

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

Luana da Silva Cadore

SENSIBILIDADE *IN VITRO* DE PLANTAS DE BATATA AO CÁDMIO

**Santa Maria, RS
2022**

Luana da Silva Cadore

SENSIBILIDADE *IN VITRO* DE PLANTAS DE BATATA AO CÁDMIO

Tese de Doutorado apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração Produção Vegetal, Linha de pesquisa em Desenvolvimento, avaliação e multiplicação de genótipos superiores, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS) como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutora em Agronomia.**

Orientador: Prof. Dr. Dilson Antônio Bisognin

Santa Maria, RS
2022

This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001

Cadore, Luana da Silva
SENSIBILIDADE IN VITRO DE PLANTAS DE BATATA AO CÁDMIO
/ Luana da Silva Cadore.- 2022.
60 p.; 30 cm

Orientador: Dilson Antônio Bisognin
Coorientador: Sidinei José Lopes
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós
Graduação em Agronomia, RS, 2022

1. Solanum tuberosum L. 2. Metais Pesados 3.
Toxicidade 4. Crescimento I. Bisognin, Dilson Antônio
II. Lopes, Sidinei José III. Título.

Sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFSM. Dados fornecidos pelo autor(a). Sob supervisão da Direção da Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central. Bibliotecária responsável Paula Schoenfeldt Patta CRB 10/1728.

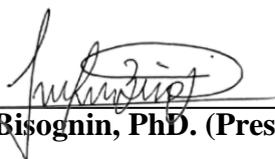
Declaro, LUANA DA SILVA CADORE, para os devidos fins e sob as penas da lei, que a pesquisa constante neste trabalho de conclusão de curso (Tese) foi por mim elaborada e que as informações necessárias objeto de consulta em literatura e outras fontes estão devidamente referenciadas. Declaro, ainda, que este trabalho ou parte dele não foi apresentado anteriormente para obtenção de qualquer outro grau acadêmico, estando ciente de que a inveracidade da presente declaração poderá resultar na anulação da titulação pela Universidade, entre outras consequências legais.

Luana da Silva Cadore

SENSIBILIDADE *IN VITRO* DE PLANTAS DE BATATA AO CÁDMIO

Tese de Doutorado apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração Produção Vegetal, Linha de pesquisa em Desenvolvimento, avaliação e multiplicação de genótipos superiores, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS) como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutora em Agronomia**.

Aprovado em 18 de fevereiro de 2022.



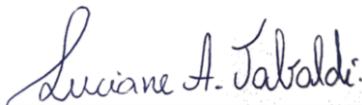
Dilson Antônio Bisognin, PhD. (Presidente/Orientador)



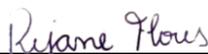
Douglas Renato Müller, Dr. (IFFAR) - Videoconferência



Liana Veronica Rossato, Dra. (UFSM) - Videoconferência



Luciane Almeri Tabaldi, Dra. (UFSM) - Videoconferência



Rejane Flores, Dra. (IFFAR) - Videoconferência

Santa Maria, RS
2022

AGRADECIMENTOS

A Deus, por todo seu amor que cobre as minhas fraquezas, por guiar meus passos nesta jornada terrena, por ser luz e força nos dias difíceis dessa caminhada.

Aos meus pais Vanderlei e Silene, e ao meu irmão Uendi por estarem sempre ao meu lado, apoiando e acreditando que eu seria capaz de realizar mais esse sonho; a minha cunhada Leidria, que carrega em seu ventre o presente mais lindo que ela e meu irmão poderiam dar a nossa família, nossa Rita; aos meus avós Honorina e Valdir (*in memoriam*) que sempre estiveram ao meu lado e hoje juntos novamente, iluminam meu caminho; aos meus avós Aires e Rosália Cadore, por entenderem o motivo de minha ausência. Amo todos vocês!

Ao meu companheiro de vida Jean Carlos, que a 12 anos segue trilhando seu caminho ao meu lado, acreditando e apoiando os meus sonhos. Obrigada por toda ajuda, incentivo e carinho nos momentos difíceis, por compartilhar das minhas angústias e alegrias durante essa etapa e principalmente por ser meu ponto forte diante das dificuldades, entendendo o motivo da minha ausência em diversos momentos. Obrigada por ser minha alegria nos dias tristes e por enxugar minhas lágrimas nos dias de saudade, amo você!

Ao meu orientador, Dilson Antônio Bisognin, por todo acolhimento quando cheguei ao MPVP, por toda atenção, conselhos e dedicação comigo, não medindo esforços para que todos os experimentos pudessem ser desenvolvidos. Obrigada Profe, pelos conselhos, por todo auxílio para a concretização dessa etapa e principalmente, obrigada por acreditar no meu potencial!

A banca composta por Douglas Renato Müller, Liana Veronica Rossato, Luciane Almeri Tabaldi e Rejane Flores, aos quais agradeço pelas contribuições visando aprimorar esse trabalho, bem como pelo aceite em compor a comissão examinadora desta tese.

A minha amiga e colega de MPVP Thaíse Tonetto, que sempre esteve junto comigo, me auxiliando nos experimentos e atividades, apoiando e incentivando meus passos, dispondo sempre de bons conselhos, palavras de incentivo e amparo! Amiga, você é especial e teu brilho contagia quem conhece a bondade e alegria do teu coração, amo você!

As minhas queridas amigas Gerâne Wertonge e Janaina Spanevello por toda disponibilidade e auxílio na condução dos experimentos, além de toda força e amparo que sempre dispuseram a mim nos momentos difíceis. Gurias, vocês são luz, amo vocês!

As minhas amigas Caroline Paim Sauter, Rosana Taschetto Vey e Kássia Cauana Trapp, por toda parceria, amizade, consolo e conselhos durante essa trajetória. Obrigada por caminharem junto comigo, vocês são especiais demais e eu amo vocês!

Ao meu amigo Lucas Dotto, que mesmo nos momentos em que estava cheio de atividades, sempre dispôs de paciência para me ouvir, me auxiliando sempre que possível, obrigada!

Aos meus amigos Rodrigo Borges e Ivanio Folmer, por serem meus parceiros, por trazerem luz e sorrisos a minha vida durante essa jornada, vocês são especiais demais! Obrigada por compreenderem o motivo de minha ausência e por sempre incentivarem meus passos, amo vocês!

Aos colegas do MPVP por todo auxílio na execução dos experimentos, pela parceria e amizade durante o período em que estive no laboratório. Muito obrigada pelos momentos de descontração, pelos lanches nas tardes de trabalho e por estarem presentes durante essa etapa da minha vida.

À Universidade Federal de Santa Maria e ao programa de Pós-Graduação em Agronomia, pela oportunidade e apoio no desenvolvimento dos experimentos e a CAPES pelo auxílio financeiro.

Enfim, a todos que de alguma maneira, contribuíram para realização deste sonho.

Muito obrigada!

“A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu, mas pensar o que ninguém ainda pensou sobre aquilo que todo mundo vê. (Arthur Schopenhauer)”

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes. (Marthin Luther King)”

RESUMO

SENSIBILIDADE *IN VITRO* DE PLANTAS DE BATATA AO CÁDMIO

AUTORA: LUANA DA SILVA CADORE
ORIENTADOR: DILSON ANTÔNIO BISOGNIN

A batata é a terceira cultura mais importante para alimentação humana, sendo o tubérculo mais produzido no mundo. Com isso surge a preocupação do cultivo de batata em solos contaminados com metais pesados e dentre estes o cádmio (Cd), que é um elemento extremamente tóxico e prejudicial para a saúde humana. O objetivo desta pesquisa foi estudar a sensibilidade de plantas de batata a adição de Cd ao meio de cultura. Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Cultura de Tecidos do Núcleo de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas. Foram utilizados os clones SMIJ461-1, SMINIA793101-3, SMINIA00017-6, SMIG 227-1 e as cultivares Vivaldi e Asterix de batata. Inicialmente foram definidas as concentrações de Cd adicionadas ao meio de cultura e o tempo de avaliação das plantas do clone SMIJ461-1. Foram avaliadas as porcentagens de sobrevivência e enraizamento, a altura da parte aérea e o número de folhas e raízes aos 7, 14, 21 e 28 dias e a atividade da enzima catalase aos 28 dias de cultivo *in vitro*. Os resultados obtidos demonstram efeitos adversos entre as concentrações de Cd sobre o crescimento *in vitro* das plantas do clone de batata SMIJ461-1 para todos os caracteres avaliados, dependendo da concentração de Cd no meio de cultura. As concentrações de 0, 45, 90 e 135 μM de Cd no meio de cultura podem ser utilizadas para avaliação *in vitro* da sensibilidade de clones de batata ao Cd e a avaliação pode ser realizada aos 14 dias de cultivo. A avaliação da sensibilidade das plantas dos seis clones de batata indicou que a adição destas concentrações de Cd ao meio cultura afetou positiva e negativamente todos os caracteres de todos os clones avaliados aos 14 dias de cultivo. Asterix, Vivaldi, SMIG227-1 e SMINIA00017-6 também apresentaram alterações significativas na atividade da enzima catalase, sendo que Asterix apresentou um aumento na atividade da enzima. Assim, conclui-se que os clones de batata estudados apresentam sensibilidade a presença de Cd no meio de cultura. Este estudo visa contribuir para a seleção de clones de batata que apresentem baixo ou nulo acúmulo de Cd em tubérculos.

Palavras-chave: *Solanum tuberosum* L., metais pesados, toxicidade, crescimento.

ABSTRACT

IN VITRO SENSITIVITY OF POTATO PLANTS TO CADMIUM

AUTHOR: LUANA DA SILVA CADORE
ADVISOR: DILSON ANTÔNIO BISOGNIN

The potato is the third most important crop for human consumption and the most produced tuber in the world. With that, there is a huge concern for potato cultivation in soils contaminated with heavy metals, such as cadmium (Cd), which is an extremely toxic element and harmful to human health. Therefore, the objective of this study was to investigate the sensitivity of potato plants to the addition of Cd to the culture medium. The experiments were carried out at the Tissue Culture Laboratory of the Center of Plant Breeding and Vegetative Propagation. The clones SMIJ461-1, SMINIA793101-3, SMINIA00017-6, SMIG 227-1, and the potato cultivars 'Vivaldi' and 'Asterix' were studied. The Cd concentrations added to the culture medium and evaluation time of the plants of clone SMIJ461-1 were defined. Survival rates, rooting percentages, shoot height, and the number of leaves and roots at 7, 14, 21, and 28 days and catalase enzyme activity at 28 days of *in vitro* cultivation were evaluated. The results demonstrated adverse effects between Cd concentrations on the *in vitro* growth of SMIJ461 plants for all evaluated traits, and these effects depend on the Cd concentration in the culture medium. The concentrations of 0, 45, 90, and 135 μM of Cd in the culture medium should be used for the *in vitro* evaluation of potato clones' sensitivity to Cd at 14 days of cultivation. The plants' sensitivity of the six potato clones indicated that adding these Cd concentrations to the culture medium positively and negatively affected all traits of clones evaluated at 14 days of cultivation. 'Asterix', 'Vivaldi', SMIG227-1, and SMINIA00017-6 also showed significant changes in catalase enzyme activity, with 'Asterix' showing an increase in enzyme activity. Therefore, it is concluded that the potato clones studied are sensitive to the presence of Cd in the culture medium. This study aims to contribute to the selection of potato clones that have low or no Cd accumulation in tubers.

Keywords: *Solanum tuberosum* L., heavy metals, toxicity, growth.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Shoot height (cm), leaf and root counts of potato clone SMIJ461-1 grown <i>in vitro</i> at varying Cd concentrations for 7, 14, 21 and 28 days of cultivation.....	31
Figura 1 – Altura da parte aérea (A), número de folhas (B) e raízes (C) de plantas de seis clones de batata cultivadas <i>in vitro</i> por 14 dias em diferentes concentrações de Cd. Santa Maria, RS, 2021.	38
Figura 2 – Comprimento médio (A), diâmetro médio (B), volume médio de raízes (C) e atividade da enzima catalase (D) de plantas de seis clones de batata cultivadas <i>in vitro</i> por 28 dias em diferentes concentrações de Cd. Santa Maria, RS, 2021.....	40
Figura S1 – Área superficial (A), massa fresca (B) e massa seca (C) de raízes de plantas de seis clones de batata cultivadas <i>in vitro</i> por 28 dias em diferentes concentrações de Cd. Santa Maria, RS, 2021.	50

LISTA DE TABELAS

Tabela S1 – Summary of analysis of variance for percentage of survival and rooting, number and height (cm) of shoots, leaf and root counts of potato plants of clone SMIJ461-1 cultivated <i>in vitro</i> at different cadmium (Cd) concentrations at 7, 14, 21 and 28	32
Tabela 1 – Valores do intervalo de confiança dos modelos de regressão ajustados para as concentrações 0, 45, 90e 135 μ M de Cd para altura de parte aérea e número de folhas e raízes de plantas de batata cultivadas <i>in vitro</i> por 14 dias. Santa Maria, RS, 2021.....	39
Tabela 2 – Valores do intervalo de confiança dos modelos de regressão ajustados para as concentrações 0, 45, 90e 135 μ M de Cd para comprimento médio, diâmetro médio, volume de raízes e atividade da enzima catalase de plantas de batata cultivadas <i>in vitro</i> por 28 dias. Santa Maria, RS, 2021.....	42
Tabela S1 – Valores do intervalo de confiança dos modelos de regressão ajustados para as concentrações 0, 45, 90 e 135 μ M de Cd, para área superficial, massa fresca e massa seca de raízes de plantas de batata cultivadas <i>in vitro</i> por 28 dias. Santa Maria, RS, 2021	51

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	12
2 REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 BATATA: ASPECTOS GERAIS.....	14
2.2 CARACTERIZAÇÃO DA BATATA	16
2.3 CÁDMIO.....	17
2.4 CÁDMIO NA SAÚDE HUMANA	19
2.5 CÁDMIO NAS PLANTAS	20
2.6 TRANSLOCAÇÃO DE CD NA PLANTA	22
2.7 SELEÇÃO E TOLERÂNCIA	24
3 PRODUÇÃO CIENTÍFICA	27
4 MATERIAL SUPLEMENTAR	53
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	55
REFERÊNCIAS	56

1 INTRODUÇÃO GERAL

A poluição ambiental é algo sério e preocupante, e nos últimos anos a contaminação por elementos tóxicos, sejam eles metais traço ou metais pesados, tem aumentado expressivamente, devido a elevada industrialização, o que eleva a liberação de efluentes industriais, bem como o aumento no uso de fertilizantes, produtos químicos, dentre outros fatores (MÓDENES *et al.*, 2013; AUGUSTO *et al.*, 2014; POLETTI *et al.*, 2014). O nível de contaminação por metais é preocupante, devido à grande capacidade de retenção e, especialmente, pela movimentação destes metais no solo, pela possibilidade de atingir o lençol freático, além da provável absorção destes elementos pelas plantas, disponibilizando esses metais à cadeia alimentar. Alguns aspectos como capacidade de troca de cátions, pH, temperatura, potencial redox, teor de matéria orgânica e tipo de argila presente no solo, contribuem para a mobilidade e disponibilidade de metais pesados no solo (CARVALHO *et al.*, 2013; AUGUSTO *et al.*, 2014).

Dentre os metais pesados presentes em solos contaminados e plantas neles cultivadas tem-se o cádmio (Cd), que devido a sua alta toxicidade e seus efeitos negativos para os seres vivos, tem sido intensamente estudado e pode ser considerado um metal bioacumulativo, ou seja, apresenta a capacidade de se acumular em organismos biológicos (CAMPOS *et al.*, 2013; ZHANG; REYNOLDS, 2019). O Cd pode ser considerado potencialmente cancerígeno e pode afetar os rins, pulmões e o sistema reprodutor (POLETTI *et al.*, 2014).

O Cd pode estar presente no solo na forma de íons e em complexo, sendo esta a forma mais abundante. Pode ser encontrado associado a ligantes inorgânicos como Cl^- , SO_4^{2-} , HCO_3^- e F^- , e a ligantes orgânicos como aminoácidos, citrato e oxalato, por exemplo (ZHANG; REYNOLDS, 2019). Assim, é importante conhecer os níveis de Cd encontrados no solo para o controle da solubilidade e fitodisponibilidade deste metal, visto que algumas plantas possuem afinidade para sua absorção. O Cd nas plantas pode acarretar diminuição do seu crescimento, reduzir a taxa fotossintética, provocar alterações enzimáticas e metabólicas, sendo os seus efeitos agravados de acordo com a concentração e o tempo de exposição ao metal (KATANAPENDIAS; PENDIAS, 2001; OLIVEIRA *et al.*, 2001).

A inserção de metais pesados, incluindo o Cd, na dieta humana pode se dar via alimentos contaminados. A batata (*Solanum tuberosum* L.) é um dos alimentos mais importantes para a humanidade, pois se trata do tubérculo mais produzido e a terceira cultura de maior importância para a dieta humana, sendo cultivada em mais de 160 países, é de suma importância que se tenha garantida a qualidade deste alimento no que diz respeito aos níveis de metais (FAO, 2018). Em 2019, o Brasil foi responsável por produzir 3.854.054 toneladas de batata, em uma

área total de 125.548 hectares (IBGE, 2020), sendo produzida durante todos os meses do ano, em diferentes regiões, onde os principais estados produtores são Minas Gerais (32,8%), São Paulo (20,6%), Paraná (18,7%), Rio Grande do Sul (10,5%), Bahia (7,9%), Goiás (5,2%) e Santa Catarina (3,9%) (IBGE, 2015).

A exposição de plantas de batata ao Cd ocorre principalmente através da deposição atmosférica e da aplicação de fertilizantes fosfatados e quando expostas ao metal, as plantas podem apresentar redução no crescimento, bem como alterações nas concentrações de nutrientes minerais e parâmetros bioquímicos, sendo estas modificações dependentes do genótipo, pois estes diferem na capacidade de acumular e translocar Cd (DUNBAR *et al.*, 2003; GONÇALVES *et al.*, 2007; GONÇALVES *et al.*, 2009a; CORGUINHA *et al.*, 2015). Sabe-se que o elemento é absorvido pelas raízes e pode ser translocado para as demais partes da planta. Em cebola galesa (*Allium fistulosum* L.) por exemplo, foi encontrada uma concentração de até 0,61 mg.kg⁻¹ de Cd em pseudocaule (LI *et al.*, 2016), já em batata foi encontrada uma concentração de 0,016 a 0,3 mg.kg⁻¹ de Cd no tubérculo. Somente a batata pode representar mais de 50% do total de intoxicações em humanos pelo metal (KATANA-PENDIAS; PENDIAS, 2001). Logo, devido à grande contaminação dos solos agrícolas, se faz necessário estudar alternativas seguras para evitar a entrada ou reduzir os níveis de Cd e outros elementos que possam estar presentes na dieta humana.

Diante do exposto, a batata é um dos cultivos mais disseminados no mundo, a terceira fonte alimentar em importância e tem grande potencial para intoxicação em humanos. Assim, o objetivo geral desta pesquisa foi estudar a sensibilidade de plantas de batata a adição de Cd ao meio de cultura. Os objetivos específicos foram avaliar as respostas morfofisiológicas de plantas de batata cultivadas *in vitro* na presença de Cd, definir uma metodologia para inferir sobre a sensibilidade de diferentes clones e comparar as respostas morfofisiológicas *in vitro* de plantas de clones de batata expostas a concentrações de Cd, visando selecionar clones de batata que apresentem baixo ou nulo acúmulo de Cd nos tubérculos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 BATATA: ASPECTOS GERAIS

A batata (*Solanum tuberosum* L.) pertence à divisão *Angiospermae*, classe *Dicotyledonae*, ordem *Gentianalis*, família *Solanaceae*, gênero *Solanum* *Lineais*, subgênero/subespécie *Solanum*, seção *Petota*, série *tuberosa*, originária e domesticada pela primeira vez nas montanhas dos Andes da América do Sul. Existem mais de 4.500 variedades de batata nativas, encontradas principalmente nos Andes, além de 100-180 espécies de batata selvagem, que embora sejam muito amargas para serem consumidas, sua importante biodiversidade inclui resistência natural a pragas, doenças e condições climáticas (EMBRAPA, 2020; CIP, 2020).

A espécie é cultivada a mais de 7.000 anos pelos povos nativos, e foi inserida na Europa próximo ao ano de 1570 por colonizadores espanhóis; porém, somente em 1620 tornou-se alimento popular, quando introduzida na América do Norte (LOPES; BUSO, 1997; SILVA *et al.*, 2013). É uma espécie que evoluiu para a propagação vegetativa através de um propágulo natural denominado tubérculo, que se trata de um caule modificado, sendo a propagação vegetativa fundamental para a fixação do conteúdo genético das plantas, permitindo a formação de clones (FAVORETTO, 2009).

A batata é uma planta herbácea anual, que cresce até 100 cm de altura e à medida que vai se desenvolvendo, sua produção de amido destina-se para as extremidades de suas hastas subterrâneas ou estolões. Ao engrossarem as hastas formam os tubérculos, próximos a superfície do solo, e o número de tubérculos que atingem a maturidade depende, principalmente, da umidade e dos nutrientes disponíveis no solo, variando em forma e tamanho com peso médio de até 300 g cada. No final do período de desenvolvimento, ocorre a morte das folhas e caules da planta, bem como os tubérculos se desprendem de seus estolões. Os tubérculos são a fonte de reserva de nutrientes e permitem que a planta sobreviva ao frio e depois se regenere, iniciando novo ciclo vegetativo (CIP, 2020).

A batata é a terceira cultura alimentar mais importante do mundo, depois do arroz e do trigo em termos de consumo humano, devido à composição do tubérculo que possui 80% de água, cerca de 16% de carboidratos, principalmente amido em suas diferentes formas, 1% a 2% de fibra, concentrada na casca e entre 0,1% a 0,7% de açúcares simples, além de possuir proteínas em abundância, correspondendo a aproximadamente 2% da sua composição, e também possui vitaminas do tipo A, B1, B2, B5 e C (EMBRAPA, 2020).

O cultivo de batata se dá em diversos países, sendo que a produção total agrícola global excede 300 milhões de toneladas (CIP, 2020). No Brasil, a produção concentra-se nos estados de Minas Gerais, sendo este responsável por 33% da produção anual, seguido do Paraná que é responsável por 21%, São Paulo com 17% e Rio Grande do Sul com 10% (SILVA *et al.*, 2014). No Rio Grande do Sul, a batata é cultivada nos meses de agosto e dezembro (primavera), e fevereiro e junho (outono), e o armazenamento dos tubérculos em temperatura adequada é um aliado para reduzir as perdas pós-colheita, atuando também como meio de regular a oferta do produto no mercado (BISOGNIN *et al.*, 2008).

Os tubérculos podem ser comercializados diretamente no mercado ou vendidos para indústria de processamento, chegando ao consumidor final na forma *in natura*, de batatas pré-fritas congeladas, ou ainda ser destinados para indústria de bebidas finas e alimentos desidratados (COGNATO *et al.*, 2016). Conforme dados da FAO (2018), as raízes e os tubérculos são responsáveis por grande parte do suprimento alimentar no mundo, além de serem fonte para a alimentação animal, e aproximadamente, 55% da produção de raízes e tubérculos é consumida na forma de alimento, o restante é utilizado como material de plantio, na alimentação de animais, na obtenção de amido, destilados, álcool, dentre outros produtos.

Os tubérculos utilizados na alimentação podem ser preparados na gordura, na água, no vapor ou ainda no forno, e é devido a esta facilidade e flexibilidade de preparo que a batata é uma das hortaliças mais apreciadas no mundo, bem como devido a sua alta capacidade de produzir carboidratos, proteínas, vitaminas e minerais em curto período (LOVATTO *et al.*, 2012), sendo considerada um alimento básico na dieta humana (YE *et al.*, 2020).

Com os avanços tecnológicos no setor agrícola, a produção de tubérculos aumentou em torno de 2,7% nos últimos anos, porém ainda se faz necessário desenvolver cultivares que sejam mais produtivas, resistentes e, principalmente, adaptadas as condições de clima subtropical e tropical do Brasil (SILVA *et al.*, 2014). Estima-se que aproximadamente 13% da produção de batata no Brasil é utilizada como batata-semente; contudo, somente em torno de 30% da batata-semente tem origem certificada ou similar. Dentre as formas de produção da batata-semente, a técnica de cultura de tecidos é sempre utilizada por possibilitar maior controle sobre a incidência de patógenos e contaminação, o que permite a micropropagação em larga escala (FORTES; PEREIRA, 2003).

2.2 CARACTERIZAÇÃO DA BATATA

A batata cultivada fora da região de origem e, portanto, a mais cosmopolita é tetraploide, ou seja, $2n=2x=48$, cuja classificação a coloca na subseção *Potatoe* que compreende 18 séries, pertencendo à série *Tuberosa*. A forma tetraploide, *Solanum tuberosum* é considerada uma seleção originada a partir de uma pequena introdução de tubérculos de *S. tuberosum* subsp. *andigena* procedente provavelmente da Colômbia e Peru, com uma base genética muito estreita. Por meio de seleção, esta foi adaptada para tuberizar sob comprimento de dia mais longo e diferentes condições ambientais da Europa e, posteriormente, ocorreu a dispersão por todo o mundo como o tipo cultivado. Entretanto, existe outra teoria de que após a epidemia de requeima, que dizimou lavouras de batata na Europa na década de 1940, foram inseridos acessos de *S. tuberosum* subsp. *Tuberosum* originários do Chile (FAVORETTO, 2009), o que pode ter ampliado a base genética da batata tetraplóide.

Das espécies do gênero *Solanum*, 74% são diploides, 4,5% triploides e 11,5% são tetraploides, sendo o restante pentaploides e hexaploides, formando uma série euploide de $2n=24$ (diploide), 36 (triploide), 48 (tetraploide), 60 (pentaploide) e 72 (hexaploide) (FAVORETTO, 2009). Na maioria das cultivares de batata, o androceu e gineceu amadurecem ao mesmo tempo, o que facilita a autofecundação, porém em algumas cultivares os botões florais caem antes da polinização e em outras ocorre florescimento, contudo, o seu pólen estéril não permite a autofecundação (EMBRAPA, 2020). Além disso, as espécies diploides também apresentam autoincompatibilidade muito desenvolvida (LIBERAL, 1966), o que obriga a fecundação cruzada.

O ciclo de desenvolvimento da batata é dividido em quatro fases, sendo as fases de brotação dos tubérculos, vegetativa, tuberização e senescência. A fase de brotação dos tubérculos é dividida em quatro etapas, iniciando com a dormência, que caracteriza os tubérculos logo após serem colhidos no campo, fato que impossibilita a brotação em condições favoráveis, podendo se manter durante semanas ou meses após a colheita. A segunda etapa corresponde ao início da brotação, que corresponde ao surgimento de ao menos um broto apical de 2 mm de comprimento, sendo que esta etapa ocorre imediatamente após à dormência. A terceira etapa é de plena brotação dos tubérculos, que é caracterizada pela presença de brotos laterais com ao menos 2 mm de comprimento, ou seja, período entre o crescimento vigoroso de muitos brotos em diferentes partes do tubérculo até o momento em que inicia a ramificação dos brotos. Por fim, o crescimento dos brotos propicia a formação dos primórdios radiculares na base dos brotos, correspondendo esta etapa ao início da formação das raízes, e é onde os

tubérculos apresentam rápido envelhecimento fisiológico, que ocasiona a senescência destes quando não plantados, pois é o plantio dos tubérculos que propicia a formação das raízes e o rápido crescimento dos brotos, que irão emergir do solo e formar as hastes principais, que se ramificam na superfície do solo ou logo abaixo do nível do solo (HELDWEIN *et al.*, 2009).

A fase vegetativa inicia com a emergência de uma ou mais hastes em mais de 50% das covas, assim com a emergência das hastes principais e o início da atividade fotossintética ocorre o estabelecimento do sistema radicular, bem como o aumento da área foliar, e esta fase pode durar de 10 a 40 dias, de acordo com a cultivar escolhida, as condições ambientais e a época de plantio. A fase de tuberização inicia quando ocorre a diferenciação e o crescimento dos tubérculos na extremidade dos estolões, é um estágio importante de desenvolvimento, visto que é neste momento que a partição de assimilados da planta modifica-se, os açúcares produzidos pela fotossíntese são convertidos em amido e armazenados nos tubérculos, e esta fase dura de 30 a 50 dias de acordo com a cultivar escolhida e da época de plantio. Na fase de senescência, onde ocorre uma redução gradual da fotossíntese e um amarelecimento de folhas e hastes, até a secagem completa da parte aérea, nesta fase os assimilados produzidos e as reservas da parte aérea são direcionadas para os tubérculos, sendo esta fase pouco variável entre as cultivares, sua duração é de 15 a 25 dias. Ao final desta fase de senescência tem-se a maturação dos tubérculos bem como a formação da casca (HELDWEIN *et al.*, 2009).

2.3 CÁDMIO

Os metais são considerados uma das maiores fontes de poluição do solo e dentre os principais contaminantes podemos citar o cobre (Cu), níquel (Ni), cádmio (Cd), zinco (Zn), cromo (Cr) e chumbo (Pb) (MAGNA *et al.*, 2013), sendo o Cd um elemento extremamente tóxico para o ambiente (REIS *et al.*, 2014). A biodisponibilidade dos metais depende de fatores, como a química do metal, o grau de carga, o pH, a capacidade de troca catiônica (CTC), o potencial redox, o conteúdo de matéria orgânica, a natureza da superfície do solo, o tamanho das partículas, bem como a presença de outros compostos inorgânicos (HERNÁNDEZ, 2015).

O Cd é um metal cuja densidade é $8,6 \text{ g.cm}^{-3}$, de maneira geral, metais pesados possuem uma densidade superior a 5 g.cm^{-3} , por esse motivo o Cd é considerado um metal traço, ou seja, um elemento químico não essencial, com potencial de se tornar poluente ambiental mesmo em baixas concentrações e, pode surgir naturalmente de acordo com o material de origem do solo (TOPPI; GABBRIELLI, 1999; ASHRAFZADEH *et al.*, 2017). Dentre as substâncias mais perigosas, determinadas pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos, o Cd é o

quarto metal mais perigoso. Isto porque afeta os processos biológicos dos seres humanos, animais e plantas, além de ser facilmente transferido para a cadeia alimentar, tornando-se um potencial contaminante para seres humanos (FIRME *et al.*, 2014).

A presença de Cd ocorre praticamente em todos os alimentos, por ser um poluente industrial e ambiental, porém sua concentração varia de acordo com a origem no meio, com a concentração do metal, bem como com a disponibilidade de Cd no meio em condições de ser absorvido pela planta (GODT *et al.*, 2006). Além disso, o elemento está presente nos fertilizantes fosfatados na forma de sulfeto de Cd, sendo depositado nos solos agrícolas através da aplicação repetitiva, o que ocasiona aumento no teor de Cd na planta, porém a bioacumulação geralmente não é afetada pela concentração inicial de Cd no fertilizante, mas pela frequência e duração da aplicação deste insumo. Por exemplo, em cada Kg de adubo fosfatado podem ser encontradas aproximadamente 300 mg de Cd, contudo, nem toda a quantidade de Cd encontrada será depositada no solo, devido à baixa solubilidade do fertilizante (ZHANG; REYNOLDS, 2019).

A permanência e a mobilidade de metais pesados no solo representam sérios riscos ambientais para os seres vivos, e os diferentes tipos de solo, em geral, apresentam grande capacidade de retenção de metais pesados. Entretanto, quando a capacidade é ultrapassada, os metais acabam sendo liberados para o meio, e essa mobilidade de solutos no solo é determinada pela extensão de adsorção dos coloides. Assim, algumas propriedades do solo que afetam a capacidade de adsorção de Cd são teor de matéria orgânica e de óxidos de Fe e Al, capacidade de troca de cátions, pH e força iônica da solução (OLIVEIRA *et al.*, 2010).

Os mecanismos de transporte dos metais no solo podem ser por advecção, dispersão mecânica e difusão molecular, sendo esses processos influenciados por características locais, como a condutividade hidráulica e umidade do solo, granulometria, bem como a estrutura e graus de estratificação do perfil do solo. O transporte por advecção está relacionado com a velocidade do fluxo hidráulico, desta forma, o contaminante é carregado junto com a massa de água, de acordo com o fluxo subterrâneo natural; já a difusão molecular é um processo espontâneo, definido através de um espalhamento do material quando existe diferença de concentração, predominando nos meios porosos, pois a velocidade é mais lenta; a dispersão mecânica é realizada no sentido do fluxo como consequência das variações entre os poros do solo e é caracterizada por um espalhamento do material (OLIVEIRA *et al.*, 2010).

Uma vez presente no solo, o Cd pode ocasionar toxicidade na planta, e isso ocorre devido a interação do elemento com os nutrientes minerais, dentre os quais pode-se citar zinco (Zn), ferro (Fe), cálcio (Ca), potássio (K), manganês (Mn), cobre (Cu), silício (Si) e magnésio

(Mg). Isto porque alguns cátions competem pelos mesmos sítios de troca, de maneira geral a adsorção de Cd pode ser reduzida quando em presença de íons competitivos nos solos (HE *et al.*, 2017). Contudo, determinar os teores naturais de Cd nos solos é difícil, pois a maioria das regiões já sofreu influência antrópica, principalmente, pela expansão da fronteira agrícola (CAMPOS *et al.*, 2013).

Os alimentos podem ser contaminados por Cd devido a sua presença no solo, pela irrigação com água contaminada, através da poluição atmosférica e da adubação fosfatada (SATARUG *et al.*, 2003). Além disso, devido ao fato do Cd ser um elemento móvel, facilitando a absorção desse metal pelas raízes das plantas (IDREES *et al.*, 2015) podendo chegar ao xilema, tanto pela via simplástica quanto apoplástica (SALT *et al.*, 1995). Portanto, a contaminação da população ocorre por meio da ingestão de alimentos, sendo a principal fonte de exposição não-ocupacional por Cd (SATARUG *et al.*, 2003).

2.4 CÁDMIO NA SAÚDE HUMANA

A exposição ao Cd ocasiona efeitos negativos à saúde humana, pois o metal é retido no corpo e os níveis se acumulam de acordo com a idade, devido a sua meia-vida biológica ser longa, entre 10 e 30 anos (BUHA *et al.*, 2019). Os efeitos à saúde humana podem ser desde insuficiência renal, distúrbios ósseos, distúrbios neurológicos, problemas no sistema reprodutor masculino, como ocasionar desequilíbrio de Zn, Mg e Cu no corpo e urina, além de causar câncer. Sabe-se que os efeitos do Cd no organismo humano podem ser iguais entre homens, mulheres e crianças, porém os dois últimos são mais vulneráveis aos efeitos nefrotóxicos do Cd. Esta maior sensibilidade é devida ao menor armazenamento de ferro (Fe) e a uma regulação positiva dos canais de ferro, que facilitam o aumento das concentrações de Cd, pois o Cd e o Fe usam mecanismos de absorção semelhantes (ZHANG; REYNOLDS, 2019).

O Cd também pode afetar o sistema esquelético, aumentando potencialmente o risco de osteoporose e fraturas ósseas, independente se a exposição é a altos ou baixos níveis deste metal (BUHA *et al.*, 2019). Além disso, pode causar danos à saúde humana em nível celular, correlacionando-se com o estresse oxidativo e danos ao DNA, sendo essas perdas extremamente dependentes da dose e tempo de exposição, por exemplo, a exposição a 5 μM de Cd pode reduzir a capacidade de reparo da lesão de DNA em 75% (ZHANG; REYNOLDS, 2019).

Na literatura existem diversos relatos sobre a contaminação por Cd e suas ameaças a saúde humana, até mesmo referente a interrupção do suprimento de alimentos, como o surto da doença “Itai-Itai” no Japão, que aconteceu durante a década de 1960, sendo a primeira

ocorrência documentada de envenenamento em massa, cuja causa foi o consumo de arroz contaminado por Cd. Em 2013, as autoridades chinesas descobriram que 44,4% do arroz e produtos derivados estavam contaminados com altos níveis de Cd na sua segunda maior cidade, Guangzhou, culminando no fechamento de grandes áreas produtoras e severas restrições no fornecimento do grão (SHAHRIAR *et al.*, 2020).

A presença de Cd nos alimentos produzidos no mundo inteiro é uma realidade, logo alguns valores devem ser considerados para a segurança alimentar e, de acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS) através do comitê códex alimentar, foram estabelecidos limites para a presença de Cd em vegetais, cujos valores tolerados são de 0,05 a 0,2 mg.Kg⁻¹ (MAGNA *et al.*, 2013) enquanto a ingestão diária tolerável é de 1 µg.Kg⁻¹ de peso corporal, segundo a OMS (ASHRAFZADEH *et al.*, 2017).

2.5 CÁDMIO NAS PLANTAS

A fitotoxicidade e a disponibilidade dos metais pesados depende, sobretudo, das reações no complexo rizosférico, abrangendo processos de troca entre a solução do solo, a planta e a concentração do metal. Porém, a fitotoxicidade de metais pesados atinge primeiramente a membrana vegetal, afetando o núcleo ou até mesmo afetando a produção de hormônios que estão presentes na parte aérea das plantas. Logo, a acumulação de metais pesados ocorre de maneira diferente dentre as espécies vegetais, órgãos e tecidos das plantas (IDREES *et al.*, 2015; VIEIRA *et al.*, 2015).

O Cd não é um elemento exigido pelas plantas para o seu crescimento e reprodução, e sabe-se que o índice de bioacumulação de Cd²⁺ nas plantas é alto, podendo exceder o de muitos minerais essenciais. Além disso, a interação de Cd com outros elementos essenciais pode ocasionar deficiências nutricionais graves, que alteram o balanço de nutrientes da planta exposta ao metal, resultando em distúrbios fisiológicos, além de redução do crescimento e produtividade, uma vez que o acúmulo de Cd afeta a absorção e translocação de nutrientes nos vegetais (GONÇALVES *et al.*, 2009a). Também pode ocorrer a competição entre os nutrientes e o Cd pelos locais de ligação em compartimentos como parede celular, membrana plasmática e célula, o que influencia na distribuição do metal na planta, como por exemplo a entrada de Cd por canais de Ca nas folhas, afeta negativamente a relação planta-água, acarretando em fechamento estomático, diminuindo a taxa de transpiração e inibindo a fotossíntese, o que leva a inibição do crescimento e desequilíbrio no nível de nutrientes (NAZAR *et al.*, 2012). Logo, o metal afeta os sistemas vitais da planta, porém seus efeitos variam em função do tempo de

exposição ao metal, ou seja, quanto maior o período de exposição, maior é a sua interferência sobre o sistema metabólico, fisiológico e estrutural das plantas, podendo ocasionar danos a mitocôndria e acarretar morte celular por apoptose ou necrose (GALLEGO *et al.*, 2012; AUGUSTO *et al.*, 2014).

A entrada de Cd nas raízes ocorre por meio do tecido cortical, podendo alcançar o xilema através das vias apoplástica e/ou simplástica, formando complexos com ácidos orgânicos ou fitoquelatinas. Logo, o elemento é absorvido e acumulado pelas plantas, porém esse processo é influenciado de acordo com a espécie e cultivar, bem como fatores de solo, dentre eles pH, teor de matéria orgânica, capacidade de troca de cátions e condutividade elétrica (SANDERSON *et al.*, 2019).

Ao ser absorvido pelas plantas, o Cd induz ao estresse hídrico, pois diminui a condutância estomática, a transpiração e o teor relativo de água nas folhas, afetando também a absorção de nutrientes e a permeabilidade da membrana plasmática (HE *et al.*, 2017). Assim, o acúmulo excessivo de Cd causa estresse nas plantas e pode interferir em diversos processos fisiológicos, como mencionado anteriormente, além de afetar a expressão proteica, alterando genes, estimulando ou inibindo a atividade de várias enzimas antioxidantes, bem como aumentando o acúmulo de espécies reativas de oxigênio (ERO) e a peroxidação lipídica (TOPPI; GABBRIELLI, 1999; HE *et al.*, 2017).

O funcionamento/ação das enzimas fotossintéticas pode ser impedido também pela presença de Cd, especialmente as que estão envolvidas no ciclo de Calvin e biossíntese da clorofila, como é o caso da enzima δ -aminolevulínica desidratase (ALA-D). Isto se deve ao fato de que o Cd, quando presente em elevadas concentrações, ocasiona danos aos tecidos, ERO, que incluem radicais superóxido ($O_2^{\cdot-}$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e radicais hidroxila (OH^{\cdot}). As espécies reativas de oxigênio em baixas concentrações são essenciais para manter a homeostase das plantas, porém em maiores níveis acabam reagindo com lipídios, proteínas, pigmentos e ácidos nucleicos, acarretando danos a membrana, bem como inativação das enzimas, afetando a viabilidade celular (GONÇALVES *et al.*, 2009b). Como as ERO resultam em peroxidação lipídica e na degradação da clorofila, ocasionam perda funcional e estrutural das membranas biológicas, afetando proteínas e ácidos nucleicos, reduzindo o crescimento e a produtividade, e quando o tempo de exposição e a concentração de Cd são elevadas, acarretam morte da planta (VIEIRA *et al.*, 2015).

A absorção de Cd pelas plantas também ocasiona alterações morfológicas, como escurecimento das raízes, redução do comprimento radicular, diminuição da biomassa seca, além de aumentar o diâmetro radicular, devido ao aumento no tamanho das células do

parênquima e dos tecidos corticais, porém esses efeitos podem variar de acordo com a espécie em estudo (FERREIRA, 2013; HE *et al.*, 2017; SHANYING *et al.*, 2017). Na parte aérea das plantas, o Cd reduz a taxa líquida de assimilação de CO₂, diminuindo a atividade da enzima rubisco, acarretando redução da biomassa e crescimento das plantas, além de ocasionar clorose, necrose, dessecação das folhas e posterior queda destas, isto porque o Cd desorganiza as estruturas dos cloroplastos, reduzindo a biossíntese de clorofila. O Cd afeta ainda a senescência foliar, pois atua induzindo o peroxissomo, através da ativação de enzimas do ciclo do glioxilato, como malato sintase e isocitrato, bem como as peptidases peroxissômicas (GALLEGO *et al.*, 2012; SANDERSON *et al.*, 2019).

Diante disto, fica evidente que o Cd é absorvido e acumulado pelas plantas, e alguns fatores devem ser observados quando se trata da concentração deste metal, por exemplo, quando o teor total no solo ultrapassa 8 mg.Kg⁻¹ ou então a concentração biodisponível é superior à 0,001 mg.Kg⁻¹. No tecido da planta, quando as concentrações ficam entre 3 e 30 mg.Kg⁻¹ é o momento que normalmente surgem sintomas, como crescimento atrofiado, clorose, necrose, escurecimento das raízes e posterior morte da planta (HE *et al.*, 2017). Todavia, algumas plantas podem acumular menores quantidades de Cd, contudo os mecanismos de tolerância ao metal ainda necessitam ser melhor entendidos (SANDERSON *et al.*, 2019).

Em batata foi observado que na dose de 100 µM promoveu grande estresse oxidativo e o sistema antioxidativo das plântulas não foi eficiente o suficiente para reverter os efeitos do estresse (GONÇALVES *et al.*, 2009b). Também foi observado que a concentração média de Cd nos tubérculos foi de 0,10 ± 0,09 mg.Kg⁻¹, sendo relatado que o teor de Zn no solo influenciou o acúmulo de Cd, porém a variação de Zn no tubérculo foi mínima, variando entre 3,10 e 5,58 mg.Kg⁻¹ (SANDERSON *et al.*, 2019). Já em tomate exposto ao Cd, foi observada redução de 72% no número de frutos por planta, isto se deve a diminuição no número de flores em desenvolvimento e ao aumento do número de flores abortadas por indivíduo (HÉDIJI *et al.*, 2015).

2.6 TRANSLOCAÇÃO DE Cd NA PLANTA

Os elementos minerais, de maneira geral, têm relativa mobilidade nas plantas, e o movimento destes para a superfície da raiz depende de alguns fatores, como a difusão de elementos ao longo do gradiente de concentração formado devido à captação, ocasionando esgotamento do elemento na raiz; a interceptação radicular, onde o volume do solo é deslocado pelo volume radicular devido ao crescimento das raízes; e ao fluxo de massa (NAZAR *et al.*,

2012). Inicialmente os metais são retidos no apoplasto das raízes, sendo uma porção da quantidade total dos metais transportada para as células, ao mesmo tempo em que outra fração permanece retida na parede celular, e uma parcela também é conduzida até a membrana plasmática (HERNÁNDEZ, 2015).

O Cd é um cátion divalente e, por este motivo, acaba competindo com cálcio (Ca), magnésio (Mg) ou ferro (Fe) por exemplo, em seu transporte através das membranas das células, sendo absorvido pelas plantas por meio de transportadores de cátions que estão normalmente envolvidos na absorção de elementos essenciais (NAZAR *et al.*, 2012). Todavia, o movimento de Cd nas plantas é regulado pelos tecidos vasculares, sendo as proteínas transportadoras presentes nas membranas dos tecidos vasculares, responsáveis por regularem a absorção do metal. Logo, a passagem do Cd através do sistema é bastante semelhante ao movimento do soluto, ocorrendo por intermédio de meios adsorventes porosos. Assim, a translocação de Cd para a parte aérea pode estar ligada a absorção do metal pelo sistema radicular, e não somente ao fluxo de água na planta (PRASSAD, 1995).

Diversos estudos ainda estão sendo realizados visando a compreensão dos mecanismos moleculares de absorção e transporte de Cd nas plantas, com espécies como *Arabidopsis thaliana* e *Oryza sativa* (ZHANG *et al.*, 2012). Porém, sabe-se que existem várias proteínas relacionadas ao transporte de Cd, como os transportadores da família ZIP e NRAMP ou ainda, canais e transportadores de Ca (NAZAR *et al.*, 2012). Além disso, também estão envolvidas no transporte de Cd as proteínas transportadoras de zinco, as chamadas ZRT, as responsáveis pelo transporte de ferro, chamadas de IRT1 e ZIPs, bem como as ATPases de metais pesados, chamadas de HMAs (Heavy Metal ATPase) (WANG *et al.*, 2018). O Cd pode também entrar nas células da raiz na forma de quelatos por proteínas Yellow-Stripe 1-Like (YSL) (GALLEGO *et al.*, 2012) e chegar ao xilema, podendo alcançar a parte aérea das plantas mediante o processo de transpiração (FERREIRA, 2013).

Destaca-se que a proteína ATPase 3 do tipo P1B é encontrada em espécies vegetais geralmente no tonoplasto, e foi mencionada como responsável pela condução de Cd para os vacúolos em *Oryza sativa* e *Arabidopsis thaliana*. Em *Brassica rapa* foi constatado que o polimorfismo da sequência de codificação de *BrHMA3* atua no acúmulo do metal nos tecidos acima do solo, pois este gene é expresso, principalmente, nas raízes e codifica uma proteína que pode ser uma importante fonte para reduzir a concentração de Cd nas partes comestíveis, sugerindo que *BrHMA3* é capaz de transportar Cd (ZHANG *et al.*, 2012).

O Cd é tóxico para as células vegetais mesmo quando presente em baixas concentrações, e por esse motivo as plantas desenvolveram diferentes mecanismos para suportar a sua

presença, como imobilização, exclusão do metal, excreção ativa, distribuição restrita em tecidos sensíveis, ligação do metal à parede celular, quelação por moléculas orgânicas e compartimentalização vacuolar (GALLEGO *et al.*, 2012). O mecanismo de imobilização dos íons de Cd através da parede celular atua como uma “barreira”, principalmente, nas células radiculares; a exclusão é executada pela membrana plasmática visando não permitir a entrada de íons no citosol da célula; e a compartimentalização dos íons no vacúolo é a ferramenta que possibilita a desintoxicação e tolerância ao metal, pois inibe a circulação deste íon no citosol da célula (TOPPI; GABBRIELLI, 1999).

Assim, os vacúolos das células vegetais desempenham papel importante na manutenção da homeostase de nutrientes e dos elementos tóxicos, logo, após o Cd ser absorvido, uma porção considerável é sequestrada para os vacúolos das células da raiz (ZHANG *et al.*, 2012). Devido ao vacúolo estar envolvido com o sequestro de Cd e por esse motivo, na tolerância induzida, várias famílias de transportadores estão envolvidas nesse processo de transporte (GALLEGO *et al.*, 2012).

2.7 SELEÇÃO E TOLERÂNCIA

No processo evolutivo das plantas, houve o desenvolvimento de mecanismos de adaptações as condições ambientais, que podem ser abióticos e bióticos (ROBAYO; GUTIÉRREZ, 2014). De maneira geral, plantas que se desenvolvem em ambiente contaminado por metais pesados tendem a responder de maneira diferente a este ambiente. Ou seja, podem exibir sintomas de toxicidade sendo consideradas plantas sensíveis ou ainda, se desenvolvem sob altas concentrações de metais pesados sem apresentarem efeitos tóxicos, as quais são consideradas plantas tolerantes (RODRIGUES *et al.*, 2016).

Os mecanismos de tolerância das plantas a metais pesados não são totalmente conhecidos ainda, porém em parte pode-se dizer que depende da redução da absorção do metal, na manutenção da concentração do elemento, conservando o teor abaixo de alguns limites pré-estabelecidos (VIEIRA *et al.*, 2015). Nesse intuito, o melhoramento genético está profundamente relacionado com a variabilidade genética, que tem papel fundamental nos programas de cruzamento e seleção de genótipos melhorados, e o estudo da diversidade genética entre os acessos de um banco de germoplasma gera informações de potenciais genitores a serem utilizados (FAVORETTO, 2009).

Visando contribuir para a redução da absorção e acúmulo de Cd nos tecidos das plantas, algumas práticas agronômicas adequadas devem ser consideradas, como diminuir a

contaminação dos solos por exemplo, porém é de grande importância desenvolver cultivares que acumulem menos Cd em sua parte aérea e radicular (ZORRIG *et al.*, 2019). No arroz, por exemplo, existem cultivares que quando expostas a solos contaminados acumulam um nível baixo de Cd nos grãos, tornando a ingestão segura, do ponto de vista do nível aceitável de Cd (CHIAO *et al.*, 2019). Os estudos para investigar a extensão da variação na bioacumulação em tubérculos, de diferentes cultivares de batata que foram cultivadas em solos não contaminados com Cd e outros elementos minerais ainda são escassos, mesmo essa linha de pesquisa sendo importantíssima para embasar informações mais abrangentes sobre a absorção de Cd pelas plantas (ASHRAFZADEH *et al.*, 2017).

Na batata, sabe-se que existem grandes diferenças entre as cultivares quanto ao nível de Cd em tubérculos, sendo uma estratégia prática de triagem para a seleção de cultivares que apresentem baixo acúmulo de Cd nos tubérculos (YE *et al.*, 2020). Um padrão diferencial de acumulação de Cd foi observado em diferentes cultivares de batata, onde as concentrações mais altas de Cd foram encontradas nas folhas e caules, e, em torno de apenas 7%, foi mensurado nos tubérculos (YE *et al.*, 2020). Dez cultivares de batata foram estudadas quanto a presença de Cd em tubérculos, onde foram encontradas concentrações de 0,04 a 0,34 mg.Kg⁻¹, sendo que as cultivares Laura, Yukon Gold e Purple Passion apresentaram os mais altos níveis de acúmulo de Cd, com concentrações de 0,18 a 0,21 mg.Kg⁻¹, enquanto a cultivar Summer Delight apresentou o menor acúmulo de Cd 0,07 mg.Kg⁻¹ (ASHRAFZADEH *et al.*, 2017).

Também foi observado que ao utilizar diferentes concentrações de Cd, tanto no cultivo *in vitro* quanto em solução nutritiva, duas cultivares de batata apresentaram elevados teores de Cd nas raízes e parte aérea, quando comparadas ao tratamento controle. Isto evidencia a importância de estudar os efeitos de Cd em diferentes clones de batata *in* e *ex vitro* (GONÇALVES *et al.*, 2009a).

Em *Brassica rapa* também foi encontrada uma grande variação no acúmulo de Cd em 64 acessos estudados. Isto foi devido a variação na translocação raiz/parte aérea de Cd, sendo possível inferir que o *BrHMA3* é um determinante chave da translocação e acumulação de Cd nas brotações de *B. rapa* devido a capacidade de sequestrar Cd nos vacúolos das células da raiz. Os autores observaram correlações importantes entre as concentrações de Zn e Cd na parte aérea dos 64 acessos da espécie, resultados que sugerem a possibilidade de outros genes envolvidos na captação e/ou translocação de Zn e Cd simultaneamente em *B. rapa* (ZHANG *et al.*, 2012).

Assim, as informações e dados disponíveis na literatura, evidenciam a importância de estudar clones e cultivares de batata quanto aos níveis de absorção e translocação de Cd, com

intuito de identificar aqueles que apresentem baixo ou nulo acúmulo deste metal nos tubérculos, visando a segurança alimentar da humanidade.

3 PRODUÇÃO CIENTÍFICA

***IN VITRO* SENSITIVITY OF POTATO PLANTS TO CADMIUM EXPOSURE** **SENSIBILIDADE *IN VITRO* DE PLANTAS DE BATATA EXPOSTAS AO CÁDMIO**

ABSTRACT

Cadmium (Cd) is a heavy metal that is extremely dangerous to human health and can be found naturally in soils, deposited through industrial waste or phosphate fertilization. In this study, we aimed to evaluate the morphological responses of *in vitro* grown plants of potato in the presence of Cd and define a procedure for assessing Cd sensitivity of different clones. The potato clone SMIJ461-1 was cultured in the presence of Cd at concentrations of 0, 20, 40, 60, 80, 90, 110, 120, 140, and 160 $\mu\text{M L}^{-1}$. Survival, rooting, number and height of shoots, leaf and root counts were evaluated at 7, 14, 21, and 28 days of cultivation. Adverse effects of Cd on the growth of the potato plants, exerted in a concentration-dependent manner, were observed for shoot height, leaf and root counts. The results of this study indicate that Cd concentrations of 0, 45, 90, and 135 $\mu\text{M L}^{-1}$ can be used for future *in vitro* evaluation of potato clone sensitivity to Cd exposure.

Keywords: *Solanum tuberosum* L., heavy metal, growth, plant micropropagation.

RESUMO

O cádmio (Cd) é um metal pesado extremamente perigoso à saúde humana, podendo ser encontrado naturalmente nos solos, depositado através de resíduos industriais ou da adubação fosfatada. Este trabalho teve por objetivo avaliar as respostas morfológicas de plantas de batata cultivadas *in vitro* na presença de Cd e definir uma metodologia para inferir sobre a sensibilidade de diferentes clones. Foi estudado o clone SMIJ461-1 de batata, nas concentrações de 0, 20, 40, 60, 80, 90, 110, 120, 140, 160 μM de Cd adicionadas ao meio de cultura. A sobrevivência, o enraizamento, o número de brotações, a altura da parte aérea e o número de folhas e raízes foram avaliados aos 7, 14, 21 e 28 dias de cultivo. Foram observados efeitos adversos de concentrações de Cd sobre o crescimento *in vitro* das plantas de batata do clone SMIJ461-1 para a altura da parte aérea e o número de folhas e raízes, sendo estes efeitos dependentes das concentrações de Cd adicionadas ao meio de cultura. Os resultados deste estudo indicam que as concentrações de 0, 45, 90 e 135 μM de Cd podem ser utilizadas para a avaliação *in vitro* da sensibilidade de clones de batata a presença de Cd.

Palavras-chave: *Solanum tuberosum* L., metal pesado, crescimento, micropropagação de plantas.

Potato (*Solanum tuberosum* L.) is the third most important food crop worldwide and is grown in more than 160 countries (FAO, 2018). According to the Brazilian Potato Association, potato agribusiness in Brazil involves approximately 5,000 producers, with an area of approximately 130,000 hectares and an annual production of 3.5 million of tons of potato. A large part of this production is destined for the market, with 18% used by the potato chip processing industry (PEREIRA; SILVA, 2019). Potatoes are rich in carbohydrates, proteins, B vitamins, iron, potassium, calcium, phosphorus, and starch. Their nutritional value, combined

with ease of preparation and gastronomic versatility, makes potato a part of the human staple diet (YE *et al.*, 2020).

Cadmium (Cd), a heavy metal, is a soil contaminant with no known essential biological function but is toxic to plants and animals even at low levels. Contamination of agricultural soils by Cd and other heavy metals is the main source of these elements in plants, which introduces them into the food chain. Cd is naturally present in the soil and its concentration depends on the origin, composition, and development of the soil. Besides that, Cd is a component of phosphate fertilizers, in the form of Cd sulfate, and its application contribute to Cd accumulation in the soil (ZHANG; REYNOLDS, 2019). Sources and brands of phosphate fertilizers differ in Cd content. Among nineteen samples, six had higher than 12 mg Kg⁻¹, one had higher than 43 mg Kg⁻¹, and the rest have less than 3 mg Kg⁻¹ of fertilizer (BIZZARRO *et al.*, 2008).

The risks to human health linked to the consumption of potatoes contaminated by toxic metals, including Cd, are a cause for concern worldwide (PENG *et al.*, 2018). Moreover, since potato is an important and staple food for humans, it carries a risk of introducing Cd in the human diet. Thus, identification of potato clones tolerant to Cd accumulation is essential for human health and improving food security. The objective of this study was to evaluate the morphological responses of *in vitro* grown plants of potato in the presence of Cd and define a procedure for assessing Cd sensitivity of different clones.

The study was carried out at the Tissue Culture Laboratory of the Plant Breeding and Propagation Center (MPVP), Department of Plant Science of the Federal University of Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brazil. Nodal segments of plants of potato clone SMJ461-1 were examined after 25 days of *in vitro* cultivation, in the MS culture medium (MURASHIGE; SKOOG, 1962) with 50% of the salt concentration (½MS), supplemented with 30 g L⁻¹ of sucrose, 0.1 g L⁻¹ myo-inositol and 6 g L⁻¹ of agar and pH of 5.5. Cadmium nitrate [Cd(NO₃)₂.4H₂O] in stock solution was administered at concentrations of 0 (control), 20, 40, 60, 80, 90, 110, 120, 140, and 160 µM L⁻¹. Approximately 10 mL of culture medium for each treatment was added to the test tubes, sealed, and autoclaved for 20 min at 120 °C and 1 atm pressure for sterilization. For micropropagation, a nodal segment (approximately 1.0 cm in length) was placed in each test tube. The explants were cultivated for 28 days in a climatized room at a temperature of 25 ±1 °C with a photoperiod of 16 h and light intensity of 35 µM m⁻² s⁻¹, obtained by cold fluorescent lamps. Survival, rooting, number and height of shoots, leaf and root counts were evaluated at 7, 14, 21, and 28 days of cultivation. The experiment was a completely randomized design, with five replicates of four plants. Data were subjected to

variance analysis, and the significant F test of means was compared by polynomial regression analysis at 5% probability of error using R Studio software.

The variance analysis did not show significant differences ($p > 0.5$) for percentage of survival and rooting and number of shoots for any evaluation (Table S1). Significant differences ($p < 0.01$) were found for shoot height, leaf and root counts in potato plants of clone SMIJ461-1 subjected to varying Cd exposure for all time periods. Despite presenting significant differences at seven days of cultivation, the variation coefficients observed at 14 days were similar to those obtained at 21 and 28 days of cultivation, indicating adequate experimental precision for all evaluated traits.

Cadmium concentration was inversely associated to shoot height, leaf and root counts of plants at 7, 14, 21, and 28 days of cultivation (Figure 1). Growth reduction of plants was observed from a certain concentration of Cd in the culture medium, depending upon each trait and day of evaluation. Potato plants of SMIJ461-1 clone showed reductions in shoot height, leaf and root counts in the presence of Cd at 14 days of cultivation, which were dependent on the concentration of Cd in the culture medium. Thus, future studies evaluating the *in vitro* sensitivity of potato plants to Cd should be carried out based on data from 14 days of *in vitro* cultivation, mainly when the goal is to evaluate a high number of clones. Moreover, evaluating at 14 days of cultivation is important, because it facilitates and accelerates the process of *in vitro* identification of potato clones for Cd sensitivity.

Considering the variation coefficient and the advantages of evaluating the plants at 14 days of cultivation, we can define the Cd concentration in the culture medium based on the maximum technical efficiency, which is the concentration that plants have already presented some level of sensitivity (STORCK *et al.*, 2000). For the clone SMIJ461-1, leaf count was first affected at $16.5 \mu\text{M L}^{-1}$, shoot height at $29.5 \mu\text{M L}^{-1}$, and root count at $74 \mu\text{M L}^{-1}$ of Cd in the culture medium at 14 days of cultivation, which concentration can be used for evaluating other potato clones in the future.

A similar study in *Jatropha curcas* L. found that a 40 mg dm^{-3} Cd concentration caused a reduction in plant height, stem diameter, leaf count, and leaf area, which can collectively restrict the photosynthesis rate (CHAVES *et al.*, 2014). In addition, height reduction, chlorosis, necrosis, and desiccation of leaves were identified as common symptoms of Cd exposure in most plant species (HE *et al.*, 2017). Cd affects the absorption of mineral nutrients and reduces plant growth by inhibiting stomatal opening, photosynthesis, and carbohydrate metabolism (NAZAR *et al.*, 2012). Plants show varied responses to Cd exposure but results similar to the present study were observed by Khan *et al.* (2020) in *Brassica rapa* ssp. *Chinensis*. They found

that 50 $\mu\text{M L}^{-1}$ Cd resulted in a reduction in shoot height and leaf count. In addition, Gonçalves *et al.* (2009) found that Cd exposure increased the number of adventitious roots in Asterix and Macaca cultivars of potato, suggesting a defense mechanism of plants to combat the adverse effects of this heavy metal. The negative effects of Cd on plant growth can be explained by considering various cellular interactions, nutritional deficiency, and phytotoxicity (GONÇALVES *et al.*, 2009). The mechanisms underlying Cd tolerance in plants are not yet fully understood (TIRYAKIOGLU *et al.*, 2006), but studies on certain species and cultivars have indicated plant adaptation to its presence.

In this study, potato plants of the clone SMIJ461-1 showed that the morphological effects depended on the evaluated trait and the Cd concentration in the culture medium. In addition to revealing morphological effects of Cd exposure, the results suggest that Cd concentrations of 45, 90, and 135 $\mu\text{M L}^{-1}$ should be used in future experiments to evaluate other potato clones based on shoot height, leaf and root counts of plants at 14 of days *in vitro* cultivation. The addition of 45 $\mu\text{M L}^{-1}$ of Cd to the culture medium reduced shoot height and leaf count, while 90 $\mu\text{M L}^{-1}$ Cd reduced root count, and 135 $\mu\text{M L}^{-1}$ Cd drastically affected plant growth (Figure 1) and showed chlorosis and necrosis at 14 days of *in vitro* cultivation. Root darkening and thickening were observed at Cd concentrations over 90 $\mu\text{M L}^{-1}$ after 28 days of cultivation (data not shown). As we do not know the *in vitro* sensitivity to Cd exposure of other potato clones, it is worse to include the concentration of 135 $\mu\text{M L}^{-1}$, even resulting in drastic morphological effects as observed for SMIJ461-1. Evaluation of other clones will improve and expand our knowledge about potato plant behavior in terms of Cd absorption and translocation and may suggest possible mechanisms of tolerance and/or accumulation sites in response to Cd exposure.

REFERENCES

- BIZARRO, V.G.; MEURER, E.J.; TATSCH, F.R.P. Cadmium contents of phosphate fertilizers marketed in Brazil. *Ciência Rural*, v. 38, n. 1, p. 247-250, 2008. Available at <https://www.scielo.br/j/cr/a/xk5fdRjL8vf8KTvmtJG9VHD/?lang=pt&format=pdf>. Accessed on: Sept 09, 2021.
- CHAVES, L.H.G.; SOUZA, R.S. Crescimento, distribuição e acumulação de cádmio em plantas de *Jatropha curcas*. *Ciências Agrárias*, v. 37, n. 3, p. 286-291, 2014. Available at <http://www.scielo.mec.pt/pdf/rca/v37n3/v37n3a04.pdf>. Accessed on: Dec. 13, 2020.
- FAO. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**. Rome: FAO, 2018. Available at <http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?pageID=567#ancor>. Accessed on: Dec. 02, 2020.

- GONÇALVES, J.F. *et al.* Crescimento *in vitro* de plântulas de batata em diferentes doses de cádmio. **Ciência Rural**, v. 39, n. 9, p. 2625-2628, 2009. Available at <https://www.scielo.br/pdf/cr/v39n9/a38v39n9.pdf>. Accessed on: Dec. 02, 2020.
- HE, S. *et al.* Morphological and Physiological Responses of Plants to Cadmium Toxicity: A Review. **Pedosphere**, v. 27, n. 3, p. 421-438, 2017. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1002016017603394>. Accessed on: Dec. 02, 2020.
- KHAN, K.Y. *et al.* Study amino acid contents, plant growth variables and cell ultrastructural changes induced by cadmium stress between two contrasting cadmium accumulating cultivars of *Brassica rapa ssp. chinensis* L. (pak choi). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 200, p. 110-748, 2020. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S014765132030587X?via%3Dihub>. Accessed on: Dec. 02, 2020.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, p. 473-497, 1962.
- NAZAR, R. *et al.* Cadmium toxicity in plants and role of mineral nutrients in its alleviation. **American Journal of Plant Sciences**, v. 3, p. 1476-1489, 2012. Available at <https://www.scirp.org/journal/paperinformation.aspx?paperid=24162>. Accessed on: Dec. 02, 2020.
- PENG, Y. *et al.* Risk assessment for potentially toxic metal(loid)s in potatoes in the indigenous zinc smelting area of northwestern Guizhou Province, China. **Food and Chemical Toxicology**, n. 120, p. 328-339, 2018. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S027869151830471X?via%3Dihub>. Access: Dec. 02, 2020.
- PEREIRA, A.S.; SILVA, G.O. Batata, evolução na oferta de cultivares brasileiras e na produção de tubérculos-semente. **SEEDnews**, n. 2, p. 35-39, 2019. Available at <https://seednews.com.br/artigos/2941-batata-edicao-marco-2019>. Accessed on: Dec. 02, 2020.
- STORCK, L. *et al.* **Experimentação vegetal**. Santa Maria: UFSM, 2000.
- 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**, n. 20, p. 181-189, 2006. Available at <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0946672X06000745?via%3Dihub>. Accessed on: Dec. 02, 2020.
- YE, Y. *et al.* Cultivar diversity and organ differences of cadmium accumulation in potato (*Solanum tuberosum* L.) allow the potential for Cd-safe staple food production on contaminated soils. **Science of the Total Environment**, n. 711, p. 134-534, 2020. Available at <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0048969719345255>. Accessed on: Dec. 02, 2020.
- ZHANG, H.; REYNOLDS, M. Cadmium exposure in living organisms: A short review. **Science of the Total Environment**, v. 678, p. 761-767, 2019. Available at

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0048969719319461?via%3Dihub>.
Accessed on: Dec. 02, 2020

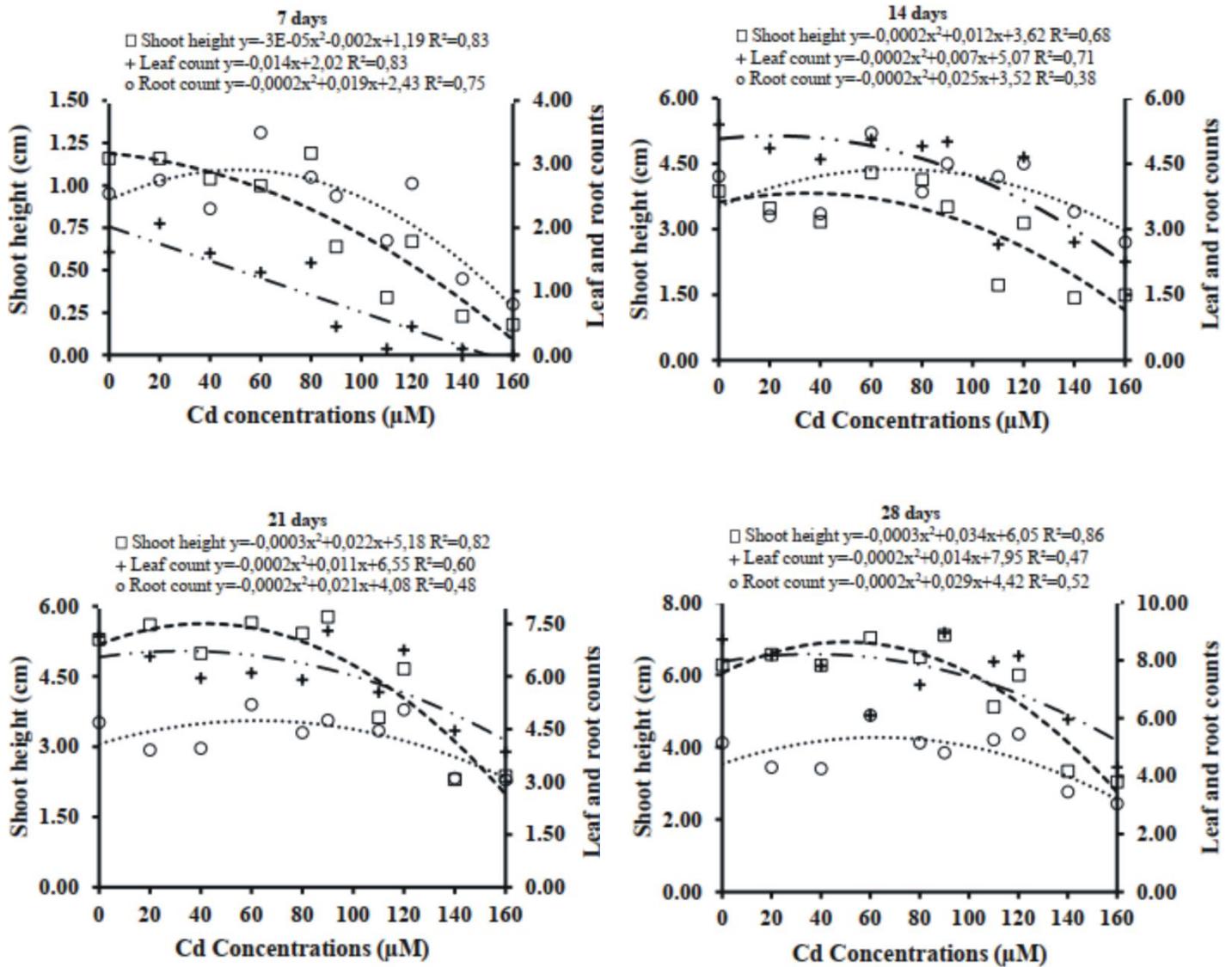


Figure 1 – Shoot height (cm), leaf and root counts of potato clone SMIJ461-1 grown *in vitro* at varying Cd concentrations for 7, 14, 21 and 28 days of cultivation.

Table S1 – Summary of analysis of variance for percentage of survival and rooting, number and height (cm) of shoots, leaf and root counts of potato plants of clone SMIJ461-1 cultivated *in vitro* at different cadmium (Cd) concentrations at 7, 14, 21 and 28 days.

	Survival (%)		Rooting (%)		Shoot number		Shoot height		Leaf count		Root count	
	SM	Fc	SM	Fc	SM	Fc	SM	Fc	SM	Fc	SM	Fc
At 7 days of <i>in vitro</i> cultivation												
[Cd]	0	0 ^{ns}	1246.29	8,16 ^{ns}	0.11	7.59 ^{ns}	0.81	11.39*	2.96	13.58*	3.25	5.44*
Average		100		86.33		0,88		0.76		0.91		2.29
CV (%)		0		14.32		13,81		34.97		51.12		33.8
At 14 days of <i>in vitro</i> cultivation												
[Cd]	56.94	0.91 ^{ns}	337.04	3.79 ^{ns}	0.09	2.89 ^{ns}	5.90	20.73*	6.95	17.22*	2.75	4.71*
Average		98.5		94.33		0.95		3.02		4.20		3.92
CV (%)		8.03		9.99		12.24		17.65		15.11		19.47
At 21 days of <i>in vitro</i> cultivation												
[Cd]	1145	1.79 ^{ns}	255.58	2.88 ^{ns}	0.28	1.59 ^{ns}	8.86	14.39*	6.17	12.56*	2.79	9.26*
Average		97.83		95,33		0.97		4.57		5.96		4.25
CV (%)		8.17		9.89		13.79		17.18		11.76		12.91
At 28 days of <i>in vitro</i> cultivation												
[Cd]	265.95	3.47 ^{ns}	255.250	2.87 ^{ns}	0.02	1,10 ^{ns}	10.44	13.19*	10.65	10.13*	4.38	9.79*
Average		95.82		95.32		0.96		5.71		7.32		4.69
CV (%)		9.13		9.90		15.68		15.56		14.00		14.25

SM = square mean, Fc = calculated F, and ^{ns} = no significant and * = significant at a 0.001 level of error probability.

RESPOSTA MORFOFISIOLÓGICA *IN VITRO* DE PLANTAS DE BATATA AO CÁDMIO

IN VITRO MORPHO-PHYSIOLOGICAL RESPONSE OF POTATO PLANTS TO CADMIUM

RESUMO

A batata é a terceira cultura de maior importância na dieta humana. Com a definição de metodologia para inferir sobre a sensibilidade *in vitro* de plantas de batata, este trabalho teve como comparar as respostas morfofisiológicas de plantas de clones de batata expostas a concentrações de Cd no meio de cultura. O experimento foi conduzido com plantas micropropagadas dos clones SMIJ461-1, SMINIA793101-3, SMINIA00017-6, SMIG227-7, e das cultivares Vivaldi e Asterix de batata. Com base em ensaios preliminares, foram estudadas as concentrações de Cd de 0, 45, 90 e 135 μM adicionadas ao meio de cultura. Foram avaliadas a altura da parte aérea e o número de folhas e raízes aos 14 dias de cultivo, e a atividade da enzima catalase, o comprimento médio, a área superficial, o diâmetro, o volume e a massa fresca e seca das raízes aos 28 dias de cultivo. A adição de Cd ao meio de cultura afetou todos os caracteres avaliados nas plantas de batata. Asterix, Vivaldi, SMIG227-7 e SMINIA00017-6 apresentaram alterações significativas na atividade da enzima catalase, sendo que Asterix apresentou um aumento de, aproximadamente, duas vezes na sua atividade. O aumento de atividade da enzima catalase pode ser um dos efeitos adversos que o metal ocasiona nas plantas de batata. A adição de Cd ao meio de cultura afeta positiva e negativamente o crescimento e desenvolvimento *in vitro* das plantas de batata, cujos efeitos variam com a sua concentração e os clones avaliados.

Palavras-chave: *Solanum tuberosum* L., micropropagação, metal pesado, crescimento.

ABSTRACT

Potato is the third most important crop in the human diet. With the definition of a methodology to infer about the *in vitro* sensitivity of potato plants, this study aimed to compare the morphophysiological responses of potato plants exposed to Cd concentrations in the culture medium. The experiment was carried out with micropropagated plants of the clones SMIJ461-1, SMINIA793101-3, SMINIA00017-6, SMIG 227-7, and the cultivars 'Vivaldi' and 'Asterix' of potato. Based on preliminary tests, the evaluation was carried out with the Cd concentrations of 0, 45, 90, and 135 μM added to the culture medium. The shoot height and number of leaves and roots were evaluated at 14 days, and the catalase enzyme activity, average length, surface area, diameter, volume, and fresh and dry mass of roots were evaluated at 28 days of cultivation. The Cd addition to the culture medium affected all potato plants and the traits evaluated. 'Asterix', 'Vivaldi', SMIG227-7, and SMINIA00017-6 showed significant changes in the catalase enzyme activity, being 'Asterix' with an increase of approximately two times. The increased activity of the catalase enzyme may be one of the adverse effects that the metal causes in potato plants. indicate the ability to detoxify reactive oxygen species and minimize its negative effects on the plants. The addition of Cd to the culture medium positively and negatively affects the *in vitro* growth and development of potato plants, whose effects vary with its concentration and the clones evaluated.

Keywords: *Solanum tuberosum* L., micropropagation, heavy metal, growth.

INTRODUÇÃO

Os metais pesados podem estar presentes nos solos ou serem incorporados através das atividades antropogênicas, de onde são absorvidos pelas plantas e podem causar distúrbios metabólicos, afetar o rendimento e a qualidade e, até mesmo, ocasionar a morte. A absorção desses elementos pelas plantas depende de fatores, como os teores de argila e matéria orgânica do solo, o pH, a espécie vegetal e o estágio de desenvolvimento da planta (KHAN *et al.*, 2017a). Dentre os metais pesados encontrados no solo, o cádmio (Cd) é considerado um oligoelemento não essencial para o crescimento e desenvolvimento das plantas (KHAN *et al.*, 2017b).

A presença de Cd em solos agrícolas pode ser natural ou proveniente da aplicação repetitiva de fertilizantes fosfatados, que contêm na composição o sulfeto de Cd (ZHANG; REYNOLDS, 2019). Uma vez presente no solo, o elemento chega até as plantas e, conseqüentemente, é inserido na dieta humana por meio de alimentos contaminados, cuja presença, mesmo que em baixas concentrações, é altamente cancerígena (KHAN *et al.*, 2017b), além de ocasionar insuficiência renal, distúrbios ósseos e neurológicos (ZHANG; REYNOLDS, 2019).

Após a entrada do Cd na planta, este é acumulado e leva a diversas alterações fisiológicas, bioquímicas e estruturais, afetando a absorção de nutrientes minerais, ocasionando a inibição da abertura estomática, interagindo com o balanço hídrico da planta (NAZAR *et al.*, 2012), bem como pode atuar inibindo e/ou estimulando a atividade de diversas enzimas antioxidantes (TOPPI; GABBRIELLI, 1999). Além disso, o acúmulo de Cd pode estimular a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO), causando estresse oxidativo nas plantas (RUI *et al.*, 2016). E devido ao estresse oxidativo, as plantas desenvolveram mecanismos de defesa e proteção antioxidante, dentre os quais a enzima catalase, cuja função é degradar uma ERO chamada peróxido de hidrogênio (H_2O_2), que é gerada após a dismutação do ânion superóxido ($O_2^{\bullet-}$), reduzindo o estresse oxidativo da planta (RUI *et al.*, 2016).

A batata (*Solanum tuberosum* L.) é a cultura alimentar de maior importância para a humanidade, após o arroz e trigo, de acordo com o Centro Internacional da Batata (CIP, 2020). Estima-se que a batata possa ser responsável por mais de 50% do total de intoxicações por Cd em humanos (KATANA-PENDIAS; PENDIAS, 2001). Isso justifica a realização de estudos visando minimizar a contaminação dos tubérculos, mitigando a ingestão de Cd e de seus efeitos negativos, pois está potencialmente relacionado ao risco de câncer, danos renais e até fraturas ósseas (YE *et al.*, 2020). Sabe-se que para batata existem grandes diferenças entre as cultivares quanto ao nível de Cd em tubérculos, sendo este um método prático de triagem para a seleção

de cultivares que proporcionem baixo acúmulo de Cd em tubérculos. Logo, a estratégia segura e ambientalmente adequada é a utilização de cultivares que apresentem baixo ou nenhum acúmulo de Cd nos tubérculos, já que existe variabilidade genética para essa característica (YE *et al.*, 2020).

A cultura de tecidos (cultivo *in vitro*) é uma técnica com aplicações importantes na agricultura, cujo princípio baseia-se na utilização de fragmentos de tecido vivo, os quais são isolados de um organismo vegetal e são denominados explantes. Tais explantes são desinfestados e cultivados por períodos definidos conforme a espécie e atividade desenvolvida (TORRES *et al.*, 2001). Assim, o cultivo *in vitro* é uma ferramenta importante para o desenvolvimento bem como para o aprimoramento na cultura da batata, pois permite a seleção de clones com menor demanda por espaço físico, além da obtenção de respostas quanto as condições impostas ao cultivo da cultura de forma mais rápida.

Considerando a grande importância da batata para a alimentação humana, aliada a preocupação crescente com um consumo seguro de tubérculos produzidos em solos contaminados com Cd e a definição de metodologia para inferir sobre a sua sensibilidade *in vitro*, o objetivo deste trabalho foi comparar as respostas morfofisiológicas de plantas de clones de batata expostas a concentrações de Cd no meio de cultura.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Núcleo de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas (MPVP) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Foram utilizados segmentos nodais de plantas micropropagadas dos clones SMIJ461-1, SMINIA793101-3, SMINIA00017-6, SMIG227-7 e das cultivares Vivaldi e Asterix de batata. Para simplificar a redação, Vivaldi e Asterix serão também referidas como clones.

Os segmentos nodais foram inoculados em meio de cultura MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), com 50% da concentração de sais ($\frac{1}{2}$ MS), suplementado com 30 g L⁻¹ de sacarose, 0,1 g L⁻¹ mio inositol e 6 g L⁻¹ de ágar, com pH aferido em 5,7. As concentrações de Cd utilizadas, foram 0, 45, 90 e 135 μ M de Cd, definidas em testes preliminares (CADORE *et al.*, 2021, *no prelo*). O tratamento controle, refere-se ao meio de cultura $\frac{1}{2}$ MS e, para as demais concentrações, adicionou-se 45, 90 e 135 μ M de solução estoque a base de nitrato de Cd [Cd(NO₃)₂.4H₂O], cuja concentração inicial era de 10 mM. Aproximadamente, 10 mL de meio de cultura de cada tratamento foi vertido nos tubos de ensaio (180 x 20 mm), os quais foram devidamente vedados e autoclavados por 20 minutos, a 120 °C e pressão de 1 atm, para assepsia.

Para a micropropagação, cada tubo recebeu um segmento nodal de, aproximadamente, 1,0 cm de comprimento extraídos de plantas cultivadas *in vitro* por 25 dias. Os explantes foram mantidos em sala de crescimento, à temperatura de 25 ± 1 °C, com fotoperíodo de 16 horas e intensidade luminosa de $35 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, obtida por lâmpadas fluorescentes frias. O experimento foi conduzido em um fatorial 6x4 (clones x concentrações de Cd) no delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições de quatro plantas.

Foram avaliadas a altura da parte aérea (cm) e o número de folhas e raízes aos 14 dias de cultivo, conforme testes preliminares (CADORE *et al.*, 2021, *no prelo*). Também foram determinados o comprimento médio (cm), o diâmetro (cm) e o volume (cm^3) das raízes aos 28 dias de cultivo. Além disso, a área superficial radicular também foi determinada (dados não apresentados). Para isso, as raízes foram digitalizadas, com auxílio de um *scanner* Epson Perfection V800 Photo/V850 Pro, sendo as imagens analisadas pelo *software* *WhinRhizo* Pro 2014 (Régent Instr. Inc.). A massa fresca (g) foi determinada por ocasião da coleta das raízes e, a massa seca (g) após a secagem em estufa de circulação forçada de ar a 60 °C até peso constante (dados não apresentados).

A atividade da enzima catalase foi avaliada de acordo com o método proposto por Aebi (1984). Para isso, as folhas frescas foram separadas do caule, sendo imediatamente pesadas e transferidas para tubo de homogeneização. Foi então adicionada a proporção 1/10 (peso da amostra/volume de solução) de solução para homogeneização do tecido vegetal (tampão fosfato de potássio 100 mmol L^{-1} pH 7,5), por 1 minuto e após a amostra foi centrifugada por 15 minutos a 2000 rpm. Uma alíquota de 20 μL do sobrenadante foi adicionada a uma cubeta de quartzo, acrescentando-se 2000 μL de solução de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) tamponada (tampão fosfato de potássio 100 mmol L^{-1} pH 7,0 + H_2O_2 75 mmol L^{-1}). A atividade da enzima antioxidante catalase foi determinada através do desaparecimento de H_2O_2 , pela diminuição da absorvância a 240 nm da mistura, sendo a atividade expressa como $\Delta E \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ MF}$ (AEBI, 1984).

Os dados foram submetidos a análise de variância, desde que atendidas as pressuposições de normalidade dos resíduos e homogeneidade das mesmas, e quando o teste F era significativo ($p < 0,05$) as médias de clones foram comparadas pelo teste de Scott-Knott e de concentrações de Cd por regressão polinomial, a 5% de probabilidade de erro, com auxílio do *software* R Studio. As regressões ajustadas foram utilizadas para estimar os intervalos de confiança, a um nível de 95%, dos valores das concentrações de cádmio (0, 45, 90 e 135 μM de Cd). Foi utilizada a função “predict” do pacote “stats” do programa R 4.1.1.

RESULTADOS

O aumento da concentração de Cd no meio de cultura afetou de maneira adversa à altura de parte aérea e o número de folhas e raízes das plantas de batata cultivadas *in vitro* (Figura 1). Os efeitos negativos da adição de Cd ao meio de cultura variaram com a concentração e com o clone avaliado. O aumento da concentração de Cd no meio de cultura reduziu de forma linear a altura da parte aérea dos clones Asterix, SMIJ461-1 e SMINIA793101-3. Já a adição de 45 μM de Cd ao meio de cultura promoveu um aumento da altura da parte aérea das plantas de Vivaldi e SMIG227-7, seguido de uma redução de 20 e 40%, respectivamente, na maior concentração de Cd (135 μM) em relação ao tratamento controle (Figura 1A). Os intervalos de confiança das equações de regressão ajustadas mostraram que os clones Asterix e SMIG227-7, Vivaldi e SMIJ461-1 apresentaram resposta similar em altura da parte aérea para a concentração de 135 μM de Cd (Tabela 1). As diferentes concentrações de Cd no meio de cultura não afetaram a altura da parte aérea do clone SMINIA00017-6.

O aumento da concentração de Cd no meio de cultura afetou de forma adversa o número de folhas de todos os clones avaliados, porém não afetou de forma negativa o número de raízes dos clones Vivaldi e SMINIA00017-6 (Figura 1). A adição de 45 μM de Cd ao meio de cultura promoveu um aumento do número de folhas do clone SMIG227-7 (Figura 1B) e do número de raízes dos clones SMIJ461-1 e SMIG227-7 (Figura 1C). Por meio dos valores observados nos intervalos de confiança das equações de regressão ajustadas, infere-se que os clones SMIJ461-1, SMINIA793101-3 e SMINIA00017-6 apresentaram valores análogos evidenciando que estes clones podem ter comportamento semelhante quanto ao número de folhas na concentração de 45 μM de Cd (Tabela 1). Na concentração de 90 μM de Cd, os clones SMINIA793101-3 e SMINIA00017-6 apresentaram similaridade, enquanto, na maior concentração de Cd (135 μM) apenas os clones Vivaldi e SMINIA00017-6 apresentaram semelhança quanto ao número de folhas (Tabela 1). Ainda na Tabela 1 é possível verificar que o intervalo de confiança para o número de raízes demonstrou que os clones Vivaldi e SMINIA00017-6 não foram afetados pelas concentrações de Cd. Para as demais concentrações de Cd, observou-se variação com relação ao intervalo de confiança das equações de regressão ajustadas. Contudo, os clones Asterix e SMIJ461-1 na concentração de 135 μM de Cd apresentaram comportamento semelhante para o número de raízes (Tabela 1).

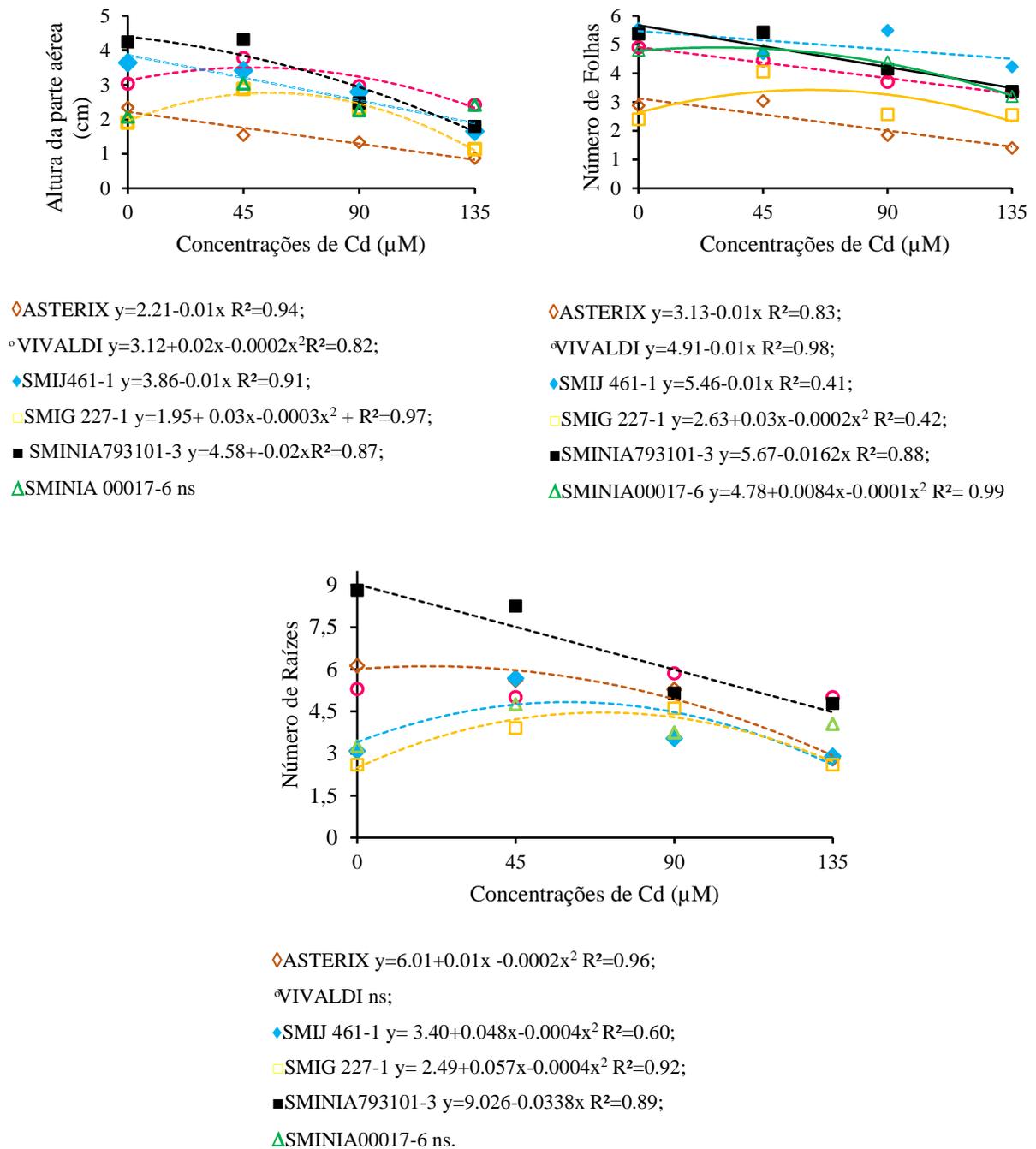


Figura 1 – Altura da parte aérea (A), número de folhas (B) e raízes (C) de plantas de seis clones de batata cultivadas *in vitro* por 14 dias em diferentes concentrações de Cd. Santa Maria, RS, 2021.

Tabela 1. Valores do intervalo de confiança dos modelos de regressão ajustados para as concentrações 0, 45, 90e 135 μM de Cd para altura de parte aérea e número de folhas e raízes de plantas de batata cultivadas *in vitro* por 14 dias. Santa Maria, RS, 2021.

Tratamentos	0 μM	45 μM	90 μM	135 μM
Altura de parte aérea (cm)				
Asterix	2,00 – 2,43	1,61 – 1,89	1,15 – 1,43	0,61 – 1,05
Vivaldi	2,59 – 3,65	3,09 – 3,90	2,83 – 3,64	1,80 – 2,87
SMIJ461-1	3,59 – 4,13	3,03 – 3,38	2,37 – 2,72	1,62 – 2,16
SMIG227-7	1,42 – 2,48	2,33 – 3,13	2,05 – 2,85	0,56 – 1,61
SMINIA793101-3	4,14 – 5,02	3,38 – 3,95	2,46 – 3,03	1,39 – 2,27
SMINIA00017-6	NA*	NA	NA	NA
Número de folhas				
Asterix	2,68 – 3,56	2,28 – 2,85	1,72 – 2,29	1,01 – 1,89
Vivaldi	4,40 – 5,42	4,04 – 4,70	3,50 – 4,16	2,78 – 3,80
SMIJ461-1	5,01 – 5,94	4,85 – 5,46	4,52 – 5,13	4,04 – 4,97
SMIG227-7	1,67 – 3,59	2,63 – 4,10	2,53 – 3,99	1,36 – 3,28
SMINIA793101-3	5,10 – 6,25	4,57 – 5,32	3,84 – 4,60	2,92 – 4,06
SMINIA00017-6	4,21 – 5,35	4,42 – 5,30	3,90 – 4,78	2,65 – 3,79
Número de raízes				
Asterix	4,93 – 7,08	5,15 – 6,78	4,12 – 5,75	1,85 – 4,00
Vivaldi	NA	NA	NA	NA
SMIJ461-1	2,46 – 4,34	4,03 – 5,46	3,76 – 5,18	1,65 – 3,53
SMIG227-7	2,15 – 4,49	2,63 – 4,15	2,70 – 4,22	2,36 – 4,70
SMINIA793101-3	8,10 – 9,95	6,90 – 8,11	5,38 – 6,59	3,55 – 5,39
SMINIA00017-6	NA	NA	NA	NA

*NA: Tratamentos com regressão não significativa.

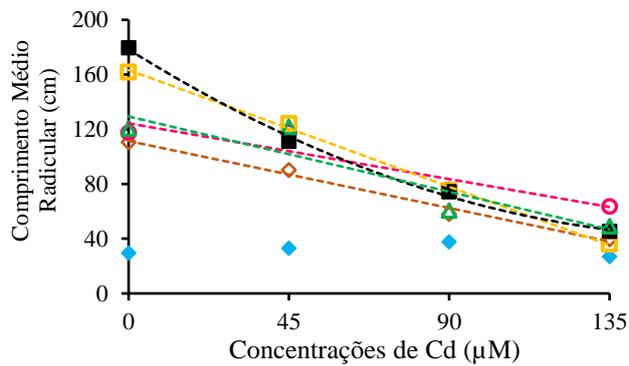
O aumento da concentração de Cd no meio de cultura afetou de forma diferente o comprimento e o diâmetro radicular das plantas dos diferentes clones de batata cultivadas *in vitro* por 28 dias (Figura 2). Na maior concentração de Cd (135 μM) os clones SMIG227-7, SMINIA793101-3 e Asterix apresentaram reduções de 78, 75 e 64% no comprimento médio das raízes (Figura 2A) quando comparadas ao tratamento controle.

O aumento da concentração de Cd no meio de cultura reduziu de forma significativa o diâmetro radicular dos clones SMINIA793101-3 e SMINIA00017-6 na ordem de 34 e 41%, respectivamente, na maior concentração de Cd (135 μM) (Figura 2B). Contudo, para os demais clones estudados, não houve diferença estatística significativa para no diâmetro radicular.

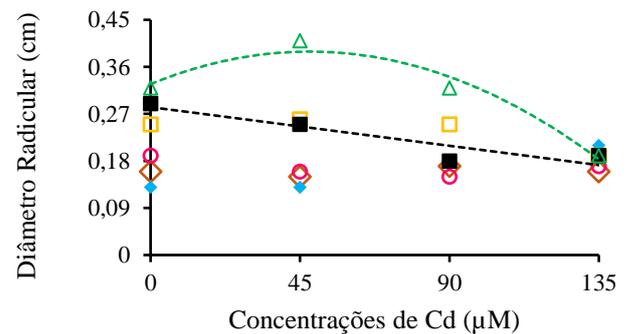
O volume radicular também expressou reduções conforme o aumento da concentração de Cd no meio de cultivo (Figura 2C). Assim, os clones Asterix, SMIG227-7 e SMINIA00017-6 apresentaram reduções de 46, 47 e 46%, respectivamente, na concentração de 135 μM de Cd, em comparação ao tratamento controle. Os demais clones não apresentaram diferença estatística significativa na maior concentração de Cd. Um aumento no volume radicular foi observado na

concentração de 45 μM de Cd, para os clones Vivaldi, SMIG227-7 e SMINIA00017-6, quando comparados ao tratamento controle.

O aumento da concentração de Cd no meio de cultura promoveu um incremento da atividade da enzima antioxidante catalase no clone Asterix, quando comparado com os demais clones avaliados (Figura 2D). Este aumento da atividade da enzima catalase foi demonstrado a partir da concentração de 45 μM de Cd. Contudo, o maior aumento na atividade da enzima foi observado nas concentrações de 90 μM e 135 μM de Cd para Asterix. Da mesma forma, foi mensurado aumento da atividade da enzima catalase para os clones Vivaldi e SMIG227-7, porém menores do que os verificados em Asterix. Além disso, os clones SMIJ461-1 e SMINIA00017-6 apresentaram redução da atividade da enzima catalase conforme o aumento da concentração de Cd, a partir da concentração de 45 μM de Cd, em comparação ao tratamento controle (Figura 2D).



- ◇ ASTERIX $y=111.4-0.54x$ $R^2=0.98$;
- ◊ VIVALDI $y=124.38-0.45x$ $R^2=0.87$;
- ◆ SMIJ461-1 Médias iguais pelo teste F;
- ◻ SMIG227-1 $y=163.31-0.95x$ $R^2=0.99$;
- SMINIA793101-3 $y=178.43-1.63x-0.005x^2$ $R^2=0.99$;
- △ SMINIA00017-6 $y=129,34-0,61x$ $R^2=0,85$



- ◇ ASTERIX Médias iguais pelo teste F;
- ◊ VIVALDI Médias iguais pelo teste F;
- ◆ SMIJ 461-1 Médias iguais pelo teste F;
- ◻ SMIG 227-1 Médias iguais pelo teste F;
- SMINIA793101-3 $y=0.27-0.0008x$ $R^2=0.79$;
- △ SMINIA00017-6 $y=0.33+0.0025x-3E-05x^2$ $R^2=0.96$

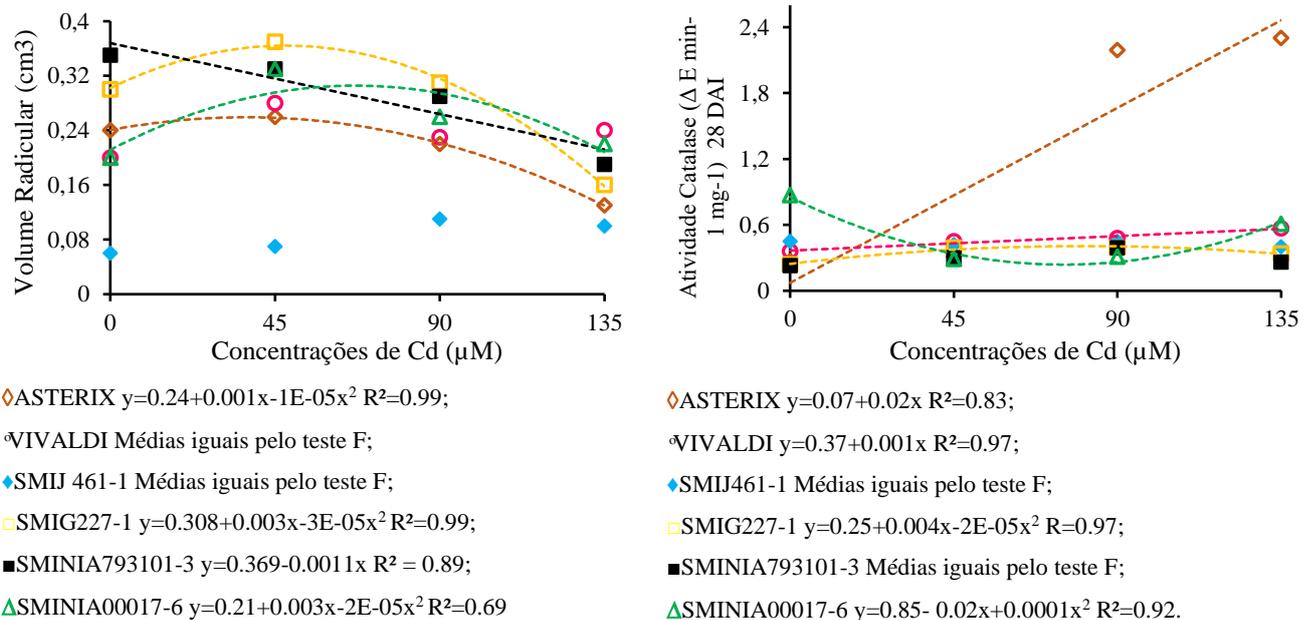


Figura 2 – Comprimento médio (A), diâmetro médio (B), volume médio de raízes (C) e atividade da enzima catalase (D) de plantas de seis clones de batata cultivadas *in vitro* por 28 dias em diferentes concentrações de Cd. Santa Maria, RS, 2021.

A Tabela 2 mostra os valores do intervalo de confiança das equações de regressão ajustadas para os caracteres comprimento médio, diâmetro médio e volume médio das raízes, além da atividade da enzima catalase dos seis clones de batata estudados. Logo, é possível observar que ao comparar os intervalos de confiança dos clones Vivaldi e SMINIA00017-6, SMIG227-7 e SMINIA793101-3, os pares mencionados, apresentaram comportamento semelhante conforme o aumento da concentração de Cd no meio de cultivo. Sendo que, nas concentrações de 90 µM e 135 µM de Cd os clones SMIG227-7 e SMINIA793101-3 apresentaram comportamento similar, enquanto, o clone SMIJ461-1 demonstrou não ser afetado pelas concentrações de Cd no meio de cultivo (Tabela 2).

Para o diâmetro médio de raízes apenas os clones SMINIA793101-3 e SMINIA00017-6 apresentaram comportamento similar, conforme o aumento da concentração de Cd no meio de cultivo (Tabela 2). Os demais clones, não diferiram estatisticamente, evidenciando um possível comportamento inerte à presença de Cd no meio de cultivo. Observa-se que para o volume radicular, os clones SMIG227-7, SMINIA793101-3 e SMINIA00017-6 apresentaram similaridade na concentração de 90 µM de Cd no meio de cultivo (Tabela 2). Contudo, na maior concentração de Cd (135 µM) os clones Asterix e SMIG227-7, SMINIA793101-3 e SMINIA00017-6, foram similares quando se observa seus respectivos intervalos de confiança.

Além disso, os clones Vivaldi e SMIJ461-1 podem não ter sido afetados pelo aumento da concentração de Cd no meio de cultivo.

O intervalo de confiança das equações de regressão ajustadas da atividade da enzima catalase infere diferença no comportamento dos clones de acordo com a concentração de Cd (Tabela 2). Logo, os clones SMIJ461-1 e SMINIA793101-3 não foram afetados pelo aumento da concentração de Cd. Contudo, os efeitos da concentração de 45 μM de Cd foram similares para os clones SMIG227-7 e SMINIA00017-6, e na concentração de 90 μM de Cd, todos os clones apresentaram diferenças quanto a atividade da enzima catalase. Além disso, na maior concentração de Cd no meio de cultivo (135 μM), apenas os clones Vivaldi e SMINIA00017-6 apresentaram comportamento similar.

Tabela 2. Valores do intervalo de confiança dos modelos de regressão ajustados para as concentrações 0, 45, 90e 135 μM de Cd para comprimento médio, diâmetro médio, volume de raízes e atividade da enzima catalase de plantas de batata cultivadas *in vitro* por 28 dias. Santa Maria, RS, 2021.

Tratamentos	0 μM	45 μM	90 μM	135 μM
Comprimento médio de raízes (cm)				
Asterix	101,08 – 121,72	80,17 – 93,68	55,69 – 69,20	27,65 – 48,29
Vivaldi	108,65 – 140,11	93,68 – 114,28	73,29 – 93,89	47,46 – 78,92
SMIJ461-1	NA*	NA	NA	NA
SMIG227-7	139,98 – 186,73	105,31 – 135,91	62,56 – 93,16	11,74 – 58,49
SMINIA793101-3	149,67 – 187,51	112,25 – 137,02	68,30 – 93,07	17,82 – 55,65
SMINIA00017-6	108,60 – 151,27	87,55 – 115,48	59,12 – 87,05	23,33 – 65,99
Diâmetro médio de raiz (cm)				
Asterix	NA	NA	NA	NA
Vivaldi	NA	NA	NA	NA
SMIJ461-1	NA	NA	NA	NA
SMIG227-7	NA	NA	NA	NA
SMINIA793101-3	0,24 – 0,33	0,22 – 0,28	0,18 – 0,24	0,13 – 0,22
SMINIA00017-6	0,31 – 0,46	0,29 – 0,39	0,24 – 0,34	0,16 – 0,32
Volume de raízes (cm³)				
Asterix	0,20 – 0,28	0,23 – 0,29	0,19 – 0,25	0,09 – 0,17
Vivaldi	NA*	NA	NA	NA
SMIJ461-1	NA	NA	NA	NA
SMIG227-7	0,23 – 0,38	0,31 – 0,43	0,26 – 0,38	0,08 – 0,23
SMINIA793101-3	0,32 – 0,42	0,29 – 0,35	0,24 – 0,30	0,17 – 0,26
SMINIA00017-6	0,19 – 0,32	0,21 – 0,30	0,21 – 0,30	0,19 – 0,32
Atividade da Enzima Catalase ($\Delta E \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ MF}$)				
Asterix	-0,32 – 0,46	0,61 – 1,13	1,41 – 1,92	2,07 – 2,86
Vivaldi	0,34 – 0,40	0,41 – 0,45	0,48 – 0,52	0,53 – 0,59
SMIJ461-1	NA	NA	NA	NA
SMIG227-7	0,22 – 0,28	0,35 – 0,40	0,38 – 0,43	0,30 – 0,36
SMINIA793101-3	NA	NA	NA	NA
SMINIA00017-6	0,75 – 0,93	0,30 – 0,44	0,23 – 0,38	0,54 – 0,73

*NA: Tratamentos com regressão não significativa.

A área superficial radicular dos clones SMIG227-7 e SMINIA793101-3 apresentaram redução de 66 e 62%, respectivamente, na concentração de 135 μM de Cd, quando comparado ao tratamento controle. Entretanto, o clone SMIJ461-1 não apresentou diferença estatística significativa para área superficial radicular (Figura Suplementar 1). Além disso, com relação a área superficial radicular, os clones Vivaldi e SMINIA793101-3, SMIG227-7 e SMINIA00017-6, apresentaram desempenho semelhante de acordo com o intervalo de confiança das regressões ajustadas, enquanto, o clone SMIJ461-1 não diferiu estatisticamente dos demais na concentração de 90 μM de Cd (Tabela Suplementar 1). E, na maior concentração de Cd (135 μM de Cd) apenas os clones SMINIA793101-3 e SMINIA00017-6 demonstraram tendência semelhante.

Os efeitos adversos do aumento da concentração de Cd no meio de cultivo também foram observados em alguns clones para a massa fresca e seca de raízes (Figura Suplementar 1), aos 28 dias de cultivo. Observou-se que na concentração de 45 μM de Cd, com exceção do clone SMINIA793101-3, houve incremento na massa fresca de raízes para os demais clones, quando comparados ao tratamento controle. Já na maior concentração de Cd (135 μM) inferiu-se que ocorreram reduções de 54, 33 e 51% na massa fresca das raízes dos clones Asterix, SMIG227-7 e SMINIA793101-3, respectivamente, em contrapartida ao observado no tratamento controle. Nesta condição, as perdas mensuradas para massa seca de raízes chegaram a 50%, 25%, 50% e 40% nos clones Asterix, Vivaldi, SMIG227-7 e SMINIA793101-3, respectivamente. Os coeficientes de determinação desses clones, mantiveram-se, em grande maioria, acima de 90%, ratificando o efeito negativo ocasionado a massa seca de raízes pela exposição a concentração de 135 μM de Cd. De acordo com o intervalo de confiança das regressões ajustadas, o volume radicular dos clones SMIG227-7, SMINIA793101-3 e SMINIA00017-6 apresentaram comportamento semelhante na concentração de 90 μM de Cd no meio de cultivo (Tabela Suplementar 1). Contudo, na maior concentração de Cd (135 μM) os clones Asterix e SMIG227-7, SMINIA793101-3 e SMINIA00017-6, apresentaram comportamento semelhante quando se observam seus respectivos intervalos de confiança. Além disso, os clones Vivaldi e SMIJ461-1 não diferiram estatisticamente dos demais conforme o aumento da concentração de Cd no meio de cultivo.

Ainda é possível inferir que para massa fresca de raízes, os clones Asterix e SMINIA00017-6, SMIG227-7 e SMINIA793101-3, apresentaram comportamento semelhante na concentração de 90 μM de Cd no meio de cultivo. Enquanto na concentração de 135 μM de

Cd, apenas os clones SMINIA793101-3 e SMINIA00017-6 apresentaram similaridade, de acordo com o intervalo de confiança das regressões ajustadas (Tabela Suplementar 1). A massa seca de raízes do clone SMIJ461-1 não foi afetada pelo aumento da concentração de Cd no meio de cultivo e, os demais clones, apresentaram comportamento similar independente da concentração de Cd estudada.

DISCUSSÃO

A absorção de Cd afeta o crescimento e desenvolvimento das plantas, pois interfere na entrada e saída de alguns elementos nas células guarda, como potássio (K^+) e cálcio (Ca^+), além do ácido abscísico, afetando assim todo o processo de abertura e fechamento estomático (TOPPI; GABBRIELLI, 1999). Neste estudo, a adição de Cd ao meio de cultura afetou a altura de parte aérea, o número de folhas e raízes, bem como o comprimento médio, o diâmetro e o volume radicular, e a atividade da enzima catalase das plantas de batata cultivadas *in vitro*. Esses efeitos variaram com o clone e também com as concentrações de Cd no meio de cultura. A adição de Cd ao meio de cultura afetou de forma negativa todos os caracteres avaliados na Asterix, com exceção do diâmetro médio das raízes que não foi afetado e da atividade da enzima catalase, cuja atividade aumentou expressivamente conforme o aumento da concentração de Cd (Figuras 1 e 2) com intervalo de confiança superior aos demais clones em todas as concentrações de Cd (Tabela 2). A altura da parte aérea e o número de raízes do clone SMINIA00017-6 não foram afetados pela adição de Cd (Figura 1), porém foram afetados o comprimento, diâmetro e volume de raízes (Figura 2).

Por outro lado, para os caracteres relacionados ao desenvolvimento das raízes, o clone SMIJ461-1 não apresentou diferença significativa conforme o aumento da concentração de Cd no meio de cultivo. Logo, é possível evidenciar a sensibilidade de alguns clones a presença do metal no meio de cultivo. O comprimento médio das raízes dos clones SMIG227-7 e SMINIA793101-3 apresentaram intervalos de confiança superiores aos demais. Enquanto os clones Asterix, Vivaldi, SMIJ461-1 e SMIG227-7 não foram afetados pela presença de Cd no meio de cultivo (Tabela 2). Corroborando com os resultados apresentados, na literatura são relatadas reduções na altura de parte aérea de diversas espécies, como em cultivares de arroz (*Oryza sativa*), pinhão-manso (*Jatropha curcas*), trigo (*Triticum aestivum*) e *Crotalaria juncea*, as quais foram expostas a concentrações de Cd variadas, chegando a até 2000 μM de Cd

(PEREIRA *et al.*, 2002; CHAVES; SOUZA, 2014; GUILHERME *et al.*, 2015; ZHANG *et al.*, 2018).

A redução no número de folhas ocasionada pela exposição ao Cd também foi verificada em duas cultivares de batata por Gonçalves *et al.* (2009a). Em *Typha domingensis* foram estudadas três concentrações de Cd (0, 10 e 50 μM) em solução nutritiva, não sendo observada diferença entre o tratamento com Cd e o tratamento controle, quanto ao número e comprimento das folhas (OLIVEIRA *et al.*, 2018). Em *Canna orchoides* foi observada redução no crescimento, clorose e enrolamento das folhas, além da diminuição do número de folhas verdes das plantas, sintomas ocasionados pela exposição a concentrações de 100 e 200 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de Cd (ZHANG *et al.*, 2021). Devido a toxicidade do Cd e ao estresse ocasionado na planta, sintomas como clorose, nanismo e necrose são observados nas folhas. Desse modo, o crescimento atrofiado das plantas indica que a presença de Cd afeta os sistemas vitais da planta, ocasionando redução da absorção de nutrientes e água, respiração, fotossíntese, assimilação de nitrogênio e carbono (HAIDER *et al.*, 2021) e o funcionamento dos estômatos (TOPPI; GABBRIELLI, 1999).

O Cd é absorvido através da membrana plasmática das células da raiz, sendo regulado pela diferença de potencial eletroquímico entre a atividade do Cd no citosol e no apoplasto da raiz. Assim, o Cd pode ser absorvido pelas raízes na forma de complexos inorgânicos, ou seja, $\text{Cd}^{2+}\text{SO}_4$, CdCl^+ e CdCl_2 , ou ainda em formas orgânicas (HAIDER *et al.*, 2021). Além disso, o processo de absorção de Cd do solo pelas plantas é intensificado em sítios que apresentam níveis de pH baixos (GONÇALVES *et al.*, 2012). Assim, quanto maior a acidez do solo, mais elevada será a quantidade absorvida pelas plantas, o que, conseqüentemente, resulta no aumento da exposição humana ao metal pesado pela ingestão de alimentos contaminados.

Outro efeito tóxico do Cd é na divisão mitótica das células meristemáticas, o que afeta o comprimento e a biomassa das raízes. Logo, diminuições no comprimento da raiz e área superficial das raízes das plantas podem indicar redução no potencial de armazenamento de nutrientes e água na planta, quando em estresse extremo pela presença de Cd (HAIDER *et al.*, 2021). Nesse sentido, menor número de raízes de batata também foram relatadas por Gonçalves *et al.* (2009a), os quais observaram maior redução na maior concentração de Cd (500 μM). Corroborando com os resultados obtidos neste estudo, cujas reduções no número de raízes foram dependentes da concentração de Cd no meio de cultivo, sendo mais expressivas em 90 e 135 μM de Cd. Sabe-se que a toxidez por Cd acarreta diversos sintomas nas raízes que variam entre as espécies vegetais, dentre os quais podemos citar o escurecimento das mesmas, a inibição do crescimento e a diminuição da massa seca de raízes (HE *et al.*, 2017). Esses efeitos

foram verificados nas plantas de batata, porém os clones avaliados diferiram quanto a resposta as diferentes concentrações de Cd (Figuras 1 e 2), como o clone SMIJ461-1 que não apresentou nenhum efeito negativo em termos de comprimento médio, diâmetro e volume radicular, além da área superficial e da massa fresca e seca de raízes (dados não apresentados), conforme o aumento da concentração de Cd no meio de cultura.

Os efeitos do Cd com relação a atividade da enzima catalase já foram estudados por diversos pesquisadores em distintas espécies, mostrando que as respostas dependem da concentração estudada e até da cultivar. Neste trabalho, plantas de seis clones de batata apresentaram diferentes respostas ao aumento da concentração de Cd ao meio de cultura para todos os caracteres avaliados (Figuras 1 e 2). Essas diferenças podem ser explicadas pelo fato de que plantas sob estresse utilizam alguns mecanismos para desintoxicar as espécies reativas do oxigênio (ERO). No caso do Cd, ainda é necessário compreender se o efeito é prejudicial ou de estímulo as enzimas que estão envolvidas no processo de desintoxicação (PEREIRA *et al.*, 2002). A catalase é uma importante enzima antioxidante, encontrada no peroxissomo, cuja função é eliminar o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), catalisando uma reação de dismutação, que gera H_2O e O_2 , a partir do H_2O_2 (SU *et al.*, 2018). Devido a atuação do Cd sobre a enzima, o aumento da atividade da catalase quando as plantas são expostas ao metal pesado, sugere que existe a formação de peróxido, que é metabolizado pela catalase (PEREIRA *et al.*, 2002). Logo, a diminuição da atividade da enzima catalase está relacionada ao seu potencial como inibidor enzimático, o que favorece o aumento de H_2O_2 nos tecidos, promovendo a ocorrência de uma explosão oxidativa (MOHAMED *et al.*, 2012). Dentre os clones avaliados, Asterix apresentou um aumento na atividade da enzima catalase muito maior que os demais clones estudados, conforme o aumento da concentração de Cd no meio de cultivo. Enquanto os clones SMIJ461-1 e SMINIA793101-3 não apresentaram diferença significativa conforme o aumento da concentração de Cd no meio de cultivo. O intervalo de confiança das regressões ajustadas evidencia variação no comportamento entre os seis clones de batata nas concentrações de 90 e 135 μM de Cd. Logo, apenas o clone Asterix apresentou intervalo de confiança superior aos demais em todas as concentrações de Cd, sobretudo na concentração de 135 μM , cujo aumento foi expressivamente maior (Tabela 2). Quando as plantas estão em situação de estresse, como por exemplo devido à presença de metais pesados, o aumento na atividade da enzima catalase propicia condições para que a planta possa suportar o estresse (PIACENTINI *et al.*, 2020).

Resultados similares foram relatados em batata, sendo observado em Asterix um aumento da atividade da enzima catalase nas concentrações de 50, 100 e 150 μM de Cd e em Macaca uma inibição dessa enzima em todas as concentrações estudadas (GONÇALVES *et al.*,

2009b). Na *Lactuca sativa* também foi verificado um aumento da atividade da enzima catalase com o aumento da concentração até 9000 μM de Cd (KOLAHÍ *et al.*, 2020). Já em *Arabidopsis thaliana* a atividade da enzima catalase foi inibida na concentração de 60 μM de Cd. Além disso, o Cd afetou o metabolismo dos peroxissomos, modificando a atividade das enzimas catalase, hidroxipiruvato redutase e glicolato oxidase, que são responsáveis por manter a homeostase celular redox e no metabolismo das ERO (PIACENTINI *et al.*, 2020).

A adição de Cd ao meio de cultura afeta o crescimento morfológico em altura de parte aérea e o número de folhas e raízes das plantas de batata, além do comprimento médio, diâmetro e volume radicular, e da área superficial, massa fresca e seca de raízes (dados não apresentados) dos seis clones de batata cultivados *in vitro*. Da mesma forma, a atividade da enzima catalase demonstrou ser um caractere importante para determinar os efeitos do Cd dentre os clones de batata cultivados *in vitro*. Em relação aos clones estudados, ressalta-se o Asterix, o qual apresenta um aumento de aproximadamente duas vezes a atividade da enzima catalase, indicando uma possível capacidade de detoxificar as espécies reativas de oxigênio.

CONCLUSÃO

A maior concentração de Cd (135 μM) afetou de forma negativa à altura de parte aérea de ‘Asterix’, SMIJ461-1 e SMINIA793101-3. Enquanto as maiores reduções no comprimento, diâmetro e volume superficial das raízes foram observadas nos clones SMIG227-7, SMINIA793101-3 e SMINIA00017-6, também na concentração de 135 μM de Cd.

A atividade da enzima catalase variou de acordo com os clones estudados. ‘Asterix’, ‘Vivaldi’ e SMIG227-7 apresentaram um aumento, enquanto SMIJ461-1 e SMINIA00017-6 apresentaram uma redução da atividade da enzima catalase conforme o aumento da concentração de Cd no meio de cultura.

Tendo em vista que ‘Asterix’, SMIJ461-1, SMIG227-7, SMINIA793101-3 e SMINIA00017-6 apresentaram efeitos adversos com o aumento da concentração de Cd no meio de cultura, recomenda-se que mais estudos sejam realizados visando aprofundar o conhecimento sobre os efeitos do Cd no crescimento e desenvolvimento das plantas dos referidos clones de batata.

REFERÊNCIAS

AEBI, H. Catalase *in vitro*. **Methods in Enzymology**, v. 105, p. 121-126, 1984.

CADORE *et al.* *In vitro* sensitivity of potato plants to cadmium exposure. 2021. No prelo.

CIP – **International Potato Center**. Disponível em: <https://cipotato.org/potato/>. Acesso em: fev. 2020.

CHAVES, L.H.G.; SOUZA, R.S. Crescimento, distribuição e acumulação de cádmio em plantas de *Jatropha curcas*. **Ciências Agrárias**, v. 37, n. 3, p. 286-291, 2014.

GUILHERME, M.F.S.; OLIVEIRA, H.M.; SILVA, E. Cadmium toxicity on seed germination and seedlings growth of wheat *Triticum aestivum*. **Acta Scientiarum, Biological Sciences**, v. 37, n. 4, p. 499-504, 2015.

GONÇALVES, J.F.; NICOLOSO, F.T.; DA COSTA, P.; FARIAS, J.G.; CARVALHO, F.B.; DA ROSA, M.M.; GUTIERRES, J.M.; ABDALLA, F.H.; PEREIRA, J.S.F.; DIAS, G.R.M.; BARBOSA, N.B.V.; DRESSLER, V.L.; RUBIN, M.A.; MORSCH, V.M.; SCHETINGER, M.R.C. Behavior and brain enzymatic changes after long-term intoxication with cadmium salt or contaminated potatoes. **Food and Chemical Toxicology**, v. 50, n. 10, p. 3709-3718, 2012.

GONÇALVES, J.F.; MALDANER, J.; ROSSATO, L.V.; TABALDI, L.A.; SREBSKY, E.C.; FARIAS, J.G.; BISOGNIN, D.A.; NICOLOSO, F.T. Crescimento *in vitro* de plântulas de batata em diferentes doses de cádmio. **Ciência Rural**, v. 39, n. 9, p. 2625-2628, 2009a.

GONÇALVES, J.F.; TABALDI, L.A.; CARGNELUTTI, D.; PEREIRA, L.B.; MALDANER, J.; BECKER, A.G.; ROSSATO, L.V.; RAUBER, R.; BAGATINI, M.D.; BISOGNIN, D.A.; SCHETINGER, M.R.C.; NICOLOSO, F.T. Cadmium-induced oxidative stress in two potato cultivars. **Biometals**, v. 22, p. 779-792, 2009b.

HAIDER, F.U.; LIQUN, C.; COULTER, J.A.; CHEEMA, S.A.; WU, J.; ZHANG, R.; WENJUN, M.; FAROOQ, M. Cadmium toxicity in plants: Impacts and remediation strategies. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 211, 111887, 2021.

HE, S.; YANG, X.; HE, Z.; BALIGAR, V. C. Morphological and Physiological Responses of Plants to Cadmium Toxicity: A Review. **Pedosphere**, v. 27, n. 3, p. 421-438, 2017.

KATANA-PENDIAS, A.K.; PENDIAS, H. Trace elements in soils and plants. 3. ed. 2001.

KHAN, Z.I.; AHMAD, K.; YASMEEN, S.; AKRAM, N.A.; ASHRAF, M.; MEHMOOD, N. Potential health risk assessment of potato (*Solanum tuberosum* L.) grown on metal contaminated soils in the central zone of Punjab Pakistan. **Chemosphere**, v. 166, p. 157-162, 2017a.

KHAN, M.A.; KHAN, S.; KHAN, A.; ALAM, M. Soil contamination with cadmium, consequences and remediation using organic amendments. **Science of the Total Environment**, v. 601, p. 1591-1605, 2017b.

KOLAH, M. KAZEMI, E.M.; YAZDI, M. BARNABY, A.G. Oxidative stress induced by cadmium in lettuce (*Lactuca sativa* Linn.): Oxidative stress indicators and prediction of their genes. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 146, p. 71-89, 2020.

MOHAMED, A.A.; CASTAGNA, A.; RANIERI, A.; TOPPI, L.S. Cadmium tolerance in *Brassica juncea* roots and shoots is affected by antioxidant status and phytochelatin biosynthesis. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 57, p. 15-22, 2012.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, p. 473-497, 1962.

NAZAR, R.; IQBAL, N.; MASOOD, A.; KHAN, M.I.R.; SYEED, S.; KHAN, N.A. Cadmium toxicity in plants and role of mineral nutrients in its alleviation. **American Journal of Plant Sciences**, v. 3, p. 1476-1489, 2012.

OLIVEIRA, J.P.V.; PEREIRA, M.P.; DUARTE, V.P.; CORRÊA, F.F.; CASTRO, E.M.; PEREIRA, F. J. Cadmium tolerance of *Typha domingensis* Pers. (Typhaceae) as related to growth and leaf morphophysiology. **Brazilian Journal of Biology**, v. 78, n. 3, p. 509-516, 2018.

PEREIRA, G.J.G.; MOLINA, S.M.G.; LEA, P.J.; AZEVEDO, R.A. Activity of antioxidant enzymes in response to cadmium in *Crotalaria juncea*. **Plant and Soil**, v. 239, p. 123-132, 2002.

PIACENTINI, D.; CORPAS, F.J.; D'ANGELI, S.; ALTAMURA, M.M.; FALASCA, G. Cadmium and arsenic-induced-stress differentially modulates Arabidopsis root architecture, peroxisome distribution, enzymatic activities and their nitric oxide content. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 148, p. 312-323, 2020.

RUI, H.; CHEN, C.; ZHANG, X.; SHEN, Z.; ZHANG, F. Cd-induced oxidative stress and lignification in the roots of two *Vicia sativa* L. varieties with different Cd tolerances. **Journal of Hazardous Materials**, v. 301, p. 304-313, 2016.

SU, T.; WANG, P.; LI, H.; ZHAO, Y.; LU, Y.; DAI, P.; REN, T.; WANG, X.; LI, X.; SHAO, Q.; ZHAO, D.; ZHAO, Y.; MA, C. The Arabidopsis catalase triple mutant reveals important roles of catalases and peroxisome-derived signaling in plant development. **Journal of Integrative Plant Biology**, v. 60, p. 591-607, 2018.

TOPPI, L. S.; GABBRIELLI, R. Response to cadmium in higher plants. **Environmental and Experimental Botany**, v. 41, p. 105-130, 1999.

TORRES, A.C.; BARBOSA, N.V.R.; WILLADINO, L.; GUERRA, M.P.; FERREIRA, C.F.; PAIVA, S.A.V. Meio e condições de incubação para a cultura de tecidos de plantas. **Circular Técnica – EMBRAPA Hortaliças**, n. 24, p. 20, 2001.

YE, Y.; DONG, W.; LUO, Y.; FAN, T.; XIONG, X.; SUN, L.; HU, X. Cultivar diversity and organ differences of cadmium accumulation in potato (*Solanum tuberosum* L.) allow the potential for Cd-safe staple food production on contaminated soils. **Science of the Total Environment**, v. 711, p. 134-534, 2020.

ZHANG, B.L.; OUYANG, Y.N.; XU, J.Y.; LIU, K. Cadmium remobilization from shoot to grain is related to pH of vascular bundle in rice. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 147, p. 913-918, 2018.

ZHANG, H.; REYNOLDS, M. Cadmium exposure in living organisms: A short review. **Science of the Total Environment**, v. 678, p. 761-767, 2019.

ZHANG, W.; PAN, X.; ZHAO, Q.; ZHAO, T. Plant growth, antioxidative enzyme, and cadmium tolerance responses to cadmium stress in *Canna orchoides*. **Horticultural Plant Journal**, v. 7, ed. 3, p. 256-266, 2021.

4 MATERIAL SUPLEMENTAR

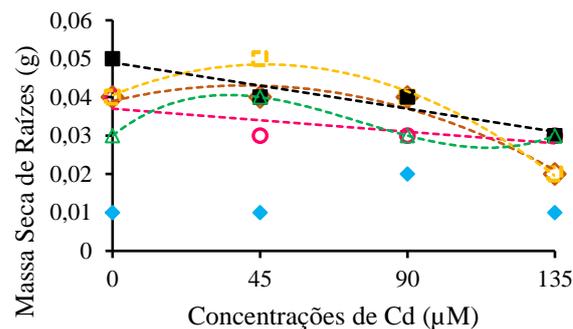
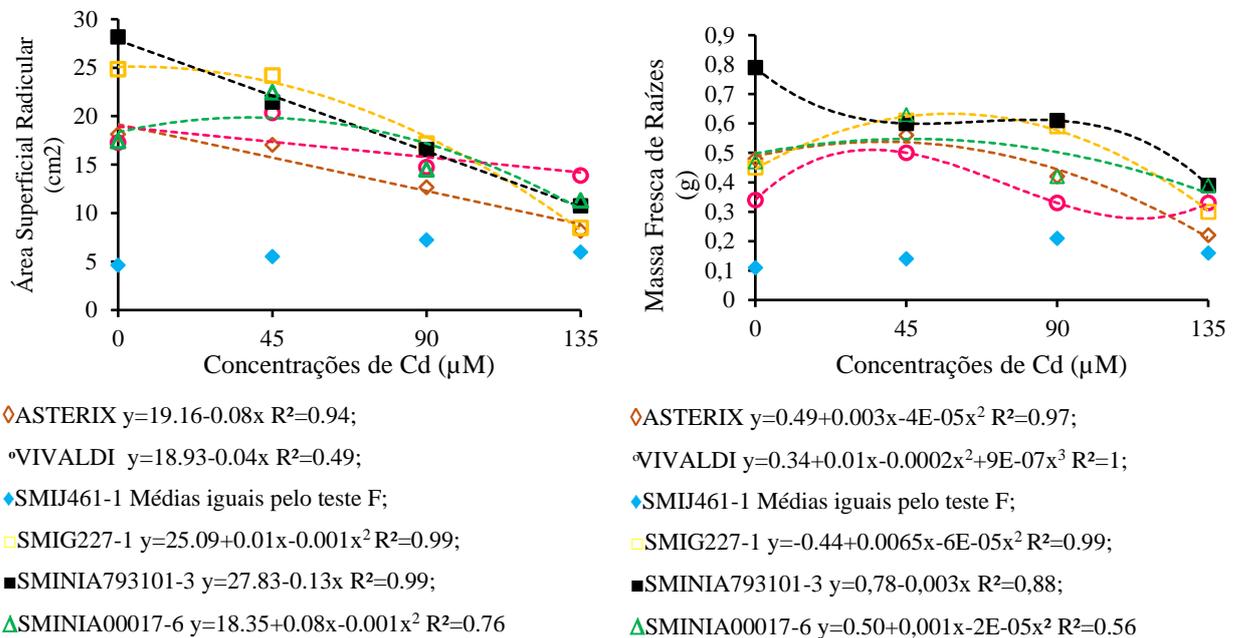


Figura suplementar 1 – Área superficial (A), massa fresca (B) e massa seca (C) de raízes de plantas de seis clones de batata cultivadas *in vitro* por 28 dias em diferentes concentrações de Cd. Santa Maria, RS, 2021.

Tabela Suplementar 1. Valores do intervalo de confiança dos modelos de regressão ajustados para as concentrações 0, 45, 90 e 135 μM de Cd, para área superficial, massa fresca e massa seca de raízes de plantas de batata cultivadas *in vitro* por 28 dias. Santa Maria, RS, 2021.

Tratamentos	0 μM	45 μM	90 μM	135 μM
		Área Superficial de Raiz (mm^2)		
Asterix	17,07 – 21,27	14,35 – 17,10	10,92 – 13,67	6,75 – 10,95
Vivaldi	16,24 – 21,61	15,59 – 19,11	14,02 – 17,53	11,51 – 16,88
SMIJ461-1	NA	NA	NA	NA
SMIG227-7	22,67 – 31,52	18,59 – 24,38	12,98 – 18,77	5,84 – 14,68
SMINIA793101-3	24,96 – 30,71	20,23 – 23,99	14,50 – 18,27	7,79 – 13,54
SMINIA00017-6	16,48 – 24,33	15,20 – 20,33	12,56 – 17,70	8,56 – 16,41
		Massa Fresca de Raiz (g)		
Asterix	0,41 – 0,56	0,48 – 0,60	0,39 – 0,51	0,14 – 0,29
Vivaldi	0,27 – 0,41	0,43 – 0,57	0,26 – 0,40	0,26 – 0,40
SMIJ461-1	NA	NA	NA	NA
SMIG227-7	0,31 – 0,60	0,52 – 0,74	0,47 – 0,69	0,16 – 0,45
SMINIA793101-3	0,69 – 0,87	0,60 – 0,72	0,49 – 0,60	0,34 – 0,51
SMINIA00017-6	0,44 – 0,65	0,43 – 0,57	0,39 – 0,52	0,31 – 0,51
		Massa Seca de Raiz (g)		
Asterix	0,04 – 0,04	0,04 – 0,04	0,03 – 0,04	0,02 – 0,03
Vivaldi	0,03 – 0,04	0,03 – 0,04	0,03 – 0,03	0,02 – 0,03
SMIJ461-1	NA	NA	NA	NA
SMIG227-7	0,03 – 0,05	0,04 – 0,06	0,03 – 0,05	0,01 – 0,03
SMINIA793101-3	0,05 – 0,06	0,04 – 0,05	0,04 – 0,05	0,03 – 0,04
SMINIA00017-6	0,03 – 0,04	0,04 – 0,05	0,02 – 0,04	0,02 – 0,04

*NA: Tratamentos com regressão não significativa.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Ensaio foram conduzidos com o intuito de determinar os efeitos do Cd em clones de batata *in vitro*. No primeiro estudo, foi possível determinar de forma mais específica quais concentrações de Cd que afetam significativamente o clone de batata SMIJ461-1 e, assim, foram estabelecidas as concentrações de 0, 45, 90 e 135 μM de Cd, as quais foram utilizadas em ensaios futuros. Além disso, também foi possível determinar que a avaliação aos 14 dias de cultivo já infere resultados consistentes sobre os efeitos da exposição ao metal em clones de batata. Por conseguinte, os caracteres morfológicos altura de parte aérea e número de folhas são consistentes para determinar a sensibilidade das plantas de batata ao Cd, nas condições deste estudo.

O segundo estudo permitiu observar o comportamento de clones de batata expostos as concentrações de 0, 45, 90 e 135 μM de Cd no meio de cultura. Com isso, é possível inferir que a altura de parte aérea e o número de folhas e raízes aos 14 dias de cultivo, já proporcionaram resultados consistentes para todos os clones de batata estudados. Corroborando os resultados obtidos no primeiro estudo. Aos 28 dias de cultivo, devido a disponibilidade de material vegetal, analisou-se a atividade da enzima catalase, cujas respostas obtidas foram fundamentais para selecionar os clones quanto a sensibilidade à exposição ao Cd. Logo, observou-se que ‘Asterix’, ‘Vivaldi’ e SMIG227-7 apresentaram aumento da atividade da enzima catalase, enquanto os clones SMIJ461-1 e SMINIA00017-6 apresentaram redução da atividade da enzima catalase. Assim, ficou estabelecido que houve diferente resposta entre os clones estudados quanto ao sistema de defesa antioxidante das plantas, ou seja, tais efeitos podem sugerir certa adaptabilidade a presença do Cd. Portanto, essas respostas devem ser melhor analisadas em ensaios futuros visando estudar a absorção e translocação em sistema de cultivo sem solo.

Os resultados obtidos neste trabalho foram consistentes e servirão de modelo para avaliação de ensaios futuros. Logo, estas informações são relevantes visando diminuir o tempo de espera para obter as respostas morfofisiológicas dos clones de batata *in vitro*, quanto a exposição ao Cd já na inoculação dos explantes. Contudo, faz-se necessário estudos mais aprofundados acerca da absorção e translocação do Cd na planta, bem como do acúmulo do metal nos tubérculos de batata de clones previamente selecionados neste trabalho.

REFERÊNCIAS

- ASHRAFZADEH, S.; GAW, S.; GENET, R.; GLOVER, C.N. Natural variation in correlations between cadmium and micronutrients in potato tubers. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 59, p. 55-60, 2017.
- AUGUSTO, A.S.; BERTOLI, A.C.; CANNATA, M.G.; CARVALHO, R.; BASTOS, A.R.R. Avaliação dos efeitos tóxicos de Cd e Pb na cultura da mostarda (*Brassica juncea*). **Revista Engenharia Sanitária Ambiental**, ed. especial, p. 61-68, 2014.
- BISOGNIN, D.A.; FREITAS, S.T.; BRACKMANN, A.; ANDRIOLO, J.L.; PEREIRA, E.I.; MULLER, D.R.; BANDINELLI, M.G. Envelhecimento fisiológico de tubérculos de batata produzidos durante o outono e a primavera e armazenados em diferentes temperaturas. **Revista Bragantia**, v. 67, n. 1, p. 59-65, 2008.
- BUHA, A.; JUGDAOHSINGH, R.; MATOVIC, V.; BULAT, Z.; ANTONIJEVIC, B.; KERNS, J.G.; GOODSHIP, A.; HART, A.; POWELL, J.J. Bone mineral health is sensitively related to environmental cadmium exposure-experimental and human data. **Environmental Research**, v. 176, 2019.
- CAMPOS, M. L.; GUILHERME, L. R. G.; MARQUES, J. J. G. S. M.; CURI, N.; ARAÚJO, A. S. A.; MIQUELLUTI, D. J.; LOPES, C.; SPIAZZI, F. R. Teores de arsênio e cádmio em solos do bioma cerrado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 37, n. 1, p. 281-286, 2013.
- CARVALHO, S. R.; VILAS BÔAS, G. S.; FADIGAS, F. S. Concentrações naturais de metais pesados em solos derivados de sedimentos do grupo barreiras. **Revista Cadernos de Geociências**, v. 10, n. 2, p. 97-107, 2013.
- CHIAO, W.T.; SYU, C.H.; CHEN, B.C.; JUANG, K.W. Cadmium in rice grains from a field trial in relation to model parameters of Cd-toxicity and absorption in rice seedlings. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, n. 169, p. 837-847, 2019.
- CIP – **International Potato Center**. Disponível em: <https://cipotato.org/potato/>. Acesso em: fev. 2020.
- COGNATO, F.S.; BISOGNIN, D.A.; KIELSE, P.; BANDINELLI, M. Rendimiento y calidad de tubérculos de clones de papa em cosecha temprana. **Revista Latinoamericana de la Papa**, v. 20, n. 1, p. 46-55, 2016.
- CORGUINHA, A. P. B.; SOUZA, G. A.; GONÇALVES, V. C.; CARVALHO, C. A.; LIMA, W. E. A.; MARTINS, F. A. D.; YAMANAKA, C. H.; FRANCISCO, R. A. B.; GUILHERME, L. R. G. Assessing arsenic, cadmium, and lead contents in major crops in Brazil for food safety purposes. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 37, p. 143-150, 2015.
- DUNBAR, K. R.; REID, R. J.; MCLAUGHLIN, M. J. The uptake and partitioning of cadmium in two cultivars of potato (*Solanum tuberosum* L.). **Journal Experimental Botany**, v. 54, n. 381, p. 349-354, 2003.

EMBRAPA – Embrapa Hortaliças. **A cultura da Batata**. Disponível em: <https://www.embrapa.br/hortalicas/batata/origem-e-botanica>. Acesso em: mar. 2020.

FAO. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**. Rome: FAO, 2018. Disponível em: <http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?pageID=567#ancor>. Acesso em: 25 ago. 2018.

FAVORETTO, P. **Caracterização molecular de germoplasma de batata (*Solanum tuberosum* L.) por microssatélites**. Tese (Doutorado em Agronomia). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. São Paulo, 2009.

FERREIRA, M.M.A.A.S. **Toxidez de cádmio inibe o crescimento e altera a absorção de nutrientes do girassol**. Dissertação (Mestrado em Solos e Qualidade de Ecossistemas). Universidade Federal do Recôncavo da Bahia. Salvador, 2013.

FIRME, L. P.; VILLANUEVA, F. C. A.; RODELLA, A. A. Solo contaminado com cádmio: extratibilidade do metal e cinética química de degradação da matéria orgânica de torta de filtro. **Revista Química Nova**, v. 37, n. 6, p. 956-963, 2014.

FORTES, G. R. L.; PEREIRA, J. E. S. Batata-semente Pré-básica: Cultura de Tecidos. *In*: PEREIRA, A.S.; DANIELS, J. (Eds.). **O cultivo da batata na região sul do Brasil**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2003. p. 421-433.

GALLEGO, S.M.; PENA, L.B.; BARCIA, R.A.; AZPILICUETA, C.E.; IANNONE, M.F.; ROSALES, E.P.; ZAWOZNIK, M.S.; GROPPA, M.D.; BENAVIDES, M.P. Unravelling cadmium toxicity and tolerance in plants: Insight into regulatory mechanisms. **Environmental and Experimental Botany**, n. 83, p. 33-46, 2012.

GODT, J.; SCHEIDIG, F.; SIESTRUP, C. G.; ESCHE, V.; BRANDENBURG, P.; REICH, A.; GRONEBERG, D. A. The toxicity of cadmium and resulting hazards for human health. **Journal Occup Medicinal Toxicology**, v. 1, p. 1-22, 2006.

GONÇALVES, J.F.; BECKER, A. G.; CARGNELUTTI, D.; TABALDI, L. A.; PEREIRA, L. B.; BATTISTI, V.; SPANEVELLO, R. M.; MORSCH, V. R.; NICOLOSO, F. T.; SCHETINGER, M.R.C. Cadmium toxicity causes oxidative stress and induces response of the antioxidant system in cucumber seedlings. **Brazilian Journal Plant**, v. 19, n. 3, p. 223-232, 2007.

GONÇALVES, J.F.; ANTES, F.G.; MALDANER, J.; PEREIRA, L.B.; TABALDI, L.A.; RAUBER, R.; ROSSATO, L.V.; BISOGNIN, D.A.; DRESSLER, V.L.; FLORES, E.M.M.; NICOLOSO, F.T. Cadmium and mineral nutrient accumulation in potato plantlets grown under cadmium stress in two different experimental culture conditions. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 47, p. 814-821, 2009a.

GONÇALVES, J.F.; TABALDI, L.A.; CARGNELUTTI, D.; PEREIRA, L.B.; MALDANER, J.; BECKER, A.G.; ROSSATO, L.V.; RAUBER, R.; BAGATINI, M.D.; BISOGNIN, D.A.; SCHETINGER, M.R.C.; NICOLOSO, F.T. Cadmium-induced oxidative stress in two potato cultivars. **Biometals**, v. 22, p. 779-792, 2009b.

HE, S.; YANG, X.; HE, Z.; BALIGAR, V.C. Morphological and Physiological Responses of Plants to Cadmium Toxicity: A Review. **Pedosphere**, v. 27, n. 3, p. 421-438, 2017.

HÉDIJI, H.; DJEBALI, W.; BELKADHI, A.; CABASSON, C.; MOING, A. ROLIN, D.; BROUQUISSE, R.; GALLUSCI, P.; CHAIBI, W. Impact of long-term cadmium exposure on mineral content of *Solanum lycopersicum* plants: Consequences on fruit production. **South African Journal of Botany**, v. 97, p. 176-181, 2015.

HELDWEIN, A.B.; STRECK, N.A.; BISOGNIN, D.A. Batata. **In**: MONTEIRO, J.E.B.A. (Org.) **Agrometeorologia dos Cultivos** - O fator meteorológico na produtividade dos principais cultivos anuais e perenes no Brasil. Brasília: Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, 2009. p. 91-108.

HERNÁNDEZ, M.C.R. **Efecto de los mecanismos de transporte de calcio, hierro y zinc em la captación de cadmio y plomo em plantas fitorremediadoras**. Tese (Doutorado em Ciencias Ambientales da Facultad de Ciencias Químicas, Ingeniería y Medicina). Universidad Autónoma de San Luís Potosí. México, 2015.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Levantamento sistemático da produção agrícola**, 2015. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/servidor_arquivos_est/. Acesso em: 28 ago. 2018.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Tabela** – Área plantada, área colhida e produção, por ano da safra e produto das lavouras, 2020. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/1618#resultado>. Acesso em: 05 abr. 2020.

IDREES, S.; SHABIR, S.; ILYAS, N.; BATOOL, N.; KANWAL, S. Assessment of cadmium on wheat (*Triticum aestivum* L.) in hydroponics médium. **Revista Agrociência**, v. 49, p. 917-929, 2015.

KATANA-PENDIAS, A. K.; PENDIAS, H. **Trace elements in soils and plants**. 3. ed. 2001.

LI, X.; ZHOU, Q.; SUN, X.; REN, W. Effects of cadmium on uptake and translocation of nutrient elements in different welsh onion (*Allium fistulosum* L.) cultivars. **Food Chemistry**, n. 194, p. 101-110, 2016.

LIBERAL, M.T. Fertilidade de populações em F₁ e F₂, desenvolvendo haplóides de *Solanum tuberosum* L. e diversas espécies diploides. **Revista Pesquisa Agropecuária Brasileira**, p. 165-172, 1966.

LOPES, C. A.; BUSO, J. A. **Cultivo da batata (*Solanum tuberosum* L.)**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 1997.

LOVATTO, M.T.; BISOGNIN, D.A.; TREPTOW, R.O.; STORCK, L.; GNOCATO, F.S.; MORIN JUNIOR, G. Processamento mínimo de tubérculos de batata de baixo valor comercial. **Horticultura Brasileira**, v. 30, n. 2, p. 258-265, 2012.

MAGNA, G. A. M.; MACHADO, S. L.; PORTELLA, R. B.; CARVALHO, M. F. Chumbo e Cádmiio detectados em alimentos vegetais e gramíneas no município de Santo Amaro – Bahia. **Revista Química Nova**, v. 36, n. 7, p. 989-997, 2013.

MÓDENES, A. N.; ESPINOZA-QUIÑONES, F. R.; LAVARDA, F. L.; COLOMBO, A.; BORBA, C. E.; LEICHTWEIS, W. A.; MORA, N. D. Remoção dos metais pesados Cd(II), Cu(II) e Zn(II) pelo processo de bioissorção utilizando a macrófita *Eicchornia crassipes*. **Revista Escola de Minas**, v. 66, n. 3, p. 355-362, 2013.

NAZAR, R.; IQBAL, N.; MASOOD, A.; KHAN, M.I.R.; SYEED, S.; KHAN, N.K. Cadmium Toxicity in Plants and Role of Mineral Nutrients in its Alleviation. **American Journal of Plant Sciences**, v. 3, p. 1476-1489, 2012.

OLIVEIRA, J. A.; CAMBRAIA, J.; CANO, M. A. O.; JORDÃO, C. P. Absorção e acúmulo de cádmio e seus efeitos sobre o crescimento relativo de plantas de aguapé e de salvínia. **Revista de Fisiologia Vegetal**, v. 13, p. 329-341, 2001.

OLIVEIRA, L.F.C.; CASTRO, M.L.L.; RODRIGUES, C.; BORGES, J.D. Adsorção e deslocamento do íon cádmio em solos do cerrado. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 14, n. 8, p. 848-855, 2010.

POLETTI, G. D.; ETHUR, E. M.; HOEHNE, L. Determinação de cádmio e chumbo em solos usados em plantações de erva-mate sem e com diferentes tipos de manejo na região sul do país. **Revista Destaques Acadêmicos**, v. 6, n. 4, p. 59-65, 2014.

PRASSAD, M. N. V. Cadmium toxicity and tolerance in vascular plants. **Environmental and Experimental Botany**, v. 35, p. 525-545, 1995.

REIS, I. M. S.; MELO, W. J.; MARQUES JR, J.; FERRAUDO, A. S.; MELO, G. P. Adsorção de cádmio em latossolos sob vegetação de mata nativa e cultivados. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 38, p. 1960-1969, 2014.

ROBAYO, M.Y.D.; GUTIÉRREZ, M.C. Mecanismos de Resistencia Sistémica en Plantas. **Acta Iguazu**, v. 3, p. 1-19, 2014.

RODRIGUES, A. C. D.; SANTOS, A. M.; SANTOS, F.; PEREIRA, A. C.; SOBRINHO, N. B. A. Mecanismos de respostas das plantas à poluição por metais pesados: Possibilidade de uso de macrófitas para remediação de ambientes aquáticos contaminados. **Revista virtual de Química**, v. 8, p. 262-276, 2016.

SALT, D. E.; PRINCE, R. C.; PICKERING, I. J.; RASKIN, I. Mechanisms of cadmium mobility and accumulation in indian mustard. Mechanisms of cadmium mobility and accumulation in indian mustard. **Plant Physiology**, v. 109, p. 427-433, 1995.

SATARUG, S.; BAKER, J. R.; URBENJAPOL, S.; HASWELL-ELKINS, M.; REILLY, P. E.; WILLIAMS, D. J.; MOORE, M. R. A global perspective on cadmium pollution and toxicity in non-occupationally exposed pollution. **Toxicology Letters**, v. 137, n. 1-2, p. 65-87, 2003.

SANDERSON, D.V.; VOUTCHKOV, M.; BENKEBLIA, N. Bioaccumulation of cadmium in potato tuber grown on naturally high levels cadmium soils in Jamaica. **Science of the Total Environment**, v. 649, p. 909-915, 2019.

SHAHRIAR, S.; RAHMAN, M.M.; NAIDU, R. Geographical variation of cadmium in commercial rice brands in Bangladesh: Human health risk assessment. **Science of the Total Environment**, v. 716, 2020.

SHANYING, H.; XIAOE, Y.; HE, Z.; BALIGAR, V.C. Morphological and physiological responses of plants to cadmium toxicity: A review. **Pedosphere**, v. 27, n. 3, p. 421-438, 2017.

SILVA, G. O.; STOKER, G.; PONIJALEKI, R.; PEREIRA, A. S. Rendimento de tubérculos de três cultivares de batata sob condições de estiagem. **Revista Horticultura Brasileira**, v. 31, n. 2, p. 216-219, 2013.

SILVA, G. O.; NEY, V. G.; PEREIRA, A. S.; TERRES, L. R. Relações entre caracteres de tubérculo de batata nas primeiras gerações de seleção. **Revista Ceres**, v. 61, n. 3, p. 370-376, 2014.

TOPPI, L.S.; GABBRIELLI, R. Response to cadmium in higher plants. **Environmental and Experimental Botany**, n. 41, p. 105-130, 1999.

VIEIRA, L.R.; CORRÊA, E.S.; MORAES, B.S.; ROSSATO, M.V.; VESTENA, S. Toxicidade de cádmio em plantas. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v. 19, n. 2, p. 1574-1588, 2015.

YE, Y.; DONG, W.; LUO, Y.; FAN, T.; XIONG, X.; SUN, L.; HU, X. Cultivar diversity and organ differences of cadmium accumulation in potato (*Solanum tuberosum* L.) allow the potential for Cd-safe staple food production on contaminated soils. **Science of the Total Environment**, v. 711, n. 1, 2020.

WANG, X.; ZHI, J.; LIU, X.; ZHANG, H.; LIU, H.; XU, J. Transgenic tobacco plants expressing a P1B-ATPase gene from *Populus tomentosa* Carr. (*PtoHMA5*) demonstrate improved cadmium transport. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 113, n. 1, p. 655-661, 2018.

ZHANG, H.; REYNOLDS, M. Cadmium exposure in living organisms: A short review. **Science of the Total Environment**, v. 678, p. 761-767, 2019.

ZHANG, Y.; XU, Y.H.; GONG, J.M. Vacuolar membrane transporters OsVIT1 and OsVIT2 modulate iron translocation between flag leaves and seeds in rice. **The Plant Journal**, n. 72, p. 400-410, 2012.

ZORRIG, W.; CORNU, J.Y.; MAISONNEUVE, B.; ROUACHED, A.; SARROBERT, C.; SHAHZAD, Z.; ABDELLY, C.; DAVIDIAN, J.C.; BERTHOMIEU, P. Genetic analysis of cadmium accumulation in lettuce (*Lactuca sativa*). **Plant Physiology and Biochemistry**, n. 136, p. 67-75, 2019.