

## VIABILIDADE DE PÓLEN DE ACESSOS DE BATATA-SILVESTRE SOB CONDIÇÃO DE ESTRESSE POR CALOR

RODRIGO NICOLAO<sup>1</sup>; IKRAM BASHIR<sup>2</sup>; CAMILA PEGORARO<sup>3</sup>, GUSTAVO HEIDEN<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal de Pelotas – [rodricolao@gmail.com](mailto:rodricolao@gmail.com)

<sup>2</sup> Universidade Federal de Pelotas – [ikram.pbg@gmail.com](mailto:ikram.pbg@gmail.com)

<sup>3</sup> Universidade Federal de Pelotas – [pegorarocamilanp@gmail.com](mailto:pegorarocamilanp@gmail.com)

<sup>4</sup> Embrapa Clima Temperado – [gustavo.heiden@embrapa.br](mailto:gustavo.heiden@embrapa.br)

### 1. INTRODUÇÃO

Projeções para cenários futuros de mudanças climáticas apontam para um aumento da temperatura média global prevista de 1 a 3°C até 2050 (IPCC 2018), o que pode levar a reduções significativas na produção agrícola, bem como afetar as populações naturais de espécies de parentes silvestres de plantas cultivadas em áreas de distribuição natural, incluindo a batata (*Solanum tuberosum* L.) (JARVIS ET AL. 2008; VINCENT ET AL. 2019). Entre as fases reprodutivas, a floração é a fase mais sensível a breves períodos de estresse por calor (HATFIELD; PRUEGER, 2015). A viabilidade polínica é particularmente sensível ao estresse por calor na maioria das espécies cultivadas (DRIEDONKS ET AL., 2016; HATFIELD; PRUEGER, 2015; MESIHOVIC ET AL., 2016).

A batata é a principal cultura não granífera e a terceira cultura de maior importância em termos de segurança alimentar global (SILVA; LOPES, 2016). O melhoramento e o cultivo convencional de batata ocorrem no nível tetraploide ( $2n=4x=48$ ), sendo propagada vegetativamente via tubérculos. A base genética da cultura é estreita (HARDIGAN ET AL. 2017), contudo, a batata e seus parentes silvestres compõem uma linhagem filogenética representada por 107 espécies silvestres, quatro espécies domesticadas e seus híbridos naturais e artificiais (SPONER ET AL. 2014).

A introdução da variabilidade genética no pool gênico na cultura da batata pode ser realizada de diferentes formas, como o uso de parentes silvestres (JANSKY ET AL. 2006; BETHKE ET AL. 2017). Tendo em vista que a multiplicação da batata a partir do tubérculo-semente é suscetível ao ataque de patógenos, principalmente em condições térmicas altas do ambiente, e também pela fácil transmissão e acúmulo viral em cada geração produzida, a multiplicação de batatas a partir de sementes botânicas verdadeiras ganhou a atenção dos melhoristas e produtores devido ao potencial do melhoramento de híbridos F1 em nível diploide (LINDHOUT 2011; JANSKY ET AL. 2016). Já foi relatado que a identificação de genótipos com bom florescimento e viabilidade do pólen auxiliou no desenvolvimento de cultivares propagadas via sementes botânicas verdadeiras em regiões quentes de clima tropical (MALAGAMBA 1988).

A hipótese é que existe variabilidade genética quanto a viabilidade do pólen entre os diferentes genótipos de batata-silvestre sob diferentes condições de temperatura. Desta forma, identificar genótipos capazes de produzir pólen viável em condições de alta temperatura é fundamental para a produção de sementes botânicas de batata em ambientes de temperatura elevada e para direcionar futuros esforços de melhoramento da batata. Neste sentido, o presente trabalho tem como objetivo observar se há efeito da temperatura na viabilidade do pólen de acessos de batata-silvestre.

## 2. METODOLOGIA

Nove acessos de batata-silvestre pertencentes às espécies *S. chacoense* (BGB094, BGB099, BGB100, BGB105, BGB106, BGB110), *S. commersonii* (BGB011, BGB048, BGB068) e *S. malmeanum* (BGB447) e um acesso da espécie cultivada *S. tuberosum* (BRSIPR-BEL), foram utilizadas neste estudo. Todos os acessos estão conservados no banco ativo de germoplasma de batata da Embrapa Clima Temperado, Pelotas/RS, Brasil.

Tubérculos de tamanho uniforme foram plantados em vasos plásticos de 5L contendo substrato organo-mineral TurfaFértil® e fertilizante suplementar de acordo com o recomendado para a cultura. Aos 15 dias após o plantio as plantas foram transferidas para as câmaras de crescimento e expostas a dois gradientes de temperatura: temperatura controle, com amplitude térmica de 14 a 27°C; e temperatura supraótima com amplitude de 24 a 34°C. O fotoperíodo foi de 12 horas de luz (7:00 às 19:00h) com intensidade de luz de 400  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , aproximadamente, onde permaneceram até o momento da colheita.

O delineamento experimental foi em blocos ao acaso, com duas repetições, cada uma composta por uma planta, em esquema fatorial duplo 9 x 2 (genótipo x temperatura).

**Para a avaliação da viabilidade do pólen**, flores no estágio de antese (abertura do botão floral) foram coletadas para a extração das anteras e processamento do pólen fresco (ALEXANDER, 1969). O pólen coletado de cada planta foi acondicionado em tubos de 1,5 mL e armazenado em ultra freezer (-40°C) até o momento da análise. A viabilidade do pólen foi avaliada a partir da porcentagem de polén corado (PSP) em 400 amostras de grãos, submetidas ao corante aceto-carmim glicérol vermelho. As amostras foram observadas em microscópio ótico com aumento de 200x, de acordo com o protocolo descrito por Ordóñez (2014). A viabilidade (%) foi calculada usando a fórmula:

$$\text{Viabilidade (\%)} = (\text{número de grãos de pólen viáveis} / \text{número total de grãos}) \times 100.$$

Os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e computado o erro padrão e diferenças significativas ( $P < 0.05$ ) para temperatura, genótipo, e da interação genótipo x temperatura. Posteriormente, foi realizado a comparação das médias utilizando o teste de Tukey ( $P < 0.05$ ). As análises foram realizadas com o auxílio do pacote fat2.dbc {ExpDes.pt} no software RStudio.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com o teste de Shapiro-Wilk a 5% de significância, os resíduos podem ser considerados normais. Tanto os efeitos principais (genótipo e temperatura), quanto a interação dos efeitos principais (genótipo x temperatura) foram significativos de acordo com a ANOVA (Tabela 1).

**Tabela 1.** Quadro da análise de variância (ANOVA).

	GL	SQ	QM	FC
Bloco	1	69.4	5	2.597*
Genótipo	8	12821.4	3	59.939*
Temperatura	1	7225.0	6	270.209*
Genótipo x Temperatura	8	9657.5	2	45.148*
Resíduo	17	454.6	4	
Total	35	30227.9	1	
CV (%)	7.08			

(\*) significativo a 5% de probabilidade. CV – Coeficiente de Variação; GL – Graus de Liberdade; SQ – Soma de Quadrados; QM – Quadrado Médio; FC – F Calculado.

Na condição de temperatura controle, os maiores valores de viabilidade de pólen foram encontrados nos genótipos BGB447, BGB100, BGB110, BGB106, BGB095, BRSIPR-BEL e BGB001. Na mesma condição, os menores valores para a viabilidade de pólen foram observados nos genótipos BGB068 e BGB453, que não diferiram significativamente dos genótipos BRSIPR-BEL e BGB001. Na condição de temperatura supraótima, os maiores valores para a viabilidade de pólen foram verificados nos genótipos BGB100, BGB447 e BGB110. Os genótipos BGB095, BGB453, BGB001 e BGB068 apresentaram viabilidade significativamente menor. Ausência de pólen viável foi observada nos genótipos BGB106 e BRSIPR-BEL (Tabela 2).

**Tabela 2.** Viabilidade do pólen (%) na avaliação de diferentes genótipos de batata-silvestre cultivados sob dois regimes de temperatura em câmaras fítotrons. Empresa Clima Temperado, Pelotas-RS, Brasil.

Genótipo	Tratamento de temperatura	
	Controle	Supraótima
BGB447	100a A*	91,5a A
BGB100	98,5a A	94a A
BGB110	96a A	83,5ab B
BGB106	90,5a A	0 d B
BGB095	89,5a A	71,5 bc B
BRSIPR-BEL	86,5ab A	0 d B
BGB001	86,5ab A	65,5 bc B
BGB453	69 b A	69,5 bc A
BGB068	68,5 b A	54,5 c B

\* Médias seguidas por letras distintas, minúsculas na coluna (comparam os genótipos dentro do mesmo tratamento) e maiúsculas na linha (comparam o mesmo genótipo entre os tratamentos), diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

Foi observado a redução significativa da viabilidade do pólen com o aumento da temperatura nos genótipos BGB001, BGB068, BGB095, BGB106, BGB110 e BRSIPR-BEL. O maior impacto negativo foi observado nos genótipos BGB106 e BRSIPR-BEL. Os genótipos BGB100 e BGB447 não reduziram significativamente a viabilidade do pólen com o aumento da temperatura, sendo considerados os genótipos com melhor desempenho, demonstrando que a triagem deste germoplasma de batata-silvestre enriquece o conhecimento da termotolerância reprodutiva. Na literatura é escasso os estudos de viabilidade de pólen em espécies de batata-silvestre em cultivo sob condição de estresse por calor. A identificação de genótipos de batata-silvestre tolerantes ao calor no que diz a respeito à viabilidade do pólen favorece o direcionamento de futuros estudos que relacionam o estresse, pois as plantas respondem ao estresse por calor desencadeando uma cascata de processos fisiológicos, bioquímicos e moleculares e se adaptam ativando vários genes responsivos ao estresse (HASANUZZAMAN ET AL. 2013).

#### 4. CONCLUSÕES

Existe variabilidade genética para viabilidade do pólen no germoplasma de batata-silvestre avaliado sob condições de cultivo em temperatura ótima (controle) e supraótima (estresse).

Os acessos da espécie *S. malmeanum* (BGB447) e *S. chacoense* (BGB100, BGB110) apresentaram os melhores valores médios para viabilidade do pólen sob cultivo em temperatura supraótima (estresse) e são recomendados para futuros trabalhos. Os acessos BGB106 (*S. chacoense*) e BRSIPR-BEL (*S. tuberosum*) não são capazes de produzir pólen sob condição de cultivo em temperatura supraótima (estresse).

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALEXANDER, M.P. Differential staining of aborted and non-aborted pollen. **Stain Technology**, v. 44, n. 3, p. 117-122, 1969.
- BAMBERG, J.B. Screening potato (*Solanum*) species for male fertility under heat stress. **American Potato Journal**, v. 72, n. 1, p. 23-33, 1995.
- BETHKE, P. C.; HALTERMAN, D. A.; JANSKY, S. Are we getting better at using wild potato species in light of new tools?. **Crop Science**, v. 57, n. 3, p. 1241-1258, 2017.
- DRIEDONKS, N.; RIEU, I.; VRIEZEN, W.H. Breeding for plant heat tolerance at vegetative and reproductive stages. **Plant Reproduction**, v. 29, n. 1, p. 67-79, 2016.
- HARDIGAN, M.A.; LAIMBEER, F.P.E.; NEWRON, L.; CRISOVAN, E.; HAMILTON, J.P.; VAILLANCOURT, B.; WIEGERT-RININGER, K.; WOOD, J.C.; DOUCHES, D.S.; FARRÉ, E.M.; VEILLEUX, R.E.; NUJELL, C.R. Genome diversity of tuber-bearing *Solanum* uncovers complex evolutionary history and targets of domestication in the cultivated potato. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 114, n. 46, p. E9999-E10008, 2017.
- IPCC. Special report on global warming of 1.5 °C. 2018. Disponível em: <<https://tinyurl.com/2njf9tjd>>. Acesso em 20 julho de 2022.
- JANSKY, S.H.; CHARKOWSKI, A.O.; DOUCHES, D.S.; GUSMINI, G.; RICHAEEL, C.; BETHKE, P.C.; SPOONER, D.M.; NOVY, R.G.; DE JONG, H.; DE JONG, W.S.; BAMBERG, J.B.; THOMPSON, A.L.; BIZIMUNGU, B.; HOLM, D.G.; BROWN, C.R.; HAYNES, K.G.; SATHUVALLI, V.R.; VEILLEUX, R.E.; MILLER, J.C.; BRADEEN, J.M.; JIANG, J. Reinventing potato as a diploid inbred line-based crop. **Crop Science**, v. 56, n. 4, p. 1412-1422, 2016.
- JARVIS, A.; LANE, A.; HIJMANS, R.J. The effect of climate change on crop wild relatives. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 126, n. 1-2, p. 13-23, 2008.
- LINDHOUT, P.; MEIJER, D.; SCHOTTE, T.; HUTTEN, R.C.; VISSER, R.G.; VAN ECK, H.J. Towards F1 hybrid seed potato breeding. **Potato Research**, v. 54, n. 4, p. 301-312, 2011.
- MALAGAMBA, P. Potato production from true seed in tropical climates. **HortScience** v.23, n3, p.495-500. 1988.
- MESIHOVIC, A.; IANNACONE, R.; FIRON, N.; FRAGKOSTEFANAKIS, S. Heat stress regimes for the investigation of pollen thermotolerance in crop plants. **Plant reproduction**, v. 29, n. 1, p. 93-105, 2016.
- SILVA, G.O.; LOPES, C.A. Sistema de produção da Batata. Embrapa. Brasília. v. 2. 2016.
- SPOONER, D.M.; GHISLAIN, M.; SIMON, R.; JANSKY, S.H.; GAVRILENKO, T. Systematics, diversity, genetics, and evolution of wild and cultivated potatoes. **Botanical Review**, v. 80, n. 4, p. 283-383, 2014.
- VINCENT, H.; AMRI, A.; CASTAÑEDA-ÁLVAREZ, N.P.; DEMPEWOLF, H.; DULLOO, E.; GUARINO, L.; HOLE, D.; MBA, C.; TOLEDO, A.; Maxted, N. Modeling of crop wild relative species identifies areas globally for in situ conservation. **Communications Biology**, v. 2, n. 1, p. 1-8, 2019.