H.; SIVAKUMAR, P.; CHAKRABARTY, R.; THOMAS, G. Scavenging of reactive oxygen species in NaCl-stressed rice (*Oryza sativa* L.) - Differential response in salt-tolerant and sensitive varieties. **Plant Science**, v. 165, n. 6, p. 1411–1418, 2003.

VASCONCELOS, S. M. L.; GOULART, M. O. F.; MOURA, J. B. D. F.; MANFREDINI, V.; BENFATO, M. D. S.; KUBOTA, L. T. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: Principais métodos analíticos para sua determinação. **Química Nova**, v. 30, n. 5, p.1323-1338, 2007.

VIBHUTI; SHAHI, C.; BARGALI, K.; BARGALI, S. S. Seed germination and seedling growth parameters of rice (*Oryza sativa*) varieties as affected by salt and water stress. **Indian Journal of Agricultural Sciences**, v. 85, n. 1, p. 102–108, 2015.

VOSS, I.; SUNIL, B.; SCHEIBE, R.; RAGHAVENDRA, A. S. Emerging concept for the role of photorespiration as an important part of abiotic stress response. **Plant Biology**, v. 15, p. 713-722, 2013.

WALKER, B. J.; VANLOOCKE, A.; BERNACCHI, C. J.; ORT, D. R. The Costs of Photorespiration to Food Production Now and in the Future. **Annual Review of Plant Biology**, v. 67, n. 1, p. 107–129, 2016.

WANG, D. R.; BUNCE, J. A.; TOMECEK, M. B.; GEALY, D.; MCCLUNG, A.; MCCOUCH, S. R.; ZISKA, L. H. Evidence for divergence of response in Indica, Japonica, and wild rice to high CO₂ × temperature interaction. **Global Change Biology**, v. 22, n. 7, p. 2620–2632, 2016.

WEIWEI, L. U.; XINXIAO, Y. U.; GUODONG, J. I. A.; HANZHI, L. I.; ZIQIANG, L. I. U. Responses of Intrinsic Water-use Efficiency and Tree Growth to Climate Change in Semi-Arid Areas of North China. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 308, 2018.

WINGLER, A.; LEA, P. J.; QUICK, W. P.; LEEGOOD, R. C. Photorespiration: metabolic pathways and their role in stress protection. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 355, n. 1402, p. 1517–1529, 2000.

WU, X.; HE, J.; DING, H.; ZHU, Z.; CHEN, J.; XU, S.; ZHA, D. Modulation of zinc-induced oxidative damage in *Solanum melongena* by 6-benzylaminopurine involves ascorbate-glutathione cycle metabolism. **Environmental and Experimental Botany**, v. 116, p. 1–11, 2015.

XU, H.; ZHANG, J.; ZENG, J.; JIANG, L.; LIU, E.; PENG, C.; HE, Z.; PENG, X. Inducible antisense suppression of glycolate oxidase reveals its strong regulation over photosynthesis in rice. **Journal of Experimental Botany**, v. 60, n. 6, p. 1799–1809, 2009.

XU, Z.; JIANG, Y.; JIA, B.; ZHOU, G. Elevated-CO₂ Response of Stomata and Its Dependence on Environmental Factors. **Frontiers in plant science**, v. 7, n. May, p. 657, 2016.

ZANDALINAS, S. I.; MITTLER, R.; BALFAGÓN, D.; ARBONA, V.; GÓMEZ-CADENAS, A. Plant adaptations to the combination of drought and high temperatures. **Physiologia Plantarum**, v. 162, n. 1, p. 2-12, 2018.

ZARGAR, S. M.; GUPTA, N.; NAZIR, M.; MAHAJAN, R.; MALIK, F. A.; SOFI, N. R.; SHIKARI, A. B.; SALGOTRA, R. K. Impact of drought on photosynthesis: Molecular perspective. **Plant Gene**, v. 11, parte B, p. 154-159, 2017.

ZELITCH, I.; SCHULTES, N. P.; PETERSON, R. B.; BROWN, P.; BRUTNELL, T. P. High Glycolate Oxidase Activity Is Required for Survival of Maize in Normal Air. **Plant Physiology**, v. 149, n. 1, p. 195–204, 2009.

ZINTA, G.; ABDELGAWAD, H.; DOMAGALSKA, M. A.; VERGAUWEN, L.; KNAPEN, D.; NIJS, I.; JANSSENS, I. A.; BEEMSTER, G. T. S.; ASARD, H. 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**, v. 20, n. 12, p. 3670–3685, 2014.

CAPÍTULO II

O CO₂ ELEVADO COMPENSA OS EFEITOS DA SECA, MANTENDO A FOTOSÍNTESE, FAVORECENDO O CRESCIMENTO E ATENUANDO OS DANOS OXIDATIVOS EM PLANTAS DE ARROZ

CAPÍTULO II - O CO₂ ELEVADO COMPENSA OS EFEITOS DA SECA, MANTENDO A FOTOSÍNTESE, FAVORECENDO O CRESCIMENTO E ATENUANDO OS DANOS OXIDATIVOS EM PLANTAS DE ARROZ

RESUMO

A seca pode limitar o crescimento e o desenvolvimento das plantas enquanto que o CO₂ elevado pode incrementar a fotossíntese e atenuar os danos causados pela restrição hídrica. Apesar disso, as respostas precisas aos efeitos combinados do déficit hídrico e elevada concentração de CO₂ nas plantas são pouco compreendidas, não podendo ser extrapoladas dos efeitos isolados desses fatores. Assim, o presente estudo avaliou efeitos benéficos da concentração elevada de CO₂ na resistência ao estresse hídrico em plantas de arroz, com base nos parâmetros hídricos, de eficiência fotossintética, alocação de biomassa, e defesa oxidativa. Para isso, plantas de arroz (*Oryza sativa*), cv. São Francisco, foram cultivadas em vasos de 3 L com areia e vermiculita (v/v), em câmara de crescimento com condições controladas de umidade relativa, temperatura, luminosidade e concentrações de CO₂ ambiente (380 µmol mol⁻¹) e elevado (760 µmol mol⁻¹), por 35 dias. Em seguida, as plantas foram tratadas com dois níveis de umidade do substrato [bem irrigado (mantendo a umidade do substrato próxima da saturação - 100%) e déficit hídrico (30% do volume aplicado no tratamento bem irrigado)] por mais 20 dias, resultando em um experimento com ensaio fatorial 2x2, sendo dois níveis de CO₂ (380 e 760 µmol mol⁻¹) e dois de umidade do substrato (bem irrigado e déficit hídrico). As plantas submetidas ao CO₂ elevado apresentaram menor transpiração associada a menor condutância estomática, o que evitou a perda de água e melhorou a eficiência no seu uso (Relação P_N/E), principalmente sob déficit hídrico. Nestas condições, esse comportamento resultou em um maior acúmulo de matéria seca, principalmente na raiz. Além disso, nas plantas sob déficit hídrico e CO₂ elevado apresentaram uma maior eficiência de carboxilação (Relação P_N/C_i) associada à menor atividade fotorrespiratória, maior rendimento quântico e regulação na defesa oxidativa pelas enzimas CAT, SOD e APX. O CO₂ elevado, portanto, atenuou os efeitos do déficit hídrico nas plantas de arroz, mantendo o 'status' hídrico e melhorando a eficiência foto-oxidativa.

Palavras-chave: Defesa oxidativa; Déficit hídrico; Fotossíntese; Fotorrespiração; *Oryza sativa*.

1. INTRODUÇÃO

O déficit hídrico é um dos principais fatores abióticos que afetam a produção vegetal no mundo (FAHAD et al., 2017), ocorrendo de forma mais severa em regiões áridas e semiáridas (PAIVA et al., 2018). Quando expostas a seca, as plantas podem apresentar mudanças morfológicas, fisiológicas, bioquímicas e moleculares que comprometem o crescimento e a produtividade (ZANDALINAS et al., 2018). Isso se deve principalmente à alteração das relações hídricas, diminuição da absorção de dióxido de carbono (CO_2), associados a ocorrência de danos oxidativos celulares sobre proteínas, ácidos nucleicos e membranas (ABID et al., 2018).

O fechamento estomático é uma das primeiras respostas fisiológicas em plantas expostas a seca, levando a diminuição da capacidade de carboxilação devido às limitações do influxo de CO_2 no mesófilo foliar e da atividade carboxilase da ribulose 1,5-bifosfato carboxilase oxigenase (Rubisco) (LAWLOR e CORNIC, 2002; ANDRIANASOLO et al., 2016). Além disso, esse efeito da seca na fotossíntese de plantas C_3 está associado ao estímulo da fotorrespiração (OBATA et al., 2016), processo metabólico acoplado à assimilação de CO_2 que leva à perdas de cerca de 25% do carbono (HODGES et al., 2016). Esse processo é condicionado à produção de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) durante a oxidação do glicolato pela oxidase do glicolato (DELLERO et al., 2016).

Outras de espécies reativas do oxigênio (EROs), tais como os radicais superóxido ($\text{O}_2^{\bullet-}$) e radicais hidroxila (HO^{\bullet}) podem ser geradas devido ao excesso de energia em processos fotoquímicos (TAKAGI et al., 2017). Sob seca, a menor assimilação de CO_2 pode levar ao aumento da relação $\text{NADPH}/\text{NADP}^+$ cloroplástica, estimulando a geração de $\text{O}_2^{\bullet-}$ a partir do O_2 (FOYER E NOCTOR, 2003). Assim, os distúrbios fotossintéticos em plantas submetidas ao estresse hídrico podem gerar danos oxidativos severos, afetando processos fenológicos essenciais ao crescimento vegetal.

A proteção contra o excesso de EROs, gerado pelos distúrbios fotossintéticos em plantas expostas a seca, pode ocorrer por mecanismos enzimáticos e não enzimáticos. A enzima superóxido dismutase (SOD) atua como o primeiro agente de defesa catalisando a dismutação do radical superóxido ($\text{O}_2^{\bullet-}$) em O_2 e H_2O_2 , sendo o H_2O_2 reduzido à água e oxigênio por peroxidases do ascorbato (APX) nos cloroplastos e pela catalase (CAT) nos peroxissomos (VAIDYANATHAN et al., 2003; BASU et al., 2009). A proteção oxidativa também pode ser atribuída ao aumento no conteúdo dos antioxidantes ascorbato e glutatona em plantas submetidas a seca (HASANUZZAMAN et al., 2012). Esses mecanismos protetores demandam energia e necessitam operar de forma simultânea, para

conferir a homeostase celular em resposta aos distúrbios induzidos por fatores abióticos (MITTLER, 2002).

Todos esses distúrbios celulares estão relacionados à redução da relação CO_2/O_2 no mesófilo foliar em plantas sob déficit hídrico. Assim, o aumento da pressão de CO_2 ambiente poderia atenuar tanto a restrição fotossintética quanto os danos oxidativos. No entanto, os mecanismos fisiológicos relacionados ao potencial benéfico do aumento do CO_2 para a fotossíntese em plantas C3 ainda não estão claros, tanto na ausência quanto na presença de estresse hídrico, e principalmente quando esse aumento do CO_2 ocorre desde a germinação. Embora, estudos mostrem que concentrações elevadas de CO_2 podem estimular a fotossíntese em plantas tanto na ausência (KAISER et al., 2017; ASPINWALL et al., 2018), quanto na presença de estresses abióticos como salinidade (GEISLER et al., 2009; DEL AMOR, 2013) e seca (TEZARA et al., 2002; PAUDEL et al., 2018).

Dentre esses efeitos benéficos do elevado CO_2 em plantas sob déficit hídrico está o aumento da eficiência de uso de água (EUA), atribuída a menor condutância estomática associada a assimilação de CO_2 continuada (EASLON et al., 2015). Outra resposta ao aumento da concentração de CO_2 é o incremento da fotossíntese, que se deve à maior disponibilidade de CO_2 no sítio de carboxilação da Rubisco, resultando em menor reação de oxigenase dessa enzima e conseqüente atividade fotorrespiratória (WANG et al., 2015). Apesar disso, os efeitos precisos do excesso de CO_2 na fotossíntese são ainda controversos, considerando que o aumento de CO_2 pode também desencadear respostas inibitórias para a assimilação de carbono (AINSWORTH et al., 2004; AINSWORTH; ROGERS, 2007), efeitos dependentes do tipo de abordagem experimental empregada, bem como, da espécie vegetal, idade das plantas, disponibilidade nutricional e ao tempo de exposição ao CO_2 (NOWAK et al., 2004; AINSWORTH e LONG, 2005).

Com relação ao estágio de desenvolvimento, um fator que pode influenciar o crescimento durante a aclimatação fotossintética ao elevado CO_2 é a relação fonte/dreno (URBAN, 2003). Pela modulação dessa relação, a resposta de crescimento ao CO_2 depende da capacidade da planta para gerar novos drenos e/ou expandir a capacidade de estocagem ou taxa de crescimento de drenos existentes (LUO et al., 1994; CEULEMANS, 1998). Além disso, a aclimatação por longo tempo ao CO_2 elevado pode levar a redução da fotossíntese devido ao acúmulo de carboidratos, o que tem sido considerado um mecanismo bioquímico de inibição por *feedback*, e/ou devido a danos físicos do cloroplasto (DELUCIA; SASEK; STRAIN, 1985).

Considerando a espécie, as plantas C3 podem ser mais beneficiadas pela maior concentração de CO₂ sob seca, por favorecer a atividade carboxilase da Rubisco e reduzir danos foto-oxidativos. No entanto, apesar dessa combinação (elevado CO₂ x déficit hídrico) ser considerada potencialmente benéfica às plantas (SUZUKI et al., 2014), os mecanismos celulares envolvidos na eficiência fotossintética que levariam a menor fotorrespiração e dano oxidativos são ainda pouco conhecidos. O arroz (*Oryza sativa*) é uma espécie C3 de importância agrícola que apresenta distúrbios foto-oxidativos severos sob restrições hídricas (BRÄUTIGAM e GOWIK, 2016), podendo ser um modelo vegetal viável para estudos de efeitos benéficos do CO₂. Sob seca, essa espécie poderia expressar mecanismos bioquímicos e fisiológicos que são conferidos pelo CO₂ elevado, ainda pouco conhecidos, associados à proteção fotossintética contra danos induzidos por esse estresse.

Assim, o presente estudo teve como objetivo demonstrar efeitos benéficos da concentração elevada de CO₂ sobre mecanismos envolvidos na eficiência de assimilação de carbono, alocação de biomassa e contra danos foto-oxidativos associados a maior resistência de plantas de arroz ao estresse hídrico.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Modelo vegetal e condições de crescimento

Sementes de arroz (*Oryza sativa*), cv. São Francisco, foram desinfestadas com hipoclorito de sódio a 5% (v/v) por cinco minutos e lavadas com água destilada. A germinação foi realizada em vasos plásticos de 3 litros contendo areia e vermiculita na proporção de 1/1 (v/v) irrigados com água destilada e após germinação com solução nutritiva (HOAGLAND; ARNON, 1950). As plantas (duas/vaso) foram germinadas e crescidas em câmara de crescimento tipo FITOTRON - SCG 120, com condições controladas de luminosidade (400 $\mu\text{mol f\^otons m}^{-2} \text{s}^{-1}$), umidade relativa (60% dia e 70% noite), temperatura do ar (28 °C dia e 26 °C noite), fotoperíodo de 12h/12h, e concentrações de CO₂ [ambiente (380 $\mu\text{mol mol}^{-1}$) e elevado (760 $\mu\text{mol mol}^{-1}$)].

Após 35 dias, as plantas foram submetidas a dois níveis de umidade do substrato (bem irrigado e déficit hídrico). A umidade do substrato das plantas bem irrigadas foi mantida próxima à saturação por reposição diária com solução nutritiva, enquanto para o

tratamento do déficit hídrico (DH) a umidade do substrato foi obtida pela substituição de apenas 30% do volume utilizado nas plantas bem irrigadas. Os regimes hídricos foram impostos até o dia em que as plantas sob déficit apresentaram reduções significativas para a condutância estomática, totalizando 20 dias de tratamento (DT). Desde a germinação, as duas concentrações de CO₂ foram controladas por um cilindro de CO₂ e sensor acoplado à câmara climática. O tratamento de referência (Controle) foi estabelecido como aquele que manteve a umidade do substrato próximo da saturação (bem irrigado) à CO₂ ambiente (380 μmol mol⁻¹). Os demais tratamentos foram designados da seguinte forma: DH (sob déficit hídrico à CO₂ ambiente - (380 μmol mol⁻¹)), CO₂ (bem irrigados sob CO₂ elevado (760 μmol mol⁻¹)), e DH + CO₂ (sob déficit hídrico à CO₂ elevado (760 μmol mol⁻¹)).

2.2 Desenho experimental e análise estatística

Os tratamentos foram derivados de um fatorial 2x2, consistindo em dois níveis de umidade do substrato (bem irrigado e déficit hídrico) e duas concentrações de CO₂ (380 e 760 μmol mol⁻¹). Cada parcela experimental foi representada por um vaso contendo duas plantas, com três repetições para cada tratamento. Os dados das variáveis analisadas foram submetidos ao teste F a $p < 0,05$ e as médias, quando divergiram significativamente, comparadas pelo teste de Tukey, em mesmo nível de significância.

2.3 Conteúdo relativo de água (CRA), biomassa e carboidratos solúveis

A determinação do conteúdo relativo de água seguiu o método de Weatherley (1950). Ao final do experimento foram coletados segmentos foliares, sendo pesados imediatamente para determinação da massa fresca (MF), seguido da determinação da massa túrgida (MT) por imersão em 30 mL de água destilada por 8 horas em placas de Petri (sendo retirado excesso de umidade com papel toalha) e, logo após, determinado a massa seca (MS), mantendo-o em estufa por 48 horas a 65 °C. O CRA foi estimado pela relação $CRA = [(MF - MS)/(MT - MS)] \times 100$. Após colhidas, as plantas foram separadas em folhas, colmos e raízes e, com o auxílio de uma balança semianalítica, obteve-se a massa fresca (MF). Boa parte das folhas foram imediatamente imersas em nitrogênio líquido e armazenadas em ultra freezer (-80 °C) para análises posteriores. Colmos e raízes

foram secos em estufa a 65 °C por 48 h, determinando-se a massa seca (MS), sendo a MS das folhas estimada através do conteúdo relativo de água.

Os açúcares solúveis totais nas folhas e raízes foram extraídos usando 0,2 g em 5 mL de água deionizada, submetidas ao banho maria à 98 °C por 1 hora. Para a determinação dos carboidratos solúveis, utilizou-se o método fenol-sulfúrico (DUBOIS et al., 1956). Nos tubos de ensaio, alíquotas de 500 µL do extrato foram adicionadas, seguidas de 500 µL de fenol a 5%, sendo a reação iniciada com a adição de 2,5 mL de ácido sulfúrico concentrado. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro a 490 nm. Para o cálculo, utilizou-se curva padrão elaborada com soluções aquosas de d-glicose, e os resultados foram expressos em mmol de carboidrato solúvel g⁻¹ MF.

2.4 Conteúdo de clorofilas a, b e totais e carotenóides

Pesou-se 0,2 g de MF das folhas de cada planta, sendo solubilizados em acetona a 80%, utilizando tubos de ensaio e 5 mL da solução. Os tubos foram armazenados em ambiente refrigerado e seu volume foi completado sempre que necessário. As medidas dos teores de clorofila (Chl) e carotenóides foram realizadas por leituras diretas em espectrofotômetro nos comprimentos de onda de 470, 645, 652 e 663 nm, de acordo com os métodos de Arnon (1949) e Wellburn (1994). A estimativa das concentrações de clorofila foi realizada pelas seguintes relações, determinadas em mg g⁻¹ MF, $Chl_a = [(12.7 \times A_{663} - 2.69 \times A_{645}) / (1000 \times W)] \times V$, $Chl_b = [(22.9 \times A_{645} - 4.68 \times A_{663}) / (1000 \times W)] \times V$, $Chl_{totalis} = [(A_{652} \times 1000) / 34.5] \times (V / 1000 \times W)$, $Carotenóides = [((1000 \times A_{470}) - (1.9 \times Chl_a) - (63.14 \times Chl_b)) / 214]$, em que A é a absorbância, V o volume final do extrato (5 mL), e W o peso em gramas do tecido vegetal (0.2 g).

2.5 Trocas gasosas

As curvas de fotossíntese líquida (P_N), transpiração (E), condutância estomática (g_s) e concentração intercelular de CO₂ (C_i) foram realizadas em resposta ao aumento da concentração de CO₂ na câmara foliar (P_N/CO_2) e à densidade de fluxo de fótons fotossintéticos (DFFF) ($P_N/DFFF$) em folhas totalmente expandidas, sempre no período da manhã, 20 dias após os tratamentos, utilizando o sistema de fotossíntese portátil GFS 3000 (Heinz Walz, Alemanha). A DFFF variou de 0 a 2000 µmol fótons m⁻² s⁻¹ e pressão parcial de CO₂ de 0 a 1800 µmol m⁻² s⁻¹, sendo a temperatura fixa na câmara de leitura de

28 °C. Nas curvas P_N /DFFF a pressão parcial de CO_2 foi mantida em 390 e 760 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, de acordo com o tratamento, e nas curvas P_N/CO_2 o DFFF foi fixado em 1000 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$. A partir disto, a respiração no escuro (R_d), rendimento qu\u00e2ntico aparente (ϕ) ponto de compensação de luz (LCP), taxa m\u00e1xima de absorção de CO_2 ($P_{N\text{max}}$), taxa m\u00e1xima de carboxilação da Rubisco ($V_{C\text{max}}$), taxa m\u00e1xima de transporte fotossint\u00e9tico de el\u00e9trons (J_{max}), respiração diurna (R_i) e condut\u00e2ncia mesof\u00edlica (g_m) foram estimados de acordo com os m\u00e9todos descritos por Marshall e Biscoe (1980) e Sharkey et al. (2007).

Al\u00e9m disso, calculou-se a P_N relativa, atribuindo-se 1,0 para o controle, derivando-se os demais a partir deste, e estimou-se a ocorr\u00eancia de excesso de el\u00e9trons pela rela\u00e7\u00e3o J_{max}/P_N (RIBEIRO et al., 2009), sendo os valores de P_N utilizados padronizados a 1000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. J\u00e1 a taxa fotorrespirat\u00f3ria (P_R) foi medida a partir da seguinte rela\u00e7\u00e3o, descrita por Bagard et al. (2008), mantendo-se a P_N na mesma DFFF: $P_R = 1/12[J_{\text{max}} - 4(P_N + R_i)]$. A efici\u00eancia no uso da \u00e1gua (EUA) e a efici\u00eancia intr\u00ednseca no uso da \u00e1gua (EIUA) foram calculadas e determinadas em $\mu\text{mol } CO_2 \text{ mmol}^{-1} H_2O$, pelas seguintes rela\u00e7\u00f5es, respectivamente, $EUA = P_N/E$ e $EIUA = P_N/g_s$.

2.6 Fluoresc\u00eancia da clorofila a e par\u00e2metros fotoqu\u00edmicos

A fluoresc\u00eancia inicial (F_o), a fluoresc\u00eancia m\u00e1xima (F_m), a fluoresc\u00eancia inicial modulada (F_o') e a modula\u00e7\u00e3o m\u00e1xima (F_m') foram medidas usando o m\u00e9todo de pulso de satura\u00e7\u00e3o e usando um fluor\u00edmetro de luz port\u00e1til MINI-PAM II (Heinz Walz, Alemanha). O rendimento qu\u00e2ntico m\u00e1ximo do fotossistema II (FSII) (F_v/F_m), taxa relativa de transporte de el\u00e9trons (ETR), quenching fotoqu\u00edmico (qP) e quenching n\u00e3o fotoqu\u00edmico (NPQ), bem como a efici\u00eancia qu\u00e2ntica de FSII ($\Delta F/F_m'$), foram estimados pelas seguintes rela\u00e7\u00f5es $F_v/F_m = (F_m - F_o)/F_m$, $\Delta F/F_m' = (F_m' - F_s)/F_m'$, $ETR = \Delta F/F_m' \times DFFF \times 0,5 \times 0,84$, $qP = (F_m' - F_s)/(F_m' - F_o')$, $NPQ = (F_m - F_m')/F_m'$.

O F_s \u00e9 o n\u00edvel da curva de fluoresc\u00eancia durante os tratamentos pouco antes de um pulso de satura\u00e7\u00e3o ser aplicado. Para c\u00e1lculo da ETR, 0,5 foi usado como a fra\u00e7\u00e3o de energia de excita\u00e7\u00e3o distribu\u00edda para FSII e 0,84 como a fra\u00e7\u00e3o de luz recebida absorvida pelas folhas (SCHREIBER et al., 1998). Com o aux\u00edlio de pin\u00e7as met\u00e1licas colocadas na regi\u00e3o mediana, na superf\u00edcie superior, evitando a nervura central, as folhas foram submetidas a 50 minutos no escuro para que todos os centros de rea\u00e7\u00e3o permanecessem "abertos". As leituras para obten\u00e7\u00e3o das vari\u00e1veis ocorreram com pulsos de luz saturante

de 0,7 s, para promover o fechamento dos centros de reação do FSII, com as variáveis ETR, qP e NPQ determinadas em curva de resposta à luminosidade, com DFFF variando de 0 a 1522 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

2.7 Extração de proteínas e atividades enzimáticas

Para extração e medição das proteínas solúveis foram utilizados os métodos de Bradford (1976) e Zimmermann et al. (2006). A extração foi iniciada pesando-se 0,2 g de MF de folhas de arroz, sendo maceradas com auxílio de nitrogênio líquido e solubilizadas com tampão fosfato de potássio 100 mM pH 7,0 (1 mL). O extrato foi transferido para tubos eppendorf, identificados e centrifugados a 10.000 x g por 15 minutos. Para medição do teor de proteína, as amostras foram diluídas em proporção adequada, e em seguida foi adicionado 1 mL de solução de Bradford, sendo homogeneizado. Após 15 minutos as leituras de absorbância foram realizadas a 595 nm, e o conteúdo de proteína foi estimada de acordo com curva padrão elaborada com albumina do soro bovino (BSA), sendo determinada em mg proteína g^{-1} MF.

Para a mensuração da superóxido dismutase (SOD; EC 1.15.1.1) foi utilizado o método de Giannopolitis e Ries (1977). Aliquotas de 100 μL de extrato proteico foram transferidas para tubos protegidos da luz contendo 1660 μL de tampão de ensaio (fosfato de potássio 50 mM pH 7,8) e 200 μL de nitro blue tetrazolium (NBT) 750 μM . A reação foi iniciada pela adição de 40 μL de riboflavina 1 mM e transferência imediata dos tubos, sem proteção da luz, para uma caixa de madeira iluminada por lâmpada com 30 watts (30 μmol de fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$) por 6 minutos. A reação foi interrompida quando a luz se apagou, sendo os tubos revestidos novamente com papel laminado escuro. As leituras foram realizadas a 540 nm, e a atividade estimada com base na inibição da redução de NBT, em que uma unidade de atividade da SOD é necessária para causar 50% de inibição da taxa de fotorredução do NBT, expressa em U.A. mg^{-1} proteína min^{-1} .

Para a peroxidase do ascorbato (APX; EC 1.11.1.11), o mesmo método de extração proteica foi utilizado, porém com adição de 0,5 mM de ácido ascórbico ao tampão de extração. Aliquotas de 100 μL foram adicionadas em 2,7 mL da solução tampão (fosfato de potássio 50 mM, pH 6,0 + ascorbato 0,5 mM) e 200 μL de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) a 30 mM. As leituras espectrofotométricas foram realizadas a uma absorbância de 290 nm durante 3 minutos (intervalos de 30 segundos) em cubeta de quartzo. O coeficiente molar utilizado para cálculo foi de 2,8 $\text{mM}^{-1} \text{cm}^{-1}$ e os resultados

foram expressos em $\mu\text{mol ASC mg}^{-1} \text{ proteína min}^{-1}$, de acordo com metodologia de Nakano e Asada (1981).

A medida de catalase (CAT; EC 1.11.1.6) foi realizada de acordo com o método de Havir e McHale (1987). Alíquotas de 50 μL de extrato proteico foram adicionadas em 2,95 mL do tampão de reação (fosfato de potássio pH 7,0 e 50 mM, contendo 20 mM H_2O_2). As leituras foram realizadas a 240 nm no espectro UV por 3 minutos (intervalos de 30 segundos). Para o cálculo da atividade enzimática, o coeficiente de extinção molar utilizado foi de 36 M cm^{-1} , expressando os resultados com base em $\mu\text{mol de H}_2\text{O}_2 \text{ mg}^{-1} \text{ proteína min}^{-1}$.

A atividade enzimática da oxidase do glicolato (GO; 1.1.3.15) foi determinada de acordo com o método de Baker e Tolbert (1966). Alíquotas de 100 μL do extrato foram adicionadas a 2900 μL do meio de reação contendo tampão fosfato de potássio 100 mM, pH 8,3, cisteína 4 mM, glicolato 7 mM, fenilhidrazina-HCl 4 mM e mononucleótido de flavina (FMN) 0,033 mM. A atividade foi mensurada após 3 minutos de reação por espectrofotometria a 324 nm. A atividade da GO foi calculada utilizando o coeficiente de extinção molar de 17 mM^{-1} , expressando os resultados em $\mu\text{mol de glicolato mg}^{-1} \text{ proteína min}^{-1}$.

2.8 Conteúdo de ascorbato reduzido (ASA) e glutathiona reduzida (GSH)

A medição foi realizada de acordo com o método de Kampfenkel, Van Montagu e Inzé (1995). Para a extração, pesou-se 0,2 g de MF de cada amostra foliar com auxílio de nitrogênio líquido e solubilizou-se com 1,5 mL da solução de ácido tricloroacético (TCA) (6%). O extrato foi transferido para os tubos eppendorf, identificado e centrifugado a 10.000 g por 15 minutos. Alíquotas de 100 μL de extrato foram adicionadas em meio de reação contendo 300 μL de tampão fosfato de potássio 200 mM (pH 7,4), 100 μL de água destilada, 500 μL TCA (10%), 400 μL de ácido fosfórico (45%), 400 μL de biperidil (4%) e 200 μL de FeCl_3 (3%). A reação foi submetida a banho maria a 42 °C por 30 minutos. As leituras foram realizadas a 525 nm, sendo o conteúdo expresso em $\mu\text{mol g}^{-1} \text{ MF}$, estimado com base em curva padrão.

O conteúdo reduzido de glutathiona foi determinado seguindo o método proposto por Griffith (1980). 0,1 g de MF foram maceradas na presença de N_2 líquido, adicionando 1,0 ml de TCA a 6%. O extrato foi centrifugado a 10.000 x g durante 15 min a 4 °C. Para determinação, foram adicionados 200 μL do sobrenadante ao meio reacional contendo 2600 μL de tampão fosfato de sódio 150 mM (pH 7,4), 1000 μL de tampão fosfato de

sódio 100 mM (pH 7,0) e 200 μ L de ácido 5,5'-ditio-bis-(2-nitrobenzóico) (DTNB) 30 mM em tampão fosfato 100 mM (pH 7,0). As reações foram então mantidas durante 10 minutos num banho maria a 30 °C. As leituras foram realizadas com absorvância a 412 nm e o conteúdo estimado com base na curva padrão, expresso em μ mol g⁻¹ MF.

2.9 Conteúdo de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

A quantificação de TBARS foi baseada no método descrito por Heath e Packer (1968). Para a extração, foram pesados 0,2 g de MF de folhas, sendo macerados com auxílio de nitrogênio líquido e solubilizados com 1,5 mL de TCA a 6% (Solução A). O extrato foi transferido para os tubos eppendorf, identificado e centrifugado a 10.000 g por 15 minutos. Alíquotas de 500 μ L de extrato foram adicionadas em 2 ml de solução de reação contendo 20% de TCA e 0,5% de ácido tiobarbitúrico (TBA). As soluções foram armazenadas em tubos fechados com tampa de rosca e foram aquecidas num banho maria a 95 ° C durante 1 hora. Pouco depois, atingindo a temperatura ambiente, as leituras de absorvância foram realizadas a 532 nm e a 600 nm. O coeficiente de extinção molar utilizado para o cálculo da atividade do complexo TBARS foi de 155 mM⁻¹cm⁻¹, expressando os resultados com base em nmol g⁻¹ MF.

2.10 Immunoblot da Rubisco e Glutamina sintetase, e índice relativo de assimilação de CO₂ pela Rubisco (IRAR)

Para determinação dos conteúdos da Rubisco, Glutamina sintetase citosólica (GS1) e mitocondrial (GS2) utilizou-se extrato obtido pela maceração das amostras foliares em tampão fosfato de potássio 100 mM pH 7,0, centrifugado a 12.000 x g por 30 minutos a 4 °C. As mudanças foram avaliadas após separação das proteínas por eletroforese em gel desnaturante (SDS-PAGE) contendo 12,5% de poliacrilamida e 0,1% dodecil sulfato de sódio, sendo corado com solução azul de croomassie. A detecção da subunidade grande de Rubisco (RLS) foi realizada por *immunoblot* utilizando um anticorpo anti-subunidade da Rubisco (AntiRubisco, RbcL, R4404, Sigma) e um anti-IgG secundário de galinha (A 9046, Sigma) conjugado com peroxidase como descrito por Lee et al., 2007.

A abundância relativa foi calculada atribuindo-se o valor 1,0 para a condição de controle e derivando-se os valores dos demais a partir deste, sendo os valores absolutos determinados pelo software Image Studio (C-DiGit Blot Scanner). O índice relativo de

assimilação de CO₂ pela Rubisco (IRAR) foi calculado pela relação da P_N relativa e abundância relativa da Rubisco, conforme equação $IRAR = P_N \text{ relativa} / \text{Abundância relativa da Rubisco}$.

3. RESULTADOS

3.1 Crescimento e caracterização fisiológica de plantas de arroz quando expostas a efeitos combinados de seca e elevado CO₂

O CO₂ elevado favoreceu o 'status' hídrico e o teor de pigmentos fotossintéticos nas folhas das plantas de arroz quando submetidas à deficiência hídrica. O CRA das folhas foi menor (~ 8%) nas plantas sob DH, mas não foi afetada em resposta ao incremento de CO₂, bem como pela combinação DH com CO₂, em relação às plantas de controle (Tabela 1). Além disso, o CO₂ permitiu a aplicação de uma menor quantidade de água para as plantas que tiveram a umidade do substrato mantida próximo da saturação, sendo conseqüentemente também diminuída a reposição diária daquelas sob déficit hídrico (em que apenas 30% do volume das bem irrigadas foi aplicado).

O déficit hídrico e o CO₂ afetaram os conteúdos de carotenoides e clorofila (Tabela 1). Os carotenóides foram mantidos em relação ao controle (bem irrigado à CO₂ ambiente) quando as plantas foram submetidas ao CO₂ elevado, independente da condição hídrica. O conteúdo de Chl_a foi aumentado significativamente sob estresse hídrico apenas para a condição que manteve o CO₂ em condição ambiente, sendo o CO₂ elevado responsável por uma diminuição sob a condição de restrição hídrica. Uma semelhante diminuição ocasionada pelo incremento do CO₂ foi encontrado para a Chl_b, apenas para as plantas com restrição hídrica. Apesar disso, o conteúdo total de clorofilas não foi alterado significativamente, embora a relação Chl_{a/b} foi aumentada tanto pelo déficit hídrico, independente da concentração de CO₂, quanto pelo CO₂ elevado em condições de estresse.

A MS das folhas foi maior para as plantas bem irrigadas sob CO₂ elevado, sendo a seca sob CO₂ ambiente o tratamento que apresentou a menor MS (Tabela 2). Apesar disso, esta mesma combinação apresentou maior percentual de material seco nas folhas (Tabela 2). Um comportamento semelhante ocorreu para MS do colmo e das raízes. Nestas, a MS foi estimulada com o aumento da concentração de CO₂, obtendo percentuais de MS chegando a 73,5% sob déficit hídrico (Tabela 2). O déficit hídrico sob CO₂

ambiente diminuiu a MS das raízes cerca de 58,78% quando comparadas às plantas bem irrigadas em mesma condição de CO₂, enquanto que o CO₂ elevado manteve a MS das raízes sob seca equivalentes a estas últimas (Tabela 2). O déficit hídrico, quando analisado exclusivamente, diminuiu o percentual de alocação de MS nas folhas e raízes e aumentou a percentagem de colmo em ambas as concentrações de carbono (Figura 1). Já o CO₂, por si só, aumentou o percentual das raízes, tanto nas plantas do tratamento bem irrigado quanto nas submetidas ao déficit hídrico, equivalendo a quase 50% do total de MS em ambos os tratamentos hídricos (Figura 1).

3.2 Efeitos benéficos do CO₂ elevado nas trocas gasosas em plantas de arroz submetidas ao déficit hídrico

A fotossíntese líquida em resposta à crescente luminosidade foi evidentemente maior nas plantas bem irrigadas à CO₂ elevado em comparação às demais (Figura 2). As plantas que foram submetidas ao déficit hídrico e CO₂ ambiente tiveram a sua assimilação líquida de CO₂ diminuída quando comparadas ao controle (bem irrigadas sob CO₂ ambiente). Já a seca sob CO₂ elevado manteve a fotossíntese próxima ao controle (Figura 2). Sob CO₂ ambiente, houve uma estabilização nas plantas estressadas em torno de 800 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$, enquanto as bem irrigadas ainda respondiam proporcionalmente à densidade de fluxo de f\u00f3tons fotossint\u00e9ticos acima de 1500 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Figura 2). Já em condi\u00e7\u00f5es de CO₂ aumentado, as plantas bem irrigadas tamb\u00e9m respondiam proporcionalmente \u00e0 DFFF, enquanto que sob d\u00e9ficit h\u00eddrico o desempenho das plantas foi semelhante \u00e0 condi\u00e7\u00e3o de bem irrigadas sob CO₂ ambiente.

Nas curvas em resposta \u00e0 crescente press\u00e3o parcial do CO₂, o mesmo comportamento foi observado para as plantas bem irrigadas, que obtiveram o melhor desempenho, independente da condi\u00e7\u00e3o de CO₂, por\u00e9m com alcance de ponto de satura\u00e7\u00e3o apenas para as tratadas \u00e0 CO₂ ambiente (Figura 2). Quando submetidas ao estresse h\u00eddrico, as plantas que foram submetidas ao elevado CO₂ obtiveram melhor desempenho fotossint\u00e9tico se comparadas com as condi\u00e7\u00f5es ambientes de CO₂. A P_N relativa calculada mostrou um comportamento semelhantes aos resultados das curvas P_N/DFFF e P_N/CO₂, diminuindo no tratamento de d\u00e9ficit h\u00eddrico sob CO₂ ambiente, com um significativo aumento nas plantas bem irrigadas sob CO₂ elevado, e uma manuten\u00e7\u00e3o da P_N das plantas sob seca e CO₂ aumentado quando comparadas \u00e0s plantas de controle (bem irrigadas sob CO₂ ambiente).

A condutância estomática foi diminuída para as plantas submetidas tanto com a aplicação do déficit hídrico quanto ao CO₂ elevado, tendo a menor condutância registrada nas plantas sob a combinação destes dois fatores (Figura 2). Esta diminuição também ocorreu nas curvas P_N/CO₂, principalmente para o déficit hídrico em condições ambientes de CO₂ e também para os dois tratamentos hídricos sob CO₂ elevado, ainda que para as bem irrigadas nesta condição a redução foi relativamente menor. De forma semelhante, a E foi aumentada em resposta às crescentes DFFF e reduzida às crescentes concentrações de CO₂ em todos os tratamentos (FIGURA 1S). Quando imposta a condição de estresse hídrico a transpiração foi reduzida nas plantas tanto para as curvas P_N/DFFF, quanto nas curvas P_N/CO₂, em ambas as concentrações de CO₂, se comparadas com as mantidas bem irrigadas. Nestas, a maior transpiração ocorreu à CO₂ ambiente, o que gerou uma maior diferença para as plantas de déficit hídrico em mesma condição de concentração de carbono

Ao contrário da transpiração (E), a concentração intercelular de CO₂ (C_I) foi reduzida frente às crescentes DFFF, no entanto foi aumentada com a crescente concentração de CO₂ imposta, para todos os tratamentos (Figura 2). Apesar disso, o estresse hídrico diminuiu a C_I em ambas as concentrações de CO₂, principalmente na condição ambiente. Os maiores valores de C_I nas curvas P_N/PPFD ocorreram para a combinação bem irrigado e CO₂ elevado, e nas curvas P_N/CO₂ para os dois tratamentos que mantiveram a umidade do substrato próximo da saturação, porém com destaque para a que manteve a condição ambiente de CO₂. Isso influenciou diretamente o parâmetro de eficiência de carboxilação, calculado pela relação P_N/C_I, em que as plantas submetidas a déficit hídrico e CO₂ elevado obtiveram maior eficiência (Tabela 3), seguido das plantas bem irrigadas em ambas as concentrações de CO₂, que apresentam comportamento similar entre elas. O pior desempenho ocorreu nas plantas DH, tendo uma estabilização em torno dos 800 μmol fótons m⁻² s⁻¹.

A EUA foi estimulada tanto nas plantas submetidas ao estresse hídrico, independente da concentração de carbono, quanto ao aumento do CO₂, independente da condição hídrica (Tabela 3). As plantas quem combinavam estas duas condições obtiveram um acréscimo de cerca de 40% na EUA se comparado às bem irrigadas à CO₂ elevado e 1,2 vezes maior em comparação com a mesma condição limitante sob CO₂ ambiente. O aumento do CO₂ também estimulou a EIUA em ambos os tratamentos hídricos, porém com destaque para as plantas bem irrigadas submetidas ao CO₂ elevado, em que a EIUA foi amplamente maior (FIGURA 3S).

O CO₂ elevado aumentou a respiração no escuro (R_d) das plantas, sendo o maior valor encontrado para as plantas de déficit hídrico, embora sem diferença significativa dentro desta mesma condição de concentração de carbono (Tabela 3). Já as plantas do controle apresentaram a menor respiração constatada. O ϕ também foi maior para as plantas tratadas à CO₂ elevado, sendo as plantas bem irrigadas nesta condição com maior eficiência quântica (Tabela 3). Sob condições ambientes de CO₂ e déficit hídrico, as plantas apresentaram o pior desempenho de rendimento quando comparadas às demais. Essa diminuição foi de quase 40% menor em comparação ao controle, equivalendo a uma diferença de 0,017 mol de CO₂ mol⁻¹ fótons, sendo esta mesma diferença encontrada à CO₂ elevado quando comparadas as condições de bem irrigado e estresse hídrico. Apesar disso, o déficit hídrico combinado com CO₂ elevado superou a condição de bem irrigado e CO₂ ambiente. Isso ficou evidente também ao observar o LCP, em que as plantas que sofreram o déficit hídrico apresentaram maior valor que as bem irrigadas, independente do tratamento de CO₂.

A P_{Nmax} foi maior nas plantas bem irrigadas à CO₂ elevado, e menor para as plantas de déficit hídrico à CO₂ ambiente, que apresentaram uma diminuição de cerca de 2,4 vezes se comparado às plantas com melhor desempenho, e 1,3 vezes menor quando comparado com as plantas com a mesma restrição hídrica porém crescidas sob CO₂ elevado (Figura 3). A V_{cmax} foi menor nas plantas submetidas ao estresse hídrico, apresentando uma redução de 31,2% em comparação com as bem irrigadas em concentração ambiente de CO₂ e de 26% na mesma comparação só que em concentração elevada de carbono (Tabela 3). Uma tendência semelhante foi encontrada para J_{max}, porém com maior diferença entre os tratamentos hídricos na condição ambiente de CO₂, em que a seca diminuiu cerca 36,44% (Tabela 3). Em adição, a restrição hídrica também afetou a g_m das plantas, independente da concentração de CO₂, que foi 31,3% menor nas plantas estressadas que nas bem irrigadas em condições ambientes de CO₂, e 26,6% menor sob déficit hídrico em condição elevada de CO₂ quando compara às bem irrigadas nesta mesma concentração de CO₂. Já a R_i foi maior para as plantas com restrição hídrica à CO₂ ambiente, enquanto que os outros tratamentos não diferiram estatisticamente entre eles (Tabela 4).

Os tratamentos também apresentaram diferenças no comportamento dos parâmetros fotoquímicos em resposta às crescentes luminosidades (Figura 3). O déficit hídrico em ambas as concentrações de CO₂ diminuiu os valores de qP, ETR e $\Delta F/F_m$. No controle as plantas demonstraram valores superiores para os parâmetros citados. Já a combinação de bem irrigado e CO₂ elevado apresentaram similaridade ao comportamento

dos tratamentos de déficit hídrico em ambas as concentrações de carbono. Em contrapartida, o NPQ foi maior para as plantas submetidas a combinação de déficit hídrico e CO₂ ambiente, seguidos das combinações bem irrigadas em ambas as concentrações de CO₂, não diferindo entre elas, e por fim a menor dissipação na forma de calor ocorreu nas plantas de déficit hídrico quando expostas a concentração elevada de CO₂. A estabilização da ETR para as plantas bem irrigadas, independente da concentração de CO₂, ocorreu com cerca de 400 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$, enquanto nas plantas que foram submetidas a déficit hídrico nas concentrações ambiente e elevada de carbono, essa estabilização ocorreu aos 200 e 300 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$, respectivamente, sendo a ETR reduzida à metade na condição de CO₂ ambiente.

A fluorescência inicial (F_0) não diferiu entre os tratamentos (Tabela 1S). Já a fluorescência máxima foi maior para as plantas submetidas à CO₂ elevado em ambas as condições hídricas, que não diferiram entre si (Tabela 1S). Os tratamentos que mantiveram a umidade do substrato próximo da saturação, independente da concentração de CO₂, também não diferiram estatisticamente entre eles para F_m . O mesmo ocorreu com os tratamentos à CO₂ ambiente, em que a menor F_m ocorreu para as plantas submetidas à déficit hídrico. Isso provocou uma menor eficiência máxima do fotossistema II (F_v/F_m) para as plantas DH, com 0,775, sendo diferente para este parâmetro de todos os outros três tratamentos, que mantiveram a F_v/F_m acima dos 0,8 (Figura 3).

3.3 Modulação bioquímica na fotossíntese e componentes de fotorrespiração relacionam-se com o dano oxidativo em plantas de arroz submetidas a déficit hídrico sob elevado CO₂

O excesso de elétrons, calculado a partir da relação J_{max}/P_N , foi significativamente maior para as plantas que cresceram na condição ambiente de CO₂ submetidas ao déficit hídrico, cerca de 49% se comparado ao controle, revelando que a limitação hídrica provocou uma perda no aproveitamento total da carga de energia destinada à assimilação líquida de carbono (Figura 4). A peroxidação lipídica, mensurada indiretamente pelo conteúdo das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico – TBARS, também foi maior evidentemente para as plantas DH (Figura 4). Se comparado ao controle, o DH aumentou em 85% o conteúdo de TBARS. Já na condição de CO₂ elevado, ambos os tratamentos hídricos não diferiram estatisticamente do controle (Figura 4), sugerindo que o aumento do CO₂ não afeta este parâmetro na condição de bem irrigado, mas atenua a degradação oxidativa dos lipídios sob condições de estresse hídrico.

O comportamento da atividade fotorrespiratória foi semelhante à J_{\max}/P_N e TBARS. O DH incrementou a P_R em quase 1,5 vezes quando comparado às plantas de controle (Figura 4). Enquanto que o aumento do CO_2 não alterou o comportamento de ambos os tratamentos hídricos, e atenuou a fotorrespiração nas plantas sob déficit. Já a atividade da GO foi diminuída tanto pelo déficit hídrico quanto pelo CO_2 aumentado, tendo a sua menor atividade nas plantas que foram submetidas à combinação destes dois fatores. A diminuição da GO pelo déficit hídrico foi de 31,13% e 35,28% em condições de concentração ambiente e elevada de CO_2 , respectivamente (Figura 3). Já o efeito do CO_2 diminuiu a atividade da oxidase do glicolato em cerca de 32% nas bem irrigadas e 36% nas que estavam com limitação hídrica.

O IRAR foi maior para as plantas que estavam sob CO_2 elevado (Figura 5). A abundância relativa da Rubisco foi diminuída com a seca e o aumento do CO_2 (Figura 5). A maior diminuição ocorreu no tratamento em que estes dois fatores foram combinados, equivalendo a uma redução significativa de 55,5% quando comparado às plantas bem irrigadas mantidas sob condição ambiente de CO_2 . O mesmo ocorreu para o conteúdo da enzima glutamina sintetase cloroplastídica (GS2), embora não significativamente (Figura 5). Já a abundância relativa da glutamina sintetase citosólica (GS1) foi estimulada apenas pelo déficit hídrico em ambas as condições de CO_2 , principalmente sob elevado do que à ambiente, o que resultou num aumento de aproximadamente 3,2 vezes e 47,5%, respectivamente (Figura 5).

Alterações no teor de carboidratos solúveis totais também foram verificadas, principalmente na condição de CO_2 elevado (Figura 6). A limitação hídrica aumentou o conteúdo de açúcares nas plantas tanto nas folhas quanto nas raízes em condições ambientes de CO_2 , tendo esse aumento também ocorrido à CO_2 elevado apenas para as folhas. O incremento de açúcar nas folhas pelo déficit hídrico à CO_2 ambiente e CO_2 elevado em comparação com as bem irrigadas foi equivalente a 59% e 1,35 vezes, respectivamente. Já quando comparado o efeito do CO_2 em cada tratamento hídrico não foram encontradas diferenças significativas para as folhas das plantas bem irrigadas, e raízes sob déficit hídrico. Um aumento de carboidratos solúveis totais nas folhas ocorreu à CO_2 elevado comparando-se as plantas sob déficit hídrico, bem como o mesmo comportamento no conteúdo para as raízes das plantas bem irrigadas.

3.4 Componentes enzimáticos e não enzimáticos modulam pela seca associada ao CO₂ elevado em plantas de arroz

No presente estudo, a atividade das enzimas SOD, APX e CAT foram influenciadas pelo déficit hídrico e o aumento da concentração de CO₂ (Tabela 4). A atividade da SOD foi aumentada com o déficit hídrico em ambas as concentrações de CO₂, e diminuída com o aumento de CO₂ em ambos os regimes hídricos. A maior atividade ocorreu nas plantas que estavam sob limitação hídrica e condições ambientes de CO₂, um aumento de 11,27% quando comparadas às plantas de controle (Tabela 4). Entretanto, os dois regimes hídricos sob elevado CO₂ demonstraram atividades inferiores aos impostos sob condição ambiente de carbono atmosférico.

Um aumento bastante significativo foi verificado na atividade APX para as plantas sob déficit hídrico (Tabela 4). Na condição ambiente de CO₂ esse incremento foi 100% maior, enquanto sob elevado CO₂ foi de cerca de 64%. Em contrapartida, o aumento do CO₂ diminuiu a atividade da APX em ambas as condições hídricas. Obtendo um comportamento inverso aos das enzimas SOD e APX, a atividade da CAT diminuiu sob déficit hídrico em ambas as concentrações de carbono, porém essa diminuição foi mais acentuada na condição ambiente (Tabela 4). As plantas com limitação hídrica sob CO₂ elevado mantiveram atividade de CAT superior às crescidas sob CO₂ ambiente na mesma condição limitante.

Os conteúdos dos antioxidantes não enzimáticos também são demonstrados na Tabela 4. O conteúdo de ascorbato reduzido foi estimulado tanto pelo déficit hídrico quanto sob concentração aumentada de CO₂. Em condição ambiente de CO₂, o déficit hídrico aumentou em 38% se comparado as plantas que mantiveram a umidade do substrato próxima da saturação. Já sob CO₂ elevado, ambos os tratamentos apresentaram os dois maiores conteúdos de ascorbato reduzido, um incremento de cerca de 1,3 vezes quando comparado o tratamento bem irrigado, e 1,75 sob déficit. Já o conteúdo de glutathiona reduzida foi aumentado apenas sob déficit hídrico na condição ambiente de CO₂ (Tabela 4). Nos demais tratamentos, bem irrigado sob CO₂ ambiente, e ambas as condições hídricas sob CO₂ elevado, não houve diferença significativa entre eles. O CO₂ elevado não alterou o conteúdo de glutathiona reduzida sob condições de disponibilidade hídrica regular.

4. DISCUSSÃO

Estratégias que diminuam os efeitos do déficit hídrico são desejáveis para a sobrevivência e desenvolvimento das plantas, especialmente das de metabolismo C₃, as quais são mais afetadas nestas condições. No presente estudo, o CO₂ elevado aumentou a capacidade de aproveitamento da água e mitigou os danos causados pela seca, como demonstrado pela manutenção do CRA, e aumento da EUA e EIUA (Tabela 1 e 3, e Figura 3S). O déficit hídrico causou uma diminuição no CRA das plantas sob condições ambientes de CO₂ em relação às bem irrigadas, entretanto o elevado CO₂ aliviou os efeitos adversos do déficit hídrico nas plantas de arroz neste parâmetro. Ou seja, mesmo em condições limitantes de água, o status hídrico das plantas foi mantido quando expostas ao elevado CO₂.

O CO₂ é um componente de total importância para a fotossíntese por se tratar de um substrato primário deste processo (KAISER et al., 2017). Nesse sentido, a elevada concentração de CO₂ na atmosfera estimula a taxa fotossintética de plantas C₃ pela maior disponibilidade desse gás nos sítios de carboxilação da Rubisco, diminuindo também a fotorrespiração (LONG et al., 2004). Neste estudo, o CO₂ elevado foi responsável por aumentar a assimilação líquida de carbono e a biomassa das plantas em ambas as condições hídricas, bem irrigadas e déficit hídrico, sendo neste último caso um atenuante da condição limitante imposta (Figura 2 e Tabela 2). No entanto, a partição de biomassa diferiu, tendo um maior acúmulo nas raízes quando submetidas ao CO₂ elevado (Figura 1).

Sob condições ambientes e limitantes de água, o atraso na resposta fotossintética está relacionado à limitação estomática durante as transições de luz, fornecendo quantidades insuficientes de CO₂ necessário para o ciclo do carbono (SLATTERY et al., 2018). No entanto, no presente trabalho, o aumento do CO₂ incrementou a assimilação líquida de carbono mesmo associado a uma menor condutância estomática das plantas, independente do tratamento hídrico, demonstrando que nestas condições a fotossíntese não é limitada pela menor abertura estomática.

Sob concentração elevada de CO₂, a diminuição da g_s não afetou a concentração intercelular de CO₂ (Figura 2), principalmente quando bem irrigadas, que obtiveram aumento expressivo. Sob déficit hídrico, a C_i das plantas impostas à concentração aumentada de CO₂ não foi alterada nas curvas $P_N/DFFF$ quando comparadas às plantas com a mesma limitação sob CO₂ ambiente. Isso se deve ao fato de que sob elevado CO₂ a concentração de carbono no interior da folha não é comprometida (LOUWERSE, 1980),

pois o aumento no gradiente de concentração de CO₂ entre a atmosfera e o interior da folha compensa o aumento da resistência pelo fechamento parcial dos estômatos, mantendo assim a concentração interna de CO₂ (NEWTON, 1990).

A redução na condutância estomática é comumente encontrada em trabalhos que simulam maior concentração atmosférica de CO₂ (FLEXAS et al., 2007; GAO et al., 2015; UDDIN et al., 2018). Embora a diminuição em g_s associada ao crescimento em CO₂ elevado possa ter pouco efeito direto sobre P_N, esse mecanismo beneficia diretamente o estado da água da planta pois reduz a perda por transpiração. (BERNACCHI et al., 2005). Nossos dados demonstram que a transpiração foi menor para os tratamentos que mantiveram as plantas sob CO₂ elevado (Figura 1S). Com isso, uma menor quantidade de água foi conduzida através do xilema, e conseqüentemente absorvida pelas raízes, o que explica a menor necessidade de água requerida para as plantas sob esta condição (dados não mostrados).

Extensão similar à condutância estomática, a condutância mesofílica (g_m) é tida como um fator limitante para a fotossíntese em condições ambientes, principalmente pela disponibilidade de CO₂ (PEGUERO-PINA et al., 2017; HAN et al., 2018). O déficit hídrico diminuiu a g_m das plantas de arroz se comparadas com as bem irrigadas em ambas as concentrações de CO₂. Entretanto, não houve alteração significativa na condutância do mesófilo bem como na taxa de carboxilação da Rubisco das plantas sob CO₂ elevado dentro de cada tratamento hídrico, embora a tendência ao aumento é mostrada numericamente. Já os parâmetros de eficiência fotossintética (rendimento quântico aparente, taxa máxima de fotossíntese e taxa máxima de transporte de elétrons) foram aumentados quando as plantas foram submetidas ao elevado CO₂, independente da condição hídrica.

Apesar da diminuição da g_m e V_{Cmax} sob déficit hídrico, as plantas submetidas ao CO₂ elevado obtiveram maior assimilação líquida de CO₂ se comparada às mantidas na mesma condição limitante sob CO₂ ambiente, reforçando a ideia de que o incremento da fotossíntese sob CO₂ aumentado não está relacionado aos processos primários de absorção de carbono. De acordo com este entendimento, Flexas et al. (2007) ao observarem uma diminuição da g_m em algumas espécies de metabolismo C3 em condições de elevado CO₂ especulam que este acontecimento deve-se ao fato de que a fotossíntese não é mais limitada pela disponibilidade de CO₂ nestas condições.

As plantas sob CO₂ elevado também apresentaram uma diminuição na taxa de transporte de elétrons, quenching fotoquímico e eficiência atual do FSII (Figura 3), embora tenham exibido maior rendimento quântico aparente (Tabela 3). É provável que

isso tenha ocorrido pela perda parcial de energia, importante no fortalecimento do sistema coletor de luz. Krüger e Van Grondelle (2017) explicam que a perda parcial de energia é devido primeiramente à transferência de energia de excitação descendente ao longo de gradientes de energia, garantindo uma alta eficiência quântica ao minimizar a perda de energia completa (captura sem função de uma excitação), e também à fotoproteção, que não apenas preserva a integridade do aparato fotossintético, mas também fornece adaptabilidade e, portanto, robustez, frente às grandes mudanças ambientais.

Acreditamos que o incremento fotossintético proporcionado pelo aumento da concentração de CO₂ nas plantas de arroz, principalmente sob déficit hídrico, tenha ocorrido associado a um melhor desempenho na absorção de luz através da regulação dos parâmetros fotoquímicos, obtendo um melhor aproveitamento de elétrons e menor relação de excesso destes (Figura 3 e 4), e pela manutenção dos pigmentos de clorofila e carotenóides nas folhas (Tabela 1). Além disso, sob CO₂ elevado e condições limitantes de água, a fotorrespiração foi diminuída quando comparado às mesmas condições hídricas sob CO₂ ambiente, o que pode ter proporcionado melhor assimilação líquida de carbono pelas vias convencionais.

Embora a fotorrespiração seja entendida como um mecanismo de reparação e fotoproteção, associada a dissipação de poder redutor em condições de estresse no sentido de otimizar a fotossíntese (SUNIL et al., 2018), a correlação destes dois processos neste estudo não é positiva. O aumento na P_R das plantas sob déficit hídrico e CO₂ ambiente parece não mitigar os efeitos do estresse devido à menor assimilação líquida de carbono apresentada em comparação às demais. Além disso, a diminuição da atividade da GO nestas plantas confirma que outra possível rota está interligada com a via da fotorrespiração e regeneração do 2-fosfoglicerato, tendo o processo de descarboxilação da glicina à serina nas mitocôndrias uma maior participação na perda de CO₂. Vias alternativas ou “Bypass” da GO também são relatadas ao resultarem no aumento das taxas fotossintéticas, conteúdo de H₂O₂ e nas atividades das enzimas que atuam na proteção oxidativa (KEBEISH et al., 2007; PETERHANSE; BLUME; OFFERMANN, 2013), incluindo a proposta por Maier et al. (2012), que transferiu esta enzima dos peroxissomos para os cloroplastos. Isso pode explicar a maior atividade da GO nas plantas que permaneceram bem hidratadas à CO₂ ambiente, e demonstrar que esta enzima não está exclusivamente envolvida com o processo fotorrespiratório.

Sob estresse, as plantas apresentam um sistema menos eficiente de absorção luminosa e maior dissipação na forma de calor sob crescente densidade de luz, utilizando essa estratégia para evitar possíveis danos ao maquinário fotossintético pelo excesso

luminoso (GURURANI; VENKATESH; TRAN, 2015). Apesar disso, as plantas sob déficit hídrico e condição ambiente de CO₂, mesmo apresentando maiores valores para NPQ, não foram capazes de evitar possíveis danos ao aparato coletor de luz, apresentando uma diminuição significativa comparada às demais na eficiência máxima do FSII (F_v/F_m), o que pode ter limitado o processo de conversão da energia fotoquímica (Figura 3).

A produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) pode ser aumentada durante o estresse hídrico nas reações de luz no FSII, sendo o H₂O₂ também produto da fotorrespiração, na conversão de glicolato em glioxilato pela enzima glicolato oxidase (NOCTOR; MHAMDI; FOYER, 2014). Nós observamos que sob condições ambientes, o déficit hídrico estimulou a fotorrespiração e obteve uma relação de excesso de elétrons significativamente maior quando comparado aos demais tratamentos (Figura 4), o que pode ter aumentado as EROs nos compartimentos celulares. Isso refletiu significativamente num possível dano oxidativo, principalmente às membranas pela peroxidação lipídica, mensurada pelo conteúdo de MDA (complexo MDA-TBA) (Figura 4). O acúmulo e desbalanço entre a produção e eliminação das EROs no tecido vegetal pode provocar estas e outras alterações fisiológicas, metabólicas e bioquímicas (MITTLER, 2017).

Para proteger e reparar a ocorrência de danos oxidativos, os sistemas antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos são ativados nas plantas (GILL e TUTEJA, 2010). Observamos que as atividades de SOD e APX aumentaram com o déficit hídrico, sendo esse aumento mais expressivo na condição ambiente de CO₂. Isso sugere que as enzimas antioxidantes foram mobilizadas para proteger o tecido vegetal de danos oxidativos em condições de déficit hídrico, independente da concentração de carbono. No entanto, o CO₂ elevado diminuiu as atividades enzimáticas protetoras em comparação às plantas mantidas à CO₂ ambiente, o que pode estar relacionado ao equilíbrio na produção de EROs. Um comportamento semelhante foi observado por Schwanz et al. (1996) ao constatar uma significativa redução na atividade de SOD e APX à CO₂ elevado.

A atividade da CAT foi reduzida com o déficit hídrico, principalmente sob a condição ambiente de CO₂. Uma regulação descendente da atividade da CAT é necessária para manter um certo nível de H₂O₂ suficiente para ativar as vias de sinalização dependentes de H₂O₂ (SHAO et al., 2008), além de induzir as atividades das enzimas da reação de Mehler (SOD) (KELEŞ e ÖNCEL, 2002). Apesar disso, a atividade insuficiente da CAT nos peroxissomos sob condições ambientes de CO₂ provocados pelo déficit hídrico pode ter causado uma superacumulação de H₂O₂ e ter estimulado o dano oxidativo nestas plantas. Da mesma forma, parece provável que a atividade da APX aumentada não

tenha acompanhado a taxa de produção de H_2O_2 sob déficit hídrico em CO_2 ambiente, resultando em maior peroxidação lipídica (mostrada como MDA), enquanto que as plantas sob déficit à CO_2 elevado mantiveram o nível equilibrado da atividade da CAT.

Entre os antioxidantes não enzimáticos, o ASA e GSH desempenham papel importante no ciclo do ascorbato-glutationa (ASA-GSH), participando como substratos enzimáticos da metabolização de H_2O_2 (YI et al., 2016). No presente estudo, o conteúdo de ASA foi estimulado significativamente sob déficit hídrico em condições ambientes de CO_2 , sendo incrementado ainda mais sob CO_2 elevado em ambas as condições hídricas. Similar aos nossos resultados, outros estudos também observaram níveis maiores do conteúdo de ASA em plantas de trigo com déficit hídrico (MA et al., 2013) e morango sob elevado CO_2 (WANG; BUNCE; MAAS, 2003). A GSH atua na manutenção da homeostase celular e desempenha um papel fundamental em diversos sistemas de sinalização em plantas sob condições de estresse abióticos (PIETRINI et al., 2016). O drástico aumento induzido pelo déficit hídrico (em condição ambiente de CO_2) nas plantas em comparação às demais pode ter sido uma tentativa de manter equilibrado o sistema antioxidante na remoção do H_2O_2 acumulado, embora sem sucesso.

A limitação hídrica diminuiu o conteúdo de Rubisco nas plantas, sendo o CO_2 aumentado um agravante para esta diminuição. Contudo, o aumento na concentração de CO_2 em ambos os tratamentos hídricos culminou em um melhor IRAR, o que se deve a uma maior taxa de assimilação de CO_2 por unidade de enzima se comparadas às mantidas sob condição ambiente de CO_2 . Tem sido relatado que a síntese de Rubisco é reduzida à CO_2 elevado enquanto a sua degradação é acelerada (GAMAGE et al., 2018). A principal causa da diminuição da síntese de Rubisco é associada ao processo de aclimação ao CO_2 elevado e ao mecanismo de acúmulo de açúcar baseado na via de sinalização da hexocinase, que pode suprimir a transcrição dos genes *rbcS* e *rbcL* codificando a subunidade pequena e grande de Rubisco, respectivamente (CÓRDOBA et al., 2017; KANNO; SUZUKI; MAKINO, 2017). Kanno et al. (2017) também verificaram que uma redução no conteúdo da Rubisco no arroz sob CO_2 elevado leva a melhorias fotossintéticas e produção de biomassa por ter mais eficiente o uso de nitrogênio (N) nos processos metabólicos, realocando o N otimamente para a Rubisco e outros componentes que podem limitar a fotossíntese.

A enzima glutamina sintetase em suas isoformas citosólica (GS1) e cloroplastídica (GS2), juntamente com a glutamina-oxoglutarato aminotransferase (GOGAT), participam do ciclo de assimilação de nitrogênio nas plantas, na formação da glutamina (GLN) e glutamato (GLU) e outros aminoácidos e proteínas essenciais e seus metabólitos

(RAKHMANKULOVA; SHUIŠKAIA; ROGOZHNIKOVA, 2013; RODRÍGUEZ et al., 2019). Nesse estudo o aumento da GS1 foi induzido pela seca e potencializado com o elevado CO₂, e uma possível explicação para isso é que as plantas tenham aumentado o conteúdo desta enzima com a finalidade de otimizar a síntese de aminoácidos e outros solutos de baixa carga molecular (osmólitos compatíveis), como a prolina, para regulação osmótica, evitando a perda de água. No entanto, as plantas sob déficit à CO₂ elevado foram muito mais eficientes. Já a GS2 é a isoforma envolvidos na assimilação do NH₄⁺ lançado durante a redução de nitrato e fotorrespiração (SEGER et al., 2014). Nosso estudo mostra que houve uma redução, embora não significativa, no conteúdo da GS2 (Figura 5). Esse fato apoia a ideia de atenuação da fotorrespiração na seca pelo elevado CO₂, pois é provável que o menor conteúdo de GS2 encontrado é resultando da consequente menor produção de NH₄⁺ na conversão de glicina à serina nas mitocôndrias.

O acúmulo de carboidratos é uma resposta comum à elevada concentração de CO₂ em folhas de várias espécies de plantas (FARIA et al., 2018; MAŠKOVÁ et al., 2017; SONG; YU; HUANG, 2014). Neste estudo, o conteúdo de carboidratos foi aumentado nas folhas pelo déficit hídrico, sendo incrementado nas plantas que foram submetidas ao CO₂ elevado. Nas raízes, o CO₂ elevado aumentou o teor de carboidratos tanto pelo déficit hídrico quanto pelo CO₂ aumentado. O maior acúmulo de carboidratos nas raízes provocado pelo CO₂ aumentado é equivalente ao maior acúmulo de massa seca nesses órgãos, e isso deve-se ao fato da maior taxa fotossintética, e consequentemente da produção eficiente de fotoassimilados pelas folhas, que aumenta a capacidade dos drenos já existentes e estimula a formação de novos drenos (PAUL e PELLNY, 2003; SMITH e STITT, 2007).

Os resultados do presente estudo comprovam que a maior biomassa e percentagem de alocação de massa das raízes foi obtida quando as plantas estavam sob maior concentração de carbono, o que provavelmente melhorou a absorção de água, principalmente sob déficit hídrico. Aliado a isso, através do incremento no teor de carboidratos, do equilíbrio nos mecanismos de absorção de luz e antioxidantes, o CO₂ elevado estimulou um maior crescimento. A concentração aumentada de CO₂, portanto, mitiga os efeitos da deficiência hídrica em plantas de arroz sob condições controladas, por manter o 'status' hídrico, melhorar a eficiência fotossintética e regular a defesa oxidativa.

5. CONCLUSÃO

Os efeitos fisiológicos e bioquímicos estudados em plantas de arroz sob condições de déficit hídrico são mitigados pelo aumento da concentração de CO₂ no ambiente de crescimento desde a germinação. O benefício do elevado CO₂ nestas plantas sob seca estão ligados à manutenção do *status* hídrico e da assimilação líquida de carbono, diminuindo a fotorrespiração, o que favoreceu o crescimento, além da regulação dos parâmetros fotoquímicos e das vias oxidativas.

6. REFERÊNCIAS

ABID, M.; ALI, S.; QI, L. K.; ZAHOOR, R.; TIAN, Z.; JIANG, D.; SNIDER, J. L.; DAI, T. Physiological and biochemical changes during drought and recovery periods at tillering and jointing stages in wheat (*Triticum aestivum* L.). **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 4615, 2018.

AINSWORTH, E. A.; LONG, S. P. What have we learned from 15 years of free-air CO₂ enrichment (FACE)? A meta-analytic review of the responses of photosynthesis, canopy properties and plant production to rising CO₂. **New Phytologist**, v. 165, n. 2, p. 351-372 2005.

AINSWORTH, E. A.; ROGERS, A. The response of photosynthesis and stomatal conductance to rising [CO₂]: Mechanisms and environmental interactions. **Plant, Cell and Environment**, v. 30, p. 258-270, 2007.

AINSWORTH, E. A.; ROGERS, A.; NELSON, R.; LONG, S. P. 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**, v. 122, n. 1–2, p. 85–94, 2004.

ANDRIANASOLO, F. N.; CASADEBAIG, P.; LANGLADE, N.; DEBAEKE, P.; MAURY, P. Effects of plant growth stage and leaf aging on the response of transpiration and photosynthesis to water deficit in sunflower. **Functional Plant Biology**, v. 43, n. 8, p. 797–805, 2016.

ASPINWALL, M. J.; BLACKMAN, C. J.; DE DIOS, V. R.; BUSCH, F. A.; RYMER, P. D.; LOIK, M. E.; DRAKE, J. E.; PFAUTSCH, S.; SMITH, R. A.; TJOELKER, M. G.;

TISSUE, D. T. Photosynthesis and carbon allocation are both important predictors of genotype productivity responses to elevated CO₂ in *Eucalyptus camaldulensis*. **Tree Physiology**, v. 38, n. 9, p. 1286–1301, 2018.

BAGARD, M.; LE THIEC, D.; DELACOTE, E.; HASENFRATZ-SAUDER, M.-P.; BANVOY, J.; GÉRARD, J.; DIZENGREMEL, P.; JOLIVET, Y. Ozone-induced changes in photosynthesis and photorespiration of hybrid poplar in relation to the developmental stage of the leaves. **Physiologia Plantarum**, v. 134, n. 4, p. 559–574, 2008.

BAKER, A. L.; TOLBERT, N. E. Glycolate oxidase (ferredoxin-containing form). **Methods in Enzymology**, v. 9, n. C, p. 338–342, 1966.

BASU, S.; ROYCHOUDHURY, A.; SAHA, P. P.; SENGUPTA, D. N. Differential antioxidative responses of indica rice cultivars to drought stress. **Plant Growth Regulation**, v. 60, n. 1, p. 51–59, 2009.

BERNACCHI, C. J.; MORGAN, P. B.; ORT, D. R.; LONG, S. P. The growth of soybean under free air [CO₂] enrichment (FACE) stimulates photosynthesis while decreasing in vivo Rubisco capacity. **Planta**, v. 220, n. 3, p. 434–446, 2005.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein using the principle of protein dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248–254, 1976.

BRÄUTIGAM, A.; GOWIK, U. Photorespiration connects C₃ and C₄ photosynthesis. **Journal of Experimental Botany**, v. 67, p. 2953–2962, 2016.

CEULEMANS, R. Direct impacts of CO₂ and temperature on physiological processes in trees. In: **Impacts of global change on tree physiology and forest ecosystems**. Springer, Dordrecht, 1998. v. held, p. 26-29.

CÓRDOBA, J.; PÉREZ, P.; MORCUENDE, R.; MOLINA-CANO, J. L.; MARTINEZ-CARRASCO, R. Acclimation to elevated CO₂ is improved by low Rubisco and carbohydrate content, and enhanced Rubisco transcripts in the G132 barley mutant. **Environmental and Experimental Botany**, v. 137, p. 36–48, 2017.

DEL AMOR, F. M. Variation in the leaf $\delta^{13}\text{C}$ is correlated with salinity tolerance under elevated CO₂ concentration. **Journal of Plant Physiology**, v. 170, n. 3, p. 283–290, 2013.

DELLERO, Y.; JOSSIER, M.; SCHMITZ, J.; MAURINO, V. G.; HODGES, M.

Photorespiratory glycolate-glyoxylate metabolism. **Journal of Experimental Botany**, v. 67, n. 10, p. 3041-3052, 2016.

DELUCIA, E. H.; SASEK, T. W.; STRAIN, B. R. Photosynthetic inhibition after long-term exposure to elevated levels of atmospheric carbon dioxide. **Photosynthesis Research**, v. 7, n. 2, p. 175–184, 1985.

DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, n. 3, p. 350–356, 1956.

EASLON, H. M.; CARLISLE, E.; MCKAY, J. K.; BLOOM, A. J. Does Low Stomatal Conductance or Photosynthetic Capacity Enhance Growth at Elevated CO₂ in Arabidopsis?. **Plant Physiology**, v. 167, n. 3, p. 793–799, 2015.

FAHAD, S.; BAJWA, A. A.; NAZIR, U.; ANJUM, S. A.; FAROOQ, A.; ZOHAIB, A.; SADIA, S.; NASIM, W.; ADKINS, S.; SAUD, S.; IHSAN, M. Z.; ALHARBY, H.; WU, C.; WANG, D.; HUANG, J. Crop Production under Drought and Heat Stress: Plant Responses and Management Options. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, p. 1147, 2017.

FARIA, A. P. P. d.; MARABESI, M. A.; GASPAR, M.; FRANÇA, M. G. C. The increase of current atmospheric CO₂ and temperature can benefit leaf gas exchanges, carbohydrate content and growth in C₄ grass invaders of the Cerrado biome. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 127, p. 608–616, 2018.

FLEXAS, J.; DIAZ-ESPEJO, A.; GALMÉS, J.; KALDENHOFF, R.; MEDRANO, H.; RIBAS-CARBO, M. Rapid variations of mesophyll conductance in response to changes in CO₂ concentration around leaves. **Plant, Cell and Environment**, v. 30, n. 10, p. 1284–1298, 2007.

GAMAGE, D.; THOMPSON, M.; SUTHERLAND, M.; HIROTSU, N.; MAKINO, A.; SENEWEERA, S. New insights into the cellular mechanisms of plant growth at elevated atmospheric carbon dioxide concentrations. **Plant, Cell & Environment**, v. 41, n. 6, p. 1233-1246, 2018.

GAO, J.; HAN, X.; SENEWEERA, S.; LI, P.; ZONG, Y. Z.; DONG, Q.; LIN, E. Da; HAO, X. Y. Leaf photosynthesis and yield components of mung bean under fully open-air elevated [CO₂]. **Journal of Integrative Agriculture**, v. 14, n. 5, p. 977–983, 2015.

GEISSLER, N.; HUSSIN, S.; KOYRO, H. W. Elevated atmospheric CO₂ concentration ameliorates effects of NaCl salinity on photosynthesis and leaf structure of *Aster tripolium* L. **Journal of Experimental Botany**, v. 60, n. 1, p. 137–151, 2009.

GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxide Dismutases: I. Occurrence in Higher Plants. **Plant Physiology**, v. 59, n. 2, p. 309–314, 1977.

GILL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 48, n. 12, p. 909–930, 2010.

GRIFFITH, O. W. Determination of glutathione and glutathione disulfide using glutathione reductase and 2-vinylpyridine. **Analytical Biochemistry**, v. 106, n. 1, p. 207–212, 1980.

GURURANI, M. A.; VENKATESH, J.; TRAN, L. S. P. Regulation of photosynthesis during abiotic stress-induced photoinhibition. **Molecular Plant**, v. 8, n. 9, p. 1304–1320, 2015.

HAN, J.; LEI, Z.; FLEXAS, J.; ZHANG, Y.; CARRIQUÍ, M.; ZHANG, W.; ZHANG, Y. Mesophyll conductance in cotton bracts: anatomically-determined internal CO₂ diffusion constraints on photosynthesis. **Journal of Experimental Botany**, v. 69, n. 22, p. 5433–5443, 2018.

HASANUZZAMAN, M.; HOSSAIN, M. A.; DA SILVA, J. A. T.; FUJITA, M. Plant response and tolerance to abiotic oxidative stress: Antioxidant defense is a key factor. In: **Crop stress and its management perspectives and strategies, Chapter: Overview of plant stresses: Mechanisms, adaptations and research pursuit.**, Publisher: Springer Science+Business Media B.V., Editors: VENKATESWARLU, B.; SHANKER, A.K.; SHANKER, C.; MAHESWARI, M. 2012. v. 9789400722 p. 261–315.

HAVIR, E. A.; MCHALE, N. A. Biochemical and Developmental Characterization of Multiple Forms of Catalase in Tobacco Leaves. **Plant Physiology**, v. 84, n. 2, p. 450–455, 1987.

HEATH, R. L.; PACKER, L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 125, n. 1, p. 189–198, 1968.

HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. I. **The water-culture method for growing plants**

without soil. Circular. California Agricultural Experiment Station, 1950, v. 347, n.2, 32 p.

HODGES, M.; DELLERO, Y.; KEECH, O.; BETTI, M.; RAGHAVENDRA, A. S.; SAGE, R.; ZHU, X. G.; ALLEN, D. K.; WEBER, A. P. M. Perspectives for a better understanding of the metabolic integration of photorespiration within a complex plant primary metabolism network. **Journal Experimental Botany**, v. 67, n. 10, p. 3015-3026, 2016.

KAISER, E.; ZHOU, D.; HEUVELINK, E.; HARBINSON, J.; MORALES, A.; MARCELIS, L. F. M. Elevated CO₂ increases photosynthesis in fluctuating irradiance regardless of photosynthetic induction state. **Journal of Experimental Botany**, v. 68, n. 20, p. 5629–5640, 2017.

KAMPFENKEL, K.; VAN MONTAGU, M.; INZÉ, D. Extraction and determination of ascorbate and dehydroascorbate from plant tissue. **Analytical biochemistry**, v. 225, n. 1, p. 165–7, 1995.

KANNO, K.; SUZUKI, Y.; MAKINO, A. A small decrease in rubisco content by individual suppression of RBCS genes leads to improvement of photosynthesis and greater biomass production in rice under conditions of elevated CO₂. **Plant and Cell Physiology**, v. 58, n. 3, p. 635–642, 2017.

KEBEISH, R.; NIESSEN, M.; THIRUVEEDHI, K.; BARI, R.; HIRSCH, H. J.; ROSENKRANZ, R.; STÄBLER, N.; SCHÖNFELD, B.; KREUZALER, F.; PETERHÄNSEL, C. Chloroplastic photorespiratory bypass increases photosynthesis and biomass production in *Arabidopsis thaliana*. **Nature Biotechnology**, v. 25, n. 5, p. 593–599, 2007.

KELEŞ, Y.; ÖNCEL, I. Response of antioxidative defence system to temperature and water stress combinations in wheat seedlings. **Plant Science**, v. 163, n. 4, p. 783–790, 2002.

KRÜGER, T. P. J.; VAN GRONDELLE, R. The role of energy losses in photosynthetic light harvesting. **Journal of Physics B: Atomic, Molecular and Optical Physics**, v. 50, n. 13, p. 132001, 2017.

LAWLOR, D. W.; CORNIC, G. Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. **Plant, Cell & Environment**, v.

25, n. 2, p. 275–294, 2002.

LEE, D. G.; AHSAN, N.; LEE, S. H.; KYU, Y. K.; JEONG, D. B.; LEE, I. J.; LEE, B. H. A proteomic approach in analyzing heat-responsive proteins in rice leaves. **Proteomics**, v. 7, n. 18, p. 3369–3383, 2007.

LONG, S. P.; AINSWORTH, E. A.; ROGERS, A.; ORT, D. R. Rising atmospheric carbon dioxide: Plants FACE the Future. **Annual Review of Plant Biology**, v. 55, n. 1, p. 591–628, 2004.

LOUWERSE, W. Effects of CO₂ concentration and irradiance on the stomatal behaviour of maize, barley and sunflower plants in the field. **Plant, Cell & Environment**, v. 3, n. 6, p. 391–398, 1980.

LUO, Y.; FIELD, C. B.; MOONEY, H. A. Predicting responses of photosynthesis and root fraction to elevated [CO₂]: interactions among carbon, nitrogen, and growth. **Plant, Cell & Environment**, v. 17, n. 11, p. 1195–1204, 1994.

MA, C.; WANG, Z.; KONG, B.; LIN, T. Exogenous trehalose differentially modulate antioxidant defense system in wheat callus during water deficit and subsequent recovery. **Plant Growth Regulation**, v. 70, n. 3, p. 275–285, 2013.

MAIER, A.; FAHNENSTICH, H.; VON CAEMMERER, S.; ENGQVIST, M. K. M.; WEBER, A. P. M.; FLÜGGE, U.-I.; MAURINO, V. G. Transgenic Introduction of a Glycolate Oxidative Cycle into *A. thaliana* Chloroplasts Leads to Growth Improvement. **Frontiers in Plant Science**, v. 3, p. 38, 2012.

MARSHALL, B.; BISCOE, P. V. A model for C₃ leaves describing the dependence of net photosynthesis on irradiance: II. Application to the analysis of flag leaf photosynthesis. **Journal of Experimental Botany**, v. 31, n. 1, p. 41–48, 1980.

MAŠKOVÁ, P.; RADOCHOVÁ, B.; LHOTÁKOVÁ, Z.; MICHÁLEK, J.; LIPAVSKÁ, H. Nonstructural carbohydrate-balance response to long-term elevated CO₂ exposure in European beech and Norway spruce mixed cultures: Biochemical and ultrastructural responses. **Canadian Journal of Forest Research**, v. 47, n. 11, p. 1487–1494, 2017.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science**, v. 7, n. 9, p. 405–410, 2002.

MITTLER, R. ROS Are Good. **Trends in Plant Science**, v. 22, n. 1, p. 11–19, 2017.

- NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen Peroxide is Scavenged by Ascorbate-specific Peroxidase in Spinach Chloroplasts. **Plant and Cell Physiology**, v. 22, n. 5, p. 867–880, 1981.
- NEWTON, P. C. D. Direct effects of increasing carbon dioxide on pasture plants and communities. **New Zealand Journal of Agricultural Research**, v. 34, n. 1, p. 1–24, 1990.
- NOCTOR, G.; MHAMDI, A.; FOYER, C. H. The Roles of Reactive Oxygen Metabolism in Drought: Not So Cut and Dried. **Plant Physiology**, v. 164, n. 4, p. 1636–1648, 2014.
- NOWAK, R. S.; ELLSWORTH, D. S.; SMITH, S. D. Functional responses of plants to elevated atmospheric CO₂- Do photosynthetic and productivity data from FACE experiments support early predictions?. **New Phytologist**, v. 162, n. 2, p. 253-280, 2004.
- OBATA, T.; FLORIAN, A.; TIMM, S.; BAUWE, H.; FERNIE, A. R. On the metabolic interactions of (photo)respiration. **Journal of Experimental Botany**, v. 67, n. 10, p. 3003-3014, 2016.
- PAIVA, E. P. De; SÁ, F. V. da S.; TORRES, S. B.; BRITO, M. E. B.; MOREIRA, R. C. L.; SILVA, L. de A.; PAIVA, E. P. De; SÁ, F. V. da S.; TORRES, S. B.; BRITO, M. E. B.; MOREIRA, R. C. L.; SILVA, L. de A. Germination and tolerance of cowpea (*Vigna unguiculata*) cultivars to water stress. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 22, n. 6, p. 407–411, 2018.
- PAUDEL, I.; HALPERN, M.; WAGNER, Y.; RAVEH, E.; YERMIYAHU, U.; HOCH, G.; KLEIN, T. Elevated CO₂ compensates for drought effects in lemon saplings via stomatal downregulation, increased soil moisture, and increased wood carbon storage. **Environmental and Experimental Botany**, v. 148, p. 117–127, 2018.
- PAUL, M. J.; PELLNY, T. K. Carbon metabolite feedback regulation of leaf photosynthesis and development. **Journal of Experimental Botany**, v. 54, n. 382, p. 539-547, 2003,
- PEGUERO-PINA, J. J.; SISÓ, S.; FLEXAS, J.; GALMÉS, J.; GARCÍA-NOGALES, A.; NIINEMETS, Ü.; SANCHO-KNAPIK, D.; SAZ, M. Á.; GIL-PELEGRÍN, E. Cell-level anatomical characteristics explain high mesophyll conductance and photosynthetic capacity in sclerophyllous Mediterranean oaks. **New Phytologist**, v. 214, n. 2, p. 585–596, 2017.

PETERHANSE, C.; BLUME, C.; OFFERMANN, S. Photorespiratory bypasses: How can they work?. **Journal of Experimental Botany**, v. 64, n. 3, p. 709–715, 2013.

PIETRINI, F.; BIANCONI, D.; MASSACCI, A.; IANNELLI, M. A. Combined effects of elevated CO₂ and Cd-contaminated water on growth, photosynthetic response, Cd accumulation and thiolic components status in *Lemna minor* L. **Journal of Hazardous Materials**, v. 309, p. 77–86, 2016.

RAKHMANKULOVA, Z. F.; SHUIŠKAIA, E. V.; ROGOZHNIKOVA, E. S. [Effects of water deficiency on mitochondrial functions and polymorphism of respiratory enzymes in plants]. **Zhurnal Obshchei Biologii**, v. 74, n. 3, p. 167–179, 2013.

RIBEIRO, R. V.; MACHADO, E. C.; SANTOS, M. G.; OLIVEIRA, R. F. Photosynthesis and water relations of well-watered orange plants as affected by winter and summer conditions. **Photosynthetica**, v. 47, n. 2, p. 215–222, 2009.

RODRÍGUEZ, F.; PEDRESCHI, R.; FUENTEALBA, C.; DE KARTZOW, A.; OLAETA, J. A.; ALVARO, J. E. The increase in electrical conductivity of nutrient solution enhances compositional and sensory properties of tomato fruit cv. Patrón. **Scientia Horticulturae**, v. 244, p. 388–398, 2019.

SCHREIBER, U.; BILGER, W.; HORMANN, H.; NEUBAUER, C. Chlorophyll fluorescence as a diagnostic tool: basics and some aspects of practical relevance. In: RAGHAVENDRA, A. S. (Ed.). **Photosynthesis: a comprehensive treatise**. Cambridge: Cambridge University Press, p. 320-336, 1998.

SCHWANZ, P.; PICON, C.; VIVIN, P.; DREYER, E.; GUEHL, J. M.; POLLE, A. Responses of Antioxidative Systems to Drought Stress in Pendunculate Oak and Maritime Pine as Modulated by Elevated CO₂. **Plant Physiology**, v. 110, n. 2, p. 393–402, 1996.

SEGER, M.; GEBRIL, S.; TABILONA, J.; PEEL, A.; SENGUPTA-GOPALAN, C. Impact of concurrent overexpression of cytosolic glutamine synthetase (GS1) and sucrose phosphate synthase (SPS) on growth and development in transgenic tobacco. **Planta**, v. 241, n. 1, p. 69–81, 2014.

SHAO, N.; BECK, C. F.; LEMAIRE, S. D.; KRIEGER-LISZKAY, A. Photosynthetic electron flow affects H₂O₂ signaling by inactivation of catalase in *Chlamydomonas reinhardtii*. **Planta**, v. 228, n. 6, p. 1055–1066, 2008.

SHARKEY, T. D.; BERNACCHI, C. J.; FARQUHAR, G. D.; SINGSAAS, E. L. Fitting photosynthetic carbon dioxide response curves for C3 leaves. **Plant, Cell and Environment**, v. 30, n. 9, p. 1035–1040, 2007.

SLATTERY, R. A.; WALKER, B. J.; WEBER, A. P. M.; ORT, D. R. The Impacts of Fluctuating Light Crop Performance. **Plant Physiology**, v. 176, n. 2, p. 990–1003, 2018.

SMITH, A. M.; STITT, M. Coordination of carbon supply and plant growth. **Plant, Cell and Environment**, v. 30, n. 9, p. 1126–1149, 2007.

SONG, Y.; YU, J.; HUANG, B. Elevated CO₂-mitigation of high temperature stress associated with maintenance of positive carbon balance and carbohydrate accumulation in Kentucky bluegrass. **PLoS ONE**, v. 9, n. 3, p. e89725, 2014.

SUNIL, B.; SAINI, D.; BAPATLA, R. B.; ASWANI, V.; RAGHAVENDRA, A. S. Photorespiration is complemented by cyclic electron flow and the alternative oxidase pathway to optimize photosynthesis and protect against abiotic stress. **Photosynthesis Research**, p. 1–13, 2018.

SUZUKI, N.; RIVERO, R. M.; SHULAEV, V.; BLUMWALD, E.; MITTLER, R. Abiotic and biotic stress combinations. **New Phytologist**, v. 203, n. 1, p. 32–43, 2014.

TAKAGI, D.; ISHIZAKI, K.; HANAWA, H.; MABUCHI, T.; SHIMAKAWA, G.; YAMAMOTO, H.; MIYAKE, C. Diversity of strategies for escaping reactive oxygen species production within photosystem I among land plants: P700 oxidation system is prerequisite for alleviating photoinhibition in photosystem I. **Physiologia Plantarum**, v. 161, n. 1, p. 56–74, 2017.

TEZARA, W.; MITCHELL, V.; DRISCOLL, S. P.; LAWLOR, D. W. Effects of water deficit and its interaction with CO₂ supply on the biochemistry and physiology of photosynthesis in sunflower. **Journal of Experimental Botany**, v. 53, n. 375, p. 1781–1791, 2002.

UDDIN, S.; LOEW, M.; PARVIN, S.; FITZGERALD, G. J.; TAUSZ-POSCH, S.; ARMSTRONG, R.; LEARY, G. O.; TAUSZ, M. Elevated [CO₂] mitigates the effect of surface drought by stimulating root growth to access sub-soil water. **PLoS ONE**, v. 13, n. Dd, p. 1–20, 2018.

URBAN, O. Physiological impacts of elevated CO₂ concentration ranging from

- molecular to whole plant responses. **Photosynthetica**, v. 41, n. 1, p. 9-20, 2003.
- VAIDYANATHAN, H.; SIVAKUMAR, P.; CHAKRABARTY, R.; THOMAS, G. Scavenging of reactive oxygen species in NaCl-stressed rice (*Oryza sativa* L.) - Differential response in salt-tolerant and sensitive varieties. **Plant Science**, v. 165, n. 6, p. 1411–1418, 2003.
- WANG, M.; XIE, B.; FU, Y.; DONG, C.; HUI, L.; GUANGHUI, L.; LIU, H. Effects of different elevated CO₂ concentrations on chlorophyll contents, gas exchange, water use efficiency, and PSII activity on C₃ and C₄ cereal crops in a closed artificial ecosystem. **Photosynthesis Research**, v. 126, n. 2–3, p. 351–362, 2015.
- WANG, S. Y.; BUNCE, J. A.; MAAS, J. L. Elevated carbon dioxide increases contents of antioxidant compounds in field-grown strawberries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 15, p. 4315–4320, 2003.
- WEATHERKEY, P. E. Studies in the water relations of the cotton plant: I. the field measurement of water deficits in leaves. **New Phytologist**, v. 49, n. 1, p. 81–97, 1950.
- WELLBURN, A. 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**, v. 144, n. 3, p. 307–313, 1994.
- YI, X. P.; ZHANG, Y. L.; YAO, H. S.; LUO, H. H.; GOU, L.; CHOW, W. S.; ZHANG, W. F. Rapid recovery of photosynthetic rate following soil water deficit and re-watering in cotton plants (*Gossypium herbaceum* L.) is related to the stability of the photosystems. **Journal of Plant Physiology**, v. 194, p. 23–34, 2016.
- YOUNIS, M. E.; HASANEEN, M. N. A.; ABDEL-AZIZ, H. M. M. Certain growth and metabolic indices of stress induced by visible light and UV radiation in broad bean seedlings. **Phyton - Annales Rei Botanicae**, v. 52, n. 2, p. 203–218, 2012.
- ZANDALINAS, S. I.; MITTLER, R.; BALFAGÓN, D.; ARBONA, V.; GÓMEZ-CADENAS, A. Plant adaptations to the combination of drought and high temperatures. **Physiologia Plantarum**, v. 162, n. 1, p. 2-12, 2018.
- ZIMMERMANN, P.; HEINLEIN, C.; ORENDI, G.; ZENTGRAF, U. Senescence-specific regulation of catalases in *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. **Plant, Cell and Environment**, v. 29, n. 6, p. 1049–1060, 2006.

TABELAS

Tabela 1. Conteúdo relativo de água (CRA), carotenóides, clorofila a, b e totais, e relação clorofila a/b em plantas de arroz submetidas aos tratamentos de: Controle (bem irrigado à CO₂ ambiente), DH (déficit hídrico à CO₂ ambiente), CO₂ (bem irrigado à CO₂ elevado) e DH + CO₂ (déficit hídrico à CO₂ elevado), crescidas sob condições controladas por câmara de crescimento por 55 dias e 20 DT.

Parâmetro/Tratamento	Controle	DH	CO ₂	DH + CO ₂
CRA (%)	95,24 a	88,37 b	92,82 a	93,84 a
Carotenóides	0,36 ab	0,30 b	0,39 a	0,37 ab
Chl _{totais}	1,26 a	1,09 a	1,23 a	1,06 a
Chl _a mg g ⁻¹ MF	0,48 c	0,71 a	0,60 b	0,62 b
Chl _b	0,64 a	0,67 a	0,69 a	0,49 b
Chl _{a/b}	0,80 c	1,02 b	0,88 bc	1,25 a

Médias seguidas de diferentes letras na linha mostram diferença significativa pelo teste de Tukey a $p < 0,05$.

Tabela 2. Massa seca (MS) e percentual de massa seca em plantas de arroz submetidas aos tratamentos de: Controle (bem irrigado à CO₂ ambiente), DH (déficit hídrico à CO₂ ambiente), CO₂ (bem irrigado à CO₂ elevado) e DH + CO₂ (déficit hídrico à CO₂ elevado), crescidas sob condições controladas por câmara de crescimento por 55 dias e 20 DT.

Parâmetros/Tratamento	Controle	DH	CO ₂	DH + CO ₂
Folha	3,13 b	1,10 d	3,63 a	1,78 c
	(28,0)	(29,6)	(28,1)	(26,7)
Colmo	2,62 b	1,67 c	3,75 a	2,93 b
	(15,2)	(20,2)	(14,3)	(19,8)
Raiz	3,30 b	1,36 c	7,00 a	3,97 b
	(22,2)	(22,1)	(51,0)	(73,5)
Relação Parte Aérea/Raiz	-	1,77 a	2,06 a	1,05 b
			1,05 b	1,25 b

Médias seguidas de diferentes letras na linha mostram diferença significativa pelo teste de Tukey a $p < 0,05$.

Tabela 3. Eficiência no uso da água (EUA), eficiência de carboxilação (P_N/C_I) e parâmetros associados à eficiência fotossintética calculados a partir dos ajustes nas curvas $P_N/DFFF$ e P_N/C_I em plantas de arroz submetidas aos tratamentos de: Controle (bem irrigado à CO_2 ambiente), DH (déficit hídrico à CO_2 ambiente), CO_2 (bem irrigado à CO_2 elevado) e DH + CO_2 (déficit hídrico à CO_2 elevado), crescidas sob condições controladas por câmara de crescimento por 55 dias e 20 DT.

Parâmetros/Tratamento		Controle	DH	CO_2	DH + CO_2
EUA	$\mu\text{mol } (CO_2) \text{ mmol}^{-1} (H_2O)$	3,0509 c	4,3304 c	6,7365 b	9,4618 a
P_N/C_I	–	0,0980 b	0,0716 c	0,0891 b	0,1311 a
R_d	$\mu\text{mol } (CO_2) \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$	0,601 b	1,011 b	1,253 ab	2,795 a
ϕ	$\text{mol } (CO_2) \text{ mol}^{-1} (\text{fótons})$	0,043 c	0,026 d	0,077 a	0,060 b
LCP	$\mu\text{mol } (\text{fótons}) \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$	20,81 b	46,79 a	16,47 b	46,59 a
$P_{N\text{max}}$	$\mu\text{mol } (CO_2) \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$	31,45 b	13,76 c	46,77 a	32,01 b
$V_{C\text{max}}$	$\mu\text{mol } (CO_2) \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$	98,16 a	67,54 b	106,42 a	78,68 b
J_{max}	$\mu\text{mol } (e^-) \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$	147,86 b	118,43 d	154,33 a	128,26 c
g_m	$\text{mol } (CO_2) \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$	0,083 a	0,057 b	0,090 a	0,066 b
R_I	$\mu\text{mol } (CO_2) \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$	0,604 b	2,686 a	0,985 b	0,668 b

Médias seguidas de diferentes letras na linha mostram diferença significativa pelo teste de Tukey a $p < 0,05$.

Tabela 4. Atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX) e catalase (CAT) e conteúdos de ascorbato reduzido (ASA) e glutatona reduzida (GSH) em folhas em plantas de arroz submetidas aos tratamentos de: Controle (bem irrigado à CO_2 ambiente), DH (déficit hídrico à CO_2 ambiente), CO_2 (bem irrigado à CO_2 elevado) e DH + CO_2 (déficit hídrico à CO_2 elevado), crescidas sob condições controladas por câmara de crescimento por 55 dias e 20 DT.

Parâmetros/Tratamento		Controle	DH	CO_2	DH + CO_2
SOD	U.A. $\text{mg}^{-1} \text{ proteína min}^{-1}$	0,0594 b	0,0661 a	0,0512 d	0,0555 c
APX	$\mu\text{mol ASA } \text{mg}^{-1} \text{ proteína min}^{-1}$	0,0383 c	0,0803 a	0,0313 d	0,0514 b
CAT	$\mu\text{mol } H_2O_2 \text{ mg}^{-1} \text{ proteína min}^{-1}$	4,2035 a	2,9123 c	3,9541 a	3,5410 b
ASA	$\mu\text{mol } \text{g}^{-1} \text{ MF}$	0,9768 c	1,3460 b	2,2455 a	2,3513 a
GSH	$\mu\text{mol } \text{g}^{-1} \text{ MF}$	0,3841 b	1,0503 a	0,3673 b	0,3673 b

Médias seguidas de diferentes letras na linha mostram diferença significativa pelo teste de Tukey a $p < 0,05$.

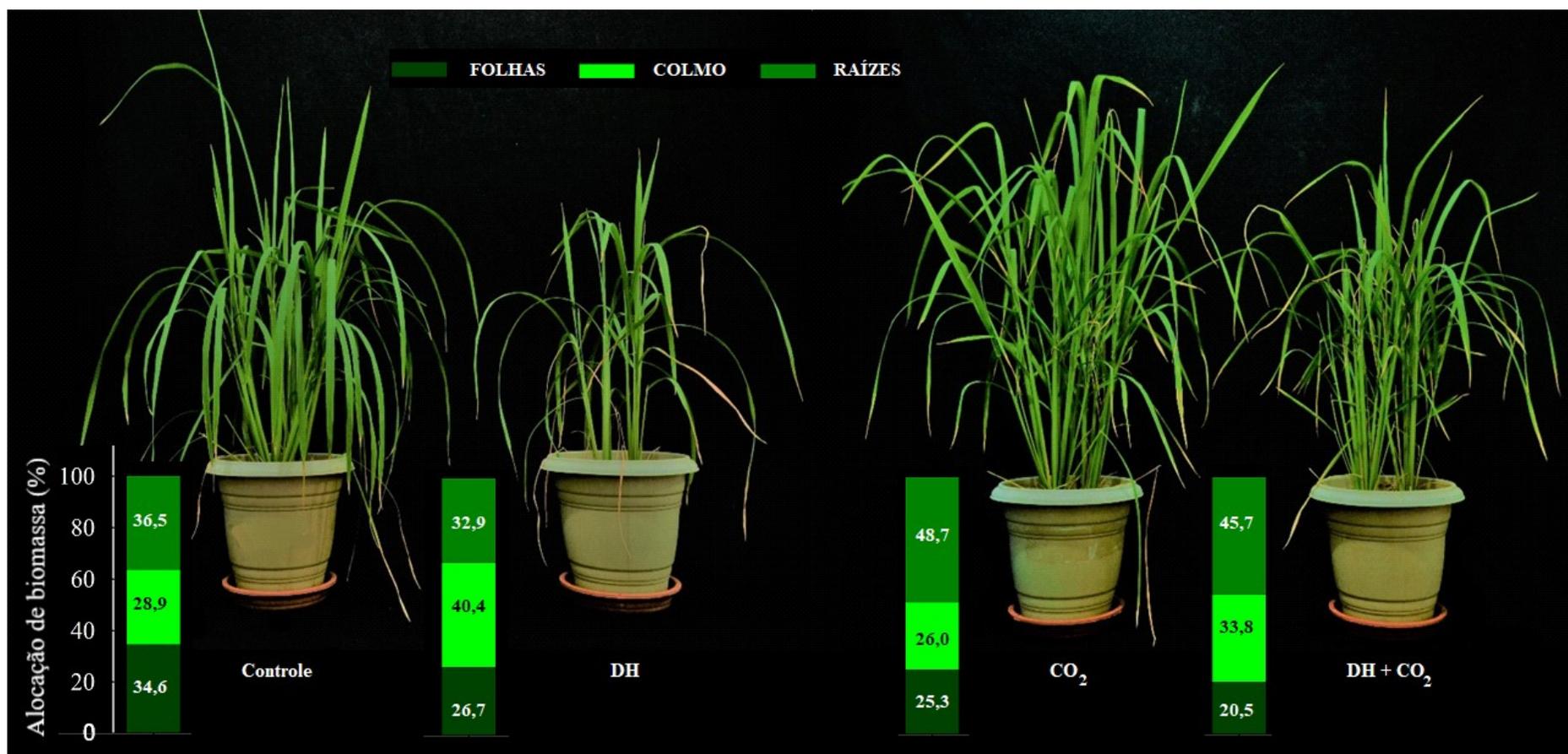


Figura 1. Aspecto visual de plantas e percentagem de alocação de biomassa em folhas, colmo e raízes de plantas de arroz submetidas aos tratamentos de: Controle (bem irrigado à CO₂ ambiente), DH (déficit hídrico à CO₂ ambiente), CO₂ (bem irrigado à CO₂ elevado) e DH + CO₂ (déficit hídrico à CO₂ elevado), crescidas sob condições controladas por câmara de crescimento por 55 dias e 20 DT.

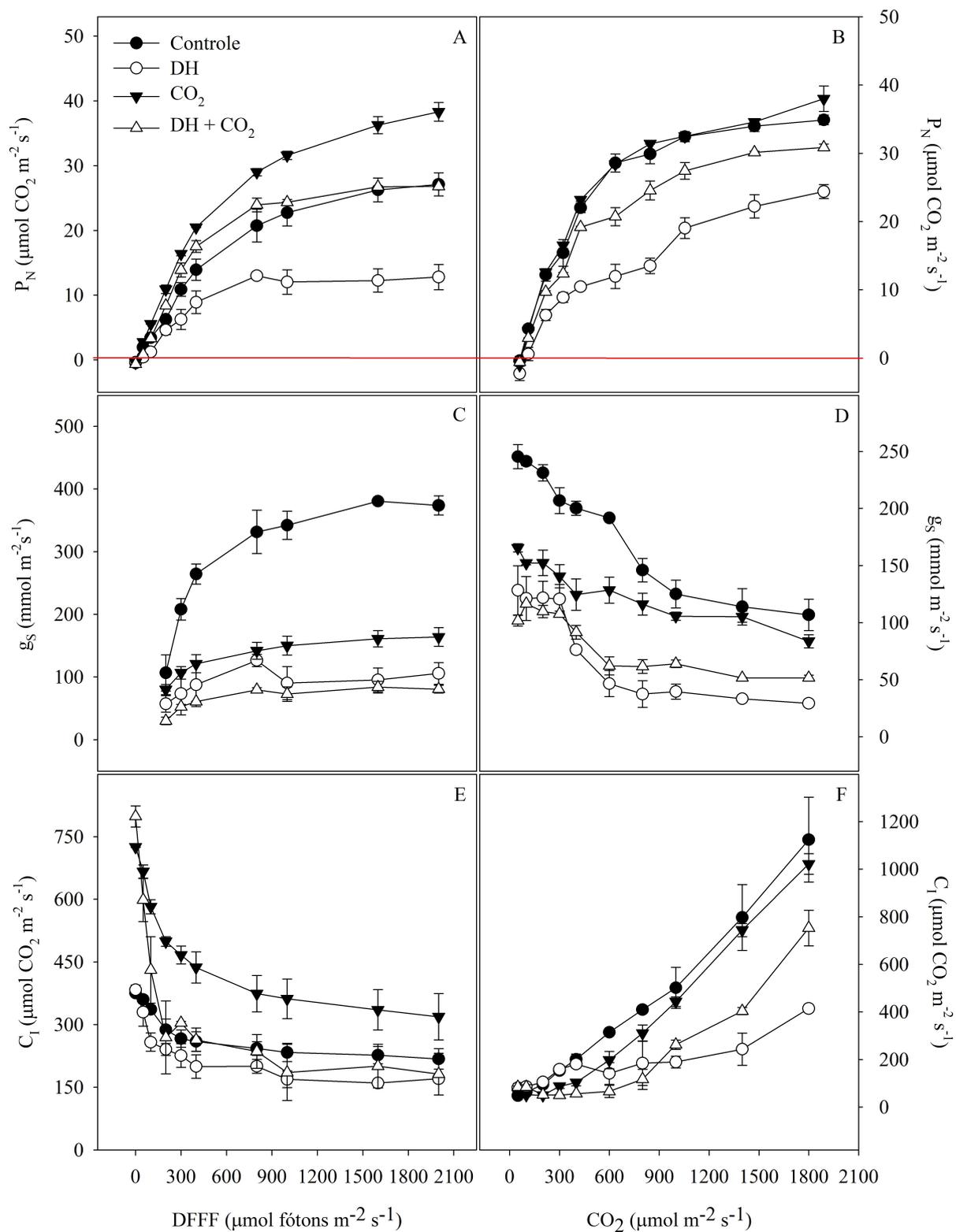


Figura 2. Curvas de assimila\u00e7\u00e3o l\u00edquida de CO_2 (P_N), condut\u00e2ncia estom\u00e1tica (g_s) e concentra\u00e7\u00e3o intercelular de CO_2 (C_i) em resposta ao aumento da densidade de fluxo de f\u00f3tons fotossint\u00e9ticos – DFFF e a press\u00e3o intercelular parcial de CO_2 em plantas de arroz submetidas aos tratamentos de: Controle (bem irrigado \u00e0 CO_2 ambiente), DH (d\u00e9ficit h\u00eddrico \u00e0 CO_2

ambiente), CO₂ (bem irrigado à CO₂ elevado) e DH + CO₂ (déficit hídrico à CO₂ elevado), crescidas sob condições controladas por câmara de crescimento por 55 dias e 20 DT.

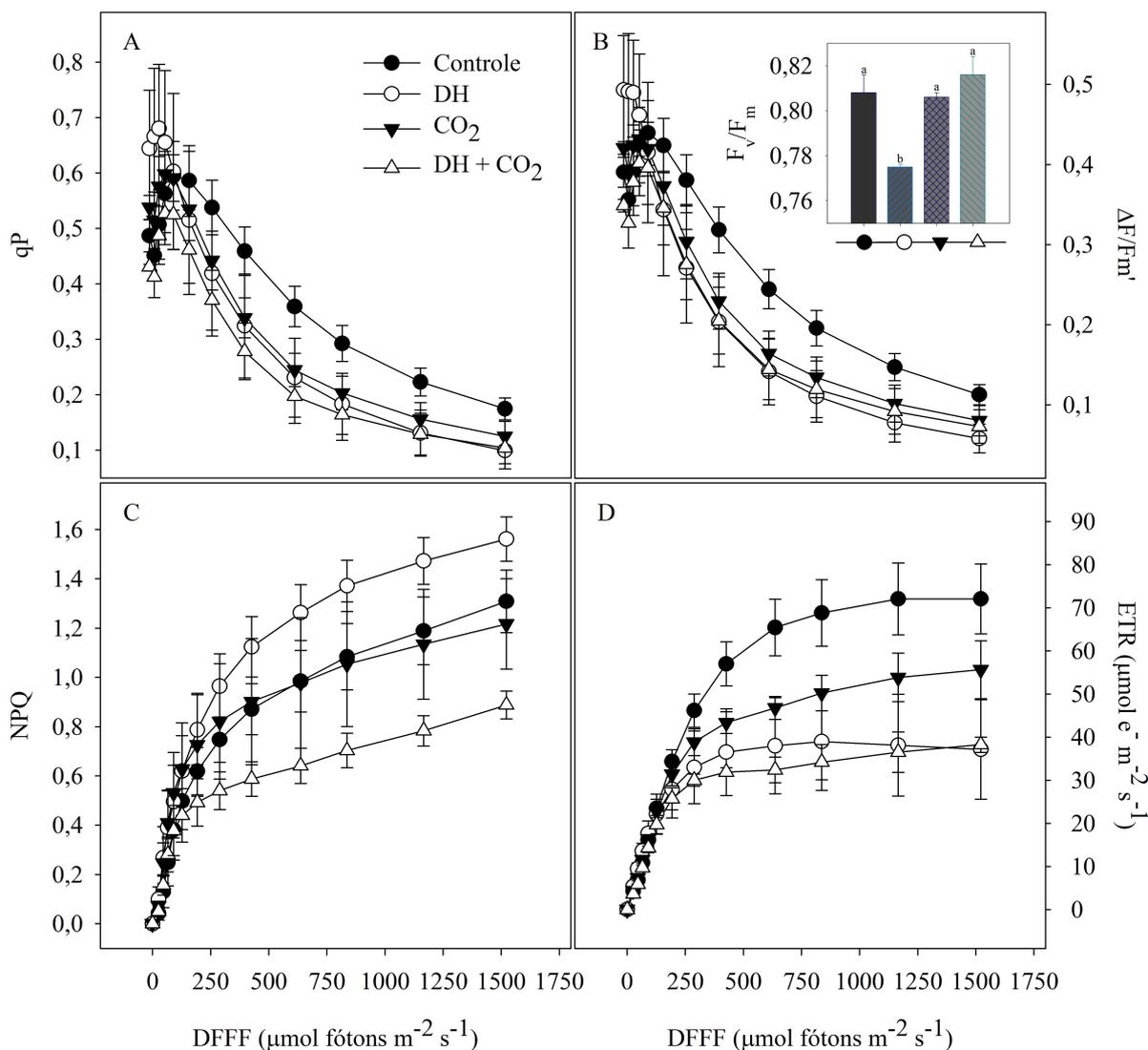


Figura 3. Curvas dos par\u00e2metros fotoqu\u00edmicos em resposta ao aumento da DFFF em folhas de plantas de arroz submetidas aos tratamentos de: Controle (bem irrigado \u00e0 CO₂ ambiente), DH (déficit h\u00eddrico \u00e0 CO₂ ambiente), CO₂ (bem irrigado \u00e0 CO₂ elevado) e DH + CO₂ (déficit h\u00eddrico \u00e0 CO₂ elevado), crescidas sob condi\u00e7\u00f5es controladas por câmara de crescimento por 55 dias e 20 DT. Quenching fotoqu\u00edmico (qP), efici\u00eancia qu\u00e2ntica atual do FSII ($\Delta F/F_m'$), quenching n\u00e3o fotoqu\u00edmico (NPQ), taxa relativa de transporte de el\u00e9trons (ETR), e efici\u00eancia m\u00e1xima do fotossistema II (F_v/F_m). O desvio padr\u00e3o \u00e9 mostrado quando superior ao s\u00edmbolo.

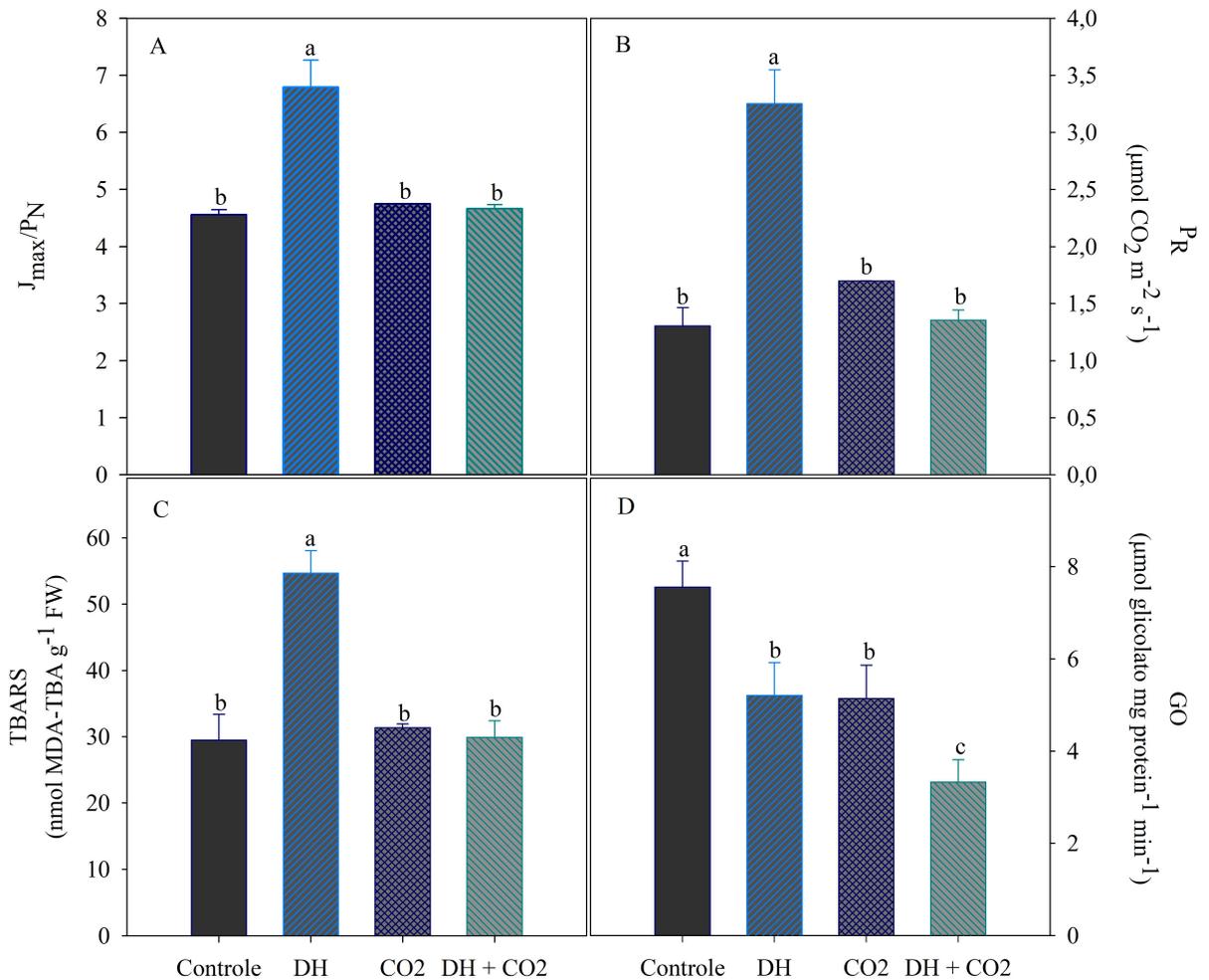


Figura 4. Relação do excesso de elétrons - J_{max}/P_N (A), taxa fotorrespiratória - P_R (B), substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico – TBARS (C), e atividade da glicolato oxidase – GO (D) em folhas de plantas de arroz submetidas aos tratamentos de: Controle (bem irrigado à CO_2 ambiente), DH (déficit hídrico à CO_2 ambiente), CO_2 (bem irrigado à CO_2 elevado) e DH + CO_2 (déficit hídrico à CO_2 elevado), crescidas sob condições controladas por câmara de crescimento por 55 dias e 20 DT. Letras diferentes mostram diferença significativa pelo teste de Tukey a $p < 0,05$. O desvio padrão é mostrado quando superior à barra.

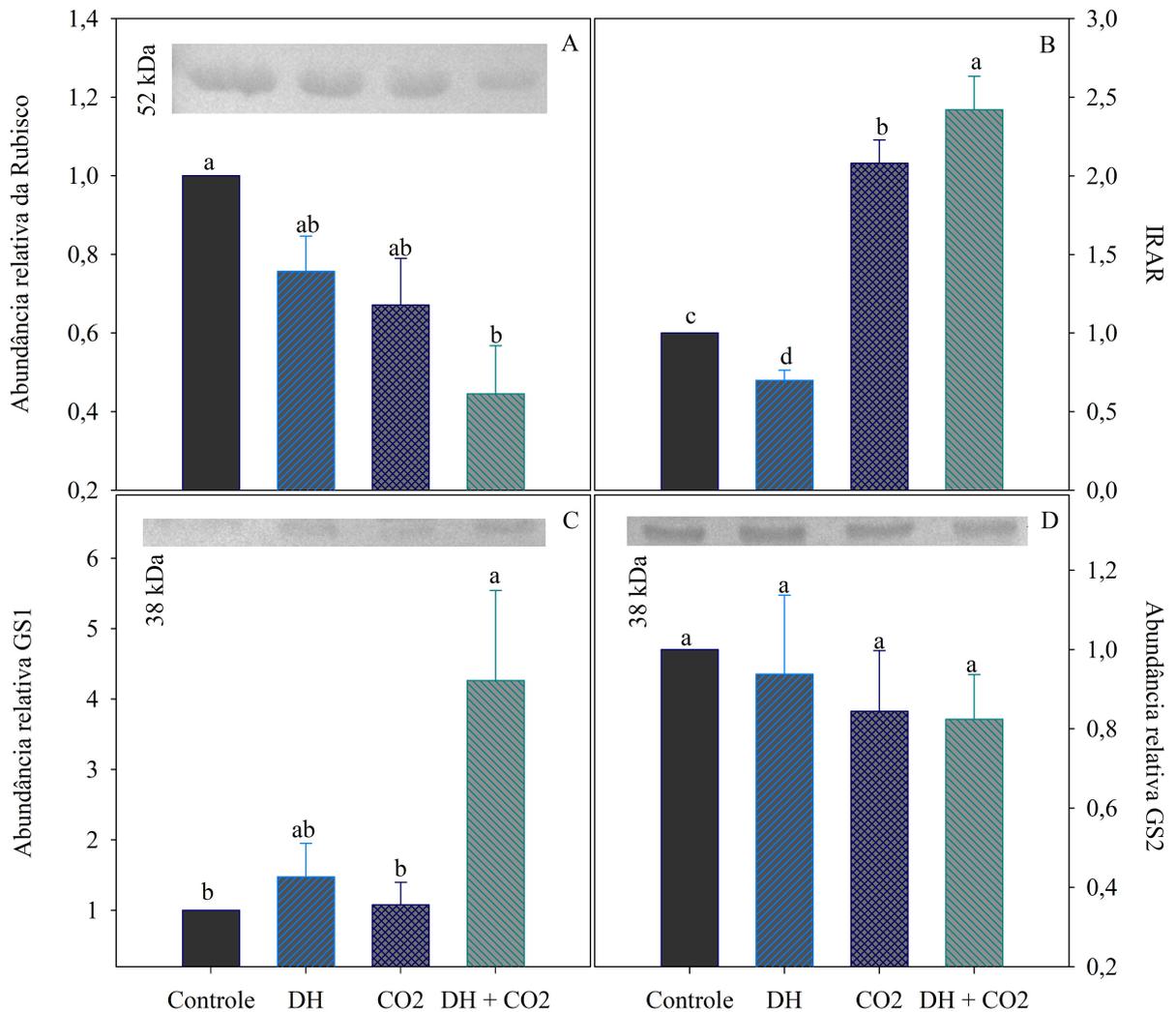


Figura 5. *Western blot* e abundância relativa das enzimas Rubisco (A), glutamina sintetase citosólica - GS1 (C) e glutamina sintetase cloroplastídica - GS2 (D), e índice relativo de absorção de CO₂ pela Rubisco (B) em folhas de plantas de arroz submetidas aos tratamentos de: Controle (bem irrigado à CO₂ ambiente), DH (déficit hídrico à CO₂ ambiente), CO₂ (bem irrigado à CO₂ elevado) e DH + CO₂ (déficit hídrico à CO₂ elevado), crescidas sob condições controladas por câmara de crescimento por 55 dias e 20 DT.. Letras diferentes mostram diferença significativa pelo teste de Tukey a $p < 0,05$. O desvio padrão é mostrado quando superior à barra.

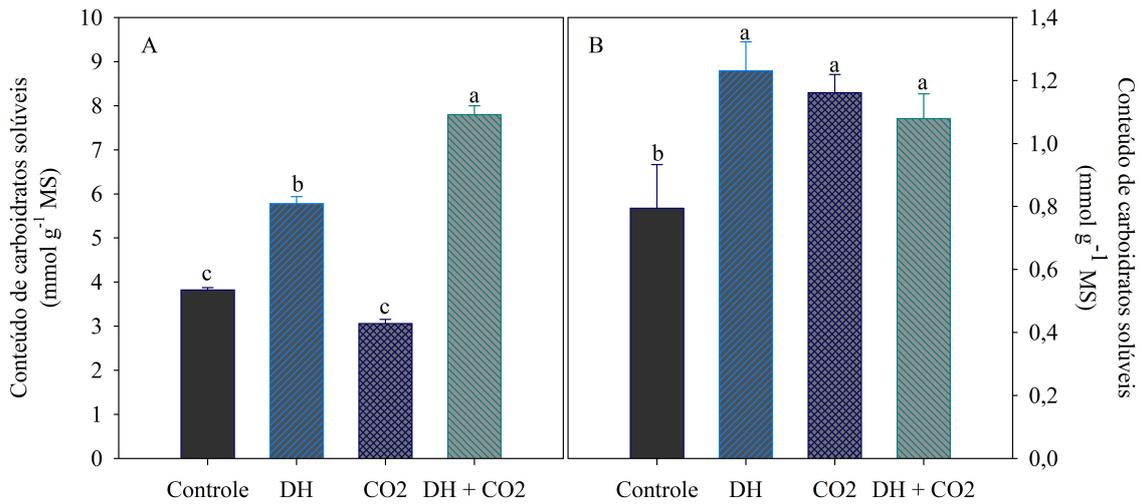


Figura 6. Conteúdo de carboidratos solúveis totais em folhas (A) e raízes (B) de plantas de arroz submetidas aos tratamentos de: Controle (bem irrigado à CO₂ ambiente), DH (déficit hídrico à CO₂ ambiente), CO₂ (bem irrigado à CO₂ elevado) e DH + CO₂ (déficit hídrico à CO₂ elevado), crescidas sob condições controladas por câmara de crescimento por 55 dias e 20 DT.. Letras diferentes mostram diferença significativa pelo teste de Tukey a $p < 0,05$. O desvio padrão é mostrado quando superior à barra.

MATERIAL SUPLEMENTAR

Tabela 1S. Fluorescência inicial (F_o) e máxima (F_m) em folhas de plantas de arroz submetidas aos tratamentos de: Controle (bem irrigado à CO_2 ambiente), DH (déficit hídrico à CO_2 ambiente), CO_2 (bem irrigado à CO_2 elevado) e DH + CO_2 (déficit hídrico à CO_2 elevado), crescidas sob condições controladas por câmara de crescimento por 55 dias e 20 DT.

Tratamento	F_o	F_m
Controle	547.3 a	2860.6 b
DH	617.0 a	2786.3 b
CO_2	604.3 a	2982.3 ab
DH + CO_2	583.3 a	3178.6 a

Médias seguidas de diferentes letras na coluna mostram diferença signif. pelo teste de Tukey a $p < 0,05$.

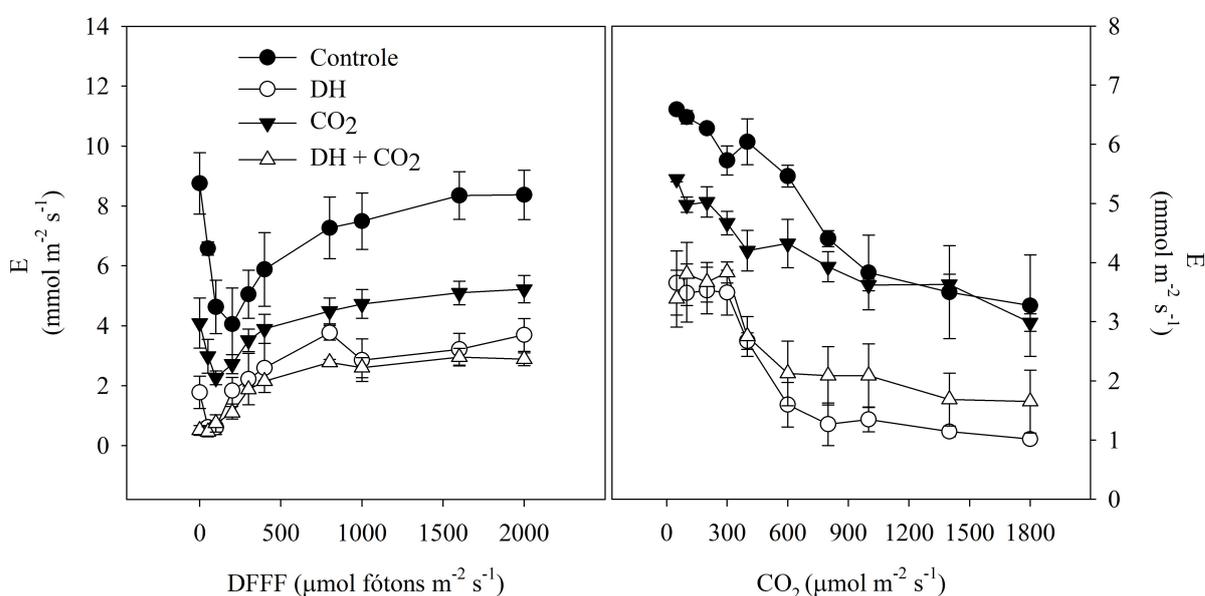


Figura 1S. Curvas de transpiração (E) em resposta ao aumento da densidade de fluxo de fótons fotossintéticos – DFFF e a pressão intercelular parcial de CO_2 em plantas de arroz submetidas aos tratamentos de: Controle (bem irrigado à CO_2 ambiente), DH (déficit hídrico à CO_2 ambiente), CO_2 (bem irrigado à CO_2 elevado) e DH + CO_2 (déficit hídrico à CO_2 elevado), crescidas sob condições controladas por câmara de crescimento por 55 dias e 20 DT. O desvio padrão é mostrado quando superior à barra.

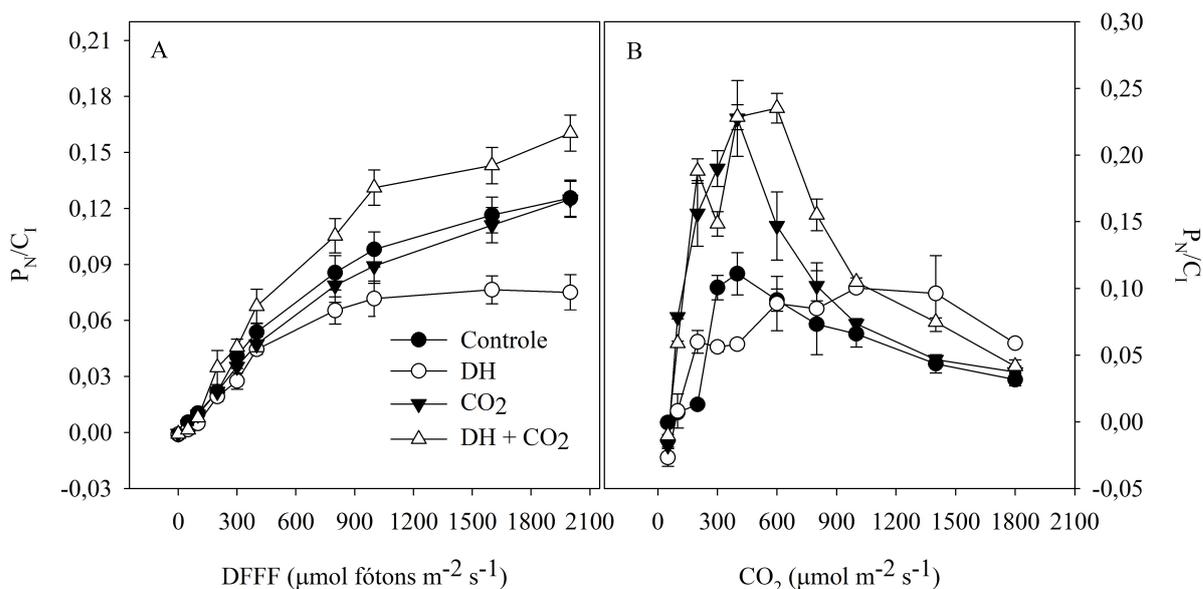


Figura 2S. Curvas de efici\u00eancia de carboxila\u00e7\u00e3o (P_N/C_i) em resposta ao aumento da densidade de fluxo de f\u00f3tons fotossint\u00e9ticos – DFFF e a press\u00e3o intercelular parcial de CO_2 em plantas de arroz submetidas aos tratamentos de: Controle (bem irrigado \u00e0 CO_2 ambiente), DH (d\u00e9ficit h\u00eddrico \u00e0 CO_2 ambiente), CO_2 (bem irrigado \u00e0 CO_2 elevado) e DH + CO_2 (d\u00e9ficit h\u00eddrico \u00e0 CO_2 elevado), crescidas sob condi\u00e7\u00f5es controladas por c\u00e2mara de crescimento por 55 dias e 20 DT. O desvio padr\u00e3o \u00e9 mostrado quando superior \u00e0 barra.

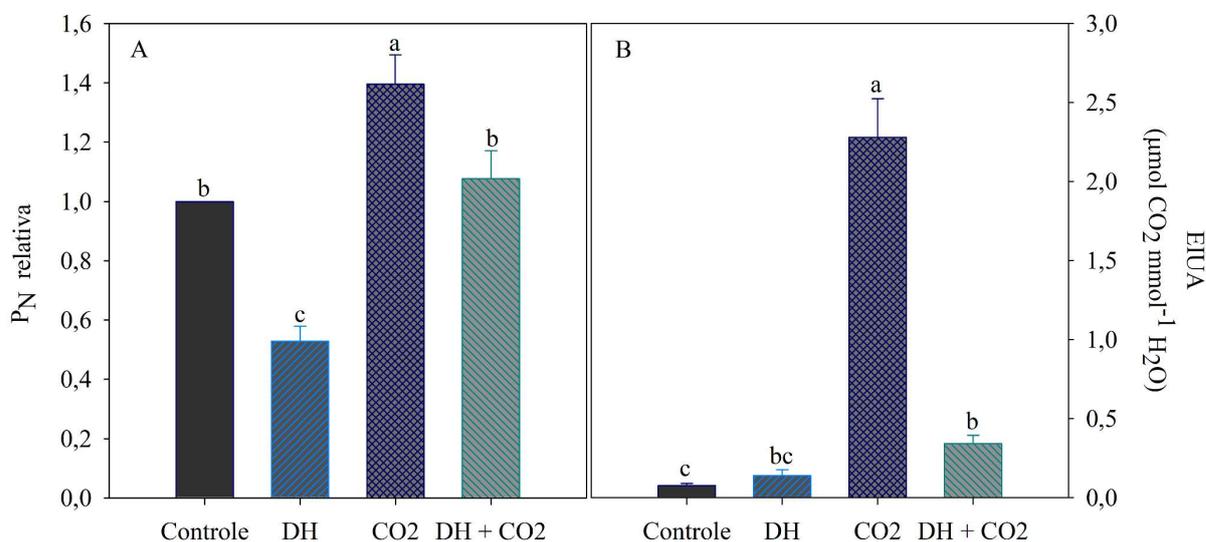


Figura 3S. Assimila\u00e7\u00e3o l\u00edquida de CO_2 relativa (A) e efici\u00eancia intr\u00ednseca no uso da \u00e1gua (B) em plantas de arroz submetidas aos tratamentos de: Controle (bem irrigado \u00e0 CO_2 ambiente), DH (d\u00e9ficit h\u00eddrico \u00e0 CO_2 ambiente), CO_2 (bem irrigado \u00e0 CO_2 elevado) e DH + CO_2 (d\u00e9ficit h\u00eddrico \u00e0 CO_2 elevado), crescidas sob condi\u00e7\u00f5es controladas por c\u00e2mara de crescimento por 55 dias e 20 DT. Letras diferentes mostram diferen\u00e7a significativa pelo teste de Tukey a $p < 0,05$. O desvio padr\u00e3o \u00e9 mostrado quando superior ao s\u00edmbolo.

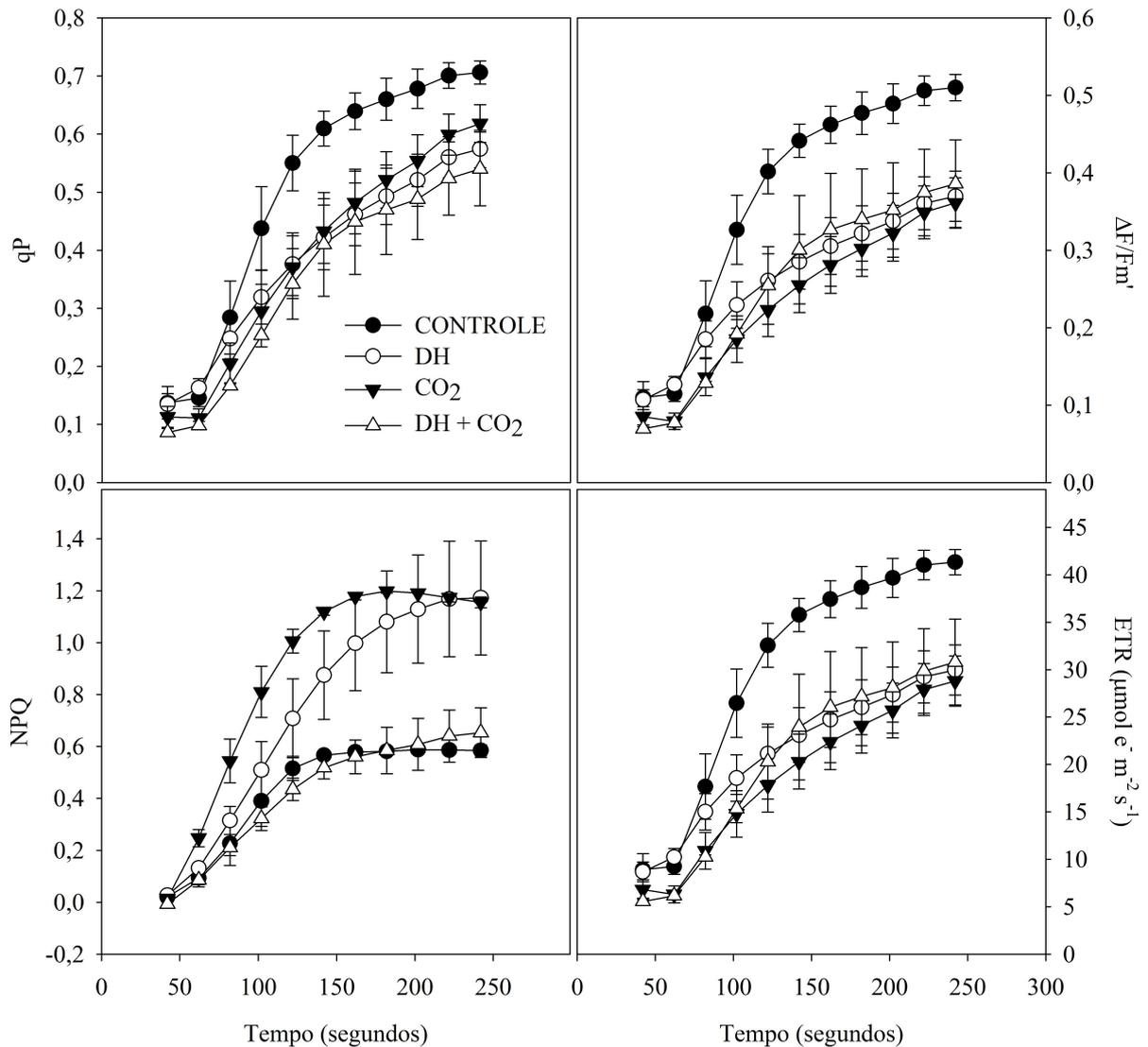


Figura 4S. Curvas de indução dos parâmetros fotoquímicos em resposta ao aumento do tempo de exposição a luz actínica em folhas de plantas de arroz submetidas aos tratamentos de: Controle (bem irrigado à CO₂ ambiente), DH (déficit hídrico à CO₂ ambiente), CO₂ (bem irrigado à CO₂ elevado) e DH + CO₂ (déficit hídrico à CO₂ elevado), crescidas sob condições controladas por câmara de crescimento por 55 dias e 20 DT. Quenching fotoquímico (qP), eficiência quântica atual do FSII ($\Delta F/F_m'$), quenching não fotoquímico (NPQ), e taxa relativa de transporte de elétrons (ETR). O desvio padrão é mostrado quando superior ao símbolo.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O efeito compensador do aumento da concentração de CO₂ desde a germinação sob condições déficit hídrico no arroz estão ligados à manutenção do *status* hídrico e da assimilação líquida de CO₂ e regulação das vias de absorção de luz e defesa oxidativa. Além disso, foi possível evidenciar que o processo fotorrespiratório tem grande relação com o crescimento e desenvolvimento, não somente por ser apenas uma via metabólica de reciclagem de carbono, mas também por interagir com outros agentes e desempenhar funções complexas ainda pouco exploradas. Nesse sentido, este trabalho contribui para o entendimento de que o incremento de CO₂ pode atenuar os efeitos da seca por promover maior eficiência no uso da água, e evitar a perda de carbono através da ativação de vias alternativas à fotorrespiração, diminuindo a produção de metabólitos secundários e tóxicos deste processo, recuperando a fotossíntese e o crescimento.