

Crescimento *in vitro* de plântulas de batata em diferentes doses de cádmio

In vitro growth of potato plantlets in different doses of cadmium

Jamile Fabbrin Gonçalves^I Joseila Maldaner^I Liana Veronica Rossato^{II} Luciane Almeri Tabaldi^I
Etiane Caldeira Skrebsky^I Júlia Gomes Farias^{III} Dilson Antônio Bisognin^{IV}
Fernando Teixeira Nicoloso^V

- NOTA -

RESUMO

Devido, principalmente, às ações antropogênicas, tais como industrialização e uso de insumos na agricultura, os níveis de cádmio têm aumentado em muitos solos agrícolas. O presente trabalho objetivou caracterizar o efeito desse metal no crescimento *in vitro* de duas cultivares de batata, 'Asterix' e 'Macaca'. Segmentos nodais de plantas previamente estabelecidas *in vitro* foram submetidos a doses de cádmio de 0 (controle), 100, 200, 300, 400 e 500 µM em meio de cultivo MS. Avaliou-se o número de raízes aos 15 dias após a inoculação (DAI) dos explantes, o comprimento das raízes e da parte aérea, o número de segmentos nodais e de folhas e a matéria fresca e seca das raízes e da parte aérea aos 22DAI. O cádmio afetou negativamente o crescimento das duas cultivares de batata, demonstrando que ambas são sensíveis a esse metal.

Palavras-chave: *Solanum tuberosum*, metal pesado, clones, toxicidade.

ABSTRACT

Levels of cadmium have been increasing in many agricultural soils mainly due to the anthropogenic actions, such as industrialization and use of inputs in the agriculture. The present research aimed at characterizing the effect of this metal on *in vitro* growth of two potato cultivars, 'Asterix' and 'Macaca'. Nodal segments of plants previously *in vitro* established were submitted to cadmium concentration of 0 (control), 100, 200, 300, 400 and 500 µM in MS. Number of roots was evaluated at 15 days after inoculation (DAI) of the explants, and root and shoot length, number of nodal segments and leaves, and fresh and dry mass of roots and shoot were evaluated at 22DAI. Cadmium negatively affected the growth of the two potato cultivars, demonstrating that both are sensible to this metal.

Key words: *Solanum tuberosum*, heavy metal, clones, toxicity.

A batata (*Solanum tuberosum* L.) é uma planta dicotiledônea pertencente à família Solanaceae. A batata ocupa o quarto lugar em volume de produção mundial de alimentos, sendo superada somente pelo trigo, milho e arroz (FAO, 2007). O cultivo da batata no Brasil foi intensificado na década de 20, sendo hoje considerada a principal hortaliça do país, tanto em área cultivada, como em preferência alimentar (IBGE, 2007).

Em muitos solos agrícolas, a concentração de cádmio (Cd) está acima dos níveis naturais devido, principalmente, às ações antropogênicas, tais como a liberação desse metal a partir de fontes industriais e agrícolas. A maior parte do Cd adicionado aos solos agrícolas é proveniente da aplicação de fertilizantes fosfatados (SATARUG et al., 2003). O Cd acumulado nas plantas pode interferir em vários processos fisiológicos, declinando a produtividade agrícola (ZHANG et al., 2002).

O conhecimento sobre as interações entre as plantas e os metais pesados é muito importante não apenas para a segurança do meio ambiente, mas também para reduzir os riscos associados com a introdução desses elementos na cadeia alimentar (BENAVIDES et al., 2005). O Cd pode ser facilmente absorvido pelas raízes e translocado para diferentes partes das plantas (TIRYAKIOGLU et al., 2006). O acúmulo desse metal em tubérculos de batata pode representar mais de 50% do total das intoxicações desse metal em humanos (SATARUG et al., 2003). Além disso, as cultivares de batata podem diferir com relação a sua habilidade em acumular e translocar o Cd (DUNBAR et al., 2003).

^IPrograma de Pós-graduação em Agronomia, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS, Brasil.

^{II}Curso de Ciências Biológicas, UFSM, Santa Maria, RS, Brasil.

^{III}Mestre em Zootecnia, UFSM, Santa Maria, RS, Brasil.

^{IV}Departamento de Fitotecnia, UFSM, Santa Maria, RS, Brasil.

^VDepartamento de Biologia, UFSM, Campus Universitário, Camobi, 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil. E-mail: ftnicoloso@yahoo.com.

Autor para correspondência.

O objetivo deste trabalho foi caracterizar o efeito do Cd no crescimento *in vitro* de duas cultivares de batata amplamente cultivadas na região Sul do Brasil, a fim de avaliar se existe diferença genotípica quanto à sensibilidade a esse metal.

Foram utilizadas as cultivares 'Asterix' e 'Macaca' provenientes do banco de germoplasma do Programa de Genética e Melhoramento de Batata da Universidade Federal de Santa Maria. Segmentos nodais provenientes de plântulas com 25 dias de cultivo foram previamente inoculados em meio de cultivo MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962), suplementado com 30g L⁻¹ de sacarose, 0,1g L⁻¹ de mio-inositol e 6g L⁻¹ de agar. Segmentos nodais (1cm) sem folhas foram inoculados no meio de cultura adicionado de seis doses de Cd (0, 100, 200, 300, 400 e 500µM), na forma de cloreto de cádmio monohidratado (CdCl₂·H₂O). Em cada frasco de cultivo, foram adicionados 50mL de meio e 10mL de solução de Cd, com pH ajustado para 5,5±0,1 e autoclavados separadamente. Os frascos de cultivo contendo seis explantes foram mantidos em sala de crescimento com temperatura de 25±1°C, fotoperíodo de 16 horas e intensidade luminosa de 35µmol m⁻² s⁻¹, obtido por lâmpadas fluorescentes frias. Avaliou-se o número de raízes aos 15 dias após a inoculação (DAI) dos explantes. Aos 22DAI, avaliaram-se o comprimento radicular (TENNANT, 1975), a altura da parte aérea, o número de segmentos nodais e de folhas e a matéria seca e fresca das raízes e da parte aérea. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, com seis tratamentos e cinco repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância de duas vias. Em caso significativo (nível de 5% de probabilidade de erro), realizou-se a análise de regressão para o fator doses de cádmio.

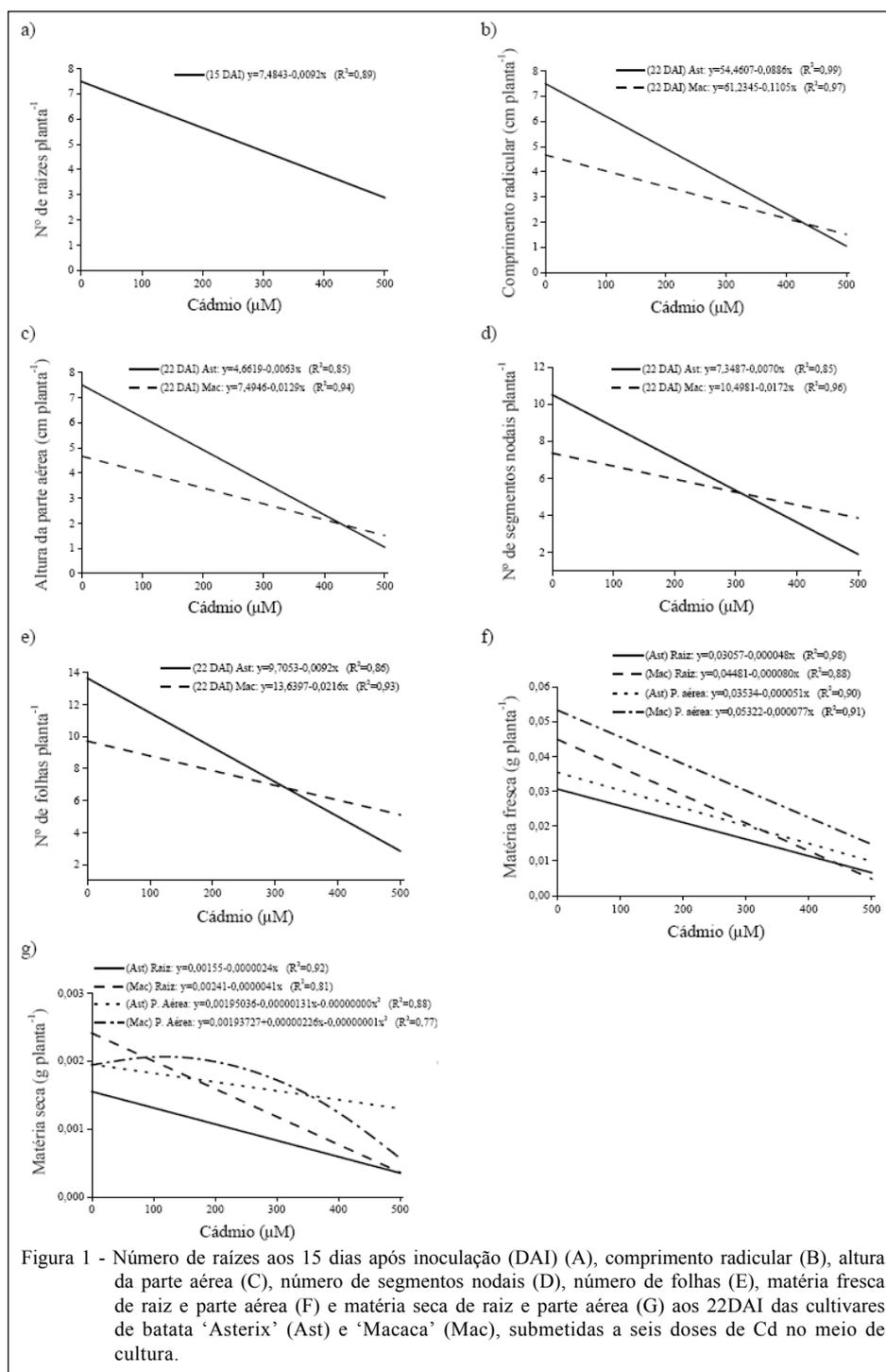
Os resultados obtidos demonstraram que, com exceção do número de raízes, todas as variáveis de crescimento avaliadas apresentaram interação significativa entre as doses de Cd e as cultivares 'Asterix' e 'Macaca'. Com exceção da matéria seca de parte aérea, todas as variáveis de crescimento apresentaram comportamento linear negativo à concentração de Cd (Figura 1).

Além da drástica redução, tanto no número de raízes normais (Figura 1A), quanto no comprimento radicular (Figura 1B), verificou-se visualmente que houve um aumento no número de raízes adventícias (aéreas) em ambas as cultivares de batata nas maiores doses de Cd, fato que sugere um mecanismo de defesa da planta. Os efeitos do Cd no crescimento do sistema radicular das plantas é um dos parâmetros mais sensíveis em relação à toxicidade desse metal, sendo reportado em diversas espécies de plantas, tais como

trigo, milho, *Brassica pekinensis* e *B. chinensis* (OUZOUNIDOU et al., 1997; WÓJCIK & TUKIENDORF, 2005; LIU et al., 2007). De acordo com DRAZKIEWICZ & BASZYNSKI (2005), a inibição da alongamento radicular é uma das principais respostas das plantas à exposição ao Cd e ocorre mais rapidamente que outras respostas fisiológicas. MISHRA et al. (2006) e TIRYAKIOGLU et al. (2006) sugerem que as raízes são mais afetadas pelo Cd pelo fato desse órgão ser o primeiro local de exposição a esse metal e, conseqüentemente, acumular Cd em quantidades muito maiores na raiz em comparação à parte aérea.

Além do sistema radicular, a parte aérea de ambas as cultivares de batata também foi negativamente afetada pelo Cd, uma vez que foi verificada redução na altura da parte aérea (Figura 1C), no número de segmentos nodais (Figura 1D), bem como no número de folhas (Figura 1E). Em diferentes genótipos de cevada crescidos hidroponicamente durante duas semanas, a presença de 120µM de Cd reduziu o comprimento da parte aérea (TIRYAKIOGLU et al., 2006). Resultado semelhante foi observado em trigo por OUZOUNIDOU et al. (1997). A redução no número de segmentos nodais da batata pode estar relacionada a uma redução da altura da parte aérea nas plântulas de batata. Além disso, observaram-se sinais visíveis de oxidação (escurecimento) dos segmentos nodais nas maiores doses de Cd, o que poderia ser atribuído à oxidação de fenóis como resultado da diminuição do pH (HIRANO & HIJII, 1998). Em relação às folhas, em ambas as cultivares expostas a altas doses de Cd, foram observados sintomas visuais marcantes, como clorose e murchamento foliar. Segundo LEITA et al. (1995), quando a concentração de Cd se torna elevada nas plantas, há um declínio metabólico, com perda da turgidez foliar e fechamento estomatal hidropassivo. WÓJCIK & TUKIENDORF (2005) relataram que, em plantas de milho, o Cd causou murchamento, clorose e necrose foliar. Em trigo, foram observadas clorose e curvatura foliar (OUZOUNIDOU et al., 1997). Além disso, a toxicidade de Cd pode causar queda das folhas (TIRYAKIOGLU et al., 2006).

No presente estudo, foi verificada uma redução drástica na produção de matéria fresca (Figura 1F) e seca (Figura 1G), tanto de raiz, quanto de parte aérea de ambas as cultivares de batata. Esse resultado corrobora resultados apresentados por outros pesquisadores que analisaram diferentes plantas (OUZOUNIDOU et al., 1997; WÓJCIK & TUKIENDORF, 2005; MISHRA et al., 2006; TIRYAKIOGLU et al., 2006; LIU et al., 2007). Entretanto, é interessante notar que a produção de matéria seca da



parte área das cultivares de batata apresentou resposta quadrática. Esse efeito positivo causado no crescimento vegetal por baixas doses de Cd vem sendo investigado em diferentes espécies vegetais (BARAZANI et al., 2004). A resposta temporária dos organismos de estímulo ao crescimento a baixas doses de muitas substâncias tóxicas está geralmente

relacionada ao efeito hormético. A hormese representa uma resposta de supercompensação do crescimento em razão de um desequilíbrio na homeostase dos tecidos (CALABRESE & BLAIN, 2005).

Os sintomas tóxicos observados nas plantas cultivadas na presença de doses elevadas de metais pesados podem ser devido a uma variedade de

interações em nível celular. O excesso de metais pesados pode estimular a formação de espécies reativas de oxigênio, que podem exceder a capacidade celular antioxidante, gerando assim uma situação de estresse oxidativo por reagirem com várias biomoléculas, como proteínas, ácidos nucleicos e lipídios (BENAVIDES et al., 2005). Além disso, a ocorrência desses sintomas no crescimento vegetal pode estar relacionada com a deficiência múltipla de vários nutrientes essenciais à formação, à multiplicação e ao funcionamento de cloroplastos, bem como ao efeito fitotóxico do Cd relacionado a vários processos da fotossíntese (ZHANG et al., 2002; MISHRA et al., 2006). Pesquisas recentes realizadas pelo grupo de pesquisa demonstraram que o Cd é capaz de danificar o balanço nutricional (GONÇALVES, et al., 2009a), bem como o *status* do potencial redox (GONÇALVES, et al., 2009b) das cultivares de batata utilizadas no presente estudo.

Em conclusão, o aumento das doses de Cd no meio de cultivo afeta o crescimento *in vitro* das cultivares 'Asterix' e 'Macaca', indicando que ambas as cultivares de batata são sensíveis a esse metal.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS), ao Conselho de Aperfeiçoamento de Pessoal e Ensino Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

- BARAZANI, O. et al. Cadmium accumulation in *Allium schoenoprasum* L. grown in an aqueous medium. **Chemosphere**, Geneva, v.57, p.1213-1218, 2004.
- BENAVIDES, M.P. et al. Cadmium toxicity in plants. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Viçosa, v.17, n.1, p.21-34, 2005.
- CALABRESE, E.J.; BLAIN, R. The occurrence of hormetic dose responses in the toxicological literature, the hormesis database: an overview. **Toxicology and Applied Pharmacology**, Raleigh, v.202, p.289-301, 2005.
- DRAZKIEWICZ, M.; BASZYNSKI, T. Growth parameters and photosynthetic pigments in leaf segments of *Zea mays* exposed to cadmium, as related to protection mechanisms. **Journal of Plant Physiology**, Leipzig, v.162, p.1013-1021, 2005.
- DUNBAR, K.R. et al. The uptake and partitioning of cadmium in two cultivars of potato (*Solanum tuberosum* L.). **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.54, n.381, p.349-354, 2003.
- FAO. **Agricultural Statistics**. Rome. Capturado em 02 jul. 2007. Online. Disponível na Internet: <http://www.fao.org/statistics>.
- GONÇALVES, J.F. et al. Cadmium and mineral nutrient accumulation in potato plantlets grown under cadmium stress in two different experimental culture conditions. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v.47, p.814-821, 2009a.
- GONÇALVES, J.F. et al. Cadmium-induced oxidative stress in two potato cultivars. **BioMetals**, Oxford, v.22, p.779-792, 2009b. Disponível em: <<http://www.springerlink.com/content/u881883103515115/>>. Acesso em: 12 ago. 2009. doi:10.1007/s10534-009-9225-4.
- HIRANO, Y.; HIJII, N. Effects of low pH and aluminum on root morphology of Japanese red cedar saplings. **Environmental Pollution**, Massachusetts, v.101, p.339-347, 1998.
- IBGE. **Levantamento sistemático da produção agrícola, confronto das safras de 2006 e das estimativas para 2007**. Capturado em 02 jul. 2007. Online. Disponível na Internet: <http://www.ibge.gov.br>.
- LEITA, L. et al. Transpiration dynamics in cadmium-treated soybean (*Glycine max* L.) plants. **Journal of Agronomy and Crop Science**, Braunschweig, v.175, p.153-156, 1995.
- LIU, C.P. et al. Accumulation and detoxification of cadmium in *Brassica pekinensis* and *B. chinensis*. **Biologia Plantarum**, Praga, v.51, n.1, p.116-120, 2007.
- MISHRA, S. et al. Phytochelatin synthesis and response of antioxidants during cadmium stress in *Bacopa monnieri* L. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v.44, p.25-37, 2006.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Lund, v.15, p.473-497, 1962.
- OUZOUNIDOU, G. et al. Physiological and ultrastructural effects of cadmium on wheat (*Triticum aestivum* L.) leaves. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, Paron, v.32, p.154-160, 1997.
- SATARUG, S. et al. A global perspective on cadmium pollution and toxicity in nonoccupationally exposed population. **Toxicology Letters**, Pullman, v.137, p.65-83, 2003.
- TENNANT, D. A test of a modified line intersect method of estimating root length. **Journal of Ecology**, Brighton, v.63, p.995-1001, 1975.
- TIRYAKIOGLU, M. et al. Antioxidant defense system and cadmium uptake in barley genotypes differing in cadmium tolerance. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, Stuttgart, v.20, p.181-189, 2006.
- WÓJCIK, M.; TUKIENDORF, A. Cadmium uptake, localization and detoxification in *Zea mays*. **Biologia Plantarum**, Praga, v.49, n.2, p.237-245, 2005.
- ZHANG, G. et al. Influence of cadmium on mineral concentrations and yield components in wheat genotypes differing in Cd tolerance at seedling stage. **Field Crops Research**, St. Paul, v.77, p.93-98, 2002.