

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA**

**Impactos da fertilização com selênio e da elevada concentração de dióxido de carbono no desenvolvimento vegetativo e reprodutivo em arroz**

Carla de Souza Almeida  
*Doctor Scientiae*

**VIÇOSA - MINAS GERAIS  
2025**

**CARLA DE SOUZA ALMEIDA**

**Impactos da fertilização com selênio e da elevada concentração de dióxido de carbono no desenvolvimento vegetativo e reprodutivo em arroz**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

Orientador: Dimas Mendes Ribeiro

Coorientadores: Thaline Martins Pimenta  
Agustin Zsogon

**VIÇOSA - MINAS GERAIS  
2025**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade  
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

A447i  
2025  
Almeida, Carla de Souza, 1996-  
Impactos da fertilização com selênio e da elevada  
concentração de dióxido de carbono no desenvolvimento  
vegetativo e reprodutivo em arroz / Carla de Souza Almeida. –  
Viçosa, MG, 2025.

1 tese eletrônica (91 f.): il. (algumas color.).

Orientador: Dimas Mendes Ribeiro.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa,  
Departamento de Biologia Vegetal, 2025.

Inclui bibliografia.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2025.081>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Arroz - Cultivo - Efeito do dióxido de carbono. 2. Arroz -  
Efeito do selênio. I. Ribeiro, Dimas Mendes, 1977-.

II. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Biologia  
Vegetal. Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal.

III. Título.

CDD 22. ed. 633.1858

**CARLA DE SOUZA ALMEIDA**

**Impactos da fertilização com selênio e da elevada concentração de dióxido de carbono no desenvolvimento vegetativo e reprodutivo em arroz**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 18 de fevereiro de 2025.

Assentimento:

---

Carla de Souza Almeida  
Autora

---

Dimas Mendes Ribeiro  
Orientador

Essa tese foi assinada digitalmente pela autora em 21/02/2025 às 12:09:34 e pelo orientador em 21/02/2025 às 13:06:27. As assinaturas têm validade legal, conforme o disposto na Medida Provisória 2.200-2/2001 e na Resolução nº 37/2012 do CONARQ. Para conferir a autenticidade, acesse <https://siadoc.ufv.br/validar-documento>. No campo 'Código de registro', informe o código **TRHN.7OK7.DAYQ** e clique no botão 'Validar documento'.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, por ser meu guia e refúgio e por colocar as melhores pessoas no meu caminho.

Aos meus pais pelo apoio e incentivo nos meus estudos, amor incondicional e por serem meu porto seguro hoje e sempre.

Às minhas queridas irmãs, Clara e Sabrina, pelo carinho, companheirismo e por trazerem alegria à minha vida.

Ao meu namorado Robson pelo incentivo, paciência, companheirismo e amor.

A toda minha família pelo apoio e carinho.

Ao professor Dimas Mendes Ribeiro por toda orientação, paciência e por compartilhar seu conhecimento ao longo desses anos.

A minha coorientadora Thaline e à Genaina pela amizade, ensinamentos, incentivo e boas risadas.

Aos meus amigos do Laboratório de Crescimento e Desenvolvimento Vegetal de Plantas: Lubia, Johana, Anny, Thiago, Camila, Genaina, Victor e Janaina. Obrigada pela amizade e ajuda durante esses anos de trabalho juntos.

A todos os amigos que Viçosa me deu.

À Universidade Federal de Viçosa (UFV) e ao Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal pela partilha de seus valiosos conhecimentos.

Aos membros da banca, pela disposição em colaborar com a tese.

Aos funcionários do Departamento de Biologia Vegetal pelo apoio durante o trabalho.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001. Além disso, recebeu financiamento do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG; RED-00060-23).

Obrigada a todos.

"Que o conhecimento nunca te torne soberbo, mas sempre te inspire a servir mais e  
melhor."  
(São João Paulo II)

## RESUMO

ALMEIDA, Carla de Souza, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2025. **Impactos da fertilização com selênio e da elevada concentração de dióxido de carbono no desenvolvimento vegetativo e reprodutivo em arroz.** Orientador: Dimas Mendes Ribeiro. Coorientadores: Thaline Martins Pimenta e Agustin Zsogon.

A elevação da concentração de dióxido de carbono ( $eCO_2$ ) pode aumentar o rendimento do arroz (*Oryza sativa* L.), além de alterar o padrão de crescimento e a qualidade nutricional dos grãos. Diante da crescente demanda global por arroz e de seu papel na segurança alimentar, a suplementação com selênio (Se) surge como uma estratégia promissora para enriquecer os grãos e mitigar possíveis impactos negativos do  $eCO_2$ . Entretanto, a interação entre  $eCO_2$  e Se ainda não está completamente elucidada. Neste contexto, o presente estudo avaliou os efeitos da fertilização com Se no rendimento e na qualidade nutricional dos grãos de arroz sob  $eCO_2$  (Capítulo 1) e investigou as respostas da interação entre Se e  $eCO_2$  no sistema radicular e do desenvolvimento de plântulas de arroz (Capítulo 2). Os resultados mostraram que o  $eCO_2$  aumentou o crescimento das plantas e o rendimento de grãos em relação ao  $CO_2$  ambiente, independentemente da aplicação de Se. A fertilização com Se incrementou as concentrações de Se, N, P, K, Fe, Zn e S nos grãos sob  $eCO_2$ , em parte devido à maior expressão de genes transportadores de minerais, revertendo parcialmente as reduções induzidas pelo  $eCO_2$ . Além disso, o Se promoveu o acúmulo de proteínas de reserva (albumina, globulina, prolamina e glutelina) nos grãos expostos ao  $eCO_2$ . No sistema radicular de plântulas de arroz, o Se estimulou o alongamento das raízes primárias, embora tenha reduzido o número e o comprimento das raízes laterais. Por outro lado, o  $eCO_2$  aumentou o volume radicular, os níveis de auxina, açúcares solúveis e proteínas nas raízes, independentemente do Se. A interação entre Se e  $eCO_2$  potencializou o crescimento de raízes primárias e laterais, ampliou a altura da parte aérea, superando os efeitos isolados de cada fator. Essas mudanças foram associadas à maior disponibilidade de açúcares solúveis, à atividade de expansinas e ao aumento nos níveis de auxina, promovendo uma arquitetura radicular otimizada. Esses achados demonstram que a suplementação com Se é capaz de mitigar os efeitos negativos do  $eCO_2$  na qualidade nutricional dos grãos, promovendo o acúmulo de minerais e proteínas, além de melhorar o desenvolvimento e a arquitetura do sistema radicular de plântulas de arroz.

Palavras-chave: *Oryza sativa* L.; Qualidade do grão; Arquitetura radicular.

## ABSTRACT

ALMEIDA, Carla de Souza, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2025. **Impacts of selenium fertilization and elevated carbon dioxide concentration on vegetative and reproductive development in rice.** Adviser: Dimas Mendes Ribeiro. Co-advisers: Thaline Martins Pimenta and Agustin Zsogon.

The elevation of carbon dioxide concentration (eCO<sub>2</sub>) can enhance the yield of rice (*Oryza sativa* L.), while also altering growth patterns and grain nutritional quality. Given the increasing global demand for rice and its critical role in food security, selenium (Se) supplementation emerges as a promising strategy to enrich rice grains and mitigate potential negative effects of eCO<sub>2</sub>. However, the interaction between eCO<sub>2</sub> and Se remains poorly understood. In this context, the present study evaluated the effects of Se fertilization on grain yield and nutritional quality under eCO<sub>2</sub> (Chapter 1) and investigated the responses of Se and eCO<sub>2</sub> interaction on root system architecture and seedling development in rice (Chapter 2). The results showed that eCO<sub>2</sub> increased plant growth and grain yield compared to ambient CO<sub>2</sub>, regardless of Se application. Se fertilization enhanced the concentrations of Se, N, P, K, Fe, Zn, and S in the grains under eCO<sub>2</sub>, partially due to increased expression of mineral transporter genes, reversing some reductions induced by eCO<sub>2</sub>. Additionally, Se promoted the accumulation of storage proteins (albumin, globulin, prolamin, and glutelin) in grains exposed to eCO<sub>2</sub>. In the root system of rice seedlings, Se stimulated the elongation of primary roots, although it reduced the number and length of lateral roots. Conversely, eCO<sub>2</sub> increased root volume, auxin levels, soluble sugars, and proteins in the roots, regardless of Se. The interaction between Se and eCO<sub>2</sub> synergistically enhanced primary and lateral root growth, as well as shoot height, surpassing the isolated effects of each factor. These changes were associated with greater soluble sugar availability, expansin activity, and increased auxin levels, leading to an optimized root system architecture. These findings demonstrate that Se supplementation can mitigate the negative effects of eCO<sub>2</sub> on grain nutritional quality by promoting the accumulation of minerals and proteins, while also improving root system development and architecture in rice seedlings.

Keywords: *Oryza sativa* L.; Rice grain quality; Root architecture.

## SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL .....	9
REFERÊNCIAS .....	12
CAPÍTULO I - O SELÊNIO ATENUA A PERDA DE QUALIDADE NUTRICIONAL DO ARROZ CULTIVADO EM CONCENTRAÇÃO ELEVADA DE DIÓXIDO DE CARBONO .....	16
RESUMO.....	17
ABSTRACT .....	18
1. INTRODUÇÃO.....	19
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	21
2.1. Cultivo de plantas e condições experimentais .....	22
2.2. Determinação de características agronômicas .....	22
2.3. Parâmetros fotossintéticos e medidas de pigmentos .....	23
2.4. Análise mineral .....	24
2.5. Análise da expressão gênica .....	24
2.6. Determinação de proteína e aminoácidos em grãos.....	25
2.7. Estatísticas.....	25
3. RESULTADOS .....	25
3.1. Crescimento e rendimento de grãos de arroz em resposta ao Se e eCO <sub>2</sub> .....	25
3.2. Acúmulo de transcrição dos genes transportadores de minerais em resposta ao Se e eCO <sub>2</sub> .....	26
3.3. Alterações nas concentrações de minerais nos grãos em resposta ao Se e eCO <sub>2</sub> .....	27
3.4. Concentrações de proteína e aminoácidos em grãos .....	28
4. DISCUSSÃO.....	29
4.1. Efeitos do Se no desenvolvimento do arroz em resposta ao eCO <sub>2</sub> .....	29
4.2. Relação entre massa de grãos e concentrações de minerais em grãos.....	31
4.3. A fertilização com Se altera o acúmulo de proteína nos grãos de arroz em resposta ao eCO <sub>2</sub> .....	33
5. CONCLUSÕES.....	34
REFERÊNCIAS .....	36
FIGURAS .....	42
MATERIAL SUPLEMENTAR.....	48
CAPÍTULO II - EFEITO DO SELÊNIO E DA CONCENTRAÇÃO ELEVADA DE DIÓXIDO DE CARBONO NO DESENVOLVIMENTO DA RAIZ DE PLÂNTULAS DE ARROZ.....	54

RESUMO.....	55
ABSTRACT .....	56
1. INTRODUÇÃO.....	57
2. MATERIAL E MÉTODOS .....	61
2.1. Material vegetal e condições gerais de cultivo .....	61
2.2. Crescimento das plântulas .....	61
2.3. Determinação dos níveis de metabólitos .....	62
2.4. Quantificação de selênio total .....	62
2.5. Expressão gênica.....	62
2.6. Caracterização anatômica .....	63
2.7. Delineamento experimental e análise estatística .....	63
3. RESULTADOS .....	64
3.1. Regulação da arquitetura radicular de plântulas de arroz em resposta ao selênio e elevada concentração de CO <sub>2</sub> .....	64
3.2. Efeito do selênio e da elevada concentração de CO <sub>2</sub> na biossíntese de hormônios e no metabolismo primário das plântulas de arroz .....	64
3.3 Alterações anatômicas na folha e raiz de plântulas de arroz sob elevada concentração de CO <sub>2</sub> e selênio.....	66
4. DISCUSSÃO.....	67
5. CONCLUSÕES.....	73
REFERÊNCIAS.....	74
FIGURAS .....	81
MATERIAL SUPLEMENTAR.....	89
CONCLUSÃO GERAL .....	91

## INTRODUÇÃO GERAL

A concentração atmosférica de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) tem aumentado continuamente desde a Revolução Industrial, passando de 280 ppm para 421 ppm atualmente, como resultado da expansão demográfica e do desenvolvimento econômico (Stein, 2022). Espera-se que até o final deste século a concentração atmosférica de CO<sub>2</sub> aumente para 550 a 1000 ppm (NOAA, 2020). Embora o CO<sub>2</sub> seja um dos principais agentes das mudanças climáticas, ele é crucial para a fotossíntese, o que torna a sua maior disponibilidade um fator relevante para o crescimento vegetal (Zhu et al., 2014). Estudos têm mostrado que a concentração elevada de CO<sub>2</sub> atmosférico (eCO<sub>2</sub>) impactam diretamente o crescimento de plantas C<sub>3</sub>, como trigo, cevada e arroz, além de afetar a segurança alimentar ao influenciar tanto a produtividade quanto a qualidade nutricional das culturas (Ainsworth e Long, 2021; Hu et al., 2022; Liu et al., 2017).

O arroz (*Oryza sativa* L.), uma das culturas alimentares mais importantes globalmente, ocupa cerca de 20% das áreas cultiváveis e é a principal fonte de alimento para mais de 3 bilhões de pessoas (Van Nguyen e Ferrero, 2006; FAOSTAT, 2021). Com o crescimento populacional, estima-se que a demanda por arroz aumente em aproximadamente 30% (Alexandratos e Bruinsma, 2012). Diversos estudos indicaram resposta positiva no rendimento de grãos de arroz em condições de eCO<sub>2</sub> (Ziska et al., 2013, Sakai et al., 2019). No entanto, também há evidências de que o eCO<sub>2</sub> reduz as concentrações de proteínas, aminoácidos (Wang et al., 2019), minerais (Ca, Mg, Cu, Zn e Fe) (Chaturvedi et al., 2017; Smith et al., 2018), e vitaminas (B1, B2, B5 e B9) (Zhu et al., 2018), essenciais para os seres humanos. Essas alterações representam um desafio crítico para a segurança alimentar, dado o papel fundamental do arroz na dieta humana global.

Várias causas foram propostas para as concentrações reduzidas de nutrientes observadas em plantas cultivadas em eCO<sub>2</sub> em comparação com CO<sub>2</sub> ambiente (aCO<sub>2</sub>). O efeito de diluição dos nutrientes pelo aumento da concentração de carboidratos e diminuição do fluxo de massa, estimulado pela menor condutância estomática e transpiração, são considerados mecanismos fisiológicos que mais explicam essa redução da qualidade nutricional dos grãos em condições de eCO<sub>2</sub> (Chaturvedi et al., 2017; Ujiie, et al., 2019; Ben Mariem et al., 2021). No entanto, a redução da concentração de proteína e nitrogênio observada em grãos de arroz sob

eCO<sub>2</sub> não é completamente explicada por esses mecanismos. Hipóteses adicionais sugerem uma alocação diferencial de nitrogênio e de assimilados entre grãos, dependendo da posição dentro da panícula (Zhang, et al., 2013), além de limitações relacionadas à capacidade do sistema radicular em absorver minerais do solo. Essa limitação depende diretamente da regulação de transportadores de nutrientes, da alocação de minerais e da configuração da arquitetura do sistema radicular (De Bang et al., 2021). Nesse contexto, uma estratégia econômica e eficiente para superar reduções da qualidade nutricional causada pela eCO<sub>2</sub> é a biofortificação agrônômica (White e Broadley, 2005), especialmente com elementos minerais como o selênio (Se).

O Se é um micronutriente indispensável para a saúde humana e animal, coordena respostas imunes, retarda o envelhecimento do sistema imunológico e aumenta a capacidade de eliminação de radicais livres (Zeng et al., 2019; Liang et al., 2019). As plantas são consideradas a principal fonte de Se, porém a concentração deste elemento nas plantas está relacionada com a biodisponibilidade no solo, que é baixa no Brasil (Andrade et al., 2018). A essencialidade do Se para as plantas ainda não foi confirmada, mas provou ser um elemento benéfico para o crescimento e produção das culturas (Xu et al., 2021). Particularmente, a biofortificação com Se em arroz pode superar a deficiência deste nutriente em humanos, pois tanto a aplicação no solo quanto via foliar aumentou a concentração deste elemento e alterou a concentração de macronutrientes nos grãos (Lima Lessa et al., 2020; Teixeira et al., 2021). As baixas concentrações de Se também proporcionaram proteção contra estresses abióticos (Subramanyam et al., 2019; Wan et al., 2019; Feng et al., 2021; Ghouri et al., 2022) e elevaram a qualidade nutricional dos grãos de arroz (Lima Lessa et al., 2020).

A absorção e a biodisponibilidade do Se pelas plantas são influenciados pelas diferentes formas químicas e concentração total do elemento no solo (Li et al., 2016). O selenato é a forma biodisponível dominante de Se nos solos, mas é facilmente reduzido a selenito sob condições de inundação, assim as plantas de arroz absorvem principalmente como selenito (Zhang et al., 2019). A absorção do selenito pelas raízes das plantas de arroz ocorre através de transportadores de fosfato (*OsPT2*) e um canal de influxo de silício (*OsNIP2*) (Zhang et al., 2014; Zhang et al., 2019). Depois de absorvido pela raiz grande parte do selenito é convertido em formas orgânicas de Se, como em selenocisteína e selenometionina (Dinh et al., 2019), que são facilmente absorvidos pelos humanos e animais (Lyons et al., 2003). Entretanto, até o momento

pouco se sabe sobre como o eCO<sub>2</sub> afeta a absorção e acumulação de Se em plantas de arroz.

Estudos anteriores com arroz indicam que o Se também desempenha um papel crucial na modulação da absorção de nutrientes e na adaptação das plantas a diferentes condições ambientais. Entre os efeitos atribuídos ao Se, destacam-se o maior alongamento das raízes primárias, a redução da ramificação lateral, e a influência na expressão de transportadores de íons e na composição mineral dos grãos de arroz (Malheiros et al., 2019; Teixeira et al., 2021). As alterações radiculares foram associadas à modulação de genes relacionados à biossíntese de auxina e etileno, bem como ao transporte de auxina (Malheiros et al., 2019). Em plantas de tabaco, o tratamento com Se induziu a transcrição dos genes *YUCCA6*, *YUCCA8* e *YUCCA9*, que participam da biossíntese de auxina, além dos genes *PIN1a*, *PIN1c* e *PIN4*, envolvidos no transporte desse hormônio (Luo et al., 2019). Essa ativação transcricional resultou no maior crescimento da raiz primária e no aumento do número de raízes laterais (Jia et al., 2018). De forma semelhante, o eCO<sub>2</sub> promove benefícios ao sistema radicular, como o aumento do alongamento e da ramificação das raízes, melhorando a exploração do solo para absorção de nutrientes e água (Madhu e Hatfield, 2013).

Embora o impacto individual do Se em arroz seja relativamente bem documentado, estudos que investiguem sua interação com eCO<sub>2</sub> permanecem escassos, especialmente no que diz respeito aos padrões de crescimento radicular, bem como no desenvolvimento produtivo e à qualidade nutricional dos grãos. Compreender essa interação é fundamental, pois pode oferecer novas perspectivas para melhorar a produção e a composição nutricional dos grãos de arroz em cenários futuros de aumento nas concentrações atmosféricas de CO<sub>2</sub>. Neste contexto, a presente tese foi estruturada em dois capítulos. O primeiro capítulo analisa os efeitos da biofortificação agrônômica com Se sob condições de eCO<sub>2</sub>, focando na produção e na composição nutricional dos grãos. O segundo capítulo explora a interação entre Se e eCO<sub>2</sub> na regulação da arquitetura do sistema radicular de plântulas de arroz.

## REFERÊNCIAS

- AINSWORTH, E. A.; LONG, S. P. 30 years of free-air carbon dioxide enrichment (FACE): What have we learned about future crop productivity and its potential for adaptation? **Global Change Biology**, v. 27, n. 1, p. 27-49, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1111/gcb.15375>.
- ALEXANDRATOS, N.; BRUINSMA, J. World agriculture towards 2030/2050: the 2012 revision. 2012. DOI: <https://doi.org/10.22004/ag.econ.288998>.
- ANDRADE, F.; SILVA, G. N.; GUIMARÃES, K. C.; BARRETO, H. B. F.; SOUZA, K. R. D.; GUILHERME, L. R. G.; REIS, A. R. Selenium protects rice plants from water deficit stress. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 164, p. 562–570, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.08.022>.
- DE BANG, T. C.; HUSTED, S.; LAURSEN, K. H.; PERSSON, D. P.; SCHJOERRING, J. K. The molecular-physiological functions of mineral macronutrients and their consequences for deficiency symptoms in plants. **New Phytologist**, v. 229, p. 2446-2469, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1111/NPH.17074>.
- BEN MARIEM, S.; SOBA, D.; ZHOU, B.; LOLADZE, I.; MORALES, F.; ARANJUELO, I. Climate change, crop yields, and grain quality of C3 cereals: a meta-analysis of [CO<sub>2</sub>], temperature, and drought effects. **Plants**, v. 6, p. 1052, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants10061052>.
- CHATURVEDI, A. K.; BAHUGUNA, R. N.; PAL, M.; SHAH, D.; MAURYA, S.; JAGADISH, K. S. Elevated CO<sub>2</sub> and heat stress interactions affect grain yield, quality, and mineral nutrient composition in rice under field conditions. **Field Crops Research**, v. 206, p. 149-157, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2017.02.018>.
- DINH, Q. T.; WANG, M.; TRAN, T. A. T.; ZHOU, F.; WANG, D.; ZHAI, H.; LIANG, D. Bioavailability of selenium in soil-plant system and a regulatory approach. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 49, p. 443–517, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1080/10643389.2018.1550987>.
- FAOSTAT. Production/yield quantities of rice, paddy in world + (Total). Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2021.
- FENG, R.; ZHAO, P.; ZHU, Y.; YANG, J.; WEI, X.; YANG, L.; DING, Y. Application of inorganic selenium to reduce accumulation and toxicity of heavy metals (metalloids) in plants: The main mechanisms, concerns, and risks. **Science of The Total Environment**, v. 771, p. 144776, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.144776>.
- GHOURI, F.; ALI, Z.; NAEEM, M.; UL-ALLAH, S.; BABAR, M.; BALOCH, F. S.; SHAHID, M. Q. Effects of silicon and selenium in alleviation of drought stress in rice. **Silicon**, v. 10, p. 5453-5461, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12633-021-01277-z>.

- HU, S.; CHEN, W.; TONG, K.; WANG, Y.; JING, L.; WANG, Y.; YANG, L. Response of rice growth and leaf physiology to elevated CO<sub>2</sub> concentrations: A meta-analysis of 20-year FACE studies. **Science of The Total Environment**, v. 807, p. 151017, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.151017>.
- LI, J.; PENG, Q.; LIANG, D.; LIANG, S.; CHEN, J.; SUN, H.; LEI, P. Effects of aging on the fraction distribution and bioavailability of selenium in three different soils. **Chemosphere**, v. 144, p. 2351–2359, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.11.0>.
- LIANG, Y.; SU, Y.; LI, L.; HUANG, X.; PANHWAR, F. H.; ZHENG, T.; ZHU, J. Quick selenium accumulation in the selenium-rich rice and its physiological responses in changing selenium environments. **BMC Plant Biology**, v. 19, p. 1–11, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12870-019-2163-6>.
- LIMA LESSA, J. H.; RAYMUNDO, J. F.; CORGUINHA, A. P. B.; MARTINS, F. A. D.; ARAUJO, A. M.; SANTIAGO, F. E. M.; LOPES, G. Strategies for applying selenium for biofortification of rice in tropical soils and their effect on element accumulation and distribution in grains. **Journal of Cereal Science**, v. 96, p. 103125, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2020.103125>.
- LIU, S.; WAQAS, M. A.; WANG, S. H.; XIONG, X. Y.; WAN, Y. F. Effects of increased levels of atmospheric CO<sub>2</sub> and high temperatures on rice growth and quality. **PLoS One**, v. 12, p. e0187724, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0187724>.
- LYONS, G.; STANGOULIS, J.; GRAHAM, R. High-selenium wheat: biofortification for better health. **Nutrition Research Reviews**, v. 16, n. 1, p. 45, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1079/nrr200255>.
- MADHU, M.; HATFIELD, J. L. Dynamics of plant root growth under increased atmospheric carbon dioxide. **Agronomy Journal**, v. 105, p. 657–669, 2013. DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.02245>.
- MALHEIROS, R. S. P.; COSTA, L. C.; ÁVILA, R. T.; PIMENTA, T. M.; TEIXEIRA, L. S.; BRITO, F. A.; ... RIBEIRO, D. M. Selenium downregulates auxin and ethylene biosynthesis in rice seedlings to modify primary metabolism and root architecture. **Planta**, v. 250, p. 333–345, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00425-019-03175-6>.
- NOAA: National Oceanic & Atmospheric Administration. [Online]. Disponível em: <https://www.esrl.noaa.gov>. Acesso em: maio 2023.
- SAKAI, H.; TOKIDA, T.; USUI, Y.; NAKAMURA, H.; HASEGAWA, T. Yield responses to elevated CO<sub>2</sub> concentration among Japanese rice cultivars released since 1882. **Plant Production Science**, v. 22, p. 352–366, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1080/1343943X.2019.1626255>.

- SMITH, M. R.; MYERS, S. S. Impact of anthropogenic CO<sub>2</sub> emissions on global human nutrition. *Nature Climate Change*, v. 8, p. 834–839, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41558-018-0253-3>.
- STEIN, T. Carbon dioxide now more than 50 higher than pre-industrial levels. Disponível em: <https://www.noaa.gov/news-release/carbon-dioxide-now-more-than-50-higher-than-pre-industrial-levels>. Acesso em: 04 dez. 2024.
- SUBRAMANYAM, K.; DU LAING, G.; VAN DAMME, E. J. Sodium selenate treatment using a combination of seed priming and foliar spray alleviates salinity stress in rice. *Frontiers in Plant Science*, v. 10, p. 116, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00116>.
- TEIXEIRA, L. S.; PIMENTA, T. M.; BRITO, F. A. L.; MALHEIROS, R. S. P.; ARRUDA, R. S.; ARAÚJO, W. L.; RIBEIRO, D. M. Selenium uptake and grain nutritional quality are affected by nitrogen fertilization in rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Cell Reports*, v. 40, p. 871–880, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00299-021-02685-6>.
- UJIIE, K.; ISHIMARU, K.; HIROTSU, N.; NAGASAKA, S.; MIYAKOSHI, Y.; OTA, M.; MAGOSHI, J. How elevated CO<sub>2</sub> affects our nutrition in rice, and how we can deal with it. *PLoS One*, v. 14, p. e0212840, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0212840>.
- VAN NGUYEN, N.; FERRERO, A. Meeting the challenges of global rice production. *Paddy and Water Environment*, v. 4, p. 1–9, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10333-005-0031-5>.
- WAN, Y.; WANG, K.; LIU, Z.; YU, Y.; WANG, Q.; LI, H. Effect of selenium on the subcellular distribution of cadmium and oxidative stress induced by cadmium in rice (*Oryza sativa* L.). *Environmental Science and Pollution Research*, v. 26, p. 16220–16228, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11356-019-04975-9>.
- WANG, J.; HASEGAWA, T.; LI, L.; LAM, S. K.; ZHANG, X.; LIU, X.; PAN, G. Changes in grain protein and amino acids composition of wheat and rice under short-term increased [CO<sub>2</sub>] and temperature of canopy air in a paddy from East China. *New Phytologist*, v. 222, p. 726–734, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1111/nph.15661>.
- WHITE, P. J.; BROADLEY, M. R. Biofortifying crops with essential mineral elements. *Trends in Plant Science*, v. 10, n. 12, p. 586–593, 2005.
- XU, S.; ZHAO, N.; QIN, D.; LIU, S.; JIANG, S.; XU, L.; HU, A. The synergistic effects of silicon and selenium on enhancing salt tolerance of maize plants. *Environmental and Experimental Botany*, v. 187, p. 104482, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2021.104482>.
- ZENG, R.; LIANG, Y.; FAROOQ, M. U.; ZHANG, Y.; EI, H. H.; TANG, Z.; ZHU, J. Alterations in transcriptome and antioxidant activity of naturally aged mice exposed to selenium-rich rice. *Environmental Science and Pollution*

**Research**, v. 26, p. 834–844, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11356-019-05226-7>.

ZHANG, G.; SAKAI, H.; TOKIDA, T.; USUI, Y.; ZHU, C.; NAKAMURA, H.; HASEGAWA, T. The effects of free-air CO<sub>2</sub> enrichment (FACE) on carbon and nitrogen accumulation in grains of rice (*Oryza sativa* L.). **Journal of Experimental Botany**, v. 64, n. 11, p. 3179–3188, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1093/jxb/ert154>.

ZHANG, L.; HU, B.; DENG, K.; GAO, X.; SUN, G.; ZHANG, Z.; CHU, C. NRT1.1B improves selenium concentrations in rice grains by facilitating selenomethionine translocation. **Plant Biotechnology Journal**, v. 17, n. 6, p. 1058–1068, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1111/pbi.13037>.

ZHANG, L.; HU, B.; LI, W.; CHE, R.; DENG, K.; LI, H.; CHU, C. OsPT2, a phosphate transporter, is involved in the active uptake of selenite in rice. **New Phytologist**, v. 201, p. 1183–1191, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1111/nph.12596>.

ZHU, C.; KOBAYASHI, K.; LOLADZE, I.; ZHU, J.; JIANG, Q.; XU, X.; ZISKA, L. H. Carbon dioxide (CO<sub>2</sub>) levels this century will alter the protein, micronutrients, and vitamin content of rice grains with potential health consequences for the poorest rice-dependent countries. **Science Advances**, v. 4, n. 5, p. eaaq1012, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1126/sciadv.aaq1012>.

ZHU, C.; ZHU, J.; CAO, J.; JIANG, Q.; LIU, G.; ZISKA, L. H. Biochemical and molecular characteristics of leaf photosynthesis and relative seed yield of two contrasting rice cultivars in response to elevated [CO<sub>2</sub>]. **Journal of Experimental Botany**, v. 65, p. 6049–6056, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1093/jxb/eru344>.

ZISKA, L. H.; TOMECEK, M. B.; GEALY, D. R. Assessment of cultivated and wild, weedy rice lines to concurrent changes in CO<sub>2</sub> concentration and air temperature: determining traits for enhanced seed yield with increasing atmospheric CO<sub>2</sub>. **Functional Plant Biology**, v. 41, p. 236–243, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1071/FP13155>.

**CAPÍTULO I - O SELÊNIO ATENUA A PERDA DE QUALIDADE NUTRICIONAL  
DO ARROZ CULTIVADO EM CONCENTRAÇÃO ELEVADA DE DIÓXIDO DE  
CARBONO**

## RESUMO

O enriquecimento atmosférico de CO<sub>2</sub> tem o potencial de melhorar o rendimento do arroz (*Oryza sativa* L.), mas também pode comprometer a qualidade nutricional do grão, reduzindo as concentrações de minerais e proteínas. A fertilização com selênio (Se) é uma estratégia promissora para melhorar a composição nutricional dos grãos, embora ainda não esteja claro se seus efeitos positivos se mantêm sob concentração elevada de dióxido de carbono (eCO<sub>2</sub>). Este estudo investigou os impactos da fertilização com Se no rendimento e na qualidade dos grãos de arroz em resposta ao eCO<sub>2</sub>. Embora o tratamento com Se não tenha afetado significativamente o rendimento de grãos em ambas as condições de CO<sub>2</sub>, a redução nas concentrações de macronutrientes e micronutrientes observadas sob eCO<sub>2</sub> foi atenuada em grãos de plantas fertilizadas com Se. A fertilização com Se aumentou a concentração de Se em raízes, folhas bandeira e grãos independentemente das concentrações atmosféricas de CO<sub>2</sub>. A expressão aumentada de genes associados ao transporte de íons pode, em parte, explicar a relação positiva entre as concentrações de minerais e a massa dos grãos fertilizados com Se sob eCO<sub>2</sub>. O tratamento com Se também aumentou o acúmulo de proteína total em grãos sob eCO<sub>2</sub>. No geral, os resultados indicam que a fertilização com Se pode ser uma ferramenta eficaz para preservar a qualidade nutricional dos grãos de arroz em um futuro com aumento da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico.

**Palavras-chave:** Biofortificação; Mudanças climáticas; Massa de grãos; *Oryza sativa* L.; Composição do grão de arroz.

## ABSTRACT

Atmospheric CO<sub>2</sub> enrichment has the potential to increase rice (*Oryza sativa* L.) yield, but it may also decrease grain nutritional quality, by reducing mineral and protein concentrations. Selenium (Se) fertilization may improve rice grain nutritional composition, but it is not known if this response extends to plants grown in elevated carbon dioxide concentration (eCO<sub>2</sub>). Thus, we conducted experiments to identify the effects of Se fertilization on yield and quality of rice grains in response to eCO<sub>2</sub>. The eCO<sub>2</sub> treatment resulted in comparable grain yield increases regardless of Se application. However, the reduction in macronutrients and micronutrients under eCO<sub>2</sub> was mitigated in grains of plants fertilized with Se. Elevation of the transcripts of ion transport-related genes could, at least partially, explain the positive relationship between mineral concentrations and grain mass resulting from Se fertilization under eCO<sub>2</sub>. Fertilization with Se also positively regulated the accumulation of total protein in grains under eCO<sub>2</sub>. Moreover, Se fertilization increased the supply of Se to the roots, flag leaves, and grains independently of atmospheric CO<sub>2</sub> concentrations. Thus, Se fertilization represents a potential asset to maintain rice grain nutritional quality in a future with rising atmospheric CO<sub>2</sub> concentration.

**Keywords:** Biofortification. Climate change; Grain mass; *Oryza sativa* L.; Rice grain composition.

## 1. INTRODUÇÃO

A concentração de dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) na atmosfera pode atingir 800 ppm até o final deste século (IPCC, 2021). Essa concentração elevada de  $\text{CO}_2$  ( $\text{eCO}_2$ ) pode aumentar a fotossíntese em plantas C3, resultando em maior crescimento e rendimento das culturas (Bhargava e Mitra, 2021). Um aumento no número de grãos sob  $\text{eCO}_2$  pode levar a uma diminuição da concentração de nitrogênio (N), impactando o metabolismo de aminoácidos no arroz (Loladze, 2002; Ainsworth, 2008; Zhang e Wu, 2023). Isso significa que plantas C3 cultivadas em  $\text{eCO}_2$  frequentemente apresentam menores concentrações de aminoácidos e proteínas nas folhas e grãos, levando à diminuição da qualidade nutricional dos produtos alimentícios resultantes (Zhu et al., 2018). O tamanho do grão, que se correlaciona positivamente com a massa do grão, é outro componente importante do rendimento do arroz, que pode ser influenciado pelo  $\text{eCO}_2$  (Yang et al., 2006). O aumento da massa do grão pelo  $\text{eCO}_2$  pode levar a uma concentração reduzida de proteína do grão, dependendo da posição do grão dentro de uma panícula (Zhang et al., 2013). A resposta da massa e da qualidade dos grãos ao  $\text{eCO}_2$  também é muito variável entre cultivares, devido a diferenças na estrutura da panícula e na capacidade de transportar e redistribuir os fotoassimilados para os grãos durante o enchimento (Zhang et al., 2015). Além do efeito de diluição pelo aumento da biomassa, o  $\text{eCO}_2$  tem o potencial de influenciar a absorção de N, o que pode levar a uma diminuição na concentração de N nos tecidos vegetais e, conseqüentemente, nos aminoácidos e proteínas (Bloom et al., 2010).

Albumina, globulina, prolamina e glutelina são as quatro principais frações de proteínas de reserva nos grãos no arroz, sendo a glutelina a predominante (Jayaprakash et al., 2022). Curiosamente, foi documentado que a fertilização com selênio (Se) pode aumentar a concentração de aminoácidos, bem como o conteúdo de proteína de reserva, incluindo duas frações diferentes, como glutelina e prolamina, nos grãos de arroz (Teixeira et al., 2021). A aplicação isolada de Se também aumenta a concentração de N nos grãos das plantas de arroz (Teixeira et al., 2021). Embora numerosos estudos tenham relatado o efeito do  $\text{eCO}_2$  e do Se isoladamente na composição nutricional dos grãos de arroz (Leakey et al., 2009; Boldrin et al., 2013; Zhu et al., 2018; Teixeira et al., 2021), relativamente pouco se sabe sobre o impacto da fertilização com Se na determinação do teor de proteína dos grãos após exposição ao aumento da concentração atmosférica de  $\text{CO}_2$ . Uma questão central é como a

fertilização com Se e as condições de eCO<sub>2</sub> podem interagir para alterar a qualidade e a quantidade dos grãos de arroz.

O desenvolvimento e o valor nutricional das culturas alimentares dependem da absorção de nutrientes do solo pelo sistema radicular (Montgomery e Biklé, 2021). A capacidade do sistema radicular de absorver minerais do solo depende de uma infinidade de processos, incluindo capacidade, afinidades e regulação dos transportadores de absorção de minerais, bem como a alocação de minerais para o crescimento do sistema radicular (De Bang et al., 2021). Nesse sentido, o eCO<sub>2</sub> geralmente aumenta o alongamento e a ramificação da raiz, o que pode melhorar a capacidade de uma planta de explorar maiores volumes de solo e absorver nutrientes e água (Madhu e Hatfield, 2013). Há evidências de que a sacarose acumulada nas raízes de plantas cultivadas com eCO<sub>2</sub> pode modular a expressão de vários transportadores de íons (Thompson et al., 2017). O Se também controla a formação do sistema radicular e contribui para alterar a expressão de transportadores de íons nas raízes do arroz (Malheiros et al., 2019; Teixeira et al., 2021). A modulação da expressão de transportadores de íons presumivelmente desempenha um papel significativo na mudança das características de absorção de minerais das raízes em resposta ao Se e ao eCO<sub>2</sub>. Um melhor conhecimento do efeito combinado do Se e do eCO<sub>2</sub> na absorção de minerais pela planta pode ajudar na compreensão da base fisiológica para o acúmulo de minerais no arroz.

Espera-se que o declínio da concentração de proteína do arroz sob eCO<sub>2</sub> tenha um impacto negativo na disponibilidade de enxofre (S), uma vez que a proteína do grão é uma fonte de aminoácidos ricos em S, como metionina e cisteína (Jayaprakash et al., 2022). É relatado que o eCO<sub>2</sub> causa uma diminuição nas concentrações de fósforo (P), ferro (Fe), potássio (K), zinco (Zn) e Se no grão de arroz, o que pode impactar negativamente a nutrição humana (Loladze, 2014; Zhu et al., 2018). A diminuição na concentração de boro (B) nos grãos foi observada na soja sob eCO<sub>2</sub> (Köhler et al., 2019). Os mecanismos que explicam os efeitos negativos do eCO<sub>2</sub> na concentração de minerais em grãos ainda não estão completamente elucidados, mas diversos processos podem estar envolvidos. Por exemplo, o eCO<sub>2</sub> pode diminuir as concentrações de minerais nos grãos devido à redução da absorção e da remobilização para os grãos de arroz (Ujiiie et al., 2019). A diluição das concentrações de minerais nos grãos pode ocorrer devido ao aumento do acúmulo de carboidratos nos tecidos ou ao incremento da produção de grãos sob eCO<sub>2</sub> (Loladze, 2002). A

massa do grão de arroz é determinada tanto por fatores genéticos quanto pelo grau de enchimento, que depende da disponibilidade de carboidratos produzidos nos órgãos de origem e do transporte subsequente dos carboidratos para os grãos (Zuo e Li, 2014). A maior biomassa de grãos das plantas tratadas com eCO<sub>2</sub> pode estar associada a uma maior capacidade fotossintética e a uma melhor partição de assimilação para os grãos (Sasaki et al., 2007), o que teria implicações na composição de nutrientes dos grãos.

A fertilização com Se é outro fator que tem o potencial de afetar a absorção e acumulação de minerais no grão de plantas de arroz. Por exemplo, o Se sozinho aumentou a acumulação de S e P no grão de arroz, o que foi associado ao aumento da transcrição genética do transportador de sulfato *OsSULTR1;2* e do transportador de Pi *OsPT2* nas raízes (Teixeira et al., 2021). A fertilização combinada de Se e N nas plantas de arroz aumentou a expressão do gene transportador de nitrato *OsNRT1.1B* na raiz, resultando em alto rendimento e acúmulo de N e Se no grão (Teixeira et al., 2021). Além disso, a fertilização com selenato aumentou o rendimento do grão, contribuindo para o enriquecimento de manganês (Mn), Fe e Zn no arroz (Boldrin et al., 2013). Esses resultados mostram que o Se pode afetar as concentrações de muitos minerais de maneira oposta às condições de eCO<sub>2</sub>. Parece viável que o Se altere o equilíbrio entre o transporte e a eficiência do uso de nutrientes sob eCO<sub>2</sub>. No entanto, o impacto das alterações na expressão de genes relacionados ao transporte de íons na disponibilidade de minerais em grãos de plantas de arroz fertilizadas com Se cultivadas sob eCO<sub>2</sub> não foi amplamente investigado. O arroz é uma fonte essencial de carboidratos, proteínas e minerais importantes para muitas pessoas ao redor do mundo (Sen et al., 2020). Portanto, uma pesquisa sobre o papel do eCO<sub>2</sub> e do Se na regulação do crescimento e expressão de genes relacionados ao transporte de íons pode abrir novos caminhos para melhorar o rendimento e a qualidade do grão de arroz em futuras condições de CO<sub>2</sub>. O objetivo geral foi examinar o efeito interativo do Se e do CO<sub>2</sub> na composição nutricional do grão de arroz. Este estudo propõe a hipótese de que a fertilização com Se mitiga o impacto negativo do eCO<sub>2</sub> na composição nutricional do grão de arroz por meio da modulação da absorção de minerais pela raiz.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

## 2.1. Cultivo de plantas e condições experimentais

As sementes de arroz (*Oryza sativa* L. cv 'Oochikara') foram germinadas de acordo com o método descrito por Malheiros et al. (2019). Após sete dias, três mudas foram plantadas em vasos (volume 10 L) preenchidos com 8 Kg de solo seco e cultivadas em casa de vegetação na Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Brasil. Além disso, amostras de solo foram fertilizadas com 90 mg de nitrogênio, 250 mg de fósforo, 70 mg de potássio e 60 mg de S por  $\text{dm}^{-3}$  de solo três dias antes do plantio de mudas de arroz, onde as fontes consistiam em nitrato de amônio, fosfato monoamônico e sulfato de potássio. Após cinco dias na estufa, doze dos vasos foram divididos entre duas câmaras executando um tratamento de  $\text{CO}_2$  ambiente ( $a\text{CO}_2$ ,  $410 \pm 20 \mu\text{mol mol}^{-1}$  ar), enquanto outros doze foram divididos entre duas câmaras executando um tratamento de  $\text{CO}_2$  elevado ( $e\text{CO}_2$ ,  $700 \pm 50 \mu\text{mol mol}^{-1}$  ar). Em cada câmara, três dos vasos foram irrigados com 500 ml de água deionizada a cada 15 dias, enquanto outros três foram irrigados com 500 ml de solução de selenito de sódio  $10 \mu\text{M}$  a cada 15 dias durante a avaliação. As câmaras de topo aberto foram instaladas dentro de uma estufa com controle dinâmico da temperatura do ar e intensidade de luz naturalmente flutuante. A temperatura do ar, a umidade relativa e a intensidade da luz dentro das câmaras de topo aberto foram registradas em intervalos de 1h e as condições ambientais nas câmaras de topo aberto durante todo o experimento foram consistentes entre as estações de cultivo. O método usado para controlar a concentração de  $\text{CO}_2$  no ar dentro das câmaras de topo aberto foi relatado por Pimenta et al. (2022). Para evitar efeitos dentro da câmara, a posição dos vasos foi rotacionada nas câmaras a cada semana. Durante o período de crescimento, as plantas de arroz foram fertilizadas com NPK seguindo práticas agronômicas para a cultura do arroz (Fageria, 2002). As plantas de arroz foram fertilizadas com  $450 \text{ mg N dm}^{-3}$  de solo,  $500 \text{ mg P dm}^{-3}$  de solo e  $350 \text{ mg K dm}^{-3}$  de solo como nitrato de amônio, fosfato monoamônio e nitrato de potássio, divididos em oito aplicações, durante o período de crescimento. Os experimentos foram realizados de agosto a dezembro durante duas estações de crescimento consecutivas (2021–2022). As médias e os erros padrão em cada figura são apresentados ao longo de 2 anos (2021–2022).

## 2.2. Determinação de características agronômicas

Nove plantas de arroz de cada tratamento foram colhidas na maturidade, ou seja, 131 dias após o plantio. Na colheita, a altura da planta de arroz foi medida de acordo com Teixeira et al. (2021), e nove plantas de arroz de cada tratamento separadas em folhas, colmos, raízes e partes reprodutivas. O número de folhas das plantas foi registrado e a área foliar total foi medida com um Medidor de Área Foliar LI-3100 (LI-COR, Lincoln, NE, EUA). As folhas, colmos e raízes foram secos em estufa a 55 °C até massa constante para determinar a massa seca. As panículas de nove plantas de cada tratamento foram contadas para medir o número de panículas por planta. Em seguida, as panículas foram debulhadas manualmente e os grãos foram secos em estufa a 55 °C para determinar o número de grãos por planta, a massa de grãos por planta e a porcentagem de grãos cheios. A massa média de grãos individuais (mg) foi determinada pela divisão do rendimento de sementes por planta pelo número de sementes. O índice de colheita foi calculado como a razão entre o rendimento de grãos e a massa da planta.

### 2.3. Parâmetros fotossintéticos e medidas de pigmentos

As medidas fotossintéticas foram feitas nas folhas bandeira de nove plantas diferentes de cada tratamento aos 90 dias de idade (estágio de emissão de panículas), das 9:00 às 11:30 h, usando um analisador de gases infravermelho de sistema de troca gasosa de fluxo aberto modelo LI-6400XT (LI-COR, Lincoln, NE, EUA). A assimilação líquida de CO<sub>2</sub> ( $A$ ), a condutância estomática ao vapor de água ( $g_s$ ) e a concentração interna de CO<sub>2</sub> ( $C_i$ ) foram medidas conforme descrito por Santos et al. (2020), sob radiação fotossinteticamente ativa (PAR) de 700  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . A taxa relativa de transporte de elétrons ( $ETR$ ), o produto do rendimento fotoquímico efetivo de PSII e da densidade de fluxo de fótons fotossintéticos, também foi medida. A intensidade de PAR corresponde à radiação fotossinteticamente ativa média *in situ* no nível da folha. Durante as medições, as condições dentro da câmara foliar foram 1,0 KPa VPD e 25°C de temperatura do ar, o que representou a média das condições de crescimento. A concentração de referência de CO<sub>2</sub> foi definida em 410  $\mu\text{mol CO}_2 \text{mol}^{-1}$  de ar e 700  $\mu\text{mol CO}_2 \text{mol}^{-1}$  de ar (injetado de um cartucho), dependendo do tratamento.

Pigmentos fotossintéticos (clorofilas e carotenoides) foram extraídos de discos de folhas bandeira usando 80% (v/v) de acetona e quantificados conforme descrito anteriormente (Lichtenthaler e Buschmann, 2001).

#### 2.4. Análise mineral

Grãos, folhas bandeira e raízes foram secos em estufa a 55 °C até massa constante. Em seguida, sete amostras por repetição contendo duzentos grãos descascados por amostra e quatro amostras por repetição de raízes e folhas bandeira foram moídas em um pó fino usando um pilão e almofariz, selados em sacos plásticos e armazenados em um dessecador até a análise. As medições de P, K, Ca, Mg, S, Zn, Fe, Mn e Cu foram realizadas de acordo com Wheal et al. (2011). Em resumo, as amostras foram digeridas e, em seguida, as digestões foram analisadas por espectrometria de emissão óptica de plasma indutivamente acoplada (ICP-OES, PerkinElmer, Shelton, CT). Os limites de detecção para os minerais nas análises foram de 2,05–5,89  $\mu\text{g kg}^{-1}$  de extrato. A concentração total de nitrogênio foi realizada pelo método Kjeldahl, que fornece limites de detecção de até 0,1  $\text{mg L}^{-1}$ . O método detalhado para medição de Se e boro foi descrito anteriormente por El Mehdawi et al. (2018) e Malekani e Cresser (1998), respectivamente. Uma amostra de material de referência padrão para material vegetal foi incluída em cada lote de digestão para controle de qualidade, juntamente com uma amostra em branco.

#### 2.5. Análise da expressão gênica

O RNA total foi isolado de folhas bandeira e raízes de plantas no estágio de emissão de panículas usando o kit de extração Plant RNeasy (Qiagen). Em seguida, o cDNA foi sintetizado a partir de 500ng de RNA tratado com DNaseI usando o procedimento fornecido pelo fabricante da transcriptase reversa SuperScript III (Invitrogen). A RT-PCR quantitativa foi realizada com a mistura principal SYBR Green I em um sistema de detecção de PCR em tempo real Step One Plus™. Os pares de primers usados para determinar a expressão de *OsPT2*, *OsNIP2.1*, *OsNRT1.1B*, *OsSULTR1;2*, *OsZIP4*, *OsZIP6*, *OsIRT1* e *OsHAK5* foram selecionados de publicações (Yang et al., 2014; Teixeira et al., 2021; Ji et al., 2022; Wu et al., 2022). As sequências de primers estão disponíveis em Tabela S1. Os níveis de expressão

foram normalizados com base nos genes *Ubiquitina* (Os03g13170) e *Actina* (Os03g50885) e seus valores relativos foram calculados em relação às plantas não tratadas com Se cultivadas sob aCO<sub>2</sub>.

## 2.6. Determinação de proteína e aminoácidos em grãos

As concentrações de metabólitos foram quantificadas nas mesmas amostras usadas para análise mineral. As quatro frações de proteína de armazenamento de grãos de arroz, globulina, glutelina, prolamina e albumina foram extraídas e quantificadas em 250mg de pó de arroz seco por meio do ensaio descrito em Kumamaru et al. (1988). A proteína total do grão de arroz foi a soma das concentrações de globulina, glutelina, prolamina e albumina. As medições de açúcar solúvel e amido foram realizadas em 100mg de pó de grão seco, conforme descrito anteriormente por Jung et al. (2015). O aminoácido total foi quantificado de acordo com Malheiros et al. (2019).

## 2.7. Estatísticas

Para todos os conjuntos de dados, a normalidade foi testada usando o teste de Shapiro-Wilk e a homogeneidade usando o teste de Bartlett para a igualdade de variâncias. O procedimento ANOVA bidirecional foi conduzido usando o software R em um nível de significância  $\alpha = 0,05$  para avaliar os efeitos do selênio e do CO<sub>2</sub>, e sua interação. As comparações entre os tratamentos foram realizadas aplicando um teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

# 3. RESULTADOS

## 3.1. Crescimento e rendimento de grãos de arroz em resposta ao Se e eCO<sub>2</sub>

Para investigar os impactos da fertilização com Se no crescimento e na produtividade da cultura de arroz em resposta ao aumento das condições de CO<sub>2</sub>, as plantas foram fertilizadas com Se e cultivadas sob aCO<sub>2</sub> e eCO<sub>2</sub> (Figura 1a). Comparado com aCO<sub>2</sub>, a taxa de assimilação líquida de CO<sub>2</sub> ( $A$ ) e a concentração interna de CO<sub>2</sub> ( $C_i$ ) aumentaram significativamente ( $P < 0,05$ ) em plantas de arroz sob

eCO<sub>2</sub> independentemente dos tratamentos com Se (Figura 1b e c). Não foram encontradas diferenças entre os tratamentos com Se e CO<sub>2</sub> na condutância estomática ( $g_s$ ) das plantas de arroz (Figura 1d). A taxa de transporte de elétrons (ETR) aumentou significativamente em 22% no arroz cultivado sob alto teor de CO<sub>2</sub> em comparação com aqueles cultivados sob aCO<sub>2</sub>, sem interação com o tratamento com Se (Figura 1e). Além disso, as concentrações de clorofilas e carotenoides nas folhas bandeira foram maiores ( $P < 0,05$ ) sob eCO<sub>2</sub> em relação a aCO<sub>2</sub>, independentemente do tratamento com Se (Figura 1f e g).

O efeito do tratamento com Se não foi significativo para alterar a produtividade do arroz (Figura 2a–f). No geral, o eCO<sub>2</sub> aumentou o rendimento de grãos, o número de panículas, o número de grãos, a porcentagem de grãos preenchidos, a massa individual de grãos e o índice de colheita em comparação com o aCO<sub>2</sub>, independentemente da fertilização com Se (Figura 2a–f). As plantas cultivadas sob eCO<sub>2</sub> apresentaram um aumento significativo na massa seca da raiz, colmo e folhas em comparação com as plantas sob aCO<sub>2</sub>, independentemente da fertilização com Se (Figura 2g–i). A condição eCO<sub>2</sub> também levou a um aumento significativo na altura da planta e na área foliar, independentemente do tratamento com Se (Figura 2j e k). O número de folhas não diferiu entre os tratamentos (Figura 2e).

### 3.2. Acúmulo de transcrição dos genes transportadores de minerais em resposta ao Se e eCO<sub>2</sub>

A fertilização com Se aumentou significativamente os níveis de transcrições dos genes transportadores de sulfato (*OsSULTR1;2*), Pi (*OsPT2*) e silício (*OsNIP2;1*) nas raízes e folhas bandeira dentro de cada condição de CO<sub>2</sub> (Figura 3a–c). Houve uma interação significativa de Se × CO<sub>2</sub> para a expressão do gene transportador de nitrato *NRT1.1B* (Figura 3d), que também desempenha um papel no transporte de Se dentro dos tecidos do arroz (Zhang et al., 2019a, b). Em plantas não tratadas com Se, a abundância do transcrito *NRT1.1B* diminuiu significativamente nas folhas e raízes da bandeira sob eCO<sub>2</sub> em relação ao aCO<sub>2</sub> (Figura 3d). Em contraste, *NRT1.1B* foi regulado positivamente sob eCO<sub>2</sub> nas folhas bandeira e raízes de plantas tratadas com Se em comparação com as não tratadas. Além disso, o tratamento com Se aumentou significativamente a expressão de *NRT1.1B* em folhas bandeira sob eCO<sub>2</sub> em comparação com aCO<sub>2</sub> (Figura 3d).

Dada a evidência de que a exposição das plantas ao eCO<sub>2</sub> frequentemente resulta em menores concentrações de minerais como Zn, Fe e K nos tecidos foliares e comestíveis (Loladze, 2014), os níveis de transcrição de genes que codificam proteínas envolvidas na absorção e transporte desses minerais em raízes e folhas bandeira de arroz tratado com Se e aumento da concentração de CO<sub>2</sub> foram determinados por PCR quantitativo em tempo real. Os genes transportadores de Zn, incluindo *OsZIP4* e *OsZIP6*, foram regulados negativamente em folhas bandeira e raízes sob alto CO<sub>2</sub> em relação ao aCO<sub>2</sub> em plantas não tratadas com Se, mas não em plantas tratadas com Se, mostrando uma interação significativa do Se × CO<sub>2</sub> (Figura 3e e f). Os níveis de transcrição de *OsZIP4* e *OsZIP6* aumentaram significativamente nas raízes de arroz tratadas com Se sob eCO<sub>2</sub> em relação a aCO<sub>2</sub>. Sob eCO<sub>2</sub>, houve um aumento significativo no acúmulo de transcrição dos genes *OsZIP4* e *OsZIP6* nas folhas bandeira e raízes do arroz tratado com Se em comparação com os não tratados (Figura 3e e f). Não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos na expressão do gene *OsIRT1* nas folhas bandeira (Figura 3g). Em contraste, a expressão do gene transportador de Fe(II) *OsIRT1* foi significativamente aumentada nas raízes de arroz fertilizadas com Se em ambos tratamentos com CO<sub>2</sub> (Figura 3g). O gene transportador de K *OsHAK5* foi regulado positivamente em folhas bandeira de arroz fertilizadas com Se sob eCO<sub>2</sub>, mas não sob aCO<sub>2</sub>, revelando uma interação Se × CO<sub>2</sub> significativa (Figura 3h). A expressão do gene *OsHAK5* foi significativamente diminuída nas raízes de plantas de arroz sob eCO<sub>2</sub> em comparação com aCO<sub>2</sub> em plantas tratadas com Se e não tratadas. Houve também uma ligeira tendência ascendente para a expressão do gene *OsHAK5* nas raízes de arroz tratado com Se em comparação com as não tratadas dentro de cada condição de CO<sub>2</sub>.

### 3.3. Alterações nas concentrações de minerais nos grãos em resposta ao Se e eCO<sub>2</sub>

Para fornecer informações sobre o efeito da fertilização com Se no acúmulo de minerais em grãos de plantas de arroz sob concentração aumentada de CO<sub>2</sub> atmosférico, foi medido as concentrações de minerais em grãos de arroz fertilizado com Se sob condições de aCO<sub>2</sub> e eCO<sub>2</sub>. Houve uma interação entre Se × CO<sub>2</sub> significativa para concentrações de N, P, K, Fe, Zn e S nos grãos (Figura 4a–f). Os

dados também mostraram uma redução significativa na concentração de N (18,8%), P (15,8%), K (18,7%), Fe (20,8%), Zn (19,9%) e S (24,2%) em grãos de plantas não tratadas com Se sob eCO<sub>2</sub> em relação a aCO<sub>2</sub> (Figura 4a–f). Sob aCO<sub>2</sub>, a concentração de N nos grãos foi ligeiramente menor nas plantas tratadas com Se em comparação com as não tratadas (Figura 4a). Em contraste, os grãos das plantas tratadas com Se cultivadas sob eCO<sub>2</sub> apresentaram um aumento significativo nas concentrações de N e P em relação ao aCO<sub>2</sub> (Figura 4a-b). Sob alta concentração de CO<sub>2</sub>, os níveis de N, P, K e Fe aumentaram significativamente nos grãos das plantas tratadas com Se, quando comparados com as plantas não tratadas com Se (Figura 4a–d). A fertilização com selênio aumentou significativamente as concentrações de S, Ca e Cu nos grãos, quando comparados com grãos que se desenvolveram sem fertilização com Se em ambas as condições de CO<sub>2</sub> (Figura 4f–h). A concentração de Mg nos grãos aumentou com a fertilização com Se em eCO<sub>2</sub>, mas não em aCO<sub>2</sub>, mostrando uma interação significativa entre as condições de Se e CO<sub>2</sub> (Figura 4i). Não foram encontradas diferenças na concentração de Mn nos grãos entre os tratamentos (Figura 4j). O tratamento com Se aumentou significativamente a concentração de B no grão em cada condição de CO<sub>2</sub> (Figura 4k). Além disso, o eCO<sub>2</sub> aumentou a concentração de B nos grãos em comparação com o aCO<sub>2</sub> em plantas tratadas com Se e não tratadas. Os resultados também mostraram um aumento significativo na concentração de Se nos grãos em plantas tratadas com Se dentro de cada condição de CO<sub>2</sub> (Figura 4e).

### 3.4. Concentrações de proteína e aminoácidos em grãos

Também foi investigado os efeitos das condições de Se e CO<sub>2</sub> no acúmulo de proteínas de armazenamento e aminoácidos em grãos. A concentração de albumina nos grãos aumentou significativamente com a fertilização com Se em eCO<sub>2</sub>, mas não em aCO<sub>2</sub>, mostrando uma interação significativa entre as condições de Se e CO<sub>2</sub> (Figura 5a). O tratamento com selênio aumentou as concentrações de globulina e prolamina nos grãos dentro de cada condição de CO<sub>2</sub> (Figura 5b e c). A concentração de glutelina foi 14,2% maior sob eCO<sub>2</sub> em grãos de plantas tratadas com Se em comparação com as não tratadas (Figura 5d). Comparado com aCO<sub>2</sub>, a concentração de glutelina no grão aumentou significativamente em 27,8% nas plantas tratadas com Se sob eCO<sub>2</sub>. As plantas de arroz fertilizadas com Se apresentaram maior

concentração de proteína total (7,6% em aCO<sub>2</sub>; 27,3% em eCO<sub>2</sub>) quando comparadas às plantas não tratadas com Se (Figura 5e). Houve um aumento significativo na concentração total de proteína em grãos de plantas tratadas com Se sob eCO<sub>2</sub> em relação ao aCO<sub>2</sub>. Comparado com aCO<sub>2</sub>, a concentração total de aminoácidos no grão de arroz aumentou significativamente nas condições de eCO<sub>2</sub> em plantas tratadas com Se (Figura 5f). Sob eCO<sub>2</sub>, os aminoácidos totais dos grãos aumentaram significativamente nas plantas tratadas com Se em comparação com as não tratadas. Açúcares e amido nos grãos de arroz não foram afetados pelos tratamentos (Figura S1).

#### 4. DISCUSSÃO

No arroz, o eCO<sub>2</sub> geralmente aumenta o crescimento e desenvolvimento (Sakai et al., 2019), enquanto o efeito do Se é menos consistente (Teixeira et al., 2021). Neste estudo, o efeito do eCO<sub>2</sub> no desenvolvimento vegetativo e reprodutivo do arroz ocorreu de forma independente da fertilização com Se. No entanto, a redução de N, P, K, Fe, Zn e S nos grãos de arroz induzida pelo crescimento sob eCO<sub>2</sub> foi atenuada pela fertilização com Se. Esses resultados indicam que a diminuição relatada nas concentrações de minerais em grãos sob eCO<sub>2</sub> (Loladze, 2002, 2014; Zhu et al., 2018) pode ser mitigada pela fertilização com Se. Esse ganho quantitativo nas concentrações de minerais nos grãos foi, pelo menos parcialmente, devido ao aumento da expressão de genes relacionados ao transporte de íons, uma vez que as plantas tratadas com Se sob eCO<sub>2</sub> mantiveram uma alta expressão desses genes nas raízes e folhas bandeira. Além disso, verificou-se que a concentração total de proteínas de reserva nos grãos de arroz apresentou uma resposta dependente do Se, com essa resposta sendo modulada pelas condições de CO<sub>2</sub>.

##### 4.1. Efeitos do Se no desenvolvimento do arroz em resposta ao eCO<sub>2</sub>

Há evidências de que a fertilização com Se aumenta a fotossíntese e o acúmulo de biomassa em plantas de arroz cultivadas sob aCO<sub>2</sub> (Luo et al., 2019). No presente experimento com enriquecimento de CO<sub>2</sub> atmosférico, o crescimento do arroz, o rendimento e o desempenho fotossintético foram determinados pela concentração de CO<sub>2</sub>, sem influência significativa da fertilização com Se (Figuras 1 e

2). A atividade da ribulose-1,5-bisfosfato carboxilase/oxigenase (RuBisCO) pode ser reduzida devido ao acúmulo de fotossintatos nas folhas de arroz sob condições de eCO<sub>2</sub> (Chen et al., 2005). Sob eCO<sub>2</sub>, a renovação diurna do amido nas folhas aumentou em comparação com aCO<sub>2</sub>, independentemente do tratamento com Se (Figura S2), indicando maior investimento imediato de carbono no crescimento do arroz. Não foram observadas alterações na área foliar específica entre eCO<sub>2</sub> e aCO<sub>2</sub>, corroborando a correlação negativa entre área foliar específica e taxa fotossintética (Meziane e Shipley, 2001) (Figura S3). Os maiores rendimentos de grãos sob condições de eCO<sub>2</sub> foram atribuídos a um aumento na área foliar e na taxa fotossintética, bem como a uma melhor partição de carbono para os grãos de arroz. No entanto, é importante notar que o aumento do rendimento do arroz em resposta ao eCO<sub>2</sub> causa reduções nas concentrações de nutrientes dos grãos que podem ser compensadas com fertilização com Se (Figuras 4, 5 e 6). De fato, foi relatado que o enriquecimento atmosférico de eCO<sub>2</sub> aumenta a produtividade do arroz, mas simultaneamente reduz os nutrientes minerais para os humanos, como Fe e Zn no grão, pois as plantas acumulam mais carboidratos em relação ao conteúdo mineral (Chaturvedi et al., 2017). A fertilização com Se mitigou essas reduções, promovendo a manutenção das concentrações de Fe, Zn, P, S, K e N nos grãos sob eCO<sub>2</sub>. Esses resultados indicam que a fertilização com Se é um fator importante na determinação da composição mineral de grãos de plantas de arroz cultivadas sob eCO<sub>2</sub>. Os aumentos na transcrição de genes de captação e transporte de íons em resposta ao Se podem desempenhar um papel fundamental na mitigação de alto CO<sub>2</sub> na mudança da composição mineral em grãos de arroz (Figura 3).

A concentração de minerais nos grãos representa o equilíbrio entre a absorção pelas raízes, a translocação e a redistribuição das folhas bandeira e superiores para os grãos (Wang et al., 2018). Muitas dessas etapas podem ser impactadas por Se e eCO<sub>2</sub>, uma vez que muitos genes com papéis na divisão celular, expansão celular, metabolismo de carbono, absorção e transporte de minerais apresentaram uma mudança significativa na expressão em plantas cultivadas sob fertilização com Se ou condição de eCO<sub>2</sub> (Ainsworth et al., 2006; Malheiros et al., 2019; Teixeira et al., 2021). No presente estudo revelou que o tratamento com Se aumentou a expressão dos genes transportadores de Zn (*OsZIP4* e *OsZIP6*), Pi (*OsPT2*), sulfato (*OsSULTR1;2*) e nitrato (*OsNRT1.1B*) em raízes e folhas bandeira sob eCO<sub>2</sub> (Figura 3). A expressão do gene transportador de Fe

(II) *OsIRT1* nas raízes também foi dependente da fertilização com Se (Figura 3). Esses resultados sugerem que o Se aumenta a eficiência na translocação de Zn, P, S, N e Fe para os grãos em plantas cultivadas sob eCO<sub>2</sub>. O aumento na expressão de genes associados ao transporte desses nutrientes pode explicar, em parte, como o tratamento com Se mitigou os efeitos negativos do eCO<sub>2</sub> no acúmulo de Fe, Zn, P, S e N tanto nas folhas bandeira quanto nos grãos (Figuras 4 e S4). Curiosamente, o tratamento com Se em eCO<sub>2</sub> resultou em uma ativação da expressão de *OsHAK5* em folhas bandeira (Figura 3). Como K tem efeitos positivos no transporte do floema (Dreyer et al., 2017) e os padrões de acumulação de K nas folhas bandeira refletem os grãos (Figura 4 e S4), parece possível que o Se também aumente o transporte de K para os grãos.

Foi documentado que o eCO<sub>2</sub> pode reduzir as concentrações de Se nos grãos de arroz (Ujii et al., 2019). Curiosamente, o Se acumulou-se nas folhas e raízes das plantas fertilizadas com Se, tanto em aCO<sub>2</sub> como em eCO<sub>2</sub> (Figuras S4 e S5), sugerindo que a condição de CO<sub>2</sub> não afetou a absorção e distribuição de Se dentro da planta de arroz. De fato, a expressão aumentada de *OsNIP2*, *OsPT2* e *OsSULTR1;2* em raízes e folhas bandeira de arroz fertilizado com Se cultivado em aCO<sub>2</sub> ou eCO<sub>2</sub> foi associada ao acúmulo de Se em grãos, folhas bandeira e raízes (Figuras 3 e 4, S4 e S5). Isso é semelhante a um estudo inicial, no qual níveis aumentados de transcrição de *OsPT2*, *OsSULTR1;2* e *OsNIP2* em plantas fertilizadas com Se foram associados a uma melhora na absorção e redistribuição de Se dentro dos tecidos do arroz sob aCO<sub>2</sub> (Teixeira et al., 2021). A fertilização com Se em plantas de arroz demonstrou ser uma estratégia eficiente para a biofortificação de grãos com Se, o que aumenta o valor nutricional dos grãos (Zhang et al., 2019a,b; Lessa et al., 2020). Esses resultados, em conjunto, indicam que a fertilização com Se promove aumentos na concentração de Se nos tecidos do arroz, independentemente das condições de CO<sub>2</sub>.

#### 4.2. Relação entre massa de grãos e concentrações de minerais em grãos

A massa dos grãos de arroz é determinada principalmente pelo tamanho dos grãos, controlado predominantemente por fatores genéticos, e pelo grau de enchimento dos grãos, que está relacionado à disponibilidade de fotoassimilados nos tecidos de origem e ao transporte subsequente para os grãos (Zuo e Li, 2014). A

cultivar 'Oochikara', utilizada neste estudo, é conhecida por seus grãos de grande tamanho, com peso médio variando de 36 a 50 mg por grão (Miura e Kobâyashi, 1991; Choi et al., 2018; Makino et al., 2020). Os resultados indicam que o aumento na biomassa dos grãos em plantas de arroz cultivadas sob eCO<sub>2</sub> pode estar associado a um incremento na rotatividade de amido. Houve uma diminuição acentuada na concentração de amido foliar no final da noite no arroz sob eCO<sub>2</sub> em relação ao aCO<sub>2</sub>, ou seja, mais fotossintato está sendo usado produtivamente sob condições de eCO<sub>2</sub> (Figura S2). A rotatividade diária de amido também foi maior em plantas de arroz cultivadas sob eCO<sub>2</sub> em relação a aCO<sub>2</sub>, ou seja, a partição de carbono foi aumentada para garantir que o ganho fotossintético possa ser traduzido em benefícios de crescimento. A maior biomassa de grãos das plantas tratadas com eCO<sub>2</sub> foi sustentada pelo aumento da área foliar, fotossíntese da folha bandeira e rotatividade diária de amido, o que resultou em maior translocação de carbono e partição para os grãos de arroz (Figuras 1 e 2, S2). No estudo atual, o número de grãos, bem como a biomassa dos grãos, aumentaram sob condições de eCO<sub>2</sub> independentemente do tratamento com Se (Figura 2), que é frequentemente associada a uma redução nas concentrações de minerais nos grãos pelo aumento da produção de grãos (Pleijel e Danielsson, 2009; Köhler et al., 2019). No entanto, o tratamento com Se neutralizou a diminuição nas concentrações de minerais nos grãos causada pela eCO<sub>2</sub> em comparação com a condição aCO<sub>2</sub> (Figura 4). Evidências sugerem que o acúmulo de minerais nos tecidos vegetais pode ser aumentado pelo Se através do aumento da expressão de genes associados ao transporte de minerais (Teixeira et al., 2021; Ikram et al., 2024). Curiosamente, a fertilização com Se associada ao eCO<sub>2</sub> aumentou a absorção de macronutrientes e micronutrientes pelas raízes, quando comparada com plantas não tratadas com Se sob eCO<sub>2</sub> (Figura 6). Esta resposta pode estar, pelo menos parcialmente, sob o controle de mudanças na transcrição de genes relacionados ao transporte de íons em raízes e folhas sob fertilização com Se (Figura 3). A magnitude desse efeito pode depender da disponibilidade de carbono, uma vez que o eCO<sub>2</sub> aumenta a assimilação de carbono e transcritos com funções celulares (Ainsworth et al., 2006). Mais estudos são necessários para descobrir os mecanismos que permitem que a fertilização com Se melhore o acúmulo de minerais no grão de arroz, particularmente em ambientes ricos em CO<sub>2</sub>.

Foi encontrada uma correlação negativa entre as concentrações de minerais nos grãos e a massa individual dos grãos quando aCO<sub>2</sub> e eCO<sub>2</sub> foram combinados,

sugerindo que as mudanças na massa dos grãos em resposta ao eCO<sub>2</sub> contribuem para diminuir as concentrações de macronutrientes e micronutrientes no arroz (Figura 6). Isso se assemelha a estudos anteriores com plantas de arroz, nos quais o enriquecimento de CO<sub>2</sub> diminuiu os níveis de nutrientes nos grãos (Loladze, 2014; Ujji et al., 2019). Considerando o impacto negativo do eCO<sub>2</sub> nas concentrações de macronutrientes e micronutrientes nos grãos, devido ao aumento do tamanho do dreno, seria necessária uma suplementação agronômica intensiva para garantir concentrações adequadas de minerais em futuros cenários com níveis elevados de CO<sub>2</sub>. Entretanto, um padrão distinto foi observado em plantas de arroz tratadas com Se, onde houve uma correlação positiva entre as concentrações de minerais nos grãos e a massa individual dos grãos sob condições de CO<sub>2</sub> no tratamento com Se (Figura 6). A redução nas concentrações de minerais nas folhas bandeira observada em plantas não tratadas com Se sob eCO<sub>2</sub>, em comparação com aquelas cultivadas em aCO<sub>2</sub>, não foi constatada em plantas tratadas com Se (Figura 6). Isso sugere que a fertilização com Se pode compensar as reduções nas concentrações de minerais nos grãos de arroz associadas ao aumento da massa do grão sob eCO<sub>2</sub>. O Se parece regular o transporte e a partição de minerais sob eCO<sub>2</sub>, conectando a expressão aumentada de genes relacionados ao transporte de íons com a disponibilidade de minerais nos grãos (Figuras 4 e 6). A ausência observada de um efeito de diluição nos níveis de macronutrientes e micronutrientes em grãos de arroz de plantas tratadas com Se sugere que a fertilização com Se pode gerar um benefício em termos de segurança alimentar ao manter as concentrações de minerais nutricionalmente importantes em grãos de arroz sob condições de eCO<sub>2</sub>.

#### 4.3. A fertilização com Se altera o acúmulo de proteína nos grãos de arroz em resposta ao eCO<sub>2</sub>

Os grãos de arroz são uma fonte de proteínas e aminoácidos importantes para a população humana (Amagliani et al., 2017). Entretanto, estudos anteriores fornecem informações de que o eCO<sub>2</sub> diminuiu as concentrações de proteínas e aminoácidos nos grãos de arroz, o que pode estar relacionado à redução da concentração de nitrogênio nos grãos (Ashish et al., 2017; Hu et al., 2022). No presente estudo, as concentrações de aminoácidos totais, albumina e glutelina nos grãos aumentaram sob fertilização com Se em eCO<sub>2</sub>, mas não em aCO<sub>2</sub>, devido às interações Se × CO<sub>2</sub>

(Figura 5). A concentração total de proteína também apresentou uma interação significativa de Se  $\times$  CO<sub>2</sub> (Figura 5). Houve uma resposta dependente de Se ao aumento do conteúdo de aminoácidos, albumina, glutelina e proteína total no grão de arroz, que foi modificado pelo tratamento com CO<sub>2</sub>. No arroz, a glutelina representa a principal fração proteica (Jayaprakash et al., 2022), a observação de que o Se aumentou a concentração de glutelina nos grãos sob condições de eCO<sub>2</sub> aponta para o envolvimento do Se na regulação do acúmulo de proteína sob futuras concentrações de CO<sub>2</sub>.

O aumento da massa do grão sob eCO<sub>2</sub> reduziu a concentração de proteína do grão, de modo que houve uma correlação linear negativa significativa entre a concentração total de proteína do grão e a massa individual do grão em resposta ao eCO<sub>2</sub> (Figura 6). De acordo com esta observação, a expressão do gene *OsNRT1.1B* e as concentrações de N diminuíram nas folhas bandeira sob eCO<sub>2</sub> em comparação com aCO<sub>2</sub> em plantas não tratadas com Se (Figuras 3 e S4). Isso se assemelha a um estudo anterior com plantas de arroz, no qual a alta concentração atmosférica de CO<sub>2</sub> foi associada a uma diminuição da expressão do gene *OsNRT1.1B* nas folhas de plantas fertilizadas com N (Zhou et al., 2021). No entanto, as folhas bandeira das plantas tratadas com Se cultivadas sob eCO<sub>2</sub> apresentaram aumento na concentração de N e na expressão do gene transportador de nitrato *OsNRT1.1B* em comparação com as plantas não tratadas com Se (Figuras 3 e S4). É provável que isso leve a maiores teores de N, aminoácidos e proteína em grãos de plantas tratadas com Se em comparação com aquelas não tratadas sob eCO<sub>2</sub>. A preponderância de correlação positiva entre massa de grãos e concentração de proteína, que foi observada especificamente em plantas tratadas com Se, é consistente com a ideia de que o Se altera o metabolismo do nitrogênio (Figura 6). Juntos, esses achados indicam que a prática da fertilização com Se pode contribuir para a mitigação das mudanças climáticas, uma vez que permite a manutenção da qualidade nutricional do grão de arroz em resposta às condições de eCO<sub>2</sub>.

## 5. CONCLUSÕES

A combinação de Se com eCO<sub>2</sub> promove ganhos quantitativos na fotossíntese, biomassa e rendimento de grãos de plantas de arroz semelhante ao tratamento com eCO<sub>2</sub> (Figura S7). O aumento de A por eCO<sub>2</sub> ocorre sem efeito

em  $g_s$  e sem sinal de aclimatação da capacidade fotossintética do arroz. No geral, os resultados indicam que a redução nos níveis de macronutrientes e micronutrientes sob  $eCO_2$  não se manifesta em grãos de arroz fertilizados com Se, efeito que pode ser atribuído ao aumento da expressão de genes associados ao transporte de nutrientes em raízes e folhas bandeira (Figura S7). Além disso, o Se regula positivamente o acúmulo total de proteína no grão de arroz sob  $eCO_2$  em comparação com  $aCO_2$ , indicando que a fertilização com Se é uma opção adequada para preservar as concentrações de proteína em um futuro com aumento da concentração de  $CO_2$  atmosférico (Figura S7). Notavelmente, o aumento nas concentrações de Se nas raízes, folhas bandeira e grãos, resultante da fertilização com Se, ocorre independente das condições de  $CO_2$ , indicando que o  $eCO_2$  não altera o equilíbrio entre a absorção de Se pelas raízes, o seu transporte e a eficiência no uso. Estudos adicionais são necessários para avaliar a aplicabilidade dessas descobertas em outras cultivares de arroz.

## REFERÊNCIAS

- AINSWORTH, E. A. Rice production in a changing climate: a meta-analysis of responses to elevated carbon dioxide and elevated ozone concentration. **Global Change Biology**, v. 14, p. 1642-1650, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2008.01594.x>.
- AINSWORTH, E. A.; ROGERS, A.; VODKIN, L. O.; WALTER, A.; SCHURR, U. The effects of elevated CO<sub>2</sub> concentration on soybean gene expression: an analysis of growing and mature leaves. **Plant Physiology**, v. 142, p. 135-147, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.106.086256>.
- AMAGLIANI, L.; O'REGAN, J.; KELLY, A. L.; O'MAHONY, J. A. Composition and protein profile analysis of rice protein ingredients. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 59, p. 18-26, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2016.12.026>.
- ASHISH, K.; RAJEEV, N.; KRISHNA, S. V. Elevated CO<sub>2</sub> and heat stress interactions affect grain yield, quality and mineral nutrient composition in rice under field conditions. **Field Crops Research**, v. 206, p. 149-157, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2017.02.018>.
- BLOOM, A. J.; BURGER, M.; RUBIO ASENSIO, J. S.; COUSINS, A. B. Carbon dioxide enrichment inhibits nitrate assimilation in wheat and Arabidopsis. **Science**, v. 328, p. 899-903, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.1186440>.
- BOLDRIN, P. F.; FAQUIN, V.; RAMOS, S. J.; BOLDRIN, K. V. F.; ÁVILA, F. W.; GUILHERME, L. R. G. Soil and foliar application of selenium in rice biofortification. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 31, p. 238-244, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2013.06.002>.
- BHARGAVA, S.; MITRA, S. Elevated atmospheric CO<sub>2</sub> and the future of crop plants. **Plant Breeding**, v. 00, p. 1-11, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1111/pbr.12871>.
- CHATURVEDI, A. K.; BAHUGUNA, R. N.; PAL, M.; SHAH, D.; MAURYA, S.; JAGADISH, K. S. Elevated CO<sub>2</sub> and heat stress interactions affect grain yield, quality and mineral nutrient composition in rice under field conditions. **Field Crops Research**, v. 206, p. 149-157, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2017.02.018>.
- CHEN, G. Y.; YONG, Z. H.; LIAO, Y.; ZHANG, D. Y.; CHEN, Y.; ZHANG, H. B.; CHEN, J.; ZHU, J. G.; XU, D. Q. Photosynthetic acclimation in rice leaves to free-air CO<sub>2</sub> enrichment related to both ribulose-1,5-bisphosphate carboxylation limitation and ribulose-1,5-bisphosphate regeneration limitation. **Plant Cell Physiology**, v. 46, p. 1036-1045, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1093/pcp/pci113>.
- CHOI, B. S.; KIM, Y. J.; MARKKANDAN, K.; KOO, Y. J.; SONG, J. T.; SEO, H. S. GW2 functions as an E3 ubiquitin ligase for rice expansin-like 1. **International**

**Journal of Molecular Sciences**, v. 19, p. 1904, 2018. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms19071904>.

DE BANG, T. C.; HUSTED, S.; LAURSEN, K. H.; PERSSON, D. P.; SCHJOERRING, J. K. The molecular-physiological functions of mineral macronutrients and their consequences for deficiency symptoms in plants. **New Phytologist**, v. 229, p. 2446–2469, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1111/NPH.17074>.

DREYER, I.; GOMEZ-PORRAS, J.L.; RIEDELSBERGER, J. The potassium battery: a mobile energy source for transport processes in plant vascular tissues. **New Phytologist**, v. 216, p. 1049–1053, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1111/nph.14667>.

EL MEHDAWI, A.F.; JIANG, Y.; GUIGNARDI, Z.S.; ESMAT, A.; PILON, M.; PILON-SMITS, E.A.H.; SCHIAVON, M. Influence of sulfate supply on selenium uptake dynamics and expression of sulfate/selenate transporters in selenium hyperaccumulator and non-hyperaccumulator Brassicaceae. **New Phytologist**, v. 217, p. 194–205, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1111/nph.14838>.

FAGERIA, N.K. Nutrient management for improving upland rice productivity and sustainability. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 32, p. 2603–2629, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1081/CSS-120000394>.

HU, S.; TONG, K.; WANG, C.; WANG, Y.; WANG, Y.; YANG, L. Response of rice grain quality to elevated atmospheric CO<sub>2</sub> concentration: a meta-analysis of 20-year FACE studies. **Field Crops Research**, v. 284, e108562, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2022.108562>.

IKRAM, S.; LI, Y.; LIN, C.; YI, D.; HENG, W.; LI, Q.; TAO, L.; HONGJUN, Y.; WEIJIE, J. Selenium in plants: a nexus of growth, antioxidants, and phytohormones. **Journal of Plant Physiology**, v. 296, p. 154237, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2024.154237>.

INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE (IPCC). Summary for policymakers. In: CLIMATE CHANGE 2021: the physical science basis. Contribution of Working Group I to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge: Cambridge University Press, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1017/9781009157896.001>.

JAYAPRAKASH, G.; BAINS, A.; CHAWLA, P.; FOGARASI, M.; FOGARASI, S. A narrative review on rice proteins: current scenario and food industrial application. **Polymers**, v. 14, e3003, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/polym14153003>.

JI, C.; LI, J.; JIANG, C.; ZHANG, L.; SHI, L.; XU, F.; CAI, H. Zinc and nitrogen synergistic act on root-to-shoot translocation and preferential distribution in rice. **Journal of Advanced Research**, v. 35, p. 187–198, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jare.2021.04.005>.

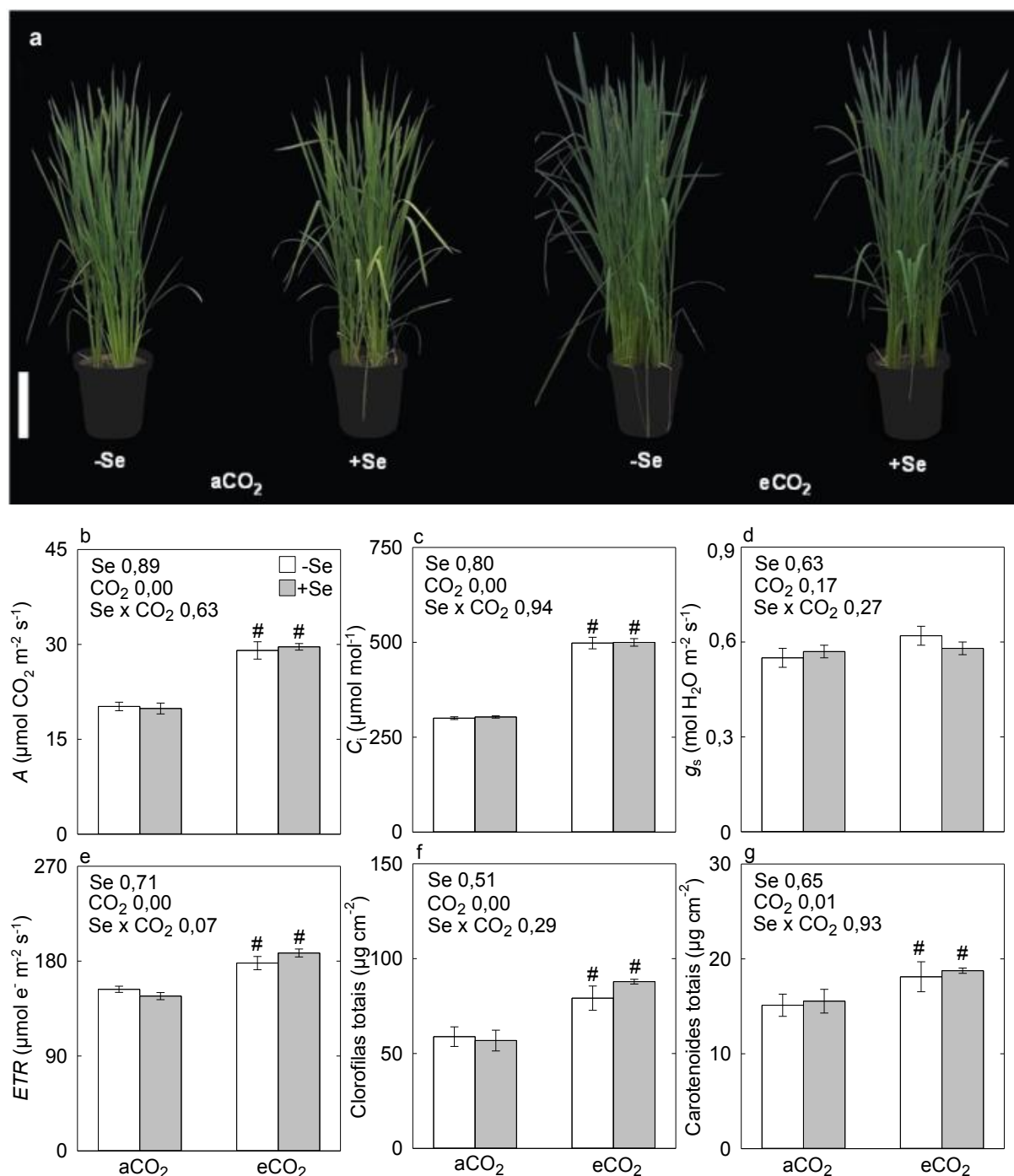
- JUNG, B.; LUDEWIG, F.; SCHULZ, A.; MEISSNER, G.; WÖSTEFELD, N.; FLÜGGE, U.I.; POMMERENIG, B.; WIRSCHING, P.; SAUER, N.; KOCH, W.; SOMMER, F.; MÜHLHAUS, T.; SCHRODA, M.; CUIN, T.A.; GRAUS, D.; MARTEN, I.; HEDRICH, R.; NEUHAUS, H.E. Identification of the transporter responsible for sucrose accumulation in sugar beet taproots. **Nature Plants**, v. 1, e14001, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1038/nplants.2014.1>.
- KÖHLER, I.H.; HUBER, S.C.; BERNACCHI, C.J.; BAXTER, I.R. Increased temperatures may safeguard the nutritional quality of crops under future elevated CO<sub>2</sub>. **The Plant Journal**, v. 97, p. 872–886, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1111/tpj.14166>.
- KUMAMARU, T.; SATOH, H.; IWATA, N.; OMURA, T.; OGAWA, M.; TANAKA, K. Mutants for rice storage proteins. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 76, p. 11–16, 1988. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00288825>.
- LEAKEY, A.D.B.; AINSWORTH, E.A.; BERNACCHI, C.J.; ROGERS, A.; LONG, S.P.; ORT, D.R. Elevated CO<sub>2</sub> effects on plant carbon, nitrogen, and water relations: six important lessons from FACE. **Journal of Experimental Botany**, v. 60, p. 2859–2876, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1093/jxb/erp096>.
- LESSA, J.H.L.; RAYMUNDO, J.F.; CORGUINHA, A.P.B.; MARTINS, F.A.D.; ARAUJO, A.M.; SANTIAGO, F.E.M.; CARVALHO, H.W.P.; GUILHERME, L.R.G.; LOPES, G. Strategies for applying selenium for biofortification of rice in tropical soils and their effect on element accumulation and distribution in grains. **Journal of Cereal Science**, v. 96, p. 103125, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2020.103125>.
- LICHTENTHALER, H.K.; BUSCHMANN, C. Extraction of photosynthetic tissues: chlorophylls and carotenoids. **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**, v. 1, p. F4.2.1–F4.2.6, 2001. DOI: <https://doi.org/10.1002/0471142913.faf0402s01>.
- LOLADZE, I. Rising atmospheric CO<sub>2</sub> and human nutrition: toward globally imbalanced plant stoichiometry? **Trends in Ecology and Evolution**, v. 17, p. 457–461, 2002. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(02\)02587-9](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(02)02587-9).
- LOLADZE, I. Hidden shift of the ionome of plants exposed to elevated CO<sub>2</sub> depletes minerals at the base of human nutrition. **Elife**, v. 3, e02245, 2014. DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.02245>.
- LUO, H.W.; HE, L.X.; DU, B.; WANG, Z.M.; ZHENG, A.X.; LAI, R.F.; TANG, X.R. Foliar application of selenium (Se) at heading stage induces regulation of photosynthesis, yield formation, and quality characteristics in fragrant rice. **Photosynthetica**, v. 57, p. 1007–1014, 2019. DOI: <https://doi.org/10.32615/ps.2019.114>.
- MADHU, M.; HATFIELD, J.L. Dynamics of plant root growth under increased atmospheric carbon dioxide. **Agronomy Journal**, v. 105, p. 657–669, 2013. DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.02245>.

- MAKINO, A.; KANETA, Y.; OBARA, M.; ISHIYAMA, K.; KANNO, K.; KONDO, E.; SUZUKI, Y.; MAE, T. High yielding ability of a large-grain rice cultivar, Akita 63. **Scientific Reports**, v. 10, e12231, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-69289-0>.
- MALEKANI, K.; CRESSER, M.S. Comparison of three methods for determining boron in soils, plants, and water samples. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, v. 29, p. 285–304, 1998. DOI: <https://doi.org/10.1080/00103629809369946>.
- MALHEIROS, R.S.P.; COSTA, L.C.; ÁVILA, R.T.; PIMENTA, T.M.; TEIXEIRA, L.S.; BRITO, F.A.L.; ZSÖGÖN, A.; ARAÚJO, W.L.; RIBEIRO, D.M. Selenium downregulates auxin and ethylene biosynthesis in rice seedlings to modify primary metabolism and root architecture. **Planta**, v. 250, p. 333–345, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00425-019-03175-6>.
- MEZIANE, D.; SHIPLEY, B. Direct and indirect relationships between specific leaf area, leaf nitrogen and leaf gas exchange: effects of irradiance and nutrient supply. **Annals of Botany**, v. 88, p. 915–927, 2001. DOI: <https://doi.org/10.1006/anbo.2001.1536>.
- MONTGOMERY, D.R.; BIKLÉ, A. Soil health and nutrient density: beyond organic vs. conventional farming. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, v. 5, e699147, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.699147>.
- MIURA, K.; KOBAYASHI, A.E. Oochikara: a rice cultivar in Japan with large-sized grains. **Japanese Agricultural Research Quarterly**, v. 25, p. 154–158, 1991.
- PIMENTA, T.M.; SOUZA, G.A.; BRITO, F.A.; TEIXEIRA, L.S.; ARRUDA, R.S.; HENSCHER, J.M.; RIBEIRO, D.M. The impact of elevated CO<sub>2</sub> concentration on fruit size, quality, and mineral nutrient composition in tomato varies with temperature regimen during growing season. **Plant Growth Regulation**, v. 100, p. 519–530, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10725-022-00889-8>.
- PLEIJEL, H.; DANIELSSON, H. Yield dilution of grain Zn in wheat grown in open-top chamber experiments with elevated CO<sub>2</sub> and O<sub>3</sub> exposure. **Journal of Cereal Science**, v. 50, p. 278–282, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2009.06.009>.
- SAKAI, H.; TOKIDA, T.; USUI, Y.; NAKAMURA, H.; HASEGAWA, T. Yield responses to elevated CO<sub>2</sub> concentration among Japanese rice cultivars released since 1882. **Plant Production Science**, v. 22, p. 352–366, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1080/1343943X.2019.1626255>.
- SANTOS, M. S.; SANGLARD, L. M. V. P.; BARBOSA, M. L.; NAMORATO, F. A.; DE MELO, D. C.; FRANCO, W. C. G.; PÉREZ-MOLINA, J. P.; MARTINS, S. C. V.; DAMATTA, F. M. Silicon nutrition mitigates the negative impacts of iron toxicity on rice photosynthesis and grain yield. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 189, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.110008>.

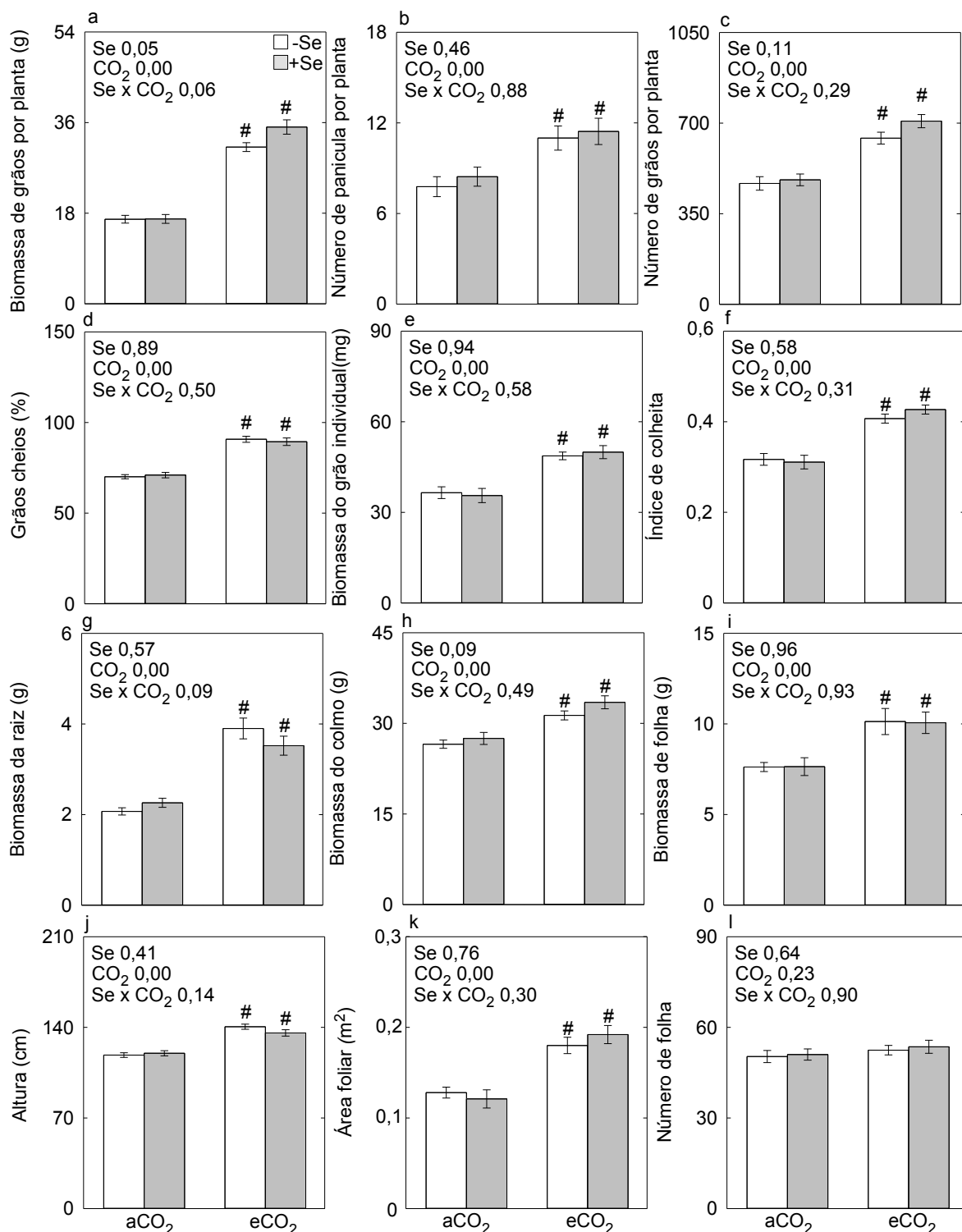
- SASAKI, H.; HARA, T.; ITO, S.; UEHARA, N.; KIM, H.Y.; LIEFFERING, M.; OKADA, M.; KOBAYASHI, K. Effect of free-air CO<sub>2</sub> enrichment on the storage of carbohydrate fixed at different stages in rice (*Oryza sativa* L.). **Field Crops Research**, v. 100, p. 24–31, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2006.05.003>.
- SEN, S.; CHAKRABORTY, R.; KALITA, P. Rice - not just a staple food: a comprehensive review on its phytochemicals and therapeutic potential. **Trends in Food Science and Technology**, v. 97, p. 265–285, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.01.022>.
- TEIXEIRA, L.S.; PIMENTA, T.M.; BRITO, F.A.L.; MALHEIROS, R.S.P.; ARRUDA, R.S.; ARAÚJO, W.L.; RIBEIRO, D.M. Selenium uptake and grain nutritional quality are affected by nitrogen fertilization in rice (*Oryza sativa* L.). **Plant Cell Reports**, v. 40, p. 871–880, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00299-021-02685-6>.
- THOMPSON, M.; GAMAGE, D.; HIROTSU, N.; MARTIN, A.; SENEWEERA, S. Effects of elevated carbon dioxide on photosynthesis and carbon partitioning: a perspective on root sugar sensing and hormonal crosstalk. **Frontiers in Physiology**, v. 8, e578, 2017. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00578>.
- UJIIE, K.; ISHIMARU, K.; HIROTSU, N.; NAGASAKA, S.; MIYAKOSHI, Y.; OTA, M.; TOKIDA, T.; SAKAI, H.; USUI, Y.; ONO, K.; KOBAYASHI, K.; NAKANO, H.; YOSHINAGA, S.; KASHIWAGI, T.; MAGOSHI, J. How elevated CO<sub>2</sub> affects our nutrition in rice, and how we can deal with it. **PLoS One**, v. 14, e0212840, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0212840>.
- WANG, Z.; ZHANG, F.; XIAO, F.; TAO, Y.; LIU, Z.; LI, G.; WANG, S.; DING, Y. Contribution of mineral nutrients from source to sink organs in rice under different nitrogen fertilization. **Plant Growth Regulation**, v. 86, p. 159–167, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10725-018-0418-0>.
- WHEAL, M.S.; FOWLES, T.O.; PALMER, L.T. A cost-effective acid digestion method using closed polypropylene tubes for inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES) analysis of plant essential elements. **Analytical Methods**, v. 3, p. 2854–2863, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1039/C1AY05430A>.
- WU, Q.; LIU, C.; WANG, Z.; GAO, T.; LIU, Y.; XIA, Y.; YIN, R.; QI, M. Zinc regulation of iron uptake and translocation in rice (*Oryza sativa* L.): implication from stable iron isotopes and transporter genes. *Environmental Pollution*, v. 15, e118818, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.118818>.
- YANG, L.; HUANG, J.; YANG, H.; ZHU, J.; LIU, H.; DONG, G.; LIU, G.; HAN, Y.; WANG, Y. The impact of free-air CO<sub>2</sub> enrichment (FACE) and N supply on yield formation of rice crops with large panicle. **Field Crops Research**, v. 98, p. 141–150, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2005.12.014>.

- YANG, T.; ZHANG, S.; HU, Y.; WU, F.; HU, Q.; CHEN, G.; CAI, J.; WU, T.; MORAN, N.; YU, L.; XU, G. The role of a potassium transporter OsHAK5 in potassium acquisition and transport from roots to shoots in rice at low potassium supply levels. **Plant Physiology**, v. 166, p. 945–959, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.114.246520>.
- ZHANG, G.; SAKAI, H.; TOKIDA, T.; USUI, Y.; ZHU, C.; NAKAMURA, H.; YOSHIMOTO, M.; FUKUOKA, M.; KOBAYASHI, K.; HASEGAWA, T. The effects of free-air CO<sub>2</sub> enrichment (FACE) on carbon and nitrogen accumulation in grains of rice (*Oryza sativa* L.). **Journal of Experimental Botany**, v. 64, p. 3179–3188, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1093/jxb/ert154>.
- ZHANG, G.; SAKAI, H.; USUI, Y.; TOKIDA, T.; NAKAMURA, H.; ZHU, C.; FUKUOKA, M.; KOBAYASHI, K.; HASEGAWA, T. Grain growth of different rice cultivars under elevated CO<sub>2</sub> concentrations affects yield and quality. **Field Crops Research**, v. 179, p. 72–80, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2015.04.006>.
- ZHANG, L.; HU, B.; DENG, K.; GAO, X.; SUN, G.; ZHANG, Z.; LI, P.; WANG, W.; LI, H.; ZHANG, Z.; FU, Z.; YANG, J.; GAO, S.; LI, L.; YU, F.; LI, Y.; LING, H.; CHU, C. NRT1.1B improves selenium concentrations in rice grains by facilitating selenomethionine translocation. **Plant Biotechnology Journal**, v. 17, p. 1058–1068, 2019a. DOI: <https://doi.org/10.1111/pbi.13037>.
- ZHANG, M.; XING, G.; TANG, S.; PANG, Y.; YI, Q.; HUANG, Q.; HUANG, X.; HUANG, J.; LI, P.; FU, H. Improving soil selenium availability as a strategy to promote selenium uptake by high-Se rice cultivar. **Environmental and Experimental Botany**, v. 163, p. 45–54, 2019b. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2019.04.008>.
- ZHANG, Z.; WU, Z. CO<sub>2</sub> enhances low-nitrogen adaptation by promoting amino acid metabolism in *Brassica napus*. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 201, p. 107864, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2023.107864>.
- ZHOU, J.; GAO, Y.; WANG, J.; LIU, C.; WANG, Z.; LV, M.; ZHANG, X.; ZHOU, Y.; DONG, G.; WANG, Y.; HUANG, J.; HUI, D.; YANG, Z.; YAO, Y. Elevated atmospheric CO<sub>2</sub> concentration triggers redistribution of nitrogen to promote tillering in rice. **Plant Environment and Interaction**, v. 2, p. 125–136, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1002/pei3.10046>.
- ZHU, C.; KOBAYASHI, K.; LOLADZE, I.; ZHU, J.; JIANG, Q.; XU, X.; LIU, G.; SENEWEERA, S.; EBI, K.L.; DREWNOWSKI, A.; FUKAGAWA, N.K.; ZISKA, L.H. Carbon dioxide (CO<sub>2</sub>) levels this century will alter the protein, micronutrients, and vitamin content of rice grains with potential health consequences for the poorest rice-dependent countries. **Science Advances**, v. 4, eaaq1012, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1126/sciadv.aaq1012>.
- ZUO, J.; LI, J. Molecular genetic dissection of quantitative trait loci regulating rice grain size. **Annual Review of Genetics**, v. 48, p. 99–118, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev-genet-120213-092138>.

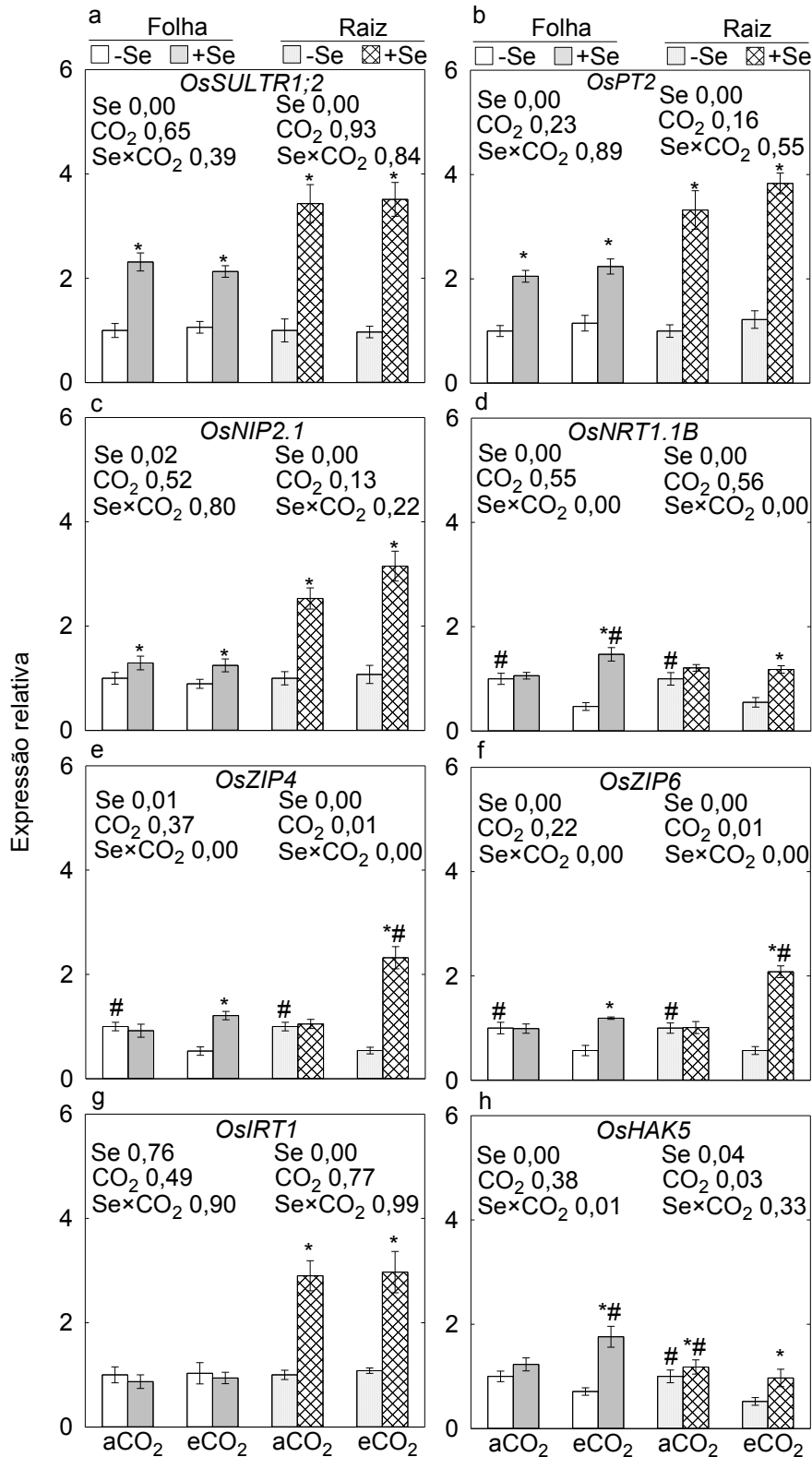
## FIGURAS



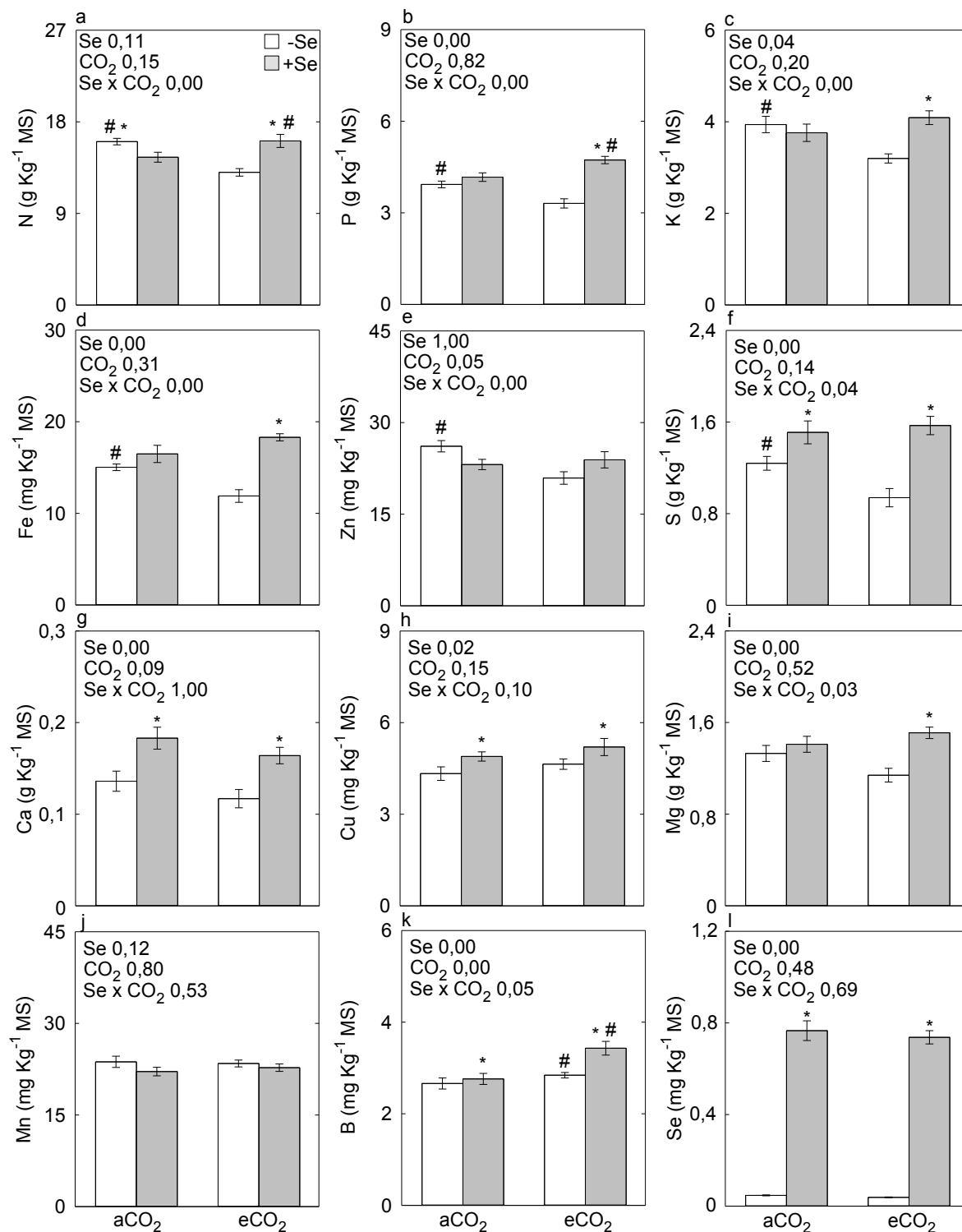
**Figura 1.** Efeitos dos tratamentos com Se e CO<sub>2</sub>, isoladamente e em combinação, sobre os parâmetros fisiológicos das folhas de arroz. **a** Fenótipo de plantas de arroz cultivadas por 90 dias sob tratamentos com Se e CO<sub>2</sub>. A barra de escala representa 30 cm. **b** Taxa de assimilação líquida de CO<sub>2</sub>. **c** Concentração interna de CO<sub>2</sub>. **d** Condutância estomática. **e** Taxa de transporte de elétrons. **f** Clorofilas totais. **g** Carotenoides totais. Os asteriscos indicam médias estatisticamente diferentes entre plantas não tratadas e tratadas com Se nas mesmas condições de CO<sub>2</sub> ( $P < 0,05$ ). Hashtags indicam médias estatisticamente diferentes entre plantas cultivadas sob aCO<sub>2</sub> e eCO<sub>2</sub> dentro do mesmo tratamento de Se ( $P < 0,05$ ). Os valores são médias  $\pm$  erro padrão ( $n = 18$ ).



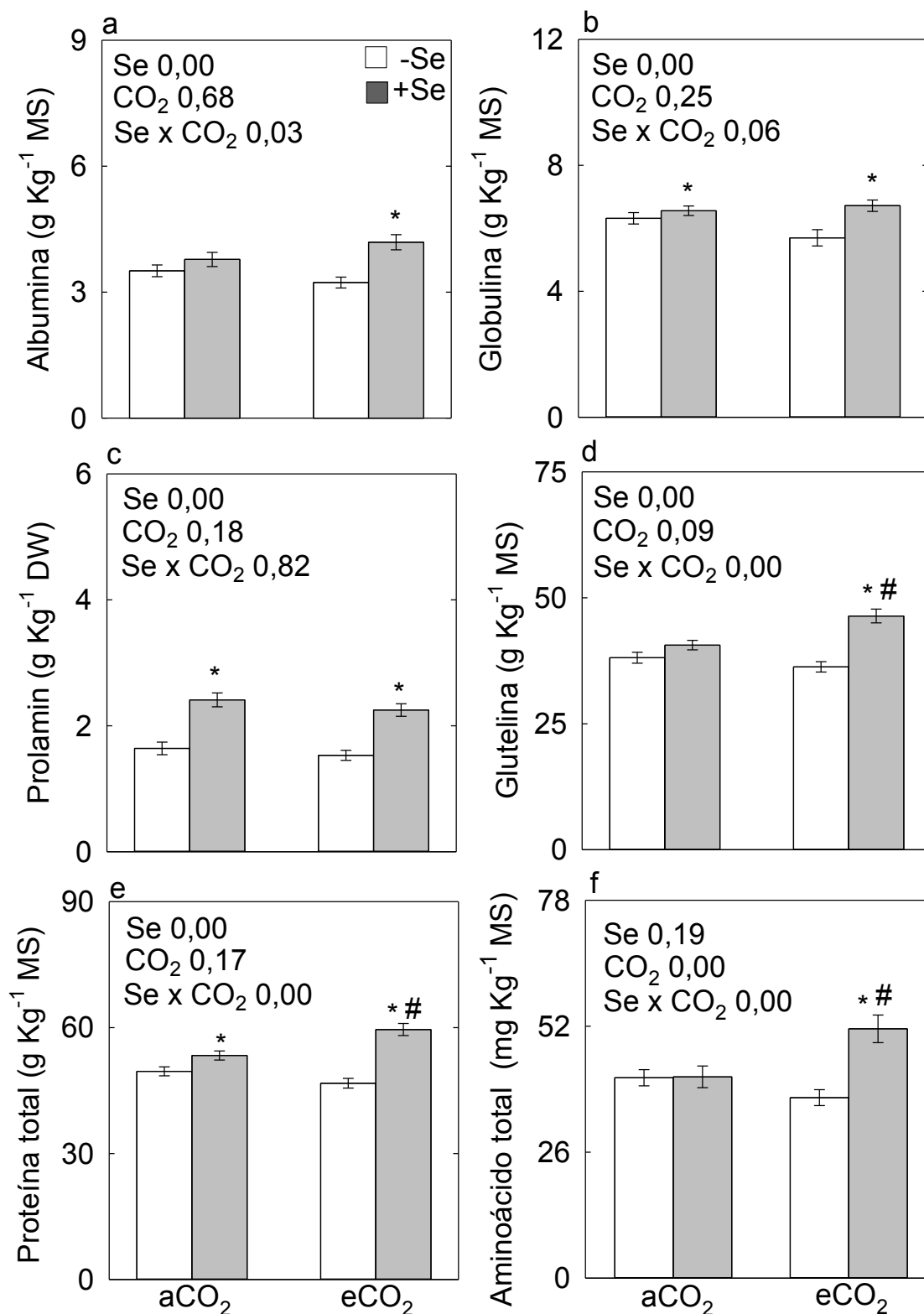
**Figura 2.** Efeitos dos tratamentos com Se e CO<sub>2</sub>, isoladamente e em combinação, sobre características agrônômicas de plantas de arroz. **a** Rendimento de grãos por planta. **b** Número de panículas por planta. **c** Número de grãos por planta. **d** Porcentagem de grãos preenchidos. **e** Biomassa de grãos individuais. **f** Índice de colheita. **g** Biomassa de raiz. **h** Biomassa de colmo. **i** Biomassa de folhas. **j** Altura da planta. **k** Área foliar. **l** Número de folhas. Os asteriscos indicam médias estatisticamente diferentes entre plantas não tratadas e tratadas com Se nas mesmas condições de CO<sub>2</sub> (P < 0,05). Hashtags indicam médias estatisticamente diferentes entre plantas cultivadas sob aCO<sub>2</sub> e eCO<sub>2</sub> dentro do mesmo tratamento de Se (P < 0,05). Os valores são médias ± erro padrão (n = 18).



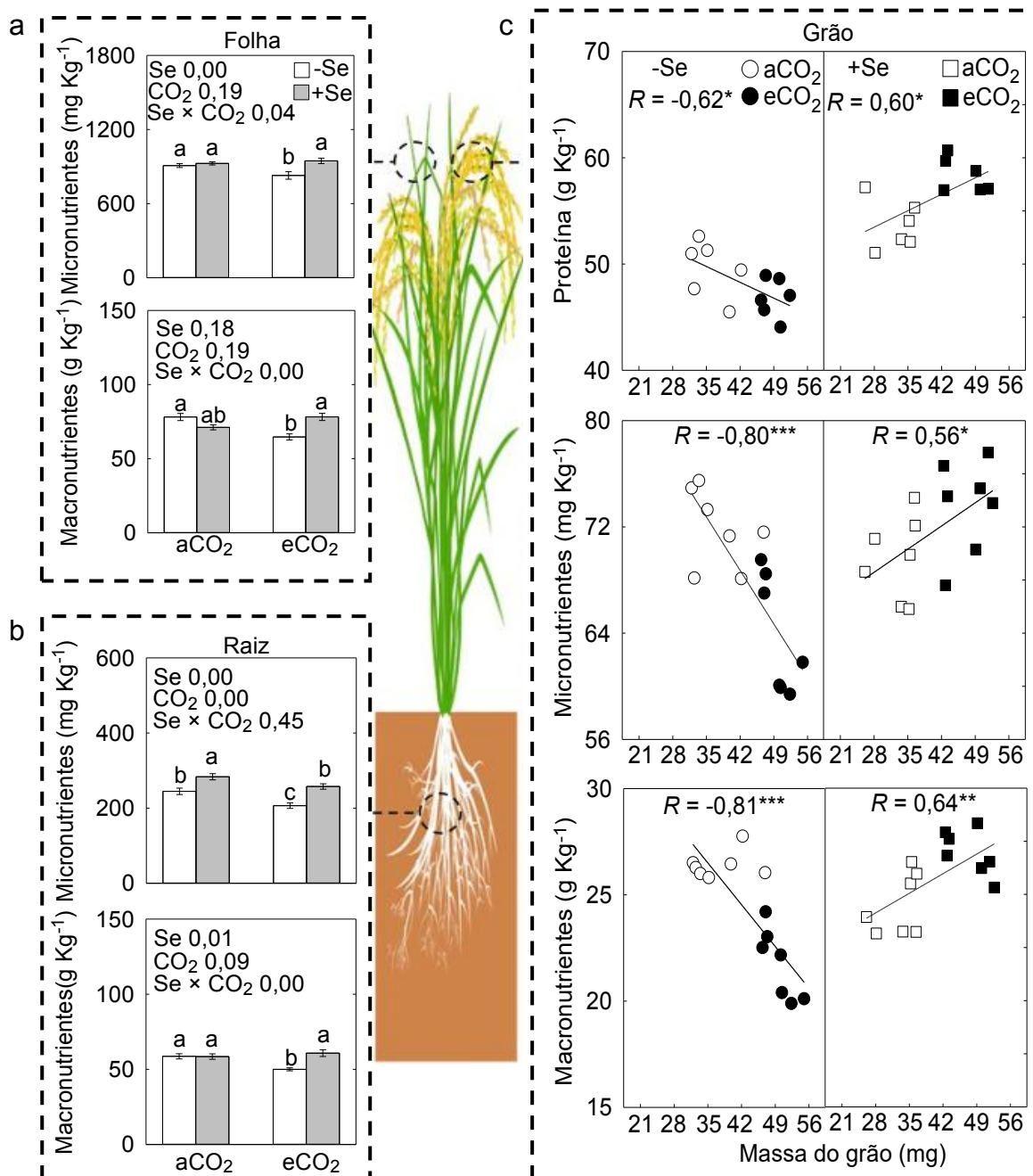
**Figura 3.** Efeitos dos tratamentos com Se e CO<sub>2</sub>, isoladamente e em combinação, na expressão gênica de plantas de arroz. Níveis de expressão relativa de *OsSULTR1;2*, *OsPT2*, *OsNIP2.1*, *OsNRT1.1B*, *OsZIP4*, *OsZIP6*, *OsIRT1* e *OsHAK5* tanto na folha quanto na raiz. Os asteriscos indicam médias estatisticamente diferentes entre plantas não tratadas e tratadas com Se nas mesmas condições de CO<sub>2</sub> ( $P < 0,05$ ). Hashtags indicam médias estatisticamente diferentes entre plantas cultivadas sob aCO<sub>2</sub> e eCO<sub>2</sub> dentro do mesmo tratamento de Se ( $P < 0,05$ ). Os valores são médias  $\pm$  erro padrão ( $n = 6$ ).



**Figura 4.** Efeitos dos tratamentos com Se e CO<sub>2</sub>, isoladamente e em combinação, na composição mineral dos grãos. **a** Nitrogênio total. **b** Fósforo. **c** Potássio. **d** Ferro. **e** Zinco. **f** Enxofre. **g** Cálcio. **h** Cobre. **i** Magnésio. **j** Manganês. **k** Boro. **l** Selênio. Os asteriscos indicam médias estatisticamente diferentes entre plantas não tratadas e tratadas com Se nas mesmas condições de CO<sub>2</sub> ( $P < 0,05$ ). Hashtags indicam médias estatisticamente diferentes entre plantas cultivadas sob aCO<sub>2</sub> e eCO<sub>2</sub> dentro do mesmo tratamento de Se ( $P < 0,05$ ). Os valores são médias  $\pm$  erro padrão ( $n = 14$ ).

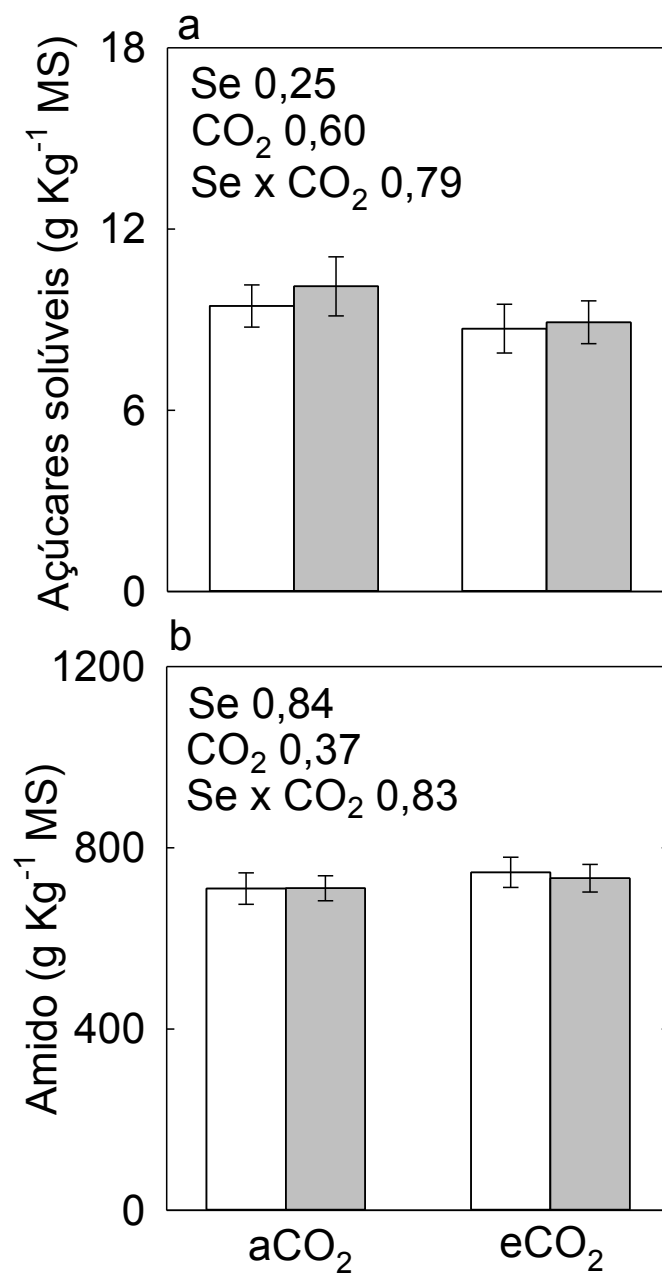


**Figura 5.** Efeitos dos tratamentos com Se e CO<sub>2</sub>, isoladamente e em combinação, nas concentrações de proteínas e aminoácidos no grão de arroz. **a** Albumina. **b** Globulina. **c** Prolamina. **d** Glutelina. **e** Proteína total. **f** Aminoácido total. Dentro de um painel, barras com letras diferentes são significativamente diferentes em  $\alpha = 0,05$ . A análise de variância para o efeito do selênio (Se) e CO<sub>2</sub> também é mostrada junto com o valor de p, onde um valor de p menor que 0,05 representa que o fator ou ambos os fatores (Se x CO<sub>2</sub>) afetam o resultado. Os dados são média  $\pm$  erro padrão ( $n = 12$ ).

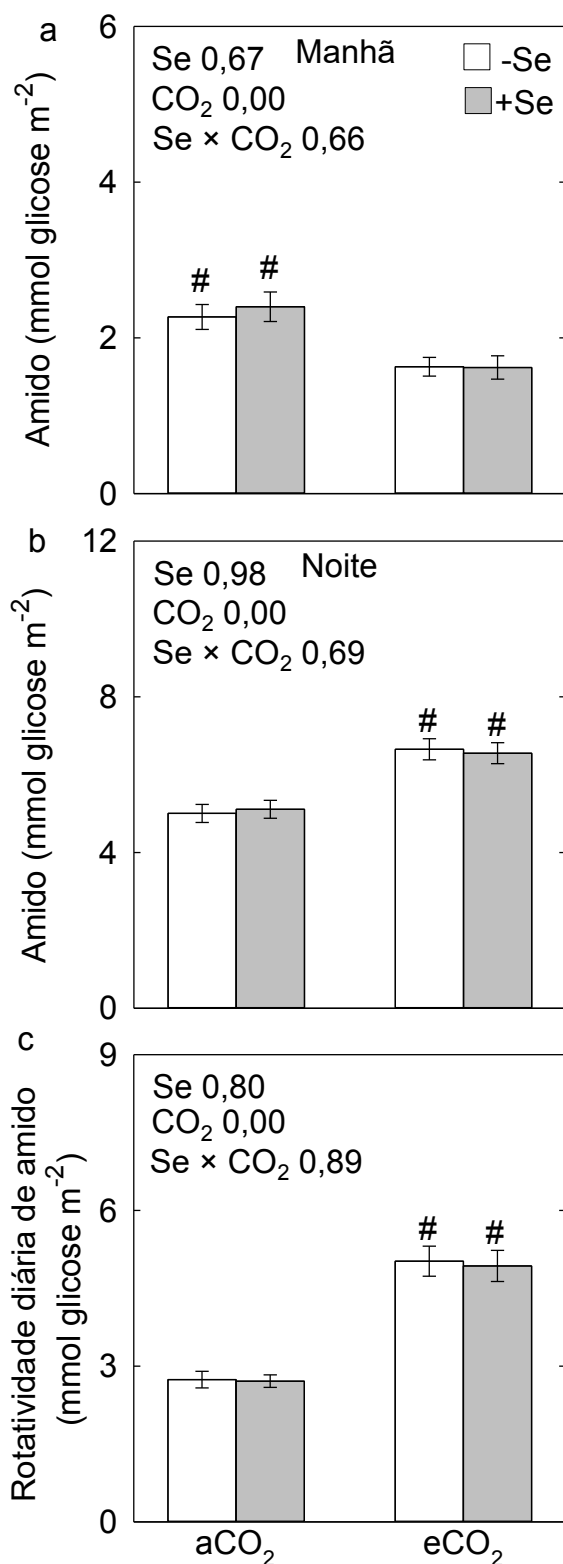


**Figura 6.** Resumo dos efeitos de Se e CO<sub>2</sub> nas concentrações de minerais na folha e raiz, bem como na composição nutricional do grão. **a, b** Quantidade total de micronutrientes e macronutrientes na folha e raiz de plantas de arroz. As quantidades totais de micronutrientes foram definidas como a soma de Zn, Fe, Mn, Cu e B. As quantidades totais de macronutrientes foram definidas como a soma de N, P, K, Ca, Mg e S. Dentro de um painel, barras com letras diferentes são significativamente diferentes em  $\alpha = 0,05$ . A análise de variância para o efeito do selênio (Se) e CO<sub>2</sub> também é mostrada junto com o valor de p, onde um valor de p menor que 0,05 representa que o fator ou ambos os fatores (Se × CO<sub>2</sub>) afetam o resultado. **c** Regressões lineares para as relações entre concentrações de nutrientes no grão e massa individual do grão em uma base de peso seco. \*\*\*  $P < 0,001$ ; \*\*  $P < 0,01$ ; \*  $P < 0,05$ .

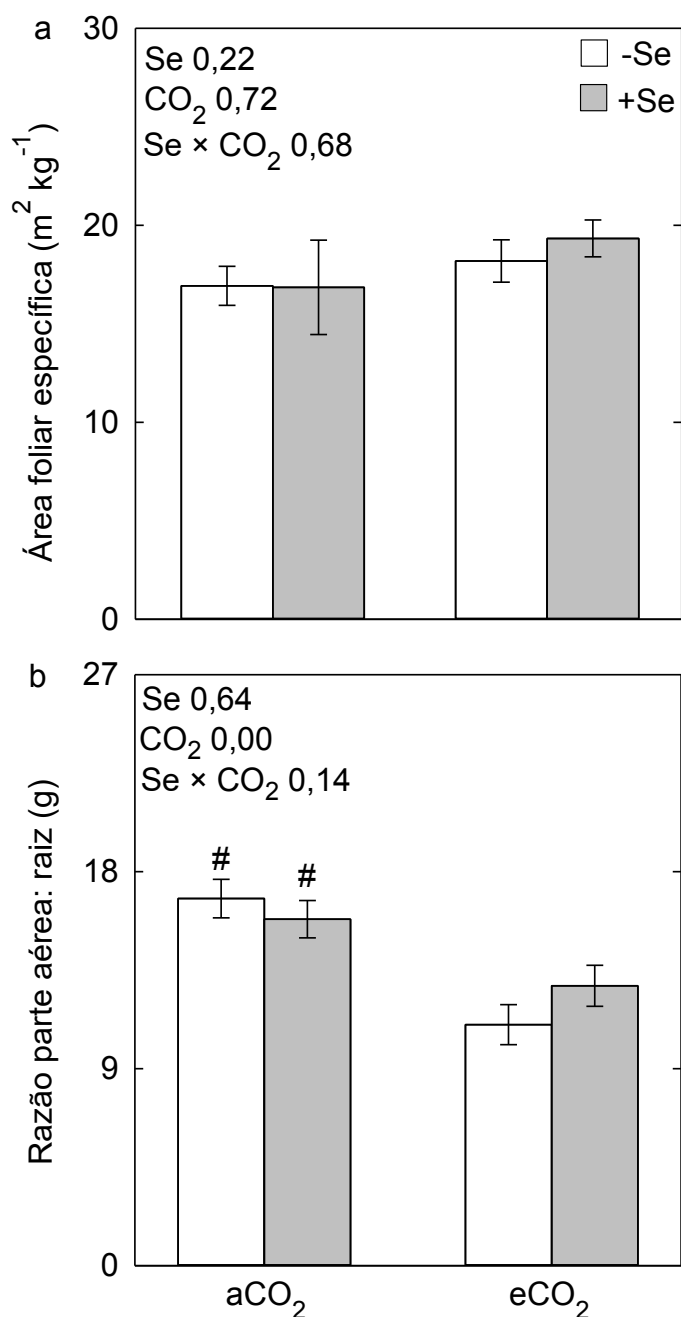
## MATERIAL SUPLEMENTAR



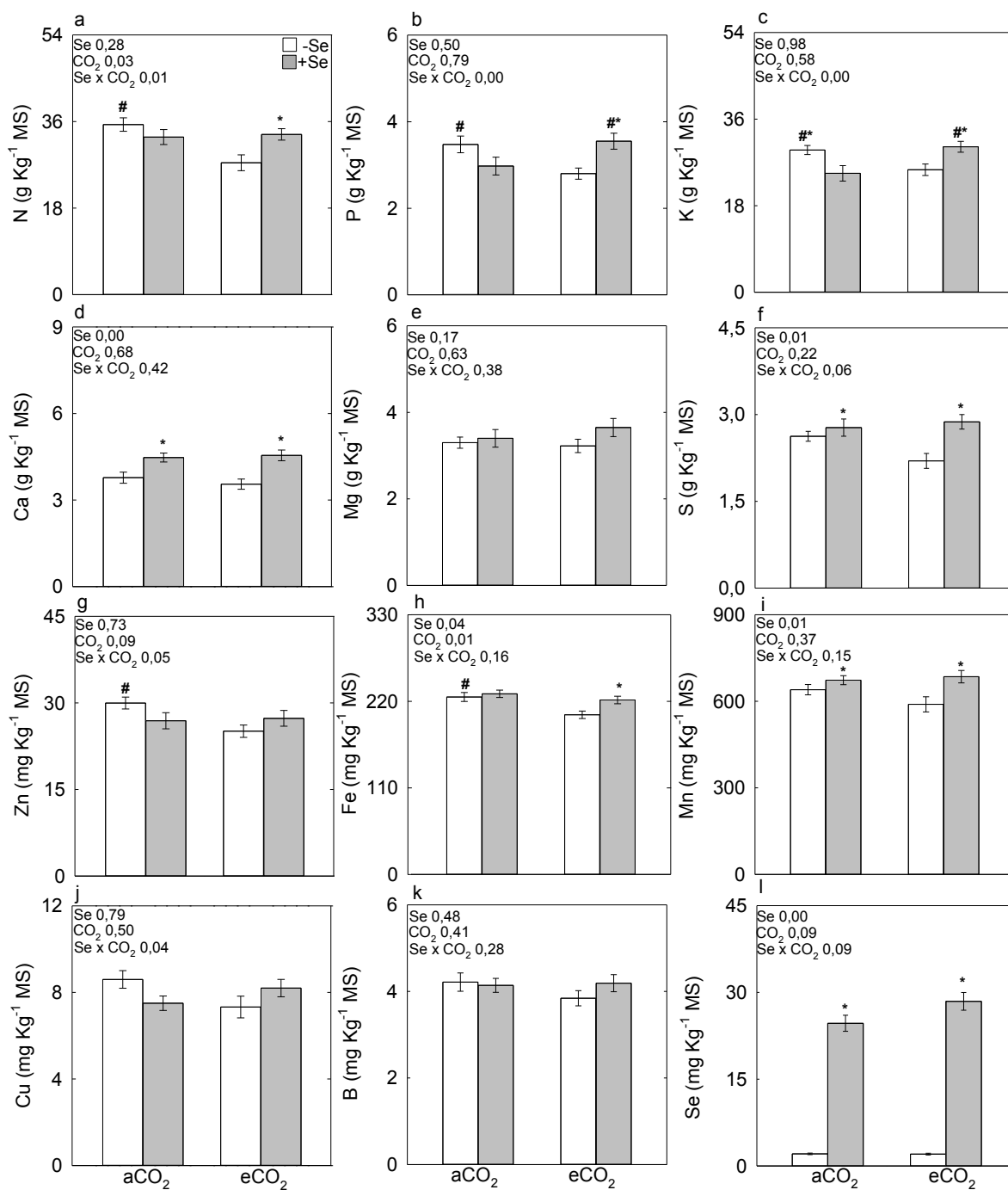
**Figura S1.** Efeitos dos tratamentos com Se e CO<sub>2</sub>, isoladamente e em combinação, nas concentrações de açúcares solúveis e amido no grão de arroz. **a** Açúcar solúvel. **b** Amido. Os dados são média ± erro padrão ( $n = 12$ ).



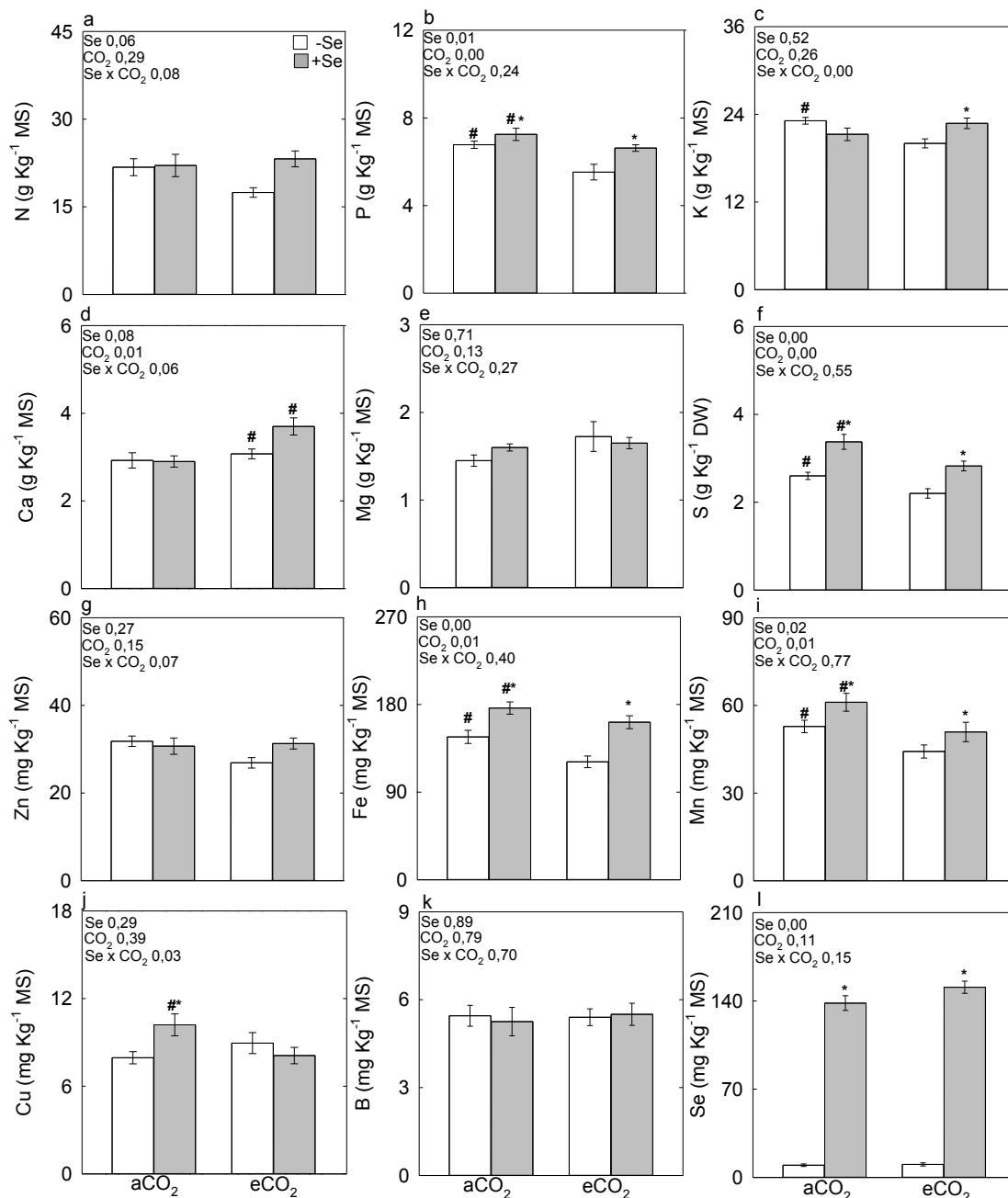
**Figura S2.** Efeitos dos tratamentos com Se e CO<sub>2</sub>, isoladamente e em combinação, na rotatividade diurna do amido em folhas bandeira. **a** Amido no início do fotoperíodo. **b** Amido no final do fotoperíodo. **c** A diferença entre o amido no início e no final do fotoperíodo. A concentração de amido nas folhas bandeira foi analisada em amostras colhidas no final da noite e no final do fotoperíodo em seis plantas por tratamento. Os asteriscos indicam médias estatisticamente diferentes entre plantas não tratadas e tratadas com Se nas mesmas condições de CO<sub>2</sub> ( $P < 0,05$ ). Hashtags indicam médias estatisticamente diferentes entre plantas cultivadas sob aCO<sub>2</sub> e eCO<sub>2</sub> dentro do mesmo tratamento de Se ( $P < 0,05$ ). Os valores são médias  $\pm$  erro padrão ( $n = 18$ ).



**Figura S3.** Efeitos dos tratamentos com Se e CO<sub>2</sub>, isoladamente e em combinação, na área foliar específica e na razão parte aérea: raiz de plantas de arroz. **a** Área foliar específica. **b** razão parte aérea: raiz. Hashtags indicam médias estatisticamente diferentes entre plantas cultivadas sob aCO<sub>2</sub> e eCO<sub>2</sub> dentro do mesmo tratamento de Se ( $P < 0,05$ ). Os valores são médias  $\pm$  erro padrão ( $n = 18$ ).



**Figura S4.** Efeitos dos tratamentos com Se e CO<sub>2</sub>, isoladamente e em combinação, na composição mineral da folha. **a** Nitrogênio total. **b** Fósforo. **c** Potássio. **d** Cálcio. **e** Magnésio. **f** Enxofre. **g** Zinco. **h** Ferro. **i** Manganês. **j** Cobre. **k** Boro. **l** Selênio. Os asteriscos indicam médias estatisticamente diferentes entre plantas não tratadas e tratadas com Se nas mesmas condições de CO<sub>2</sub> (P < 0,05). Hashtags indicam médias estatisticamente diferentes entre plantas cultivadas sob aCO<sub>2</sub> e eCO<sub>2</sub> dentro do mesmo tratamento de Se (P < 0,05). Os valores são médias ± erro padrão (n = 8).



**Figura S5.** Efeitos dos tratamentos com Se e CO<sub>2</sub>, isoladamente e em combinação, na composição mineral da raiz. **a** Nitrogênio total. **b** Fósforo. **c** Potássio. **d** Cálcio. **e** Magnésio. **f** Enxofre. **g** Zinco. **h** Ferro. **i** Manganês. **j** Cobre. **k** Boro. **l** Selênio. Os asteriscos indicam médias estatisticamente diferentes entre plantas não tratadas e tratadas com Se nas mesmas condições de CO<sub>2</sub> (P < 0,05). Hashtags indicam médias estatisticamente diferentes entre plantas cultivadas sob aCO<sub>2</sub> e eCO<sub>2</sub> dentro do mesmo tratamento de Se (P < 0,05). Os valores são médias ± erro padrão (n = 8).

**Tabela S1.** Sequências de primers usadas para análise RT-qPCR

Nome	Oligo	Sequência 5'→3'
<i>OsPT2</i>	PT2-F	CACAAACTTCCTCGGTATGCT
	PT2-R	GAAACCCCACAAATCCACAAC
<i>OsNIP2.1</i>	NIP2.1-F	GGGGCAATTCAGGTGGATCG
	NIP2.1-R	TTCTGGGAGGAGCCTTCCTT
<i>OsNRT1.1B</i>	NRT1.1B-F	GGCAGGCTCGACTACTTCTA
	NRT1.1B-R	AGGCGCTTCTCCTTGTAGAC
<i>OsSULTR1;2</i>	SULTR1,2-F	TCAAAGAAGAACCCGCTAGATT
	SULTR1,2-R	GCAATTCCAAGGAAGCCTTTAA
<i>OsZIP4</i>	ZIP4-F	CAGGGTTGTCTCCCAGGTTC
	ZIP4-R	GGAGATCGACCAGGGACATG
<i>OsZIP6</i>	ZIP6-F	CGAGGAGGAAGCAGAAGATG
	ZIP6-R	TGTCACCGAGAACATTACGC
<i>OsIRT1</i>	IRT1-F	TCGTTCAAGTCCTCGAGATAG
	IRT1-R	ACATCTGGTGGAAGCACATC
<i>OsHAK5</i>	HAK5-F	CATTGTGGACTATTTTGAAAGAA
	HAK5-R	GGAGAACTACAGAAAAGCCAATC
<i>OsUBQ5</i>	UBQ-F	ACCACTTCGACCGCCACTACT
	UBQ-R	ACGCCTAAGCCTGCTGGTT
<i>OsACTIN1</i>	Actin1-F	TGGATTGGAGGATCCATCTTGGC
	Actin1-R	CCTTGGCAATCCACATCTGCTG

**CAPÍTULO II - EFEITO DO SELÊNIO E DA CONCENTRAÇÃO ELEVADA DE  
DIÓXIDO DE CARBONO NO DESENVOLVIMENTO DA RAIZ DE PLÂNTULAS DE  
ARROZ**

## RESUMO

O arroz (*Oryza sativa* L.) é uma cultura essencial para grande parte da população mundial e utilizada como planta modelo para estudos de monocotiledôneas. O selênio (Se) quando aplicado em baixas concentrações pode modular o crescimento da raiz de plântulas de arroz. Contudo, os efeitos do Se em condições de elevada concentração de dióxido de carbono (eCO<sub>2</sub>) permanecem pouco compreendidos. Este estudo investiga a interação entre Se e o eCO<sub>2</sub> na modulação da arquitetura do sistema radicular e no desenvolvimento de plântulas de arroz. A aplicação de Se resultou no alongamento da raiz primária, acompanhado por redução no número e comprimento das raízes laterais. Um decréscimo na concentração de auxina nas raízes tratadas com Se foi observado em comparação aos demais tratamentos. Além disso, o Se aumentou a expressão de genes de resposta à auxina sob aCO<sub>2</sub>, mas reduziu essa expressão sob eCO<sub>2</sub>. Também foi observado um aumento nas concentrações de açúcares solúveis na folha e raiz de plântulas tratadas com Se nas duas concentrações de CO<sub>2</sub> avaliadas. Por outro lado, o eCO<sub>2</sub> aumentou o volume radicular, os níveis de auxina, açúcares solúveis e proteínas nas raízes, independentemente do tratamento com Se. A interação entre Se e eCO<sub>2</sub> intensificou o crescimento das raízes primárias e laterais, e a altura da parte aérea, superando os efeitos isolados de ambos os fatores. A arquitetura do sistema radicular melhorada e as alterações anatômicas observadas na combinação de Se e eCO<sub>2</sub> foram associadas à maior disponibilidade de açúcares solúveis, atividade de expansinas e dos níveis de auxina.

**Palavras-chave:** *Oryza sativa* L.; Crescimento radicular; Metabolismo primário; Auxina.

## ABSTRACT

Rice (*Oryza sativa* L.) is a staple crop for a significant portion of the global population and serves as a model for monocotyledon studies. Selenium (Se), when applied at low concentrations, can modulate root growth in rice seedlings. However, the effects of Se under elevated carbon dioxide concentration (eCO<sub>2</sub>) remain poorly understood. This study investigates how Se and eCO<sub>2</sub> interact to alter root system architecture and seedling development in rice. The application of Se resulted in primary root elongation, accompanied by a reduction in the number and length of lateral roots. A decrease in auxin concentration was observed in Se-treated roots compared to other treatments. Additionally, Se increased the expression of auxin-responsive genes under ambient CO<sub>2</sub> (aCO<sub>2</sub>) but reduced this expression under eCO<sub>2</sub>. Soluble sugar concentrations in leaves and roots were higher in Se-treated seedlings under both CO<sub>2</sub> conditions. On the other hand, eCO<sub>2</sub> increased root volume, auxin levels, soluble sugars, and protein content in roots, regardless of Se treatment. The interaction between Se and eCO<sub>2</sub> enhanced primary and lateral root growth, root volume, and shoot height, surpassing the individual effects of each factor. Improved root system architecture and anatomical changes observed under the combined Se and eCO<sub>2</sub> treatment were associated with greater availability of soluble sugars, expansin activity, and auxin levels.

**Keywords:** *Oryza sativa* L.; Root growth; Primary metabolism; Auxin.

## 1. INTRODUÇÃO

O arroz (*Oryza sativa* L.), além de ser uma das culturas básicas para 67% da população mundial (Senapati et al., 2022), é também reconhecido como um modelo de estudo para as monocotiledôneas (Li et al., 2021). O sistema radicular das plantas de arroz é composto por raízes embrionárias, que incluem raiz da coroa (RC) e raiz primária (RP), e por raízes pós-embrionárias, conhecidas como raízes adventícias (RA). As RC e RP formam a maior parte do sistema radicular durante os estágios iniciais de desenvolvimento do arroz, entretanto durante a fase de maturidade são as RA que assumem predominância no sistema radicular funcional da planta (Sharma et al., 2021). Ademais, o alongamento das RC pode proporcionar uma vantagem de crescimento e impactar no rendimento dos grãos de arroz, uma vez que contribuem para a formação de uma estrutura de suporte mecânico e de expansão. Essa estrutura permite a emergência das RA e dos pelos radiculares, aumentando assim a absorção de água e nutrientes (Dubrovsky e Laskowski, 2017). Portanto, os diferentes tipos de raízes assumem funções diversas na área de superfície radicular ativa, que variam conforme o estágio de desenvolvimento da planta de arroz.

Durante o processo de enraizamento, as raízes adquirem uma configuração tridimensional, conhecida como arquitetura do sistema radicular (ASR), determinada pela posição, número, comprimento e ângulos de crescimento das raízes (Rogers e Benfey, 2015). A ASR é moldada pelo próprio genótipo e pelos diferentes ambientes de crescimento, especialmente em condições ambientais variáveis e muitas vezes imprevisíveis. Essas alterações resultam em padrões de ramificação continuamente ajustados para explorar o solo em busca de recursos hídricos e nutricionais (Freschet et al., 2021). Apesar de reconhecermos o papel crucial das raízes para o desenvolvimento das plantas, é notável que tenham recebido menos atenção que os tecidos da parte aérea. Deste modo, compreender os mecanismos que governam a ASR pode fornecer informações cruciais sobre como as plantas de arroz ajustam suas características radiculares para melhorar o rendimento das colheitas e otimizar o uso das terras agrícolas.

A divisão e a expansão celular no meristema apical radicular são fundamentais para o crescimento da raiz principal das plantas (Kościelniak et al., 2021). Por outro lado, as raízes laterais têm como origem células específicas localizadas no periciclo, uma camada que envolve o estelo central da raiz, as quais

detêm a habilidade de retomar a divisão celular (Schwartz et al., 2021). A ativação dessas células precursoras das raízes laterais ocorre por meio da sinalização e flutuações nos níveis de auxina (Kawai et al., 2022). A auxina exerce um papel central no controle do desenvolvimento e arquitetura radicular das plantas, coordenando o alongamento das células radiculares, a formação e ramificação das raízes laterais, além da diferenciação celular (Jan et al., 2024). Esse processo regula a formação de estruturas especializadas, como pelos radiculares, que ampliam significativamente a área de superfície disponível para a absorção de nutrientes e água (Jan et al., 2024). Essa regulação é mediada pelo estabelecimento de um gradiente de auxina na raiz, o qual depende da interação entre o local de biossíntese, transporte, percepção e sinalização desse hormônio (Olatunji et al., 2017). Ademais, os processos de formação das raízes são coordenados por outros hormônios, como citocinina e etileno (Yamoune et al., 2023). Evidências experimentais mostram que níveis elevados de citocininas impactam negativamente o comprimento da raiz e o número de raízes laterais (Tiwari e Bhatia, 2020; Teixeira et al., 2024), enquanto plantas com níveis reduzidos de citocininas aumentam a formação de raízes laterais (Werner et al., 2003; Lohar et al., 2004). Essas alterações na morfologia radicular são provocadas pela modulação na proporção de auxina induzida pelas citocininas. As citocininas regulam a expressão dos genes PIN-FORMED (PIN), SHORT HYPOCOTYL 2 (SHY2) e *GRETCHEN HAGEN 3 (GH3.17)*, impedindo o acúmulo de auxina necessário para o início da formação de raízes laterais, e modulando a diferenciação celular (Svolacchia et al., 2020; Li, 2021). Além disso, as citocininas são fundamentais para a diferenciação celular na raiz por meio da ativação da enzima de remodelação da parede celular *EXPANSIN1 (EXP1)* (Svolacchia et al., 2020). Portanto, essas descobertas indicam que a interação entre auxina e citocinina é crucial para o desenvolvimento das raízes.

O desenvolvimento da raiz adventícia também é regulado pela interação entre etileno e auxina. O tratamento com etileno ou com ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC) ativa a expressão dos transportadores de efluxo de auxina PIN3/7 (Lewis et al., 2011). Isso, por sua vez, intensifica o transporte de auxina e reduz a formação de raízes laterais (Lewis et al., 2011). A biossíntese de auxina e etileno são influenciados pelo selênio (Se) (Malheiros et al., 2019). Embora o Se não seja considerado um elemento essencial para as plantas, em concentrações baixas ( $<10 \text{ mg L}^{-1}$ ) tem o potencial de melhorar a eficiência da fotossíntese, estimular a atividade

antioxidante e influenciar a biossíntese de hormônios (Duan et al., 2019). Essas ações resultam em melhorias substanciais nos processos metabólicos primários e secundários das plantas, sobretudo em ambientes adversos (Dai et al., 2019). Além disso, o Se pode modular a ASR das plântulas de arroz, promovendo o crescimento da raiz primária e reduzindo tanto o número quanto o comprimento das raízes laterais. Este efeito é mediado pela regulação de genes envolvidos na biossíntese de auxina e etileno, e no transporte de auxina (Malheiros et al., 2019). No tabaco, o tratamento com Se resultou em um aumento significativo na transcrição dos genes *YUCCA6*, *YUCCA8* e *YUCCA9*, associados à biossíntese de auxina, e dos genes *PIN1a*, *PIN1c* e *PIN4*, envolvidos no transporte de auxina (Luo et al., 2019). Esse estímulo transcricional contribuiu para o crescimento da raiz primária e aumentou o número de raízes laterais (Jia et al., 2018).

O Se aumenta a concentração de açúcares solúveis e modifica sua distribuição nos diferentes tipos de raízes do arroz (Malheiros et al., 2019). Em contraste com a auxina, que regula o crescimento celular exclusivamente através da sinalização, os açúcares exercem influência sobre a expansão celular tanto como sinais quanto como metabólitos (Booker et al., 2010; Griffiths et al., 2016). Sairanen et al. (2012) mostraram que o aumento da concentração de glicose estimula a divisão celular, o crescimento e a diferenciação das células radiculares, por meio da indução da expressão de genes relacionados à biossíntese e ao transporte de auxina. Isso resultou em um maior comprimento da raiz, aumento no número de raízes laterais e no desenvolvimento de pelos radiculares em plântulas de *Arabidopsis* (Mishra et al., 2009). Os açúcares solúveis também desempenham um papel importante como sinais mitogênicos, influenciando a transição das células do estágio G1 para S e regulando os componentes moleculares do ciclo celular, como evidenciado pelo impacto da disponibilidade de açúcar na expressão da *CICLINA D (CycD)* (Riou-Khamlichi et al., 2000). Além disso, os açúcares atuam como solutos osmoticamente ativos e como substratos para a síntese de uma variedade de produtos, incluindo componentes essenciais da parede celular necessários para a expansão celular (Wang e Ruan, 2013; Thompson et al., 2017). Essas descobertas ressaltam a coação entre açúcares e auxinas no crescimento e desenvolvimento radicular, fundamentais para a manutenção de uma rede coordenada de sinalização que favorece a expansão das raízes e a tolerância das plantas a estresses ambientais. Diante das mudanças climáticas previstas, compreender esses mecanismos é essencial para o

desenvolvimento de práticas agrícolas que promovam a adaptação das plantas a futuros cenários de cultivo adversos.

As alterações no crescimento e desenvolvimento radicular sob condição de elevada concentração de dióxido de carbono ( $eCO_2$ ) assemelham-se às observadas em plantas tratadas com soluções de açúcares, devido à maior produção de fotoassimilados (Singh et al., 2014). O  $CO_2$  na atmosfera tem aumentado desde 1750, principalmente devido às atividades humanas, tais como mudança no uso da terra agrícola e queima de combustíveis fósseis (Lal, 2021). A  $eCO_2$  pode impactar diretamente o crescimento e desenvolvimento das plantas (Wei et al., 2021; Ziegler et al. 2023). Entre essas mudanças, destaca-se o aumento significativo na biomassa total, no comprimento e no volume das raízes principais e laterais. Além disso, ocorre um aumento em alguns compostos específicos, como açúcares solúveis totais, carboxilatos totais e citrato, que permitem a adaptação das plantas à deficiência de nutrientes ou ambientes tóxicos (Dong et al., 2021). No entanto, os efeitos do  $eCO_2$  no crescimento e desenvolvimento das raízes, especialmente em relação à fisiologia de plântulas de arroz, ainda são pouco compreendidos. Esta lacuna de conhecimento dificulta a avaliação do impacto do aumento da biomassa acima do solo, causado pela fertilização com  $CO_2$ , na melhoria das características radiculares. Assim, compreender os mecanismos que regulam a ASR em resposta a  $eCO_2$  pode fornecer informações cruciais sobre como as plântulas de arroz ajustam suas características radiculares diante das condições atmosféricas futuras.

Apesar de alguns estudos relatarem o efeito do Se no controle do crescimento radicular de plântulas de arroz (Malheiros et al., 2019; Teixeira et al., 2024), relativamente pouco se sabe sobre o efeito do Se sob condições de  $eCO_2$  no crescimento das raízes. Considerando a relevância das raízes para o desenvolvimento vegetativo e reprodutivo das plantas, torna-se essencial elucidar os mecanismos que governam o crescimento das plântulas de arroz em resposta ao Se e a  $eCO_2$ . Este estudo propõe a hipótese de que a interação entre Se e  $eCO_2$  pode ter um impacto positivo no controle da ASR de plântulas de arroz, resultando em raiz primária mais longa e maior volume de raízes laterais. Espera-se que o efeito inibitório do Se na biossíntese de auxina contribua para o alongamento da raiz primária. Ao mesmo tempo que a maior concentração de açúcares nos tecidos das plântulas sob  $eCO_2$  aumentaria a biossíntese de auxina, favorecendo o crescimento das raízes laterais. Assim, a interação entre Se e  $eCO_2$  pode promover um equilíbrio hormonal

nas raízes, favorecendo tanto o alongamento da raiz primária quanto o desenvolvimento das raízes laterais.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Material vegetal e condições gerais de cultivo

Sementes de arroz (*Oryza sativa* L. ssp *japonica* 'Oochikara') foram tratadas com hipoclorito de sódio 4 %, durante 5 minutos, lavadas com água destilada e colocadas para germinar em papel germitest. Os cartuchos de papel contendo as sementes embebidas em água foram mantidas no escuro, em câmara de crescimento noite/dia (Forma Scientific Inc, Ohio, USA), a 30° C. Quando as plântulas apresentaram comprimento de raiz de aproximadamente 2 cm foram selecionadas e transferidas para caixas de isopor com 0,700 L de capacidade, contendo solução nutritiva modificada de Hoagland e Arnon (1950) ½ força em pH 5,5, ou solução de Hoagland ½ força acrescida de selenito de sódio (Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>) puro, à concentração de 10 µM (Malheiros et al., 2019). A solução foi renovada diariamente e as plântulas foram acondicionadas em câmaras de topo aberto (1,4 m diâmetro e 1,5 m altura) montadas em casa de vegetação e suplementadas com dióxido de carbono à concentração de 410 (± 20) µmol<sup>-1</sup> CO<sub>2</sub> mol<sup>-1</sup> ar (ambiente) ou de 700 (± 50) µmol<sup>-1</sup> CO<sub>2</sub> mol<sup>-1</sup> ar (elevada), por cinco dias. As câmaras de topo aberto foram instaladas dentro de uma estufa com controle dinâmico da temperatura do ar e intensidade de luz naturalmente flutuante. O método usado para controlar a concentração de CO<sub>2</sub> no ar dentro das câmaras de topo aberto foi relatado por Pimenta et al. (2022).

### 2.2. Crescimento das plântulas

Ao final do experimento, os parâmetros morfológicos da raiz: comprimento, número de raízes laterais, número de raízes adventícias, área superficial, diâmetro médio e volume de raízes foram determinados por análise de imagens obtidas através do programa WinRhizo Pro (Regent Instruments Inc; Québec, Canadá), como descrito por Zhu et al. (2005). Ademais, foi medido o comprimento da parte aérea e raiz, utilizando uma régua graduada. Em seguida, o material vegetal foi colocado em estufa

de circulação forçada e mantidos a 70 °C, até atingirem o peso constante, para obtenção da massa seca da raiz e parte aérea.

### 2.3. Determinação dos níveis de metabólitos

O procedimento de extração e quantificação das proteínas totais foram realizados de acordo com a metodologia descrita por Reis et al. (2020), utilizando 50 mg de folha e raiz. A quantificação dos açúcares solúveis, amido e aminoácidos totais foram realizadas conforme Cross et al. (2006), utilizando as mesmas amostras usadas para determinação de proteínas totais.

### 2.4. Quantificação de selênio total

Amostras de folha e raiz coletadas após cinco dias em câmaras de topo aberto foram secas em estufa de circulação forçada, a 60°C até atingir peso constante e triturados em moinho do tipo Willey (CINELAB CE- 430; 8 lâminas, 1725 rpm, peneira de 20 mesh). Em seguida as amostras foram digeridas com HNO<sub>3</sub>: HClO<sub>4</sub> (10:1, v/v) e analisadas quanto à concentração de selênio pelo método descrito por El Mehdawi et al. (2018).

### 2.5. Expressão gênica

A extração do RNA total e a síntese de cDNA dos tecidos da raiz e da folha de plântulas de arroz foram realizadas conforme Malheiros et al. (2019). Ensaio quantitativos de PCR em tempo real foram realizados com uma mistura de cDNA, SYBR Green Master Mix e primers para gene-específicos (Tabela S1) de acordo com Schippers et al. (2008). As sequências de oligonucleotídeos usadas para a expressão de genes que regulam a expansão celular e a sinalização de auxina (*OsIAA3*, *OsIAA11*, *OsIAA20*, *OsEXPA8*, *OsEXPA14*, *OsEXPB2*) foram obtidas de Malheiros et al. (2019) e Zhang et al. (2022) (Tabela S2). O gene *ACTIN* foi usado como controle endógeno para a normalização dos dados (Teixeira et al., 2021). O método 2- $\Delta$ CT foi utilizado para a quantificação da expressão gênica.

## 2.6. Caracterização anatômica

Secções foliares retirados da região mediana da folha e secções radiculares retirados da zona de diferenciação (5 cm da extremidade da raiz) foram fixados em FAA50 (formaldeído, ácido acético e álcool), por 48h, sob vácuo, e estocados em etanol 70 % (Johansen, 1940). A inclusão do material em metacrilato (Historesin-Leica) foi realizada de acordo com as recomendações do fabricante. O material radicular foi seccionado tanto transversalmente quanto longitudinalmente, enquanto o material foliar foi seccionado transversalmente usando um micrótomo rotativo de avanço automático (modelo RM2155, Leica microsystems Inc., Deerfield, USA) com 5µm de espessura, corado com azul de toluidina (O'Brien et al., 1964). As lâminas de vidro foram montadas com resina sintética (Permout, Fisher Scientific, Waltham, MA). Os cortes foram observados ao microscópio de luz (modelo AX-70 TRF, Olympus Optical, Tokyo, Japan) acoplado a câmera fotográfica digital (modelo Zeiss AxioCam HRc, Göttinger, Germany) e microcomputador com o programa de captura de imagens Axion Vision para análise estrutural.

As características anatômicas das folhas foram examinadas avaliando a área das células buliformes e as espessuras de: lâmina foliar, parênquima e epiderme na face adaxial. As características anatômicas da raiz foram avaliadas pelo comprimento da célula, área da célula e número de células corticais, diâmetro da raiz, diâmetro do cilindro vascular e pelas espessuras: da epiderme e do parênquima cortical.

## 2.7. Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x2, dois níveis de selenito de sódio (0 e 10 µM) e duas concentrações de CO<sub>2</sub> (410 e 700 µmol<sup>-1</sup> CO<sub>2</sub> mol<sup>-1</sup> ar). A unidade experimental foi composta por 15 plântulas de arroz por caixas de isopor com quatro repetições por tratamento. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA,  $P < 0,05$ ). Para os casos em que a interação entre os níveis de selênio e as concentrações de CO<sub>2</sub> foi significativa realizou-se o desdobramento. As comparações entre médias foram feitas utilizando-se o teste  $F$  ( $P < 0,05$ ). Todas as análises foram realizadas com auxílio do software R, versão 4.0.2.

### 3. RESULTADOS

#### 3.1. Regulação da arquitetura radicular de plântulas de arroz em resposta ao selênio e elevada concentração de CO<sub>2</sub>

Para investigar o efeito do Se nas condições de CO<sub>2</sub> projetadas para o futuro sobre a arquitetura das raízes, plântulas de arroz foram tratadas com 0 e 10 µM de Se e cultivadas sob concentrações de CO<sub>2</sub> de 400 e 700 ppm. As observações visuais e análises morfológicas revelaram que o comprimento da raiz primária aumentou significativamente com a aplicação de 10 µM de Se, em comparação com as plântulas que não receberam Se, independente da concentração de CO<sub>2</sub> avaliada (Figura 1a-b). Em contrapartida, a suplementação com Se em plântulas expostas a aCO<sub>2</sub> reduziu o comprimento total das raízes laterais (33%), o volume radicular (26%), o número de raízes (23%) e a altura da parte aérea (13%), em comparação com as plântulas não tratadas com Se sob aCO<sub>2</sub> (Figura 1c-f). A condição de eCO<sub>2</sub> aumentou o comprimento da raiz primária (6%), o comprimento total das raízes laterais (40%), o volume da raiz (24%), o número de raízes (37%) e a altura da parte aérea (20%) em plântulas tratadas com Se, em comparação com as plântulas tratadas com Se sob aCO<sub>2</sub> (Figura 1a-f). A condição de eCO<sub>2</sub> também aumentou o volume radicular (8,5%) em plântulas não tratadas com Se, em relação as plântulas que não receberam Se sob aCO<sub>2</sub> (Figura 1d). A relação parte aérea/raiz reduziu significativamente com a aplicação de 10 µM de Se, em comparação com as plântulas que não receberam Se, independente da concentração de CO<sub>2</sub> avaliada (Figura 1g).

#### 3.2. Efeito do selênio e da elevada concentração de CO<sub>2</sub> na biossíntese de hormônios e no metabolismo primário das plântulas de arroz

Para investigar se o Se modifica o desenvolvimento das raízes primárias e laterais alterando a biossíntese de auxina e citocinina, as concentrações de IAA, zeatina e isopenteniladenina foram quantificadas nas raízes do arroz. Houve um aumento na concentração de IAA em raízes de plântulas de arroz sob eCO<sub>2</sub> em comparação com as raízes sob aCO<sub>2</sub>, independentemente do tratamento com Se (Figura 2a). Em contrapartida, uma redução nas concentrações de IAA foi observada

em raízes tratadas com Se, em relação as raízes não tratadas com Se, independentemente das concentrações de CO<sub>2</sub> (Figura 2a). Não houve diferenças significativas para zeatina e isopenteniladenina nas raízes de plântulas de arroz entre os tratamentos avaliados (Figura 2b-c).

Para entender como o Se e eCO<sub>2</sub> influenciam o desenvolvimento das raízes primárias e laterais, quantificou-se a expressão de genes relacionados a sinalização da auxina e a expansão celular nas raízes de plântulas de arroz. Houve uma interação Se × CO<sub>2</sub> significativa para a expressão dos genes de resposta à auxina e genes envolvidos na expansão celular (Figura 3a-f). A suplementação com Se em plântulas expostas a aCO<sub>2</sub> aumentou significativamente os níveis de transcritos dos genes de resposta à auxina (*OsIAA3*, *OsIAA11* e *OsIAA20*) nas raízes, tanto em relação às raízes não tratadas com Se sob aCO<sub>2</sub> quanto em relação às tratadas com Se sob eCO<sub>2</sub> (Figura 3a-c). Em contraste, a presença de Se sob condições de eCO<sub>2</sub> reduziu a expressão dos genes de resposta à auxina, em comparação com as plântulas não tratadas com Se sob eCO<sub>2</sub> (Figura 3a-c). Por outro lado, os genes envolvidos na expansão celular (*OsEXPA8*, *OsEXPA14* e *OsEXPB2*) foram regulados positivamente em raízes tratadas com Se sob eCO<sub>2</sub>, tanto em relação às raízes não tratadas com Se sob eCO<sub>2</sub> quanto em relação às tratadas com Se sob aCO<sub>2</sub> (Figura 3d-f).

Os efeitos da fertilização com Se e das diferentes condições de CO<sub>2</sub> nas concentrações de açúcar, amido, proteína e aminoácidos nas folhas e raízes de plântulas de arroz foram também determinados. A fertilização com Se resultou em um aumento na concentração de açúcar solúvel e amido na folha, assim como de açúcar solúvel na raiz, sob ambas as condições de CO<sub>2</sub> avaliadas, em relação as plântulas não tratadas com Se (Figura 4a-b). No entanto, o tratamento com Se resultou em uma redução na concentração de proteína nas folhas de plântulas sob aCO<sub>2</sub> (23%) e eCO<sub>2</sub> (38%), em comparação com as não tratadas com Se dentro de cada condição de CO<sub>2</sub> (Figura 4c).

Houve uma interação significativa entre Se e CO<sub>2</sub> nas concentrações de açúcar solúvel e amido nas raízes de plântulas de arroz (Figura 4a-b). Um aumento de 13% na concentração de açúcar solúvel e 26% na concentração de amido foi observado nas raízes de plântulas não tratadas com Se e cultivadas sob eCO<sub>2</sub> em comparação com aquelas cultivadas sem o tratamento com Se sob aCO<sub>2</sub> (Figura 4a-b). A concentração de açúcar solúvel aumentou nas raízes de plântulas tratadas com Se sob eCO<sub>2</sub>, em comparação com aquelas tratadas sob aCO<sub>2</sub> (Figura 4a). No

entanto, o tratamento com Se sob eCO<sub>2</sub> resultou em uma diminuição de 16% na concentração do amido nas raízes, quando comparado com as raízes de plântulas não tratadas com Se sob eCO<sub>2</sub> (Figura 4b).

Sob eCO<sub>2</sub>, foi observado uma redução significativa na concentração total de proteína presente na folha e de aminoácidos nas raízes, independentemente do tratamento com Se, em relação às condições de aCO<sub>2</sub> e correspondente tratamento com Se (Figura 4c-d). Em contraste, as raízes de plântulas tratadas e não tratadas com Se sob eCO<sub>2</sub> apresentaram aumentos de 50% e 31% na concentração total de proteínas, respectivamente, quando comparadas às plântulas cultivadas sob aCO<sub>2</sub> (Figura 4c).

Dada a evidência de que plantas expostas à eCO<sub>2</sub> apresentam maiores concentrações de açúcares solúveis (Saksena e Laxmi, 2021), e que esses açúcares funcionam como moléculas sinalizadoras que regulam a transcrição gênica e o crescimento das plantas por meio de interações com hormônios (Mishra et al., 2022), foi quantificado as concentrações de glicose, frutose e sacarose nas folhas e raízes das plântulas de arroz. Observou-se que a concentração de glicose na folha foi maior sob eCO<sub>2</sub> em comparação com aCO<sub>2</sub>, independentemente do tratamento com Se (Figura 5a). Na raiz, o tratamento sob eCO<sub>2</sub> resultou em um aumento de 150% na concentração de glicose nas plântulas de arroz não tratadas com Se, em comparação as plântulas não tratadas com Se sob aCO<sub>2</sub> (Figura 5a). Por outro lado, não foram observados efeitos significativos do CO<sub>2</sub> nas concentrações de frutose e sacarose (Figura 5 b-c). Além disso, o tratamento com Se resultou em aumento significativo nas concentrações de frutose e sacarose tanto na folha quanto na raiz, bem como aumentou a concentração de glicose na folha de plântulas de arroz sob ambas as concentrações de CO<sub>2</sub> em comparação com aquelas não tratadas com Se (Figura 5a-c).

Os resultados também mostraram um aumento significativo na concentração de Se nas folhas e raízes de plântulas tratadas com Se dentro de cada condição de CO<sub>2</sub> (Figura 5d). No entanto, não foram observadas diferenças significativas na concentração de Se nas folhas e raízes de plântulas de arroz entre as condição de CO<sub>2</sub> ambiente e elevado (Figura 5d).

### 3.3 Alterações anatômicas na folha e raiz de plântulas de arroz sob elevada

concentração de CO<sub>2</sub> e selênio

O tratamento com Se modificou a anatomia radicular das plântulas de arroz mantidas sob ambas as concentrações de CO<sub>2</sub> avaliadas (Figura 6a-d). As células do córtex na zona de diferenciação da raiz de plântulas tratadas com Se apresentaram maior comprimento e área (Figura 6a-c). Isso resultou em um menor número de células quando avaliadas longitudinalmente, em comparação com aquelas que não receberam o tratamento com Se dentro de cada condição de CO<sub>2</sub> (Figura 6d). Sob eCO<sub>2</sub>, a área das células do córtex da zona de diferenciação da raiz aumentou 30% em plântulas não fertilizadas com Se e 22% nas fertilizadas com Se, em comparação com aCO<sub>2</sub> e correspondente tratamento com Se (Figura 6c).

O Se afetou o diâmetro da zona de diferenciação da raiz sob aCO<sub>2</sub>, reduzindo em 10% em comparação com as raízes não tratadas com Se sob aCO<sub>2</sub> (Figura 7a-b). A condição de eCO<sub>2</sub> aumentou o diâmetro da raiz, o diâmetro do cilindro vascular e a espessura da epiderme na zona de diferenciação de raízes, tanto em plântulas tratadas com Se quanto as não tratadas com Se, em comparação com as plântulas sob aCO<sub>2</sub> e respectivo tratamento com Se (Figura 7a-d). A espessura do parênquima cortical aumentou em 25% sob eCO<sub>2</sub> apenas em plântulas tratadas com Se, em comparação com aquelas tratadas com Se sob aCO<sub>2</sub> (Figura 7e).

No geral, a anatomia foliar de plântulas de arroz submetidas ao tratamento com Se e diferentes concentrações de CO<sub>2</sub> não apresentou variações significativas (Figura S1). A exceção foi a área das células buliformes, que se mostrou maior nas plântulas sob eCO<sub>2</sub> em ambos os tratamentos com Se, em comparação aquelas sob aCO<sub>2</sub> e respectivo tratamento com Se (Figura S1b).

#### **4. DISCUSSÃO**

O desenvolvimento adequado da arquitetura radicular é essencial para a eficiência na absorção de água e minerais pelas plantas, sendo regulado por hormônios, com destaque para a auxina, que promove o alongamento e a divisão celular, contribuindo para a formação das raízes laterais (Jan et al., 2024). Esse controle é mediado pelo gradiente de auxina na raiz, que depende da interação entre sua biossíntese, transporte, percepção e sinalização (Olatunji et al., 2017). No presente estudo, o tratamento com Se reduziu significativamente a concentração de

auxina da raiz, independentemente das condições de CO<sub>2</sub> (Figura 2a). Em contraste, a expressão dos genes *Os/AA3*, *Os/AA11* e *Os/AA20*, pertencentes à família AUXIN/INDOLE-3-ACETIC ACID (AUX/IAA), apresentou padrões distintos: foi aumentada pelo Se sob aCO<sub>2</sub> e reduzida sob eCO<sub>2</sub> (Figura 3a-c). Essas proteínas atuam como reguladores negativos da auxina, inibindo a divisão celular do periciclo e, conseqüentemente afetando a formação de raízes laterais (Bao et al., 2024). Sob aCO<sub>2</sub>, as plântulas tratadas com Se apresentaram raízes primárias mais longas, mas raízes laterais mais curtas e em menor número (Figura 1a, b, e). Esses dados sugerem que o aumento na expressão dos genes AUX/IAA induzido pelo Se reduz a concentração de auxina nas raízes, ativando vias que favorecem o alongamento da raiz primária (Figura 1b), enquanto inibe o crescimento das raízes laterais (Figura 1c, e). Em contraste, a combinação de Se e eCO<sub>2</sub> aumentou tanto o comprimento da raiz primária quanto o comprimento e número de raízes laterais (Figura 1a, b, e), sugerindo que, sob eCO<sub>2</sub>, o alongamento da raiz primária de plântulas tratadas com Se parece ser regulado por mecanismos adicionais, possivelmente independentes das vias tradicionais de sinalização e resposta à auxina.

Um dos mecanismos que pode explicar o aumento do crescimento radicular em plântulas tratadas com Se e eCO<sub>2</sub> é a atividade das expansinas, proteínas que facilitam o relaxamento da parede celular, promovendo o alongamento celular e o crescimento das raízes (Cosgrove, 2016). Consistente com essa hipótese, as raízes suplementadas com Se e eCO<sub>2</sub> apresentaram aumento significativo na expressão dos genes *OsEXPA8*, *OsEXPA14* e *OsEXPB2* em relação a plantas tratadas isoladamente com Se ou eCO<sub>2</sub> (Figura 3d-f). Embora as citocininas sejam conhecidas por ativar expansinas e promover a diferenciação celular (Svolacchia et al., 2020), os níveis de zeatina e isopenteniladenina permaneceram inalterados entre os tratamentos (Figura 2b-c). Outros hormônios também regulam a expansão da parede celular. A auxina, por exemplo, estimula a atividade das bombas de prótons H<sup>+</sup>-ATPase na membrana plasmática, que transportam prótons para a matriz da parede celular, promovendo a acidificação do apoplasto e, assim, ativando as expansinas (Majda e Robert, 2018). Ensaio realizado por Arru et al. (2008) sugerem ainda uma interação entre açúcares e auxina na regulação das expansinas em tomateiro, mostrando que a sacarose ativa a auxina, que, por sua vez, promove a produção ou ativação dessas proteínas. Alinhados com essa observação, os resultados encontrados indicam que a

combinação de Se e eCO<sub>2</sub> aumentou a concentração de açúcares solúveis nas raízes, elevou a expressão de genes relacionados às expansinas e resultou em maior concentração de auxina (Figuras 2a, 3d-f e 4a). Esse conjunto de alterações sugere que a interação entre açúcares, auxina e expansinas é um fator chave para o aumento do crescimento da raiz primária em plântulas de arroz tratadas com Se e cultivadas sob eCO<sub>2</sub>.

A exposição ao eCO<sub>2</sub> não impactou significativamente o comprimento da raiz primária, a altura da parte aérea, o comprimento e o número de raízes laterais das plântulas de arroz não tratadas com Se, quando comparado às plântulas expostas somente a aCO<sub>2</sub> (Figura 1). A fertilização com CO<sub>2</sub> é conhecida por estimular a fotossíntese em plantas C3, o que, em geral, promove o crescimento vegetal (Sanchez-Lucas et al., 2023). No entanto, as plântulas de arroz não tratadas com Se sob eCO<sub>2</sub> não exibiram alterações no crescimento, possivelmente devido ao curto período de exposição ao eCO<sub>2</sub> (5 dias) e ao estágio inicial de desenvolvimento das plântulas. Por outro lado, a combinação de Se e eCO<sub>2</sub> resultou em aumentos mais acentuados na altura da parte aérea, no comprimento da raiz primária e no comprimento, número e volume das raízes laterais, em comparação com as plântulas de arroz tratadas com Se sob aCO<sub>2</sub> (Figura 1a-f). Além disso, o comprimento da raiz primária e o número de raízes laterais foram maiores no tratamento combinado de Se e eCO<sub>2</sub> em relação as plântulas não tratadas com Se sob eCO<sub>2</sub> (Figura 1b, e). Esses achados indicam que a combinação de Se e eCO<sub>2</sub> promove uma morfologia aprimorada das plântulas de arroz em comparação as tratadas com Se sob aCO<sub>2</sub> ou apenas com eCO<sub>2</sub>. Diversos fatores podem explicar este resultado. Primeiramente, uma possível explicação se relaciona ao aumento da concentração de auxina nas raízes sob eCO<sub>2</sub>, independentemente do tratamento com Se (Figura 2a). Estudo anteriores com *Festuca arundinacea* e *Arabidopsis thaliana* mostraram que o crescimento radicular induzido pelo eCO<sub>2</sub> está associado a uma maior expressão dos genes relacionados à biossíntese e ao transporte de auxina, bem como ao aumento da concentração desse hormônio nas raízes (Hachiya et al., 2014; Fan et al., 2022). Os resultados do presente estudo corroboram essas evidências, sugerindo que o eCO<sub>2</sub> modula tanto a biossíntese quanto a expressão de genes de resposta à auxina, promovendo alterações no crescimento e desenvolvimento do sistema radicular.

Outra explicação para a melhoria na morfologia das plântulas de arroz sob tratamento combinado de Se e eCO<sub>2</sub> envolve a interação entre as vias de sinalização

de açúcares e hormônios. As auxinas, por exemplo, interagem com os açúcares na regulação da expansão, proliferação e diferenciação celular (Mishra et al., 2022). Sabe-se que moléculas como sacarose e glicose atuam como sinalizadores, induzindo a expressão de genes que promovem a progressão do ciclo celular e a divisão celular (Riou-Khamlichi et al., 2000). Além disso, estudos mostraram que o aumento de glicose, frutose e sacarose nas raízes e na parte aérea de plântulas de arroz tratadas com Se modula o crescimento das raízes laterais por meio da ação da auxina (Malheiros et al., 2019). Esses achados indicam que concentrações mais elevadas de açúcares solúveis e de auxina em plântulas tratadas com Se em combinação com eCO<sub>2</sub> (Figuras 2a e 4a) podem explicar o crescimento acentuado tanto da parte aérea quanto da arquitetura do sistema radicular de arroz (Figura 1).

A combinação de Se com eCO<sub>2</sub> também impactou a concentração de proteínas totais nas raízes e folhas das plântulas de arroz. Foi observado que a concentração de proteínas totais aumentou nas raízes e foi reduzida nas folhas sob tratamento combinado (Figura 4c). Esse padrão pode ser explicado por um maior investimento em órgãos subterrâneos para aumentar a aquisição de recursos do solo. Raízes dependem dos assimilados provenientes da parte aérea e seu desenvolvimento pode ser significativamente afetado por diferentes concentrações de CO<sub>2</sub> e nitrogênio (Cohen et al., 2018). O aumento na concentração de açúcares nas raízes sob eCO<sub>2</sub> sugere um redirecionamento de recursos para essa parte da planta, resultando em maior síntese de proteínas. Além disso, o eCO<sub>2</sub> pode melhorar a eficiência no uso de nitrogênio, facilitando sua assimilação pelas raízes e contribuindo para uma maior produção de proteínas (Li et al., 2017). Por outro lado, o Se regulou negativamente o desenvolvimento da parte aérea e a concentração de proteínas nas folhas de plântulas de arroz sob aCO<sub>2</sub> (Figuras 1 e 4c). Essa redução pode estar relacionada ao impacto do Se no metabolismo de nitrogênio. A síntese de proteínas é um processo energeticamente custoso e pode ser priorizada em condições de alta disponibilidade de carbono (Ishihara et al., 2015). A manutenção dos níveis de aminoácidos totais, o aumento dos açúcares solúveis e a redução das proteínas totais nas folhas podem refletir uma resposta adaptativa ao Se, direcionando recursos para otimizar o crescimento radicular em detrimento do desenvolvimento foliar. No entanto, o aumento do crescimento foliar no tratamento combinado de Se e eCO<sub>2</sub> parece ter diluído a concentração de proteínas na parte aérea, resultando em uma redução nas proteínas totais observada nas folhas (Figuras 1 e 4c).

A fertilização com Se aumentou o acúmulo de açúcares solúveis nas folhas e raízes de plântulas de arroz cultivadas sob aCO<sub>2</sub>, enquanto os níveis de proteína total e amido nas raízes permaneceram inalterados (Figura 4a-c). Esse acúmulo de açúcares pode estar relacionado ao menor consumo de carbono observado nas plântulas tratadas com Se, conforme indicado pelo menor alongamento da parte aérea e redução no número e comprimento das raízes laterais. Tais alterações morfológicas podem estar associadas a uma menor demanda por energia para crescimento, o que sugere um ajuste metabólico promovido pelo Se para otimizar a utilização de recursos em condições de aCO<sub>2</sub>. De fato, Ribeiro et al. (2016) relataram que o Se pode atuar como inibidor do ciclo do ácido tricarboxílico (TCA), interrompendo processos mitocondriais e limitando a utilização de amido em *Arabidopsis*.

Um aspecto crucial do crescimento das plantas é o ajuste da partição da biomassa para equilibrar as limitações impostas pelos recursos essenciais, como luz, nutrientes e água (Hutchings e John, 2004). A relação parte aérea/raiz (PA/R) é um índice fundamental para avaliar a alocação de biomassa em plantas, refletindo diretamente na competição e cooperação entre raízes e parte aérea para adquirir os recursos necessários à sobrevivência e adaptação em ambientes variáveis e complexos (Hermans et al., 2006). No presente estudo, observou-se uma redução na relação PA/R em plântulas de arroz tratadas com Se, independentemente das condições de CO<sub>2</sub> (Figura 1g). Esse resultado sugere que o Se promove um maior investimento em raízes, o que pode ser benéfico em situações de baixa disponibilidade de água ou nutrientes. No entanto, sob aCO<sub>2</sub>, o incremento no comprimento da raiz primária em plantas tratadas com Se não foi suficiente para aumentar o volume radicular, uma vez que o número e o comprimento das raízes laterais foram significativamente menores, assim como a altura da parte aérea, em comparação com plantas não tratadas com Se (Figura 1). Por outro lado, as plântulas suplementadas com Se e sob eCO<sub>2</sub> apresentaram melhorias significativas em todos os parâmetros morfológicos avaliados, incluindo comprimento e número de raízes laterais, volume radicular e altura da parte aérea (Figura 1). Embora a relação PA/R tenha permanecido similar entre as concentrações de CO<sub>2</sub>, o maior investimento em raízes foi observado sob eCO<sub>2</sub>, indicando que a combinação de Se e eCO<sub>2</sub> promove um crescimento mais equilibrado e eficiente das plântulas.

O enriquecimento com CO<sub>2</sub> influenciou significativamente a anatomia radicular das plântulas de arroz, promovendo um aumento no diâmetro da raiz, no

diâmetro do cilindro vascular, na área das células corticais e na espessura da epiderme na zona de diferenciação, independentemente do tratamento com Se (Figuras 6 e 7). Essas mudanças estruturais parecem estar relacionadas à maior disponibilidade de carbono em ambientes enriquecidos com CO<sub>2</sub>, visto que aumenta a assimilação de carbono e favorece a alocação de recursos para o crescimento radicular (Ainsworth et al., 2006). Alinhados com essa observação, as raízes tratadas com eCO<sub>2</sub> apresentaram concentrações mais elevadas de açúcares solúveis (Figura 4a). O aumento na expressão dos genes de expansinas pode, em parte, também explicar o crescimento e a expansão celular observados na zona de diferenciação das raízes em plântulas tratadas com Se sob eCO<sub>2</sub> (Figura 3d-f). Essa maior expressão de genes relacionados a expansinas indica que a remodelação da parede celular pode ser um dos principais mecanismos envolvido nas mudanças estruturais observadas nas raízes tratadas com Se sob eCO<sub>2</sub>.

Estudos mostram que a auxina regula a expansão das células epidérmicas das raízes, facilitando o crescimento de pelos radiculares (Huang et al., 2022), os quais são essenciais na absorção eficiente de água e nutrientes (Carminati et al., 2017). Esses achados são consistentes com os resultados deste estudo, uma vez que o aumento da concentração de auxina na raiz foi acompanhado por um incremento na espessura da epiderme e no volume radicular (Figuras 1d, 2a e 7d). Essas adaptações anatômicas parecem ser respostas adaptativas ao eCO<sub>2</sub>, redirecionando o carbono para as raízes e otimizando a relação parte aérea/raiz em plântulas de arroz. Embora não tenham sido observadas alterações significativas no diâmetro médio das raízes, as modificações anatômicas sugerem uma adaptação estrutural que pode conferir vantagens sob condições de eCO<sub>2</sub> a longo prazo.

Outro achado relevante foi o aumento do comprimento e área das células corticais nas raízes fertilizadas com Se, independentemente do tratamento com CO<sub>2</sub> (Figura 6), que parece estar associada as concentrações de açúcares solúveis. Ademais, o aumento na expressão dos genes *OsEXPA8*, *OsEXPA14* e *OsEXPB2* também pode explicar parcialmente o maior crescimento celular observados nas raízes tratadas com Se sob eCO<sub>2</sub>. No entanto, são necessários estudos adicionais para elucidar completamente os mecanismos pelos quais o Se e o eCO<sub>2</sub> interagem para promover melhorias nos parâmetros anatômicos na zona de diferenciação das raízes em plântulas de arroz.

Os resultados do presente estudo são resumidos em um modelo apresentado na Figura 8, no qual a aplicação de Se influenciou o crescimento radicular de plântulas de arroz de maneira distinta, dependendo da concentração de  $\text{CO}_2$ . O tratamento com Se sob  $\text{aCO}_2$  provocou uma redução nas concentrações de auxina, resultando na diminuição do número e comprimento das raízes laterais em plântulas de arroz. Paralelamente, a inibição da biossíntese de auxina e o acúmulo de açúcares induzidos pelo Se sob  $\text{aCO}_2$  promoveram o aumento do comprimento da raiz primária. Essa inibição do crescimento das raízes laterais implica que os açúcares são utilizados mais lentamente nas raízes de plântulas tratadas com Se sob  $\text{aCO}_2$ . Por outro lado, a combinação de Se com  $\text{eCO}_2$  aumentou as concentrações de auxina, açúcares e o nível de expressão das expansinas nas raízes, o que resultou em um maior número e comprimento das raízes laterais, aumento da área das células na zona de diferenciação e maior comprimento da raiz primária. Além disso, o incremento das concentrações de açúcares na parte aérea e nas raízes foi acompanhado por um crescimento mais vigoroso das plântulas tratadas com Se e  $\text{eCO}_2$ .

## 5. CONCLUSÕES

O Se desempenha um papel crucial na modulação da ASR das plântulas de arroz, através da inibição da biossíntese de auxina. Por outro lado, o  $\text{eCO}_2$  estimula o crescimento radicular ao elevar a produção de auxina e o acúmulo de açúcares solúveis nas raízes do arroz. A combinação de Se e  $\text{eCO}_2$  melhora a ASR das plântulas de arroz, em comparação aos efeitos isolados desses tratamentos, a partir das interações complexas entre a disponibilidade de açúcares solúveis, atividade de expansinas e os níveis de auxina. Além disso, a combinação de Se e  $\text{eCO}_2$  induz alterações anatômicas e influencia a alocação de biomassa entre raízes e parte aérea, destacando-se como uma estratégia potencial para otimizar o desenvolvimento radicular e a eficiência de uso de recursos em condições de ambiente enriquecido em  $\text{CO}_2$ .

## REFERÊNCIAS

- ARRU, L., ROGNONI, S., POGGI, A., LORETI, E. Effect of sugars on auxin-mediated LeEXPA2 gene expression. **Plant Growth Regulation**, v. 55, p.11-20, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10725-007-9252-5>
- BAO, Y., ZOU, Y., HUANG, X., REHMAN, M., LIU, C., SHI, S., PENG, D., FAHAD, X., WANG, B. Genome-wide analysis and expression characteristics of Small Auxin-up RNAs genes in flax (*Linum usitatissimum* L.). **Industrial Crops and Products**, v. 217, p. 118874, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2024.118874>
- BOOKER, K. S., SCHWARZ, J., GARRETT, M. B., JONES, A. M. Glucose attenuation of auxin-mediated bimodality in lateral root formation is partly coupled by the heterotrimeric G protein complex. **PLOS One**, v. 5, n. 9, e12833, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0012833>
- CARMINATI, A., PASSIOURA, J. B., ZAREBANADKOUKI, M., AHMED, M. A., RYAN, P. R., WATT, M., DELHAIZE, E. Root hairs enable high transpiration rates in drying soils. **New Phytologist**, v. 216, n. 3, p. 771-781, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1111/nph.14715>
- COHEN, I., RAPAPORT, T., BERGER, R. T., RACHMILEVITCH, S. The effects of elevated CO<sub>2</sub> and nitrogen nutrition on root dynamics. **Plant Science**, v. 272, p. 294–300, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2018.03.034>
- COSGROVE, D. J. Plant cell wall extensibility: connecting plant cell growth with cell wall structure, mechanics, and the action of wall-modifying enzymes. **Journal of experimental botany**, v. 67, n. 2, p. 463-476, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1093/jxb/erv511>
- CROSS, J. M., SCHULZE, W. X., SIVAKUMARAN, S., CARROLL, A. J., WECKWERTH, W. Variation of enzyme activities and metabolite levels in 24 *Arabidopsis* accessions growing in carbon-limited conditions. **Plant Physiology**, v. 142, n. 4, p. 1574–1588, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.106.086629>
- DAI, Z., IMTIAZ, M., RIZWAN, M., YUAN, Y., HUANG, H., TU, S. Dynamics of selenium uptake, speciation, and antioxidant response in rice at different panicle initiation stages. **Science of the Total Environment**, v. 691, p. 827–834, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.07.186>
- DONG, J., HUNT, J., DELHAIZE, E., ZHENG, S. J., JIN, C. W., TANG, C. Impacts of elevated CO<sub>2</sub> on plant resistance to nutrient deficiency and toxic ions via root exudates: A review. **Science of the Total Environment**, v. 754, p. 142434, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142434>
- DUAN, M., CHENG, S., LU, R., LAI, R., LAI, R. F., ZHENG, A. X., ASHRAF, U., FAN, P. S., DU, B., LUO, H. W., TANG, X. R. Effect of foliar sodium selenate on leaf

- senescence of fragrant rice in South China. **Applied Ecology and Environmental Research**, v. 17, n. 2, p. 3343–3351, 2019. DOI: [https://doi.org/10.15666/aeer/1702\\_33433351](https://doi.org/10.15666/aeer/1702_33433351)
- DUBROVSKY, J. G.; LASKOWSKI, M. Lateral root initiation. Encyclopedia of applied plant sciences. **Elsevier**, p. 256-264, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394807-6.00053-9>
- EL MEHDAWI, A. F., JIANG, Y., GUIGNARDI, Z. S., ESMAT, A., PILON, M., PILON-SMITS, E. A. H., SCHIAVON, M. Influence of sulfate supply on selenium uptake dynamics and expression of sulfate/selenate transporters in selenium hyperaccumulator and non-hyperaccumulator Brassicaceae. **New Phytologist**, v. 217, n. 1, p. 194–205, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1111/nph.14838>
- FAN, N., YANG, Z., HAO, T., ZHUANG, L., XU, Q., YU, J. Differential effects of elevated atmosphere CO<sub>2</sub> concentration on root growth in association with regulation of auxin and cytokinins under different nitrate supply. **Environmental and Experimental Botany**, v. 201, p. 104943, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2022.104943>
- FRESCHET, G. T., ROUMET, C., COMAS, L. H., WEEMSTRA, M., BENGOUGH, A. G., REWALD, B., STOKES, A. (2021). Root traits as drivers of plant and ecosystem functioning: current understanding, pitfalls and future research needs. **New Phytologist**, v. 232, n. 3, p. 1123-1158, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1111/nph.17072>
- GRIFFITHS, C. A., PAUL, M. J., FOYER, C. H. Metabolite transport and associated sugar signaling systems underpinning source/sink interactions. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics**, v. 1857, n. 11, p. 1715-1725, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2016.07.007>
- HACHIYA, T., SUGIURA, D., KOJIMA, M., SATO, S., YANAGISAWA, S., SAKAKIBARA, H., NOGUCHI, K. High CO<sub>2</sub> triggers preferential root growth of *Arabidopsis thaliana* via two distinct systems under low pH and low N stresses. **Plant and Cell Physiology**, v. 55, n. 2, p. 269-280, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1093/pcp/pcu001>
- HERMANS, C., HAMMOND, J. P., WHITE, P. J., VERBRUGGEN, N. How do plants respond to nutrient shortage by biomass allocation?. **Trends in Plant Science**, v. 11, n. 12, p. 610-617, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2006.10.007>
- HOAGLAND, D. R., ARNON, D. I. Preparing the nutrient solution. The Water-Culture Method for Growing Plants without Soil, v. 347, p. 29-31, 1950.
- HUANG, G., KILIC, A., KARADY, M., ZHANG, J., MEHRA, P., SONG, X., PANDEY, B. K. Ethylene inhibits rice root elongation in compacted soil via ABA- and auxin-mediated mechanisms. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 119, n. 30, p. 2201072119, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.2201072119>

- HUTCHINGS, M. J., JOHN, E. A. The effects of environmental heterogeneity on root growth and root/shoot partitioning. **Annals of Botany**, v. 94, n. 1, p. 1-8, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1093/aob/mch111>
- ISHIHARA, H., OBATA, T., SULPICE, R., FERNIE, A. R., STITT, M. Quantifying protein synthesis and degradation in *Arabidopsis* by dynamic CO<sub>2</sub> labeling and analysis of enrichment in individual amino acids in their free pools and in protein. **Plant Physiology**, v.168, n. 1, p. 74-93, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.15.00209>
- JAN, M., MUHAMMAD, S., JIN, W., ZHONG, W., ZHANG, S., LIN, Y., WANG, G. Modulating root system architecture: Cross-talk between auxin and phytohormones. **Frontiers in Plant Science**, v. 15, p. 1343928, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1343928>
- JIA, H., SONG, Z., WU, F., MA, M., LI, Y., HAN, D., YANG, Y., ZHANG, S., CUI, H. Low selenium increases the auxin concentration and enhances tolerance to low phosphorous stress in tobacco. **Environmental and experimental botany**, v. 153, p. 127-134, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2018.05.017>
- JOHANSEN, D. **Plant Microtechnique**. Ed.1. Mcgraw Hill Book Company Inc London. p. 182-197, 1940.
- KAWAI, T., AKAHOSHI, R., SHELLY, I. J., KOJIMA, T., SATO, M., TSUJI, H., INUKAI, Y. Auxin distribution in lateral root primordium development affects the size and lateral root diameter of rice. **Frontiers in Plant Science**, v. 13, p. 834378, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.834378>
- KOŚCIELNIAK, P., GLAZIŃSKA, P., KĘSY, J., ZADWORNÝ, M. Formation and development of taproots in deciduous tree species. **Frontiers in Plant Science**, v. 12, p. 772567, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.772567>
- LAL, R. Soil management for carbon sequestration. **South African Journal of Plant and Soil**, v. 38, n. 3, p. 231-237, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1080/02571862.2021.1891474>
- LEWIS, D. R., NEGI, S., SUKUMAR, P., MUDAY, G. K. Ethylene inhibits lateral root development, increases IAA transport and expression of PIN3 and PIN7 auxin efflux carriers. **Development**, v. 138, n. 16, p. 3485-3495, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1242/dev.065102>
- LI, R., ZHENG, W., JIANG, M., ZHANG, H. A review of starch biosynthesis in cereal crops and its potential breeding applications in rice (*Oryza sativa* L.). **PeerJ**, v. 9, p. 12678, 2021. DOI: <https://doi.org/10.7717/peerj.12678>
- LI, S.-W. Molecular bases for the regulation of adventitious root generation in plants. **Frontiers in Plant Science**, v. 12, p. 614072, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.614072>

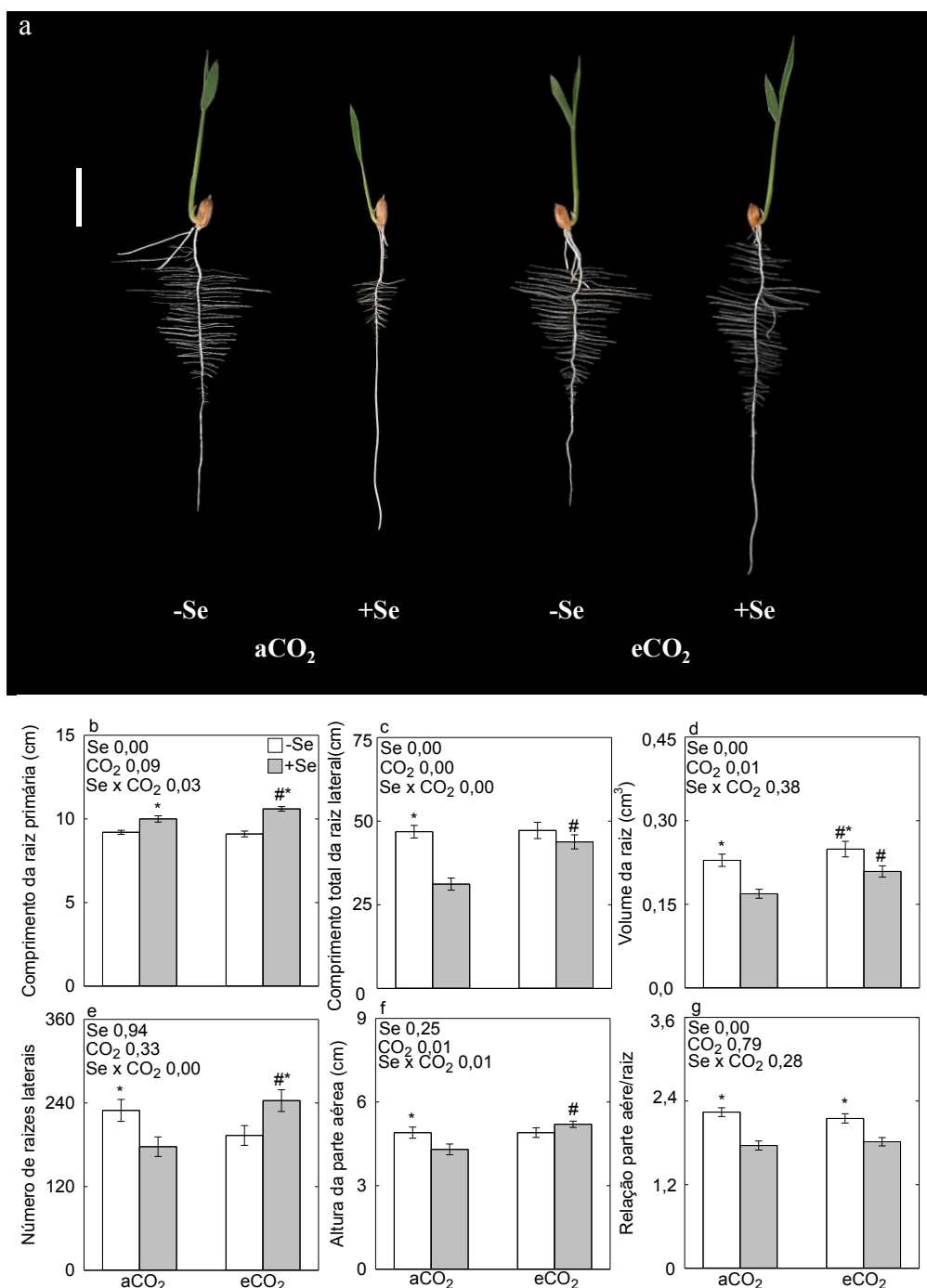
- LI, Y., YU, Z., LIU, X., MATHESIUS, U., WANG, G., TANG, C., JIN, J. Elevated CO<sub>2</sub> increases nitrogen fixation at the reproductive phase contributing to various yield responses of soybean cultivars. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, p. 1546, 2017. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01546>
- LOHAR, D. P., SCHAFF, J. E., LASKEY, J. G., KIEBER, J. J., BILYEU, K. D., BIRD, D. M. Cytokinins play opposite roles in lateral root formation, and nematode and Rhizobial symbioses. **The Plant Journal**, v. 38, p. 203-214, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2004.02038.x>
- LUO, Y., WEI, Y., SUN, S., WANG, J., WANG, W., HAN, D., SHAO, H., JIA, H., FU, Y. Selenium modulates the level of auxin to alleviate the toxicity of cadmium in tobacco. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 15, p. 3772, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms20153772>
- MAJDA, M., ROBERT, S. The role of auxin in cell wall expansion. **International journal of molecular sciences**, v. 19, n. 4, p. 951, 2018. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms19040951>
- MALHEIROS, R. S., DE SOUZA, R. R., COSTA, L. C., ÁVILA, R. T. Selenium downregulates auxin and ethylene biosynthesis in rice seedlings to modify primary metabolism and root architecture. **Planta**, v. 250, p. 333-345, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00425-019-03175-6>
- MISHRA, B. S., SHARMA, M., LAXMI, A. Role of sugar and auxin crosstalk in plant growth and development. **Physiologia Plantarum**, v. 174, n. 1, p.13546, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1111/ppl.13546>
- MISHRA, B. S., SINGH, M., AGGRAWAL, P., LAXMI, A. Glucose and auxin signaling interaction in controlling *Arabidopsis thaliana* seedlings root growth and development. **PLoS One**, v. 4, n. 2, p. 4502, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0004502>
- O'BRIEN, T. P., FEDER, N., MCCULLY, M. E. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue. **Protoplasma**, v. 59, p. 368-373, 1964. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF01267929>
- OLATUNJI, D., GEELLEN, D., VERSTRAETEN, I. Control of endogenous auxin levels in plant root development. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 12, p. 2587, 2017. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms18122587>
- PETERSON, W. R., BARBER, S. A. Soybean root morphology and K uptake. **Agronomy Journal**, v. 73, n. 2, p. 316-319, 1981. DOI: <https://doi.org/10.2134/agronj1981.00021962007300020038x>
- QIN, H., ZHANG, Y., WANG, M., HUANG, R. Abscisic acid promotes auxin biosynthesis to inhibit primary root elongation in rice. **Plant Physiology**, v. 191, n. 3, p. 1953-1967, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1093/plphys/kiac586>

- REIS, G. C. L., GUIDI, L. R., FERNANDES, C., GODOY, H. T., GLORIA, M. B. Método UPLC-UV para quantificação de aminoácidos livres, amins bioativas e amônia em cogumelos frescos, cozidos e enlatados. **Food Analytical Methods**, v. 13, n. 7, p. 1613–1626, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12161-020-01777-5>
- RIBEIRO, D. M., SILVA JUNIOR, D. D., CARDOSO, F. B., MARTINS, A. O., SILVA, W. A., NASCIMENTO, V. L., ARAÚJO, W. L. Growth inhibition by selenium is associated with changes in primary metabolism and nutrient levels in *Arabidopsis thaliana*. **Plant, Cell & Environment**, v. 39, n. 10, p. 2235-2246, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1111/pce.12783>
- RIOU-KHAMLICHI, C., MENGES, M., HEALY, J. S., MURRAY, J. A. Sugar control of the plant cell cycle: differential regulation of *Arabidopsis* D-type cyclin gene expression. **Molecular and Cellular Biology**, v. 20, n. 13, p. 4513-4521, 2000. DOI: <https://doi.org/10.1128/MCB.20.13.4513-4521.2000>
- ROGERS, E. D., BENFEY, P. N. Regulation of plant root system architecture: implications for crop advancement. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 32, p. 93-98, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2014.11.015>
- SAIRANEN, I., NOVÁK, O., PĚNČÍK, A., IKEDA, Y., JONES, B., SANDBERG, G., LJUNG, K. Soluble carbohydrates regulate auxin biosynthesis via PIF proteins in *Arabidopsis*. **The Plant Cell**, v. 24, n. 12, p. 4907-4916, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1105/tpc.112.104794>
- SAKSENA, H. B., LAXMI, A. Rooting the Right Way: Role of Glucose Signaling in Regulating Root Development in Plants. **Rhizobiology: Molecular Physiology of Plant Roots**, p. 115-127, 2021. DOI: [https://doi.org/10.1007/978-3-030-84985-6\\_8](https://doi.org/10.1007/978-3-030-84985-6_8)
- SANCHEZ-LUCAS, R., MAYORAL, C., RAW, M., MOUSOURAKI, M. A., LUNA, E. Elevated CO<sub>2</sub> alters photosynthesis, growth and susceptibility to powdery mildew of oak seedlings. **Biochemical Journal**, v. 480, n. 17, p. 1429-1443, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1042/BCJ20230002>
- SCHIPPERS, J. H. M., NUNES-NESE, A., APETREI, R., HILLE, J., FERNIE, A. R., DIJKWEL, P. P. The *Arabidopsis* onset of leaf death5 mutation of quinolinate synthase affects nicotinamide adenine dinucleotide biosynthesis and causes early ageing. **Plant Cell**, v. 20, n. 11, p. 2909-2925, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1105/tpc.107.056341>
- SCHWARTZ, M. F., PETERS, R., HUNT, A. M., ABDUL-MATIN, A. K., VAN DEN BROECK, L., SOZZANI, R. Divide and conquer: the initiation and proliferation of meristems. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 40, n. 2, p. 147-156, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1080/07352689.2021.1915228>
- SENAPATI, M., TIWARI, A., SHARMA, N., CHANDRA, P., BASHYAL, B. M., ELLUR, R. K., BHOWMICK, P. K., BOLLINEDI, H., VINOD, K. K., SINGH, A. K., KRISHNAN, S. G. *Rhizoctonia solani* Kühn pathophysiology: status and

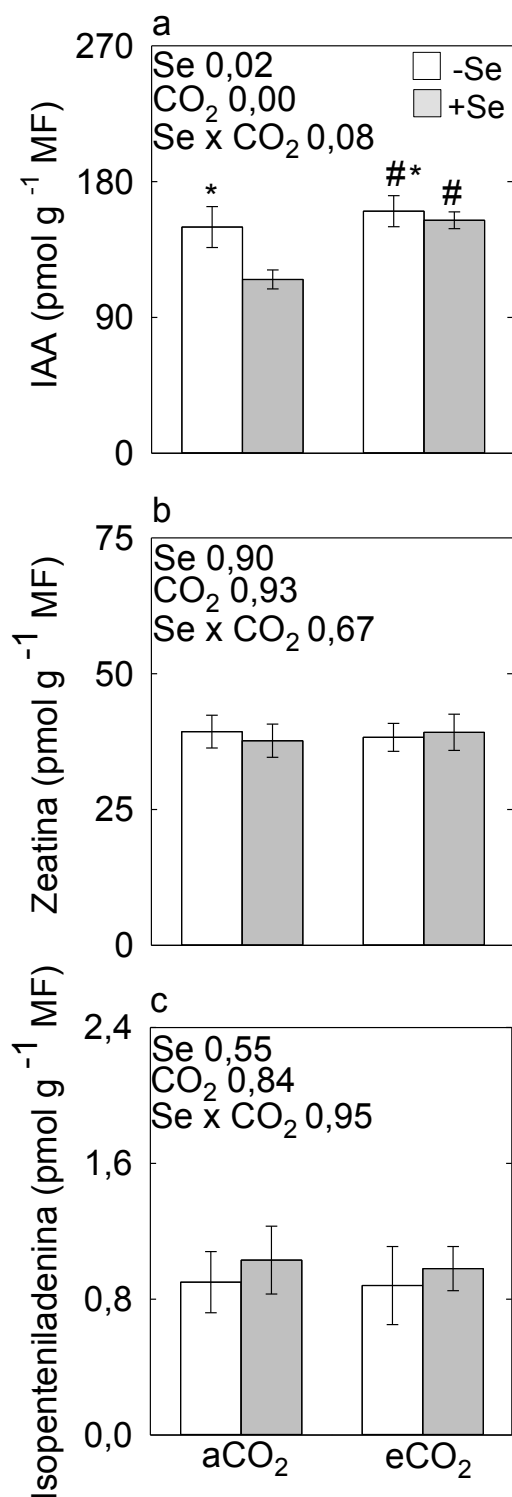
- prospects of sheath blight disease management in rice. **Frontiers in Plant Science**, v. 13, p. 881116, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.881116>
- SHARMA, S., PINSON, S. R., GEALY, D. R., EDWARDS, J. D. Genomic prediction and QTL mapping of root system architecture and above-ground agronomic traits in rice (*Oryza sativa* L.) with a multitrait index and Bayesian networks. **G3: Genes, Genomes, Genetics**, v. 11, n. 10, p. 178, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1093/g3journal/jkab178>
- SINGH, M., GUPTA, A., LAXMI, A. Glucose control of root growth direction in *Arabidopsis thaliana*. **Journal of Experimental Botany**, v. 65, n. 10, p. 2981–2993, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1093/jxb/eru146>
- SVOLACCHIA, N., SALVI, E., SABATINI, S. *Arabidopsis* primary root growth: Let it grow, can't hold it back anymore! **Current Opinion in Plant Biology**, v. 57, p. 133-141, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2020.08.005>
- TEIXEIRA, L. S., MOTA, T. A., LOPEZ, D. J., AMORIM, V. A., ALMEIDA, C. S., SOUZA, G. A., RIBEIRO, D. M. Cytokinin biosynthesis is affected by selenium and nitrate availabilities to regulate shoot and root growth in rice seedlings. **Nitrogen**, v. 5, n. 1, p. 191-201, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3390/nitrogen5010013>
- THOMPSON, M., GAMAGE, D., HIROTSU, N., MARTIN, A., SENEWEERA, S. Effects of elevated carbon dioxide on photosynthesis and carbon partitioning: A perspective on root sugar sensing and hormonal crosstalk. **Frontiers in Physiology**, v. 8, p. 578, 2017. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00578>
- TIWARI, M., BHATIA, S. O perfil de expressão de miRNAs indica interação cruzada entre resposta fito-hormonal e infecção rizobiana em grão-de-bico. **Journal Plant Biochem. Biotechnol.** v. 29, p. 380–394, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13562-019-00545-9>
- WANG, L., RUAN, Y. L. Regulation of cell division and expansion by sugar and auxin signaling. **Frontiers in Plant Science**, v. 4, p. 163, 2013. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00163>.
- WEI, D., QI, Y., MA, Y., WANG, X., MA, W., GAO, T., HUANG, L., ZHAO, H., ZHANG, J., WANG, X. Plant uptake of CO<sub>2</sub> outpaces losses from permafrost and plant respiration on the *Tibetan Plateau*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 118, n. 33, e2015283118, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.2015283118>.
- WERNER, T. S., MOTYKA, V., LAUCOU, V., SMETS, R., VAN ONCKELEN, H., & SCHMÜLLING, T. Cytokinin-deficient transgenic *Arabidopsis* plants show multiple developmental alterations indicating opposite functions of cytokinins in the regulation of shoot and root meristem activity. **The Plant Cell**, v. 15, n. 11, p. 2532–2550, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1105/tpc.014928>.

- YAMOUNE, A., ZDARSKA, M., DEPAEPE, T., RUDOLFOVA, A., SKALAK, J., BERENDZEN, K. W., MIRA-RODADO, V., TARR, P., SPACKOVA, E., BADUROVA, L., PARIZKOVA, B., FRANCZYK, A., KOVACOVA, I., PERNISOVA, M., NOVAK, O., MEYEROWITZ, HARTER, K., STRAETEN, D. V. D., HEJATKO, J. Cytokinins regulate spatially-specific ethylene production to control root growth in *Arabidopsis*. **BioRxiv**, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.xplc.2024.101013>.
- ZHU, J., KAEPLER, S., LYNCH, J. P. Mapping of QTLs for lateral root branching and length in maize (*Zea mays* L.) under differential phosphorus supply. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 111, p. 688–695, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00122-005-2051-3>.
- ZIEGLER, C., KULAWSKA, A., KOURMOULI, A., HAMILTON, L., SHI, Z., MACKENZIE, A. R., DYSON, R., JOHNSTON, I. G. Quantification and uncertainty of root growth stimulation by elevated CO<sub>2</sub> in a mature temperate deciduous forest. **Science of the Total Environment**, v. 854, p. 158661, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.158661>.

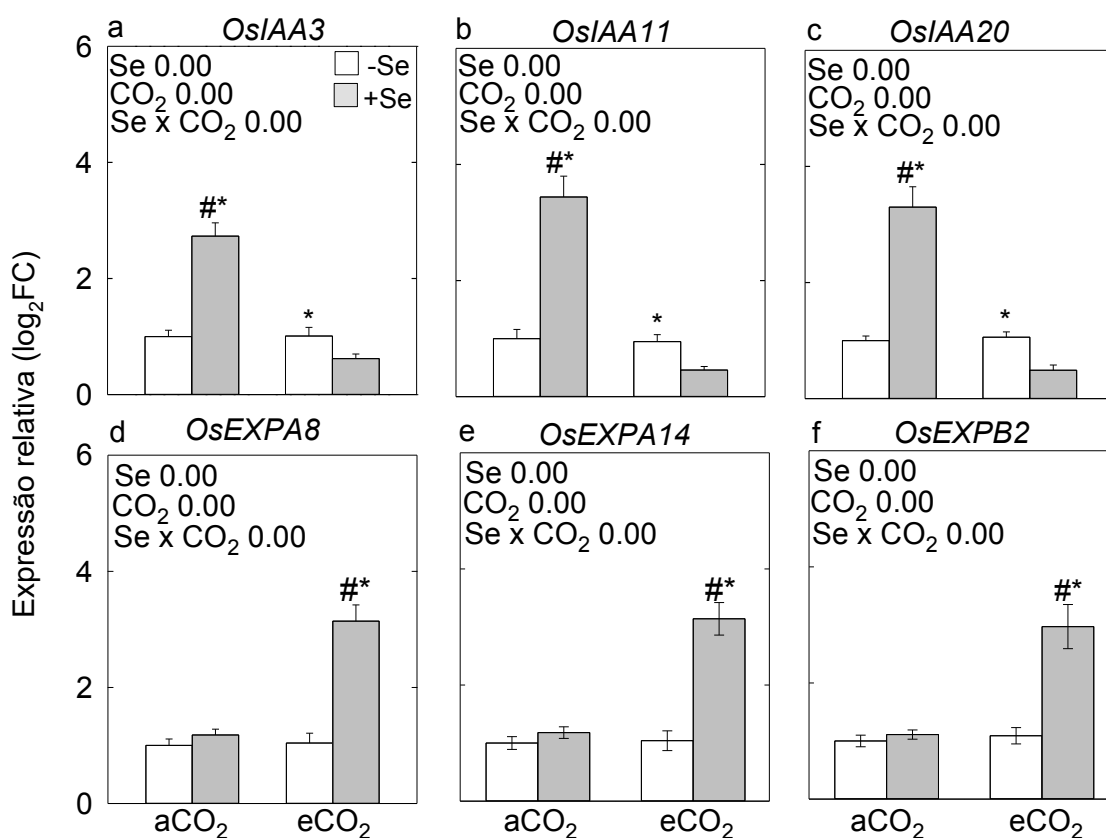
## FIGURAS



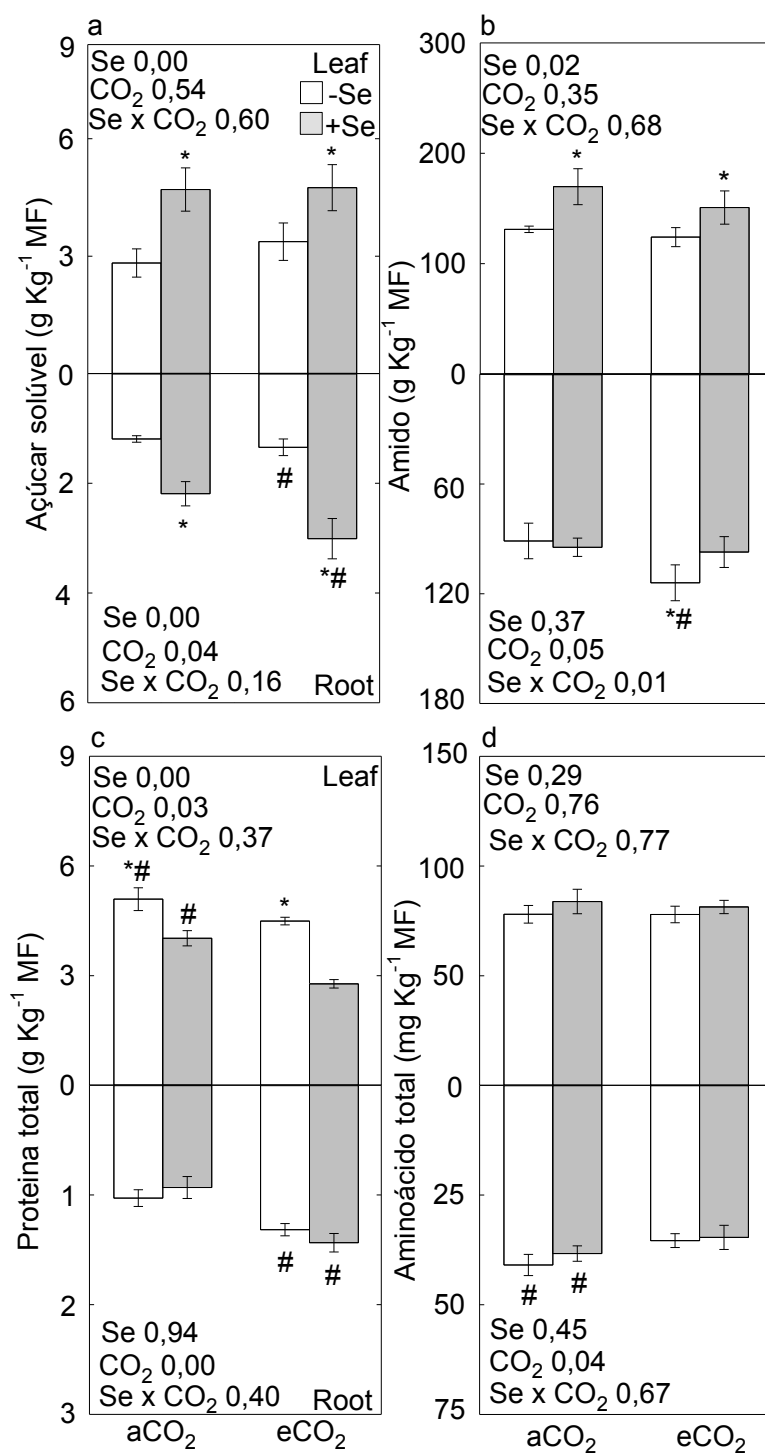
**Figura 1.** Efeitos dos tratamentos com Se e CO<sub>2</sub>, isoladamente e em combinação, sobre parâmetros fisiológicos de plântulas de arroz. **a** Fenótipo de plântulas de arroz cultivadas por 5 dias sob tratamento com Se e CO<sub>2</sub>. A barra de escala representa 2 cm. **b** Comprimento da raiz primária. **c** Comprimento total da raiz lateral. **d** Volume da raiz. **e** Número de raízes laterais. **f** Altura da parte aérea. **g** Relação parte aérea/raiz. Os asteriscos indicam médias estatisticamente diferentes entre plantas não tratadas e tratadas com Se nas mesmas condições de CO<sub>2</sub> ( $P < 0,05$ ). Hashtags indicam médias estatisticamente diferentes entre plantas cultivadas sob aCO<sub>2</sub> e eCO<sub>2</sub> dentro do mesmo tratamento de Se ( $P < 0,05$ ). Os valores são médias  $\pm$  erro padrão ( $n = 20$ ).



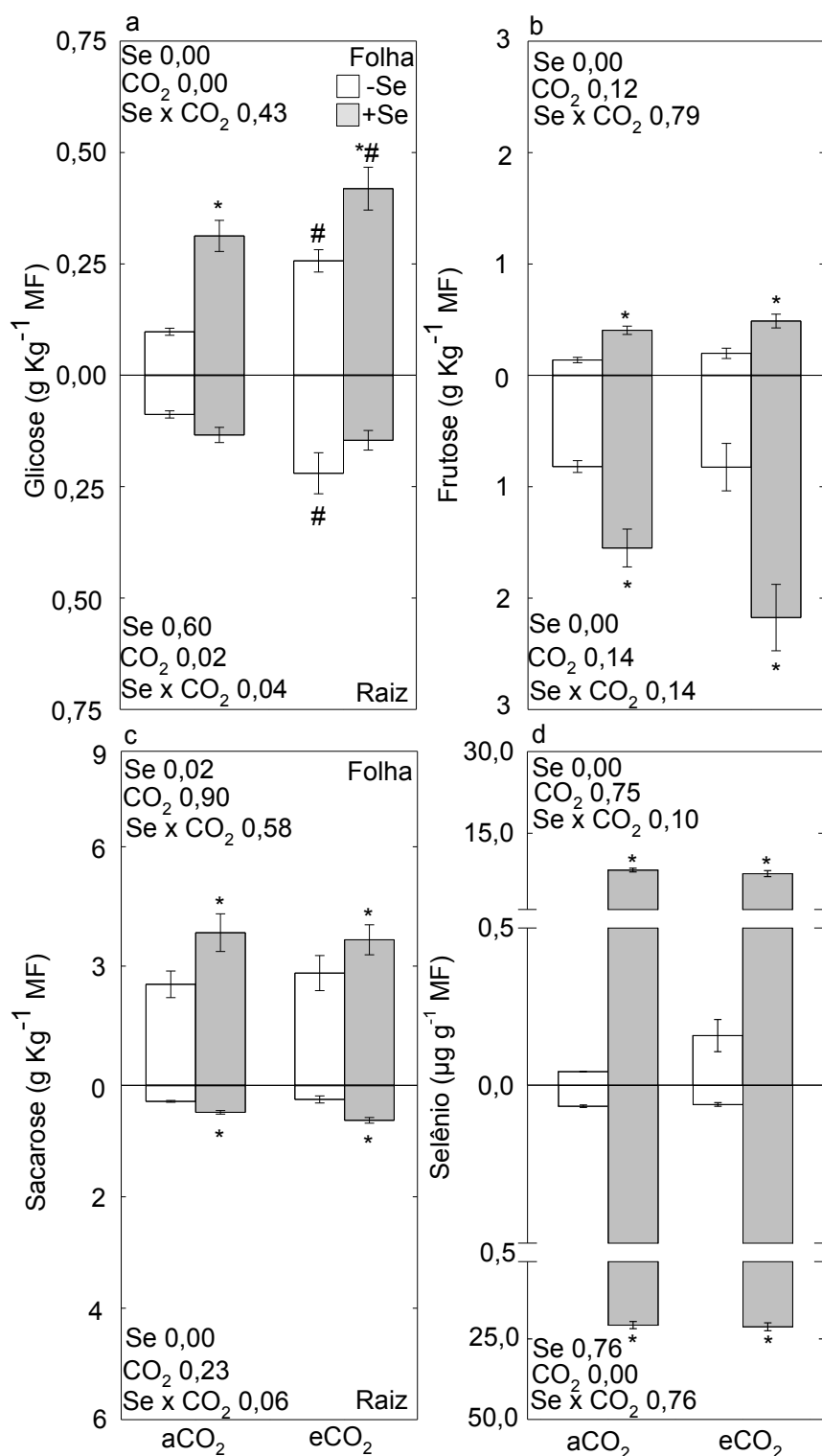
**Figura 2.** Efeitos dos tratamentos com Se e CO<sub>2</sub>, isoladamente e em combinação, nas concentrações de auxina, citocininas e selênio na raiz de plântulas de arroz. **a.** IAA. **b.** Zeatina. **c.** N<sup>6</sup>-(Δ<sup>2</sup>-isopentenil) adenina. Os asteriscos indicam médias estatisticamente diferentes entre plantas não tratadas e tratadas com Se nas mesmas condições de CO<sub>2</sub> ( $P < 0,05$ ). Hashtags indicam médias estatisticamente diferentes entre plantas cultivadas sob aCO<sub>2</sub> e eCO<sub>2</sub> dentro do mesmo tratamento de Se ( $P < 0,05$ ). Os valores são médias ± erro padrão ( $n = 6$ ).



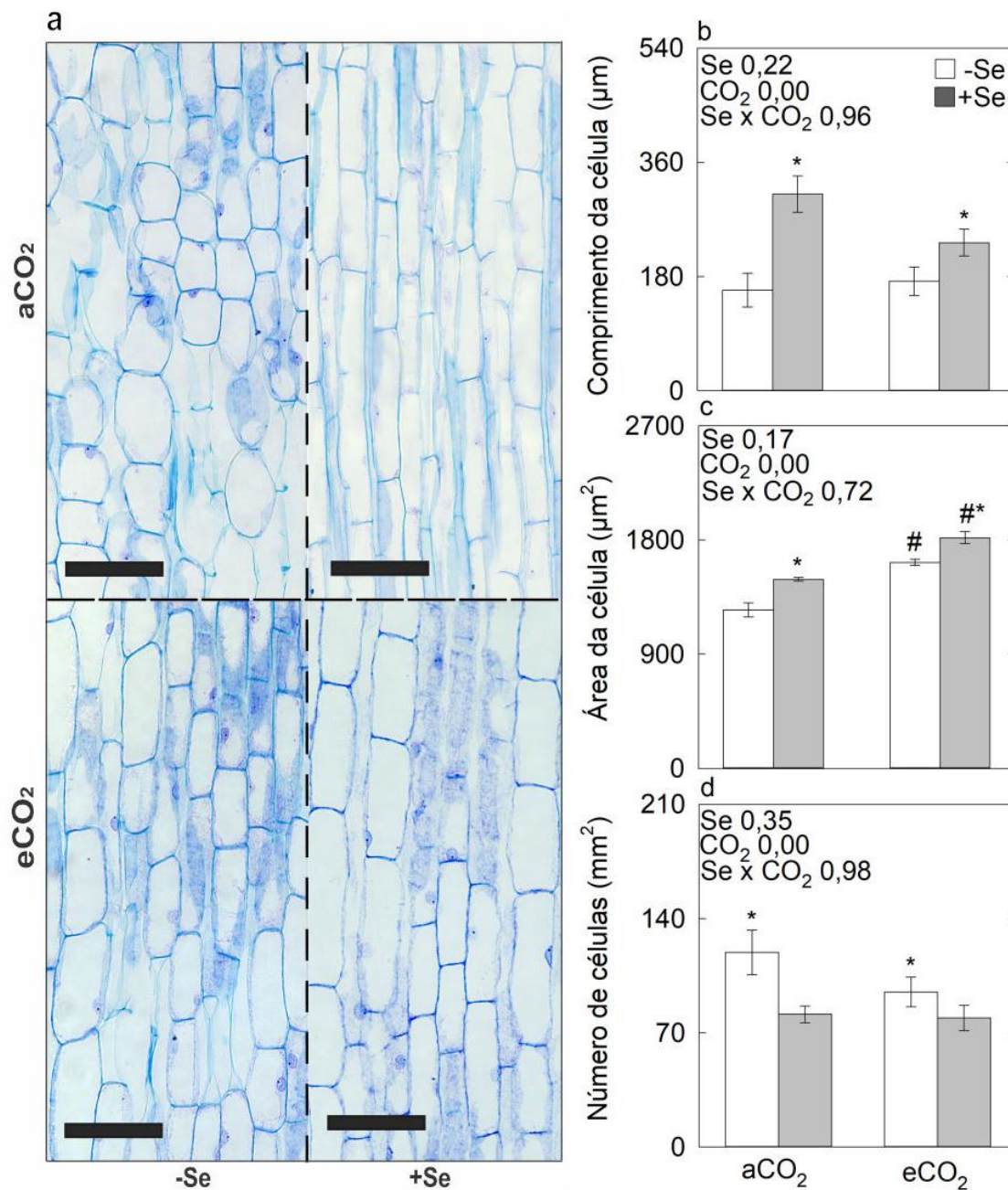
**Figura 3.** Efeitos dos tratamentos com Se e CO<sub>2</sub>, isoladamente e em combinação, na expressão gênica de raízes de plântulas de arroz. **a** *OsIAA3*. **b** *OsIAA11*. **c** *OsIAA20*. **d** *OsEXPA8*. **e** *OsEXPA14*. **f** *OsEXPB2*. Os asteriscos indicam médias estatisticamente diferentes entre plantas não tratadas e tratadas com Se nas mesmas condições de CO<sub>2</sub> ( $P < 0,05$ ). Hashtags indicam médias estatisticamente diferentes entre plantas cultivadas sob aCO<sub>2</sub> e eCO<sub>2</sub> dentro do mesmo tratamento de Se ( $P < 0,05$ ). Os valores são médias  $\pm$  erro padrão ( $n = 4$ ).



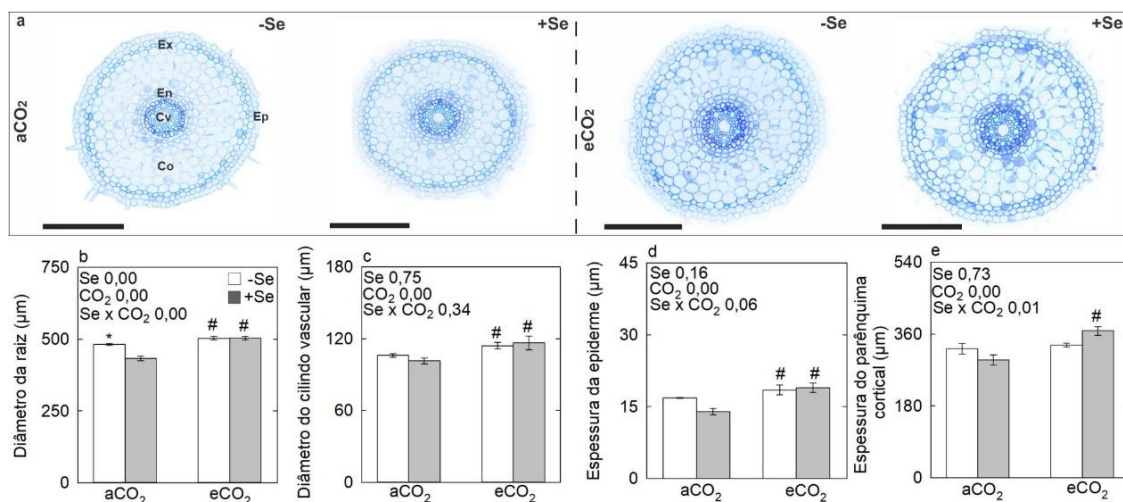
**Figura 4.** Efeitos dos tratamentos com Se e CO<sub>2</sub>, isoladamente e em combinação, sobre parâmetros metabólicos de folhas e raízes de plântulas de arroz. **a** Açúcares solúveis. **b** Amido. **c** Proteína total. **d** Aminoácido total. Os asteriscos indicam médias estatisticamente diferentes entre plantas não tratadas e tratadas com Se nas mesmas condições de CO<sub>2</sub> ( $P < 0,05$ ). Hashtags indicam médias estatisticamente diferentes entre plantas cultivadas sob aCO<sub>2</sub> e eCO<sub>2</sub> dentro do mesmo tratamento de Se ( $P < 0,05$ ). Os valores são médias  $\pm$  erro padrão ( $n = 6$ ).



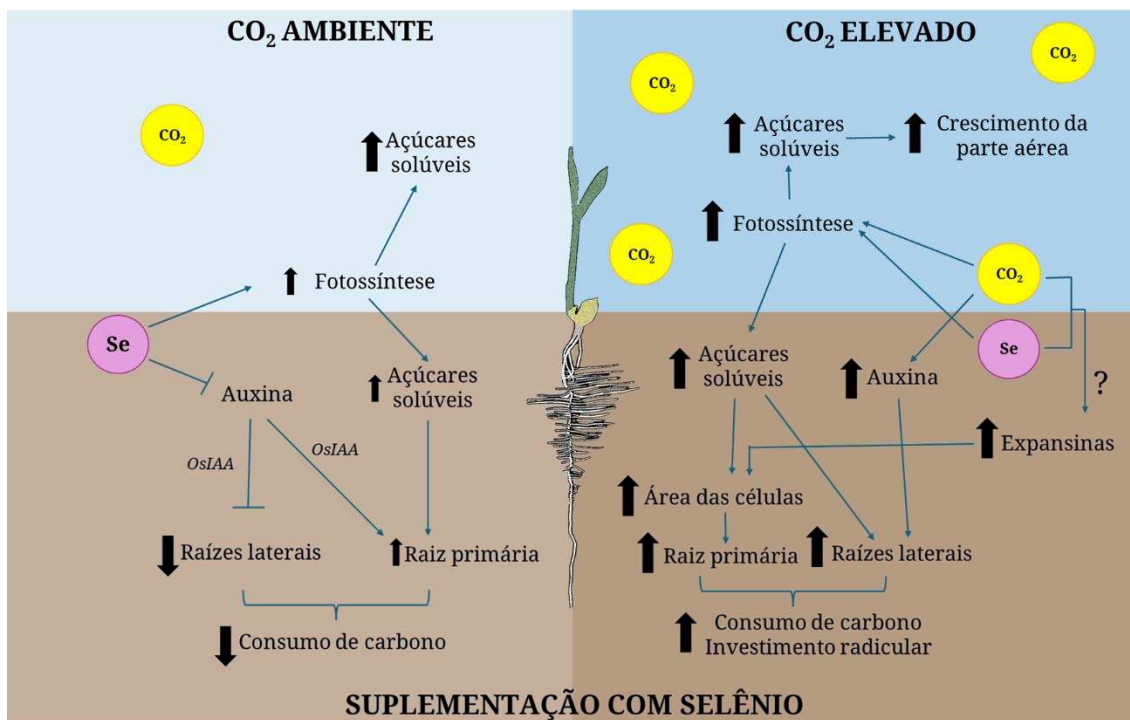
**Figura 5.** Efeitos dos tratamentos com Se e CO<sub>2</sub>, isoladamente e em combinação, nas concentrações de glicose, frutose, sacarose e selênio na folha e raiz de plântulas de arroz. **a** Glicose. **b** Frutose. **c** Sacarose. **d** Selênio. Os asteriscos indicam médias estatisticamente diferentes entre plantas não tratadas e tratadas com Se nas mesmas condições de CO<sub>2</sub> ( $P < 0,05$ ). Hashtags indicam médias estatisticamente diferentes entre plantas cultivadas sob aCO<sub>2</sub> e eCO<sub>2</sub> dentro do mesmo tratamento de Se ( $P < 0,05$ ). Os valores são médias  $\pm$  erro padrão ( $n = 6$ ).



**Figura 6.** Efeitos do Se e CO<sub>2</sub>, isoladamente e em combinação, sobre parâmetros anatômicos da zona de diferenciação da raiz de plântulas de arroz. **a** Fotomicrografias da zona radicular. As barras de escala representam 100 µm. **b** Comprimento da célula, **c** Área da célula, **d** Número de células. Os asteriscos indicam médias estatisticamente diferentes entre plantas não tratadas e tratadas com Se nas mesmas condições de CO<sub>2</sub> ( $P < 0,05$ ). Hashtags indicam médias estatisticamente diferentes entre plantas cultivadas sob aCO<sub>2</sub> e eCO<sub>2</sub> dentro do mesmo tratamento de Se ( $P < 0,05$ ). Os valores são médias  $\pm$  erro padrão ( $n = 3$ ).



**Figura 7.** Efeitos do Se e CO<sub>2</sub>, isoladamente e em combinação, sobre parâmetros anatômicos da zona de diferenciação da raiz de plântulas de arroz. **a** Fotomicrografias da zona de diferenciação da raiz. Ep – epiderme; Co – células do córtex; En – endoderme; Ex – exoderme; Cv – cilindro vascular. As barras de escala representam 100 µm. **b** Diâmetro da raiz, **c** Diâmetro do cilindro vascular, **d** Espessura da epiderme, **e** Espessura do parênquima cortical. Os asteriscos indicam médias estatisticamente diferentes entre plantas não tratadas e tratadas com Se nas mesmas condições de CO<sub>2</sub> ( $P < 0,05$ ). Hashtags indicam médias estatisticamente diferentes entre plantas cultivadas sob aCO<sub>2</sub> e eCO<sub>2</sub> dentro do mesmo tratamento de Se ( $P < 0,05$ ). Os valores são médias  $\pm$  erro padrão ( $n = 3$ ).

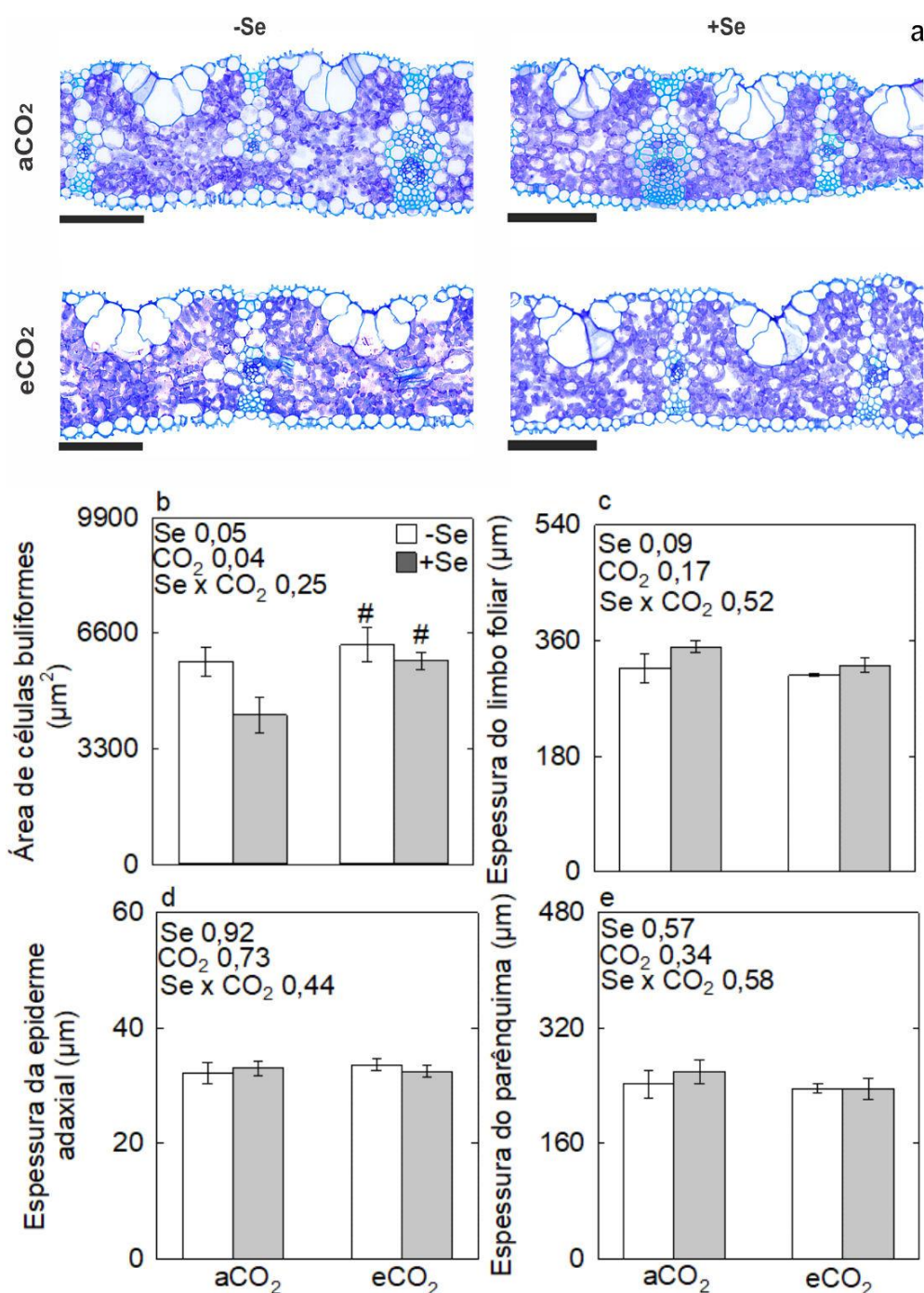


**Figura 8.** O esquema resume os efeitos individuais do Se e os efeitos combinados do Se e eCO<sub>2</sub> nas raízes de plântulas de arroz. À esquerda, estão representadas as plântulas tratadas apenas com Se; à direita, aquelas tratadas com a combinação de Se e eCO<sub>2</sub>. A combinação de Se e eCO<sub>2</sub> resultou em um crescimento mais vigoroso das plântulas, associado ao aumento das concentrações de auxina e de açúcares, bem como à maior atividade das expansinas nas raízes.

## MATERIAL SUPLEMENTAR

**Tabela S1.** Sequências de primers usadas para análise RT-qPCR

Nome	Oligo	Referência	Sequência 5'→3'
<b><i>OsIAA3</i></b>	IAA3-F	Malheiros et al. (2019)	ACAAGGATGGTGACTGGATGCTG
	IAA3-R		GCAAGAGTCGGTGAACATCTCC
<b><i>OsIAA11</i></b>	IAA11-F	Malheiros et al. (2019)	AGCAGCTGAAGGAGAGCAATAAGC
	IAA11-R		TGCACGACTCGACGAACATCTC
<b><i>OsIAA20</i></b>	IAA20-F	Zhang et al. (2022)	GCGAAATGGGCAACAAGAGGAG
	IAA20-R		AGGATGGACAAGTCCAGCTTCC
<b><i>OsEXPA8</i></b>	EXPA8-F	Malheiros et al. (2019)	TACACCTCCTCGGCTCAGTTCTAC
	EXPA8-R		TGCCACGTCGATCAAAGCATAAC
<b><i>OsEXPA14</i></b>	EXPA14-F	Malheiros et al. (2019)	CCCGGTTATCTACCAAAGGGTTCC
	EXPA14-R		AGTCGTGCCCGTTAATGGTAAAC
<b><i>OsEXPB2</i></b>	EXPB2-F	Malheiros et al. (2019)	CAACCAGTACCCGTTTCATGTCC
	EXPB2-R		GTTGTTGGTGCACCGTATCTGG
<b><i>OsACTIN1</i></b>	ACTIN1-F	Teixeira et al. (2021)	TGGATTGGAGGATCCATCTTGGC
	ACTIN1-R		CCTTGGCAATCCACATCTGCTG



**Figura S1.** Efeitos dos tratamentos com Se e CO<sub>2</sub>, isoladamente e em combinação, sobre parâmetros anatômicos de folhas de plântulas de arroz. **a** Fotomicrografias da folha. As barras de escala representam 100 μm. **b** Área de células buliformes, **c** Espessura do limbo foliar, **d** Espessura da epiderme adaxial, **e** Espessura do parênquima. Os asteriscos indicam médias estatisticamente diferentes entre plantas não tratadas e tratadas com Se nas mesmas condições de CO<sub>2</sub> ( $P < 0,05$ ). Hashtags indicam médias estatisticamente diferentes entre plantas cultivadas sob aCO<sub>2</sub> e eCO<sub>2</sub> dentro do mesmo tratamento de Se ( $P < 0,05$ ). Os valores são médias  $\pm$  erro padrão ( $n = 3$ ).

## CONCLUSÃO GERAL

O estudo demonstra que o selênio (Se) e as concentrações elevadas de dióxido de carbono ( $e\text{CO}_2$ ) apresentam interações sinérgicas que beneficiam o crescimento, o rendimento e a qualidade do arroz. No nível foliar, a combinação de Se e  $e\text{CO}_2$  melhora a assimilação de carbono (A) sem comprometer a condutância estomática (gs) ou causar aclimatação fotossintética negativa. Além disso, o Se preserva as concentrações de proteínas nos grãos em condições de  $e\text{CO}_2$ , atribuído ao aumento da expressão de genes relacionados ao transporte de nutrientes, mantendo também o equilíbrio na absorção e translocação de Se, independente do ambiente de  $\text{CO}_2$ . No sistema radicular, o Se modula a arquitetura radicular (ASR) ao inibir a biossíntese de auxina, enquanto o  $e\text{CO}_2$  estimula o crescimento radicular ao promover a produção desse hormônio e o acúmulo de açúcares solúveis. A interação entre Se e  $e\text{CO}_2$  potencializa a ASR, promove adaptações anatômicas e otimiza a alocação de biomassa entre raízes e parte aérea. Esses achados destacam a fertilização com Se como uma estratégia promissora para maximizar a produtividade, a eficiência de uso de recursos e a qualidade nutricional do arroz em cenários futuros de enriquecimento de  $\text{CO}_2$ .