



MÁRCIO LISBOA GUEDES

**AGRONOMIC AND MORPHOPHYSIOLOGICAL BEHAVIOR
OF POTATO GENOTYPES IN RESPONSE TO HEAT**

**LAVRAS-MG
Julho/2018**

MÁRCIO LISBOA GUEDES

**AGRONOMIC AND MORPHOPHYSIOLOGICAL BEHAVIOR OF POTATO
GENOTYPES IN RESPONSE TO HEAT**

**COMPORTAMENTO AGRONÔMICO E MORFOFISIOLÓGICO DE GENÓTIPOS DE
BATATA EM RESPOSTA AO CALOR**

Tese apresentada à Universidade Federal de
Lavras, como parte das exigências do Programa de
Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de
Plantas, para a obtenção do título de Doutor.

Prof. Dr. César Augusto Brasil Pereira Pinto
Orientador

**LAVRAS-MG
Julho/2018**

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Guedes, Márcio Lisboa.

Comportamento agrônômico e morfofisiológico de
genótipos de batata em resposta ao calor : Comportamento
agrônômico e morfofisiológico de genótipos de batata em resposta
ao calor / Márcio Lisboa Guedes. - 2018.

91 p.

Orientador(a): César Augusto Brasil Pereira Pinto.
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2018.
Bibliografia.

1. Solanum tuberosum. 2. tolerância ao calor. 3. melhoramento
de batata. I. Pinto, César Augusto Brasil Pereira. . II. Título.

MÁRCIO LISBOA GUEDES

**AGRONOMIC AND MORPHOPHYSIOLOGICAL BEHAVIOR OF POTATO
GENOTYPES IN RESPONSE TO HEAT**

**COMPORTAMENTO AGRONÔMICO E MORFOFISIOLÓGICO DE GENÓTIPOS DE
BATATA EM RESPOSTA AO CALOR**

Tese apresentada à Universidade Federal de
Lavras, como parte das exigências do Programa de
Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de
Plantas, para a obtenção do título de Doutor.

APROVADA em 24 de julho de 2018

Dr. César Augusto Brasil Pereira Pinto

Dr. Evandro Novaes

Dra. Letícia dos Anjos Silva

Dr. Guilherme Henrique Martins Rodrigues Ribeiro

Dr. Paulo César Magalhães

UFLA

UFLA

UFLA

UFSCAR

EMBRAPA

LAVRAS-MG

Julho/2018

Deus.

OFEREÇO

A toda minha família e amigos pelo carinho, apoio e suporte.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, sem Ele nada disso seria possível.

Aos meus pais, Ana Angélica e Mauro, e aos meus irmãos Fernando, Marcelo e Felipe, pelo apoio em todos os momentos de minha vida.

A minha namorada Fernanda, por estar sempre ao meu lado, me apoiando para concluir mais esta etapa.

À Universidade Federal de Lavras e ao programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, pela oportunidade concedida.

Ao meu orientador, professor César A. Brasil Pereira Pinto, pela orientação, pelos ensinamentos transmitidos e pela confiança em todos os momentos da pós-graduação.

Aos professores de Pós-Graduação, pelos ensinamentos e conselhos que muito ajudaram.

À Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG) e o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos durante o doutorado no Brasil e exterior.

Aos companheiros do grupo PROBATATA, antigos e novos, pelo trabalho em equipe, amizade e convivência.

A todos os amigos do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas pela diversão, convivência, aprendizado e amizade.

Aos funcionários Ramon, Lamartine, Lilian, Dona Iron, Rafaela e Zélia por estarem sempre dispostos a ajudar.

RESUMO

Com o crescimento da população mundial, é necessário aumentar a produção de alimentos. No entanto, o aumento dessa produção se torna cada vez mais difícil diante do aumento das temperaturas globais, o que representa um grande risco para a segurança alimentar. Altas temperaturas tem um forte efeito negativo sobre a produção agrícola, no entanto, cultivares tolerantes ao calor são imprescindíveis para mitigar os efeitos do aquecimento global. Os objetivos desse trabalho foram identificar caracteres morfofisiológicos que contribuem para o desempenho de genótipos de batata sob condições de calor, e também identificar a tolerância ao calor em diferentes espécies de *Solanum* que são diplóides e ainda não foram domesticadas. Foram realizados dois grupos de experimentos distintos, o primeiro grupo de experimentos foi realizado no Brasil, na Universidade Federal de Lavras (UFLA) no período de 2014 até 2018 e o segundo foi realizado no Estados Unidos no Departamento de agricultura do Estados Unidos (USDA) no ano de 2017. No primeiro grupo de experimentos foram avaliados o comportamento dos diferentes genótipos de batata tetraplóides quanto ao início da tuberização, duração do ciclo vegetativo e caracteres agrônômicos nas safras da seca, de inverno e das “águas” com diferentes condições de temperatura. Além disso, foram analisados caracteres morfofisiológicos e também enzimáticos que associam o desempenho de genótipos com a tolerância ao calor. Foi observado que aumento da temperatura atrasou significativamente o início da tuberização e, conseqüentemente, diminuiu o período de enchimento de tubérculos. Em média o incremento de 1 °C atrasou em 3,8 dias o início da tuberização dos genótipos entre as safras de inverno e das “águas”. Nas safras com temperaturas elevadas houve uma diminuição da produtividade total de tubérculos e também do teor de matéria seca de tubérculos comparado com a safra de inverno. Foi estimado que em média o incremento de 1 °C reduziu em 0,47% o teor de matéria seca dos tubérculos entre as safras de inverno e das “águas. Altas temperaturas elevaram a partição de fotoassimilados para a parte aérea da planta em detrimento dos tubérculos. Os genótipos Markies, CBM 16-16, CBM 09-10, IRF 02-71, IRF 09-44, IRF 07-61 e IRF 10-24 foram identificados como os mais tolerantes ao calor. Os genótipos mais produtivos em temperaturas elevadas apresentaram maior área foliar e matéria seca da parte aérea. As análises do sistema de defesa antioxidante realizado neste trabalho não permitiram a diferenciação entre os genótipos tolerantes e sensíveis ao calor quando esses foram submetidos ao estresse durante todo o ciclo vegetativo. No segundo experimento foi avaliada a tolerância ao calor em espécies selvagens diplóides de *Solanum*, sendo avaliado a capacidade desses genótipos de formarem microtubérculos em cultura de tecidos. As espécies *Solanum berthaultii*, *S. sogarandinum*, *S. kurtzianum* e *S. candolleanum* foram as mais tolerantes ao calor.

Palavras-chave: *Solanum tuberosum*, tolerância ao calor, melhoramento de batata.

ABSTRACT

With the growth of the world population, it is necessary to increase food production. However, increasing production is becoming increasingly difficult in the face of rising global temperatures, posing a major risk to food security. High temperatures have a strong negative effect on agricultural production, however, heat tolerant cultivars are essential to mitigate the effects of global warming. The objective of this work was to identify morphophysiological characters that contribute to the performance of potato genotypes under heat conditions and that can improve the efficiency of selection of tolerant clones. Two different studies were carried out, the first one carried out in Brazil, at the Universidade Federal de Lavras (UFLA) in the period from 2014 to 2018 and the second one conducted in the United States Department of Agriculture (USDA) in 2017. In the first group of experiments we evaluated the behavior of different tetraploid potato genotypes regarding the beginning of tuberization, duration of the vegetative cycle and agronomic characters in three growth seasons (winter, drought and rainy) with different temperature conditions. In addition, we tried to identify morphophysiological characters that associate the performance of genotypes with heat tolerance. It was observed that high temperatures significantly delayed the onset of tuberization and, consequently, reduced the period of tuber bulking. On average, the increase of 1 °C delayed the beginning of tuberization by 3.8 days taking into account the mild temperature regimes (winter season) and heat stress (drought and rainy seasons). In crops under high temperatures there were a decrease in total tuber yield and also in tuber dry matter content compared to the winter season crop. It was estimated that on average the increment of 1 °C reduced tuber dry matter content by 0.47%. Genotypes with long vegetative cycle and early tuberization were the most productive in the three growth seasons. High temperatures increased the partitioning of photoassimilates to plant canopy in detriment of tubers. The genotypes Markies, CBM 16-16, CBM 09-10, IRF 02-71, IRF 09-44, IRF 07-61 and IRF 10-24 were the most heat tolerant. The most productive genotypes at high temperatures presented higher leaf area index and shoot dry matter content. The analyzes of the antioxidant defense system in this work did not allow the differentiation between the tolerant and heat sensitive genotypes when they were submitted to stress throughout the vegetative cycle. In the second group of experiments we evaluated heat tolerance in diploid wild *Solanum* species as measured by the ability of these genotypes to form microtubers in tissue culture under high sucrose concentration. *Solanum berthaultii*, *S. sogarandinum*, *S. kurtzianum* and *S. candolleianum* were the most heat tolerant species evaluated.

Key words: *Solanum tuberosum*, heat tolerance, potato breeding.

SUMÁRIO

1. CAPÍTULO 1.....	11
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	12
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	12
2.1 Influência da temperatura na cultura da batata	12
2.1.1 Efeito do calor na tuberização e ciclo vegetativo em batata.....	13
2.2 Resposta fotossintética a altas temperaturas	14
2.3 Sistema antioxidante.....	15
2.4 Termoestabilidade da membrana celular	16
2.5 Índices morfofisiológicos	17
2.6 Melhoramento para tolerância ao calor em batata	18
3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	20
CAPÍTULO 2 COMPORTAMENTO AGRONÔMICO E MORFOFISIOLÓGICO DE GENÓTIPOS DE BATATA EM RESPOSTA AO CALOR	24
RESUMO.....	25
ABSTRACT	26
1. INTRODUÇÃO	27
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	29
2.1 Material genético	29
2.2 Início da tuberização em casa de vegetação.....	29
2.3 Comportamento agronômico dos genótipos em campo.....	29
2.3.1 Índices morfofisiológicos em condições de campos.....	31
2.4 Comportamento dos genótipos mantidos em câmara de crescimento	32
2.4.1 Termoestabilidade da membrana celular	33
2.4.2 Atividades enzimáticas, peróxido de hidrogênio e peroxidação lipídica.....	33
2.4.2.1 Superóxido dismutase (SOD).....	34
2.4.2.2 Catalase (CAT)	34
2.4.2.3 Ascorbato peroxidase (APX)	34
2.4.2.4 Peróxido de hidrogênio (H₂O₂).....	35
2.4.2.5 Peroxidação lipídica	35

2.5 Análises estatísticas.....	35
3. RESULTADOS.....	37
3.1 Variação da temperatura nos experimentos de início da tuberização em casa de vegetação	37
3.2 Variação da temperatura e do fotoperíodo nos experimentos de avaliação de caracteres agrônômicos no campo.	39
3.3 Início da tuberização	41
3.4 Duração do ciclo vegetativo e período de enchimento dos tubérculos	43
3.5 Produtividade de tubérculos e teor de matéria seca.....	46
3.6 Índices morfofisiológicos dos genótipos tolerantes e sensíveis ao calor em condições de campo	53
3.7 Sistema antioxidante dos genótipos mantidos em câmara de crescimento....	59
4 DISCUSSÃO.....	63
4.1 Início da tuberização e duração do ciclo vegetativo	63
4.2 Produtividade de tubérculos e o teor de matéria seca	64
4.3 Índices morfofisiológicos	66
4.4 Sistema antioxidante dos genótipos mantidos em câmara de crescimento....	67
5 CONCLUSÕES	70
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	71
CAPÍTULO 2 HEAT TOLERANCE IN DIPLOID WILD POTATO SPECIES.....	75
Abstract	76
1. Introduction.....	76
2. Materials and Methods.....	77
3. Results and discussion	79
4. Conclusions	82
References.....	83

1. INTRODUÇÃO GERAL

A produção de batata (*Solanum tuberosum* L.) tem se expandido rapidamente em todo o mundo (Horton, 1987), com os maiores aumentos na produção ocorrendo em áreas subtropicais e tropicais. No entanto, observa-se que a produtividade da cultura no Brasil ainda é muito baixa quando comparada com a de países como Holanda e Estados Unidos (IBGE, 2015), muito devido à falta de materiais adaptados às nossas condições climáticas. Questões relacionadas às altas temperaturas tornam-se ainda mais relevantes devido ao aquecimento global, onde, segundo pesquisadores, a temperatura média do ar tende a aumentar entre 1,1 e aproximadamente 6,4 °C até o fim do século XXI (CHRISTENSEN et al., 2007).

A temperatura ótima para formação de tubérculos é 20 °C (LEVY; VEILLEUX, 2007), e temperaturas inferiores a 15 °C ou superiores a 25 °C atrasam o início da tuberização. Temperaturas baixas acarretam atraso na emergência, provavelmente, devido ao metabolismo e crescimento mais lento. Já temperaturas elevadas, acima de 25 °C, ocasionam atraso no início da tuberização e estimulam o desenvolvimento aéreo da planta, reduzindo a partição de fotoassimilados para os tubérculos e conseqüentemente diminuindo a produção.

Tradicionalmente, a estratégia de seleção mais utilizada consiste em avaliar os genótipos no ambiente com estresse por calor e selecionar aqueles que têm rendimento superior às cultivares com melhor desempenho nessas condições (SOUZA et al., 2011). Entretanto, a seleção direta em condições de campo é geralmente difícil, visto que alguns fatores incontrolláveis como temperatura, qualidade da semente e pragas e doenças podem afetar a precisão e repetibilidade dos ensaios. Em ambientes controlados, o efeito do estresse térmico pode ser isolado de outros fatores externos. Uma maneira de controlar os efeitos ambientais é através do uso de cultura de tecidos. Essa técnica permite a produção de microtubérculos em meio de cultura através do uso das gemas axilares das plantas (Donnelly et al., 2003; Mohapatra e Batra 2017)

Uma estratégia eficiente é basear a seleção em maior número possível de caracteres associados com tolerância ao calor, visto que, diversos caracteres que são ligados à tolerância ao calor são controladas por distintos mecanismos genéticos bastante complexos (GIODANO et al., 2005). A avaliação e o entendimento dos mecanismos morfofisiológicos, como complemento aos métodos tradicionais de seleção, constituem alternativas para aumentar o progresso no melhoramento (SOUZA et al., 2011).

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Influência da temperatura na cultura da batata

O estresse térmico é definido como aumento da temperatura acima do valor crítico, por período de tempo suficiente para causar danos irreversíveis ao crescimento e desenvolvimento das plantas (SOUZA et al., 2011). A elevação transitória da temperatura em 10 -15 °C acima da temperatura ambiente é considerada choque térmico ou estresse por calor. No entanto, esse estresse é uma função complexa da intensidade, da duração, da taxa de aumento da temperatura e da sensibilidade da cada fase específica de desenvolvimento da planta (WAHID et al., 2007).

Durante a brotação da batata semente não são desejáveis temperaturas baixas, porque elas causam atraso na emergência. Entretanto, durante o período da tuberização, já não são desejáveis as temperaturas altas, pois elas atrasam o seu início (MENEZES, et al., 1999). Por fim, durante a última fase de desenvolvimento da planta que é o tempo de crescimento e enchimento dos tubérculos, as altas temperaturas estimulam o desenvolvimento da parte aérea, reduzindo a partição de fotoassimilados para os tubérculos, produzindo tubérculos menores e com menor teor de matéria seca o que acarreta perda de produtividade (MENEZES, et al., 1999; MENEZES; PINTO; LAMBERT, 2001).

Outro problema que as altas temperaturas podem acarretar é o aumento da incidência de algumas pragas e doenças, como a pinta preta (*Alternaria* spp.), a podridão-mole e canela preta (*Pectobacterium* sp.), e as viroses, de forma indireta, pois a incidência de vetores transmissores, como os pulgões, aumentam com o aumento da temperatura (LOPES, 1996).

A produção de batata no Brasil ocorre durante o ano todo e é dividida em três safras: “safra das águas” colhida entre janeiro a março; “safra da seca” colhida nos meses de abril a julho e a “safra de inverno” colhida nos meses de agosto a novembro (GODOY, 2001).

A “safra das águas”, que representa pouco mais de 45% da produção total brasileira, ela ocorre nos períodos mais quente do ano e é normalmente conduzida em regiões de maiores altitudes, buscando sempre condições de temperaturas mais amenas (MENEZES et al., 1999; IBGE, 2017). A safra de inverno é realizada principalmente nos estados de Minas Gerais e São Paulo e contribui com menor parcela para produção total (25%), embora tenha rendimento 15 % superior à “safra das águas” com média de 33,6 t.ha⁻¹ (IBGE, 2017). Uma das causas dessa superioridade é devido às temperaturas mais baixas durante os meses em que a cultura é conduzida.

A cultura da batata necessita de climas amenos para que ocorra maior tuberização e garanta boa produtividade aliada à melhor qualidade dos tubérculos (LOPES et al., 2011). Van Dam et al. (1996) observaram que a taxa de crescimento dos tubérculos decresceu

significativamente devido a temperaturas elevadas, além de haver atraso no início da tuberização e, subseqüentemente, encurtamento do período de crescimento dos tubérculos. Em estudo realizado em duas localidades contrastantes em temperatura foi observado redução de 52 a 94% na produção para as cultivares Alfa e Hertha, respectivamente, nos locais de altas temperaturas em relação aos locais de temperaturas baixas (SARQUÍIS et al., 1996).

2.1.1 Efeito do calor na tuberização e ciclo vegetativo em batata

Segundo Levy e Veilleux (2007) a temperatura ótima para tuberização é de 20 °C e quando ocorrem temperaturas inferiores a 15 °C ou superiores a 25 °C o início da tuberização é atrasado. Temperaturas baixas acarretam atraso na emergência, provavelmente, devido ao metabolismo e crescimento mais lento. Já temperaturas elevadas, acima de 25 °C, ocasionam atraso no início da tuberização e estimulam o desenvolvimento aéreo da planta, reduzindo a partição de fotoassimilados para os tubérculos e conseqüentemente diminuindo a produção.

Em países de clima temperado normalmente são encontradas as condições ideais de temperatura. Além de possuírem temperaturas mais amenas, esses países possuem também fotoperíodos mais longos, o que favorece rendimentos maiores, devido à manutenção da parte aérea por mais tempo. Em ambientes tropicais ocorre menor fotoperíodo e temperaturas mais elevadas ocasionando menor ciclo vegetativo da cultura da batata. Isso acarreta menor acúmulo diário de fotoassimilados e decréscimo na produção. Em certas safras e regiões do Brasil são encontradas altas temperaturas, que ocasionam acentuada redução na produção e qualidade de tubérculos, redução no teor de matéria seca dos tubérculos e aumento no número de desordens fisiológicas como rachaduras e embonecamentos (MENEZES et al., 1999).

Temperaturas do solo acima de 27 °C podem provocar o embonecamento que é o crescimento desuniforme do tubérculo. Ele também está associado à disponibilidade irregular de nutrientes de solo, e desfolha da planta. Quando as condições melhoram, reinicia-se o desenvolvimento do tubérculo, formando crescimentos secundários (HOOKER, 1981). A rachadura corresponde a fissuras na superfície do tubérculo e está associada a temperaturas elevadas e déficit hídrico (LEVY; VEILLEUX, 2007). Em trabalho realizado por Benites e Pinto (2011) foi observado que temperaturas elevadas aumentam a porcentagem de tubérculos rachados e embonecados. Feltran e Lemos (2005) observaram que a maioria das cultivares utilizadas no Brasil apresentam problemas de rachadura ou embonecamento.

Com relação ao ciclo vegetativo tem sido observado que clones com ciclo longo possuem maior longevidade das folhas, com prolongado período de formação e de enchimento dos tubérculos, proporcionando aumentos significativos na produção de tubérculos

(KOOMAN; RABBINGE, 1996; LEVY; VEILLEUX, 2007). Em trabalho realizado por Silva e Pinto (2005), os autores sugerem que para aumentar a produtividade da batata em regiões tropicais uma alternativa seria realizar a seleção de clones com ciclos vegetativos mais longos.

Os produtores em geral preferem cultivares de ciclo curto (90-100 dias), o que é justificável pois devido ao alto investimento colocado na cultura o agricultor quer ter o retorno de seu capital o mais rápido possível. Entretanto, Silva e Pinto (2005) mostraram que os clones de ciclo longo (120-130 dias) são superiores aos de ciclo curto em produtividade. O estudo realizado por Silva et al. (2009), evidenciou que os clones de ciclo longo apresentam maior longevidade da parte aérea com crescimento mais vigoroso o que possibilitou a formação de maior número de tubérculos por planta e maior taxa de tuberização ao longo do período de enchimento dos tubérculos.

Em estudo realizado por Levy et al., (1991) foi observado que a tolerância ao calor está associada à tuberização precoce e que essas características podem estar geneticamente ligadas, entretanto, os genes que controlam a tuberização são muito influenciados pelo efeito do ambiente. Uma alternativa que esses autores sugerem é a realização de seleção precoce para tolerância ao calor por duas etapas, a primeira seria expor os *seedlings* em altas temperaturas por 40 a 50 dias e posteriormente transferi-los para um ambiente com temperaturas ideais para o cultivo da batata e selecionar os *seedlings* que conseguirem tuberizar. Os autores explicam que os *seedlings* que são plantados somente em temperaturas ideais de cultivo não estão sujeitos a nenhum tipo de seleção.

Lyra et al. (2015) trabalhando com clones com diferentes inícios de tuberização e ciclo vegetativo concluíram que o grupo de clones com tuberização precoce e ciclo vegetativo longo demonstrou maior tolerância ao calor e responsividade às temperaturas amenas em relação aos outros grupos. O autores sugerem que, uma boa estratégia para melhoria da produtividade nas condições tropicais seria a seleção de genótipos que tuberizam precocemente e apresentam ciclo vegetativo mais longo.

2.2 Resposta fotossintética a altas temperaturas

A atividade fotossintética é fortemente afetada pela temperatura (BERRY; BJORKMAN, 1980). O calor excessivo provoca danos nas membranas dos tilacóides, diminuindo a quantidade de luz absorvida que é transduzida do fotossistema II (FSII) para o fotossistema I (FSI) (SOUZA et al., 2011). As consequências causadas por elevadas temperaturas são um desequilíbrio entre a fotossíntese e a respiração, em geral, as taxas

fotossintéticas diminuem e a fotorrespiração aumenta com a elevação da temperatura (WAHID et al., 2007).

Segundo Burton (1981), temperatura do ar em torno de 20 °C é ótima para fotossíntese para diversas cultivares de batata europeias; um aumento de 5 °C sobre essa temperatura ótima pode levar a um decréscimo de 25 % na taxa fotossintética e aumento de 10 °C pode dobrar a taxa de respiração da planta. Temperaturas entre 16 °C a 25 °C foram encontradas por Ku et al., (1977) como intervalo ótimo para realização da fotossíntese em batata. Temperaturas que ultrapassam 40 °C causam danos completos e irreversíveis no sistema fotossintético (HAVAUX, 1993).

Altas temperaturas podem acelerar a senescência, perda da clorofila, redução da condutância estomática e inibições das reações (REYNOLDS et al., 1990). Sob estresse de calor, genótipos de batata que possuem maior eficiência fotossintética e menor taxa de degradação da clorofila são os mais tolerantes (WOLF et al., 1990). Em estudo realizado com batata em duas safras de inverno e das águas, Ribeiro (2010) observou que os clones de ciclo longo apresentaram uma degradação da clorofila mais lenta que os de ciclo curto, na safra de inverno.

2.3 Sistema antioxidante

Durante os processos metabólicos de todas as células aeróbicas são produzidas espécies reativas de oxigênio (EROs), sendo que o estresse provocado pelo calor pode aumentar a sua formação (WAHID et al., 2007). Dentre as principais EROs que causam danos celulares pela oxidação de lipídios, proteínas e ácidos nucleicos, destacam-se o ânion superóxido ($O_2^{\cdot -}$) e o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (ASADA, 1999). Em altas concentrações o poder oxidativo dessas EROs se torna potencialmente perigoso para o meio celular podendo ser altamente citotóxicas por reagir com lipídeos, proteínas e DNA, além de causar peroxidação lipídica e enfraquecimento das membranas celulares (BREUSEGEM et al., 2001; GECHEV et al., 2006). Os efeitos danosos induzem o desenvolvimento de um complexo mecanismo redox de homeostase para lidar com estresse oxidativo usando enzimas de remoção, tais como: superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), ascorbato peroxidase (APX) e antioxidantes de baixo peso molecular como ácido ascórbico, glutatona e compostos fenólicos (ASADA, 1999; TANG, et al., 2006).

A SOD atua na primeira linha de defesa contra as EROs, dismutando duas moléculas do ânion superóxido ($O_2^{\cdot -}$) em peróxido de hidrogênio e oxigênio. A APX reduz (H_2O_2) em água e requer o ascorbato como redutor. Assim, a formação de EROs como ânion superóxido, radical

hidroxila e peróxido de hidrogênio no cloroplasto podem ser controladas pela atividade conjunta dessas enzimas (TANG, et al., 2006). A maior atividade dessas duas enzimas pode estar relacionada com a maior tolerância ao calor e com a baixa concentração de EROs diminuindo os danos às plantas.

A CAT converte o peróxido de hidrogênio em água e oxigênio molecular. Ela possui um mecanismo eficiente para remover o H_2O_2 formado nas células sob condições de estresse. É a única entre as enzimas degradantes de peróxido de hidrogênio que não consome equivalentes redutores celulares (MALLICK; MOHN, 2000).

A diferença entre CAT e APX é que a primeira está presente nos peroxissomos, a segunda é encontrada em mitocôndrias e peroxissomos como também no citosol e nos cloroplastos (GECHEV et al., 2006). Outro fator é que ambas pertencem a diferentes classes de limpeza: a APX é responsável pela modulação mais fina das concentrações de peróxido de hidrogênio já a CAT atua somente quando existem altos níveis de H_2O_2 (GECHEV et al., 2006).

Em condições normais as plantas produzem EROs e o sistema de defesa antioxidante é equilibrado. Quando ocorre um estresse, aumenta as EROs e conseqüentemente, aumenta a atividade do sistema de defesa antioxidante enzimático, para resistir ao estresse, o que permite à planta aumentar seu ciclo de vida. Entretanto, o pré-condicionamento das plantas às altas temperaturas reduz drasticamente os danos causados pelo calor (WAHID et al., 2007). Gulen e Eris (2003) trabalhando com morango em diferentes condições de estresses térmicos, observaram que plantas aclimatadas previamente foram mais tolerantes. Os autores sugerem que essa tolerância pode estar associada ao acúmulo de várias proteínas estáveis ao calor. Xu et al. (2006) também observaram resultado semelhante, eles aclimataram duas cultivares de gramíneas por três dias a 30 °C e posteriormente as plantas foram expostas a diferentes estresses térmicos. Os autores observaram que não houve diferença significativa da peroxidação lipídica e teor de H_2O_2 entre as plantas aclimatadas e não aclimatadas. Por outro lado, observaram aumento da atividade das enzimas APX nas plantas aclimatadas.

2.4 Termoestabilidade da Membrana Celular

A termoestabilidade da membrana tem sido muito estudada como um mecanismo de tolerância ao calor. O rompimento da membrana possibilita a fuga de eletrólitos das células para o meio e a concentração deles poder ser quantificada pela condutância elétrica (SOUZA et al., 2011), sendo que a menor condutividade elétrica indica maior tolerância ao calor.

A degradação da membrana é um dos primeiros sintomas provocado pelo estresse térmico e a estabilidade da membrana tem uma correlação alta com a tolerância ao calor

(BLUM; EBERCON, 1981). Existe um grande potencial da aplicação da termoestabilidade da membrana no melhoramento genético tendo em vista sua natureza herdável e a alta correlação genética com a produtividade (REYNOLDS et al., 2001). Nagarajan e Bansal (1986) sugerem que é um método simples e não destrutivo da planta e pode ser usado com sucesso para selecionar genótipos de batata mais tolerantes ao calor.

Em estudos sobre a tolerância ao calor em tomate foi encontrado uma correlação de 0,85 entre a termoestabilidade da membrana e a produtividade de frutos (SAEED et al., 2007). Entretanto em trigo, Blum et al. (2001) encontraram coeficiente de correlação de 0,5 entre a termoestabilidade da membrana e a produtividade. Os autores concluíram que não se pode utilizar somente essa análise como critério de seleção para tolerância ao calor no melhoramento genético de trigo.

2.5 Índices morfofisiológicos

O índice morfofisiológico é um método para estimativa de produtividade biológica dos vegetais (MAGALHÃES, 1979), que se destina à avaliação da produção líquida das plantas com base no desempenho do sistema assimilatório durante certo período de tempo. A produtividade biológica está associada com a alocação de recursos pelas plantas e depende de diversos fatores como idade, nutrição, competição, temperatura (BROUWER, 1962).

Nas plantas cultivadas, visa-se obter diferentes razões de alocação entre raiz e parte aérea, dependendo de seu hábito de crescimento (SCHEFFER-BASSO et al., 2002). Enquanto que em plantas produtoras de grãos, um melhor rendimento está associado a uma maior alocação para parte aérea. Em espécies tuberosas, como a batata, o melhor rendimento está associado à maior partição de fotoassimilados para os tubérculos, o que está atrelado à duração da área foliar ativa.

A produção de matéria seca da planta é função da capacidade fotossintética e como é particionada aos diferentes órgãos. Elevadas temperaturas podem afetar a partição de matéria seca para as folhas, ramos, raízes, estolões e tubérculos (SARQUÍIS et al., 1996; HANCOCK et al., 2014). Menezes et al. (1999) observaram que em condições de temperaturas altas, como na safra “das águas”, os fotoassimilados foram particionados principalmente para a parte aérea das plantas, resultando na redução de 25,5% na produção de tubérculos/planta. Além disso, foi notado atraso no início da tuberização, levando à formação de tubérculos pequenos.

Uma forma de determinar a dimensão do sistema assimilador de uma cultura é através do índice de área foliar (MAGALHÃES, 1979). Segundo o autor, esse índice determina a área foliar existente em uma superfície de solo determinada, sendo que em alguns casos outras partes

da planta como caule, pecíolo, etc, que contribuem para a fotossíntese devem ser adicionados ao cálculo da área foliar.

Em estudo realizado por Wolf et al. (1990) foi observado que sob o efeito de temperaturas elevadas existe maior partição de assimilados e translocação de C_{14} entre os vários órgãos da planta de batata como folhas e hastes do que para os tubérculos. Silva et al. (2009) trabalhando com genótipos de batata de ciclo longo e curto em oito colheitas, sob temperaturas acima de 20 °C, verificaram que os clones de ciclo longo apresentaram valores superiores aos de ciclo curto para a taxa assimilatória líquida que representa o quanto de matéria seca de tubérculos é produzida por unidade de área foliar dia^{-1} . Segundo os autores isso é devido à maior longevidade da área foliar fotossinteticamente ativa.

Hancock et al. (2014) observaram que genótipos de batata condicionados a elevadas temperaturas (30/20 °C dia/noite) exibiram mudanças na alocação de biomassa do tubérculo para a parte aérea, o que foi comprovado pelo aumento da matéria seca foliar e redução do peso seco dos tubérculos, ocasionando baixa produção por planta.

2.6 Melhoramento para tolerância ao calor em batata

O estresse ocasionado por altas temperaturas é um dos principais fatores ambientais e implica em perdas qualitativas e quantitativas do produto final (SHRIVASTAVA et al., 2012). Por a batata ser originária de regiões de clima ameno, a cultura é prejudicada quando submetida às condições ambientais tropicais, devido às altas temperaturas.

O efeito da alta temperatura na cultura da batata se reflete na diminuição da produtividade devido à redução na capacidade fotossintética ou pelo aumento das perdas com a respiração e diminuição da partição de fotoassimilados para os tubérculos (LEVY; VEILLEUX, 2007). A compreensão e avaliação dos mecanismos bioquímicos e fisiológicos em âmbito celular, molecular e morfológico, como complemento aos métodos tradicionais de seleção, constituem alternativas para aumentar o progresso no melhoramento (SOUZA et al., 2011). Segundo os autores utilizar essas ferramentas é um passo importante para impedir a perda de importantes alelos de tolerância ao calor durante o processo de melhoramento.

No Brasil o início dos trabalhos com tolerância ao calor em batata foi feito pelo programa de melhoramento de batata da UFLA, que introduziu os clones LT-7, LT-8, LT-9 e DTO-28 do CIP e vem trabalhando com essa linha de pesquisa desde 1994 (MENEZES et al., 1999). Os clones introduzidos do CIP foram cruzados com cultivares e clones brasileiros, tais como Itararé, Baronesa, Aracy, EPAMIG 76-0580 e EPAMIG 76-0526 e a cultivar holandesa Baraka (MENEZES; PINTO; LAMBERT, 2001). Inúmeros clones foram selecionados a partir

deste trabalho e vêm sendo avaliados por vários anos em condições com e sem estresse de calor, sempre demonstrando superioridade em relação às cultivares comerciais. Outro trabalho do programa de melhoramento de batata da UFLA foi realizado por Benites e Pinto (2011) que através de três ciclos de seleção recorrente para tolerância ao calor, obtiveram ganhos expressivos na produção e qualidade de tubérculos.

A tolerância ao calor é a habilidade da planta de crescer e conseguir produzir economicamente sob altas temperaturas (WAHID et al., 2007). A estratégia de seleção mais utilizada consiste em avaliar os genótipos no ambiente com estresse por calor e selecionar aqueles que têm rendimento superior às cultivares com melhor desempenho nessas condições (SOUZA et al., 2011). Entretanto, alguns fatores incontroláveis como temperatura, qualidade da semente e pragas e doenças podem afetar a precisão e repetibilidade dos ensaios o que dificulta a seleção direta em condições de campo.

Como alternativa a essa estratégia de melhoramento em ambientes naturais, pode-se realizar a seleção em ambientes controlados (SOUZA et al., 2011). Esses ambientes apresentam como vantagem a possibilidade de isolar o efeito do estresse por calor dos demais fatores externos. Segundo os autores, o inconveniente é que os ambientes controlados não possibilitam a ação da seleção natural para outros fatores que interagem com os mecanismos de tolerância ao calor em condições de campo, além do custo mais elevado.

Uma estratégia muito utilizada pela maioria dos programas de melhoramento é a seleção sob condições favoráveis, ainda que o alvo sejam as condições desfavoráveis (CECCARELLI et al., 1998). Os autores comentam que nas condições favoráveis, o controle da variação ambiental é mais eficiente, fazendo com que sejam mais bem expressas as diferenças genéticas. Lambert, Pinto e Menezes (2006) estudando clones tolerantes ao calor e responsivos à melhoria da temperatura ambiental, em diferentes localidades, anos e épocas de plantio no sul de Minas Gerais, sugerem como estratégia de seleção, utilizar a média dos ambientes contrastantes. Em qualquer circunstância, o ambiente com estresse por calor não pode ser excluído no processo de seleção, caso contrário os ganhos genéticos de tolerância ao calor poderão ser insignificantes (SOUZA et al., 2011).

Segundo Giordano et al., (2005) diversos caracteres que são ligados à tolerância ao calor são controladas por distintos mecanismos genéticos e que uma estratégia eficiente é basear a seleção em maior número possível de caracteres associados com tolerância ao calor.

REFERÊNCIAS

- ASADA, K. The water–water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. **Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol**, Palo Alto, CA, v. 50, p. 601–639, 1999.
- BENITES, F.; PINTO, C. Genetic gains for heat tolerance in potato in three cycles of recurrent selection. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, MG , v. 11, p. 133-140, 2011.
- BERRY, J.; BJORKMAN, O. Photosynthetic response and adaptation to temperature in higher plants. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, CA, v. 31, n. 1, p. 491-543, 1980.
- BLUM, A.; EBERCON, A. Cell membrane stability as a measure of drought and heat tolerance in wheat. **Crop Science**, Madison, WI, v. 21, n. 1, p. 43-47, 1981.
- BLUM, A.; KLUEVA, N; NGUYEN, H. T. Wheat cellular thermotolerance is related to yield under heat stress. **Euphytica**, v. 117, n. 2, p. 117-123, 2001.
- BREUSEGEM, F. V.; VRANOVA, E.; DAT, J.F.; INZE, D. The role of active oxygen species in plant signal transduction. **Plant Science**, v. 161, p. 405-414, 2001.
- BROUWER, R. Distribution of dry matter in the plant. **Netherlands Journal of Agricultural Science**, v.10, p.361-376, 1962.
- BURTON, W. G. Challenges for stress physiology in potato. **American Potato Journal**, New Brunswick, v. 58, n. 1, p. 3-14, 1981.
- CECCARELLI, S.; GRANDO, S.; IMPIGLIA, A. Choice of selection strategy in breeding barley for stress environments. **Euphytica**, Wageningen, v. 103, n. 3, p. 307-318, 1998.
- DONNELLY, D. J.; COLEMAN, W. K.; COLEMAN, S. E. Potato microtuber production and performance: a review. **American Journal of Potato Research**, v. 80, p. 103-115, 2003.
- FAOSTAT. Food and Agriculture Organization Corporate Statistical Database, 2016. Disponível em <<http://faostat.fao.org/site/562/default.aspx>> Acesso em 03/05/2018.
- FELTRAN, J.; LEMOS, L. Características agronômicas e distúrbios fisiológicos em cultivares de batata. **Científica**, v. 33, n. 1, p. 106-113, 2005.
- GECHEV, T.S.; BREUSEGEM, F.V.; STONE, J.M.; DENEV, I.; LALOI, C. Reactive oxygen species as signals that modulate plant stress responses and programmed cell death. **BioEssays**, v. 28, n. 11, p. 1091–1101, 2006.
- GIORDANO, L. D. B.; BOITEUX, L. S.; SILVA, J. B. C. D.; CARRIJO, O. A. Seleção de linhagens com tolerância ao calor em germoplasma de tomateiro coletado na região Norte do Brasil. **Horticultura Brasileira**, v. 23, p. 105-107, 2005.

GODOY, R. C. B. A oferta de batata no Brasil; **Batata Show**, Itapetininga, v. 1, n. 3, p. 30, set. 2001. Disponível em: <http://www.abbabatatabrasileira.com.br>>. Acesso em 18 de novembro, 2014.

GULEN, H.; ERIS, A. Some physiological changes in strawberry (*Fragaria* × *ananassa* ‘Camarosa’) plants under heat stress. **The Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v. 78, n. 6, p. 894-898, 2003.

HANCOCK, R. D.; MORRIS, W. L.; DUCREUX, L. J.; MORRIS, J. A.; USMAN, M.; VERRALL, S. R.; FULLER, J.; SIMPSON, C. G.; ZHANG, R.; HEDLEY, P. E.; TAYLOR, M. A. Physiological, biochemical and molecular responses of the potato (*Solanum tuberosum* L.) plant to moderately elevated temperature. **Plant, cell & environment**, v. 3, n. 2, p.439-450. 2014.

HAVAUX, M. Rapid photosynthetic adaptation to heat stress triggered in potato leaves by moderately elevated temperatures. **Plant Cell Environ**, v. 16, p. 461-467, 1993.

HOOVER, W. J. **Compendium of potato diseases**. Minnesota: American Phytopathological Society, 1981. 125p.

HORTON, D.E. **Potatoes: Production, marketing, and programs for developing countries**. International Potato Center, 1987.

IBGE. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola**, Rio de Janeiro: Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística v. 30, n. 1, p. 1-81, 2017.

KOORMAN, P. L.; RABBINGE, R. An analysis of the relation between dry matter allocation to the tuber and earliness of a potato crop. **Annals of Botany**, London, v. 77, n.3, p.235-242, 1996.

KU, S. B.; EDWARDS, G. E.; TANNER, C. B. Effects of light, carbon dioxide, and temperature on photosynthesis, oxygen inhibition of photosynthesis, and transpiration in *Solanum tuberosum*. **Plant Physiology**, v. 59, n. 5, p. 868-872, 1977.

LAMBERT, E. D. S.; PINTO, C. A. B. P.; MENEZES, C. B. DE. Potato improvement for tropical conditions: II. Selection indices and efficiency of indirect selection. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 6, p. 185-193, 2006.

LEVY, D.; KASTENBAUM, E.; ITZHAK, Y. Evaluation of parents and selection for heat tolerance in the early generations of a potato (*Solanum tuberosum* L.) breeding program. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 82, n. 2, p. 130-136, 1991.

LEVY, D.; VEILLEUX, R. E. Adaptation of potato to high temperatures and salinity - A review. **American Journal of Potato Research**, v. 84, n. 6, p. 487-506, 2007.

LOPES, C. A. Doenças causadas por bactérias em batata. **Informe Agropecuário**, v. 18, p. 36-40, 1996.

- LOPES, C. A.; SILVA, G. O.; CRUZ, E. M.; ASSAD, E.; PEREIRA, A. S. Uma análise do efeito do aquecimento global na produção de batata no Brasil. **Horticultura Brasileira**, v. 29, p. 7-15, 2011.
- LYRA, D. H.; RIBEIRO, G. H. M. R.; DE FIGUEIREDO, I. C. R.; GUEDES, M. L.; CARNEIRO, O. L. G.; PINTO, C. A. B. P.; DA SILVA PEREIRA, A. Início da tuberização, duração do ciclo vegetativo e tolerância ao calor em genótipos de batata. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 50(7), 582-592, 2015.
- MAGALHÃES, A. C. N. Análise quantitativa do crescimento. In: FERRI M. G. **Fisiologia vegetal 1**. São Paulo: EPU:EDUSP, 1979. 350 p.
- MALLICK, N.; MOHN, F. H. Reactive oxygen species: response of algal cells. **Journal of Plant Physiology**, Jena, v.157, p. 183-193, 2000.
- MENEZES, C. B. de.; PINTO, C. A. B. P.; NUMBERG, P. L.; LAMBERT, E. de SOUZA. Avaliação de genótipos de batata (*Solanum tuberosum* L.) nas safras “das águas” e de inverno no sul de minas gerais. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 23, n. 4, p. 776-783, 1999.
- MENEZES, C. DE; PINTO, C.; LAMBERT, E. D. S. Combining ability of potato genotypes for cool and warm seasons in Brazil. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 1, n. 2, p. 145-157, 2001.
- MOHAPATRA, P. P.; BATRA, V. K. Tissue culture of potato (*solanum tuberosum l.*): a review. **Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci**, v. 6, p. 489-495, 2017.
- NAGARAJAN, S.; BANSAL, K. C. Measurement of cellular membrane thermostability to evaluate foliage heat tolerance of potato. **Potato research**, v. 29, n. 1, 163-167. 1986.
- REYNOLDS, M. P.; EWING, E. E.; OWENS, T. G. Photosynthesis at High Temperature in Tuber-Bearing *Solanum* Species A Comparison between Accessions of Contrasting Heat Tolerance. **Plant physiology**, v. 93, n. 2, p. 791-797, 1990.
- REYNOLDS, M. P.; NAGARAJAN, S.; RAZZAQUE, M. A.; AGEEB, O. A. Heat tolerance. In: REYNOLDS, M. P.; ORTIZ-MONASTERIO, J. I.; MCNAB, A; (eds.). **Application of Physiology in Wheat Breeding**. México, D. F.; CIMMYT. 2001, p. 12-135.
- RIBEIRO, G. H. M. R. **Relação entre a duração do ciclo vegetativo e a tolerância ao calor em batata**. 67 p. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2010.
- SAEED, A.; HAYAT, K.; KHAN, A. A.; IQBAL, S. Heat tolerance studies in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). **Int. J. Agri. Biol**, v. 9, n. 4, p. 649-652. 2007
- SARQUÍ, J. I.; GONZALEZ, H.; BERNAL-LUGO, I. Response of two potato clones (*S. tuberosum* L.) to contrasting temperature regimes in the field. **American potato journal**, v. 73, n. 7, p. 285-300, 1996.
- SCHEFFER-BASSO, S. M.; JACQUES, A. V. A.; DALL'AGNOL, M. Alocação da biomassa e correlações morfofisiológicas em leguminosas forrageiras com hábitos de crescimento contrastantes. **Scientia Agricola**, v. 59, n. 4, p. 629-634, 2002.

SHRIVASTAVA, P.; SAXENA, R. R.; XALXO, M. S.; VERULKAR, S. B. Effect of high temperature at different growth stages on rice yield and grain quality traits. **Journal of Rice Research**, v. 5, n. 1, p. 2, 2012.

SILVA, L.; PINTO, C. Duration of the growth cycle and the yield potential of potato genotypes. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 5, p. 20-28, 2005.

SILVA, F. L.; PINTO, C. A. B. P.; DONIZETI, J. A.; BENITES, F. R. G.; ANDRADE, C. M.; RODRIGUES, G. B.; BHERING, L. L. Caracterização morfofisiológica de clones precoces e tardios de batata visando à adaptação a condições tropicais. **Bragantia**, v. 68, n. 2, p. 295-302, 2009.

SOUZA, M.A.; PIMENTEL, A.J.B.; RIBEIRO, G. Melhoramento para tolerância ao calor. In: FRITSCHÉ-NETO, R.; BORÉM, A. (eds) **Melhoramento de plantas para condições de estresses abióticos**. Visconde do Rio Branco. Suprema, 2011. p.199-226,

TANG, L.; KWON, S. Y.; KIM, S. H.; KIM, J. S.; CHOI, J. S.; CHO, K. Y.; SUNG, C. K.; KWAK, S. S.; LEE, H. S. Enhanced tolerance of transgenic potato plants expressing both superoxide dismutase and ascorbate peroxidase in chloroplasts against oxidative stress and high temperature. **Plant Cell Reports**, v. 25, n. 12, 1380-1386. 2006.

VAN DAM, J.; KOOMAN, P.L.; STRUIK, P.C. Effects of temperature and photoperiod on early growth and final number of tuber in potato (*Solanum tuberosum* L.). **Potato Research**, Wageningen, v.39, n.1, p.51-62, 1996.

WAHID, A.; GELANI, S.; ASHRAF, M.; FOOLAD, M. R. Heat tolerance in plants: an overview. **Environmental and Experimental Botany**, v. 6, n. 3, 199-223. 2007.

WOLF, S.; MARANI, A.; RUDICH, J. Effects of temperature and photoperiod on assimilate partitioning in potato plants. **Annals of Botany**, New York, v. 66, n. 5, p. 513-520, Nov. 1990.

XU, S.; LI, J.; ZHANG, X.; WEI, H.; CUI, L. Effects of heat acclimation pretreatment on changes of membrane lipid peroxidation, antioxidant metabolites, and ultrastructure of chloroplasts in two cool-season turfgrass species under heat stress. **Environmental and Experimental Botany**, v. 56, n. 3, p. 274-285, 2006.

**CAPÍTULO 2 COMPORTAMENTO AGRONÔMICO E MORFOFISIOLÓGICO DE
GENÓTIPOS DE BATATA EM RESPOSTA AO CALOR**

RESUMO

A tolerância ao calor é a habilidade da planta crescer e conseguir produzir economicamente sob temperaturas acima das consideradas ótimas para a cultura. A compreensão e avaliação dos mecanismos que estão relacionados com a tolerância constituem alternativas importantes para aumentar o progresso no melhoramento de plantas. Os objetivos deste trabalho foram: avaliar o comportamento dos diferentes genótipos de batata quanto ao início da tuberização, duração do ciclo vegetativo e caracteres agronômicos nas safras da seca, de inverno e das “águas” com diferentes condições de temperatura. Além disso, identificar caracteres morfofisiológicos e também enzimáticos que associam o desempenho de genótipos com a tolerância ao calor. Foram realizados quatro grupos de experimentos distintos. O primeiro grupo foi em casa de vegetação para a avaliação do início da tuberização, sendo realizado três experimentos um na safra de inverno e os outros nas safras da seca e das águas com 20 clones do programa de melhoramento de batata- (UFLA) e mais seis testemunhas. O segundo grupo de experimentos foi realizado em campo (nas mesmas safras citadas acima) para avaliação agronômica utilizando os mesmos genótipos. O terceiro grupo de experimentos também foi realizado em campo, no mesmo período citado acima, para a avaliação morfofisiológica, entretanto, só foram utilizados quatro genótipos: Ágata e Asterix (sensíveis ao calor) e Markies e CBM 16-16 (tolerantes ao calor). O último grupo de experimentos foi realizado em câmara de crescimento e simulados dois ambientes, o primeiro experimento sem estresse de calor com temperaturas constantes em torno dos (22 / 16 °C) (dia / noite) durante todo o ciclo e o segundo com estresse de calor com temperaturas em torno dos (30 / 25 °C) (dia / noite) durante todo o ciclo vegetativo, para a análise do sistema de defesa antioxidante com os mesmos quatro genótipos citados para o terceiro experimento. As médias de temperaturas na casa de vegetação nas safras de inverno, da seca e das “águas” foram 20,0, 24,6 e 27,5 °C, respectivamente. No campo as médias das safras ficaram em torno dos 18, 22 e 24 °C. O aumento da temperatura atrasou significativamente o início da tuberização e, conseqüentemente, diminuiu o período de enchimento de tubérculos. Em média o incremento de 1 °C atrasou em 3,8 dias o início da tuberização dos genótipos entre as safras de inverno e das “águas”. Nas safras com temperaturas elevadas houve uma diminuição da produtividade total de tubérculos e também do teor de matéria seca de tubérculos comparado com a safra de inverno. Foi estimado que em média o incremento de 1 °C reduziu em 0,47% o teor de matéria seca dos tubérculos entre as safras de inverno e das “águas”. Altas temperaturas elevaram a partição de fotoassimilados para a parte aérea da planta em detrimento dos tubérculos. Os genótipos Markies, CBM 16-16, CBM 09-10, IRF 02-71, IRF 09-44, IRF 07-61 e IRF 10-24 foram identificados como os mais tolerantes ao calor. Os genótipos mais produtivos em temperaturas elevadas apresentaram maior área foliar e matéria seca da parte aérea. As análises do sistema de defesa antioxidante realizado neste trabalho não permitiram a diferenciação entre os genótipos tolerantes e sensíveis ao calor quando esses foram submetidos ao estresse durante todo o ciclo vegetativo.

Palavras-chave: *Solanum tuberosum*, tolerância ao calor, melhoramento de batata.

ABSTRACT

Heat tolerance is the plant's ability to grow and produce economically under high temperatures. Understanding and evaluating mechanisms that are related to tolerance are important alternatives to increase progress in plant breeding. The objectives of this work were: to evaluate the behavior of different potato genotypes regarding the beginning of tuberization, duration of vegetative cycle and agronomic traits in three growing seasons (winter, drought and rainy) with different temperature conditions. In addition, we identified morphophysiological characters that associate the performance of genotypes with heat tolerance. Four different experiments were performed. The first one was in a greenhouse to evaluate the beginning of tuberization of 20 clones from the potato breeding program of Universidade Federal de Lavras (UFLA) and six controls. The second was carried out in the field (in the same seasons mentioned above) for agronomic evaluation using the same genotypes. The third group of experiments was also performed in the field, in the same period mentioned above, for the morphophysiological evaluation. However, only four genotypes were used: Agata and Asterix (heat sensitive) and Markies and CBM 16-16 (heat tolerant). The last experiment was carried out in a growth chamber with controlled temperatures simulating the winter and rainy season (22/18 °C and 30/25 °C day/night, respectively) for the analysis of the antioxidant defense system with the same four genotypes. The average temperatures in the greenhouse in winter, drought and rainy seasons were 20.0, 24.6 and 27.5 °C, respectively. In the field the average temperature were around 18, 22 and 24 °C. The increase in temperature significantly delayed the onset of tuberization and, consequently, reduced the period of tuberculing. On average, the increase of 1 °C delayed the beginning of tuberization by 3.8 days. In crops with high temperatures there was a decrease in the total tuber yield and also tuber dry matter content in comparison with the winter season. It was estimated that on average the increment of 1 °C reduced tuber dry matter content by 0.47%. The genotypes with long vegetative cycle and early tuberization were the most productive in the three crop seasons. High temperatures increased the partitioning of photoassimilates to the aerial parts of plants in detriment to tubers. The genotypes Markies, CBM 16-16, CBM 09-10, IRF 02-71, IRF 09-44, IRF 07-61 and IRF 10-24 were identified as the most heat tolerant. The most productive genotypes at high temperatures presented higher leaf area and shoot dry matter. The analyzes of the antioxidant defense system in this work did not allow the differentiation between the tolerant and heat sensitive genotypes when they were submitted to stress throughout the vegetative cycle.

Key words: *Solanum tuberosum*, heat tolerance, potato breeding.

1. INTRODUÇÃO

No Brasil a maioria das cultivares de batata utilizadas foram desenvolvidas especificamente para regiões temperadas, e, quando submetidas ao clima tropical, não conseguem expressar todo seu potencial produtivo. A média de produtividade de países como Estados Unidos e Holanda é de aproximadamente 45 t.ha⁻¹, enquanto que, no Brasil essa produtividade é de 29,6 t.ha⁻¹ (IBGE, 2017; FAOSTAT, 2016).

Condições ideais de temperatura, normalmente, são encontradas nos países temperados que, além de possuírem temperaturas mais amenas, possuem também fotoperíodos mais longos, o que favorece rendimentos maiores, devido à manutenção da parte aérea por mais tempo. Em ambientes tropicais ocorre fotoperíodo mais curto e temperaturas mais elevadas ocasionando menor ciclo vegetativo da cultura da batata. Isso acarreta em decréscimo na produção devido ao menor acúmulo diário de fotoassimilados por dia. As altas temperaturas, como as observadas em certas safras e regiões do Brasil, acarretam acentuada redução na produção, redução no teor de matéria seca dos tubérculos e aumento na frequência de desordens fisiológicas como rachaduras, embonecamentos, coração oco, coração negro e mancha chocolate (MENEZES et al., 1999).

No Brasil o início dos trabalhos com tolerância ao calor em batata foi feito pelo programa de melhoramento de batata da Universidade Federal de Lavras (PROBATATA-UFLA), que introduziu clones do CIP (Centro Internacional de La Papa) e vem trabalhando com essa linha de pesquisa desde 1994 (MENEZES et al., 1999). Em duas décadas de melhoramento foram selecionados clones superiores utilizando o método de seleção recorrente (MENEZES; PINTO; LAMBERT, 2001; LAMBERT et al., 2006; BENITES; PINTO, 2011). Destaca-se os clones denominados CBM que formaram a população base da seleção recorrente para tolerância ao calor. Ao longo de várias safras foram realizadas seleções sobre os clones CBM para estabilidade e alto teor de matéria seca o que gerou um grupo de clones altamente estáveis e com potencial para ser utilizado em programas de seleção recorrente para tolerância ao calor (LAMBERT et al., 2006). Outro destaque são os clones IRF que compõem a terceira geração de seleção recorrente (SR3) para tolerância ao calor do programa de melhoramento de batata da UFLA sendo obtidos no ano 2010, através de cruzamentos biparentais entre membros da população SR2 (FIGUEIREDO et al., 2015).

A temperatura ótima para formação de tubérculos é 20 °C (LEVY; VEILLEUX, 2007), e temperaturas inferiores a 15 °C ou superiores a 25 °C atrasam o início da tuberização. Temperaturas baixas acarretam atraso na emergência, provavelmente, devido ao metabolismo e crescimento mais lento. Já temperaturas elevadas, acima de 25 °C, ocasionam atraso no início

da tuberização e estimulam o desenvolvimento aéreo da planta, reduzindo a partição de fotoassimilados para os tubérculos e conseqüentemente diminuindo a produção.

A tolerância ao calor é a habilidade da planta crescer e conseguir produzir economicamente sob altas temperaturas (WAHID et al., 2007). Tradicionalmente, a estratégia de seleção mais utilizada consiste em avaliar os genótipos no ambiente com estresse por calor e selecionar aqueles que têm rendimento superior às cultivares com melhor desempenho nessas condições (SOUZA et al., 2011). Entretanto, a seleção direta em condições de campo é geralmente difícil, visto que alguns fatores incontroláveis como temperatura, qualidade da semente e pragas e doenças podem afetar a precisão e repetibilidade dos ensaios.

Segundo Giordano et al. (2005) uma estratégia eficiente é basear a seleção em maior número possível de caracteres associados com tolerância ao calor, visto que, diversos caracteres que são ligados à tolerância ao calor são controladas por distintos mecanismos genéticos bastante complexos. A compreensão e avaliação dos mecanismos morfofisiológicos, como complemento aos métodos tradicionais de seleção, constituem alternativas para aumentar o progresso no melhoramento (SOUZA et al., 2011). Segundo os autores, utilizar essas ferramentas é um passo importante para impedir a perda de importantes alelos de tolerância ao calor durante o processo de melhoramento.

Os objetivos deste trabalho foram: estudar o comportamento de genótipos de batata quanto ao início da tuberização, ciclo vegetativo e caracteres agrônômicos em diferentes condições de temperatura. Além disso, identificar caracteres morfofisiológicos que associam o desempenho de genótipos com a tolerância ao calor.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material genético.

Foram avaliados 20 clones selecionados por Lyra et al. (2015) oriundos de cruzamentos biparentais entre clones tolerantes ao calor do programa de melhoramento de batata-PROBATATA/UFLA e mais 6 testemunhas: as cultivares Ágata e Asterix (sensíveis ao calor), a cultivar Markies (tolerante ao calor) e mais três clones do programa de melhoramento de batata da UFLA (PROBATATA) que são tolerantes ao calor CBM 24-06, CBM 09-10 e CBM 16-16 (LAMBERT et al., 2006).

2.2. Início da tuberização em casa de vegetação

Foram realizados três experimentos semelhantes em casa de vegetação com os genótipos citados no item 2.1. O primeiro foi realizado na safra da seca no período de Janeiro a Abril / 2015, o segundo na safra das “águas” no período de Setembro a Dezembro / 2015, o terceiro na safra de inverno no período de Maio a Agosto / 2016. Para os três experimentos foram plantados tubérculos com diâmetro de aproximadamente 2 cm em vasos plásticos de 0,5 L contendo substrato organo-mineral. Foi usado o delineamento em blocos completos casualizados com cinco repetições e 1 planta / parcela.

Para a avaliação da tuberização foi anotado o dia da emergência das plântulas e após três semanas foi iniciada a avaliação, levantando-se cada planta cuidadosamente e observando a presença ou ausência de pelo menos um tubérculo com diâmetro transversal 2x maior que o diâmetro do estolão. Imediatamente as plantas foram replantadas e irrigadas abundantemente. A avaliação foi realizada a cada três dias até que ocorresse a tuberização, quando foi anotada a data da formação dos tubérculos. Em todos os experimentos foram monitoradas as temperaturas médias, máximas e mínimas do interior da casa de vegetação desde início da emergência das plantas até o fim da avaliação da tuberização.

2.3 Comportamento agrônomico dos genótipos em campo

Os genótipos citados no item 2.1 foram plantados em três experimentos semelhantes. As épocas dos experimentos foram as mesmas citadas no item 2.2 e todos foram plantados na área experimental do Departamento de Biologia da UFLA. Os experimentos foram instalados em delineamento blocos completos casualizados com três repetições e cinco plantas por parcela, espaçadas de 0,30 m x 0,80 m. Em todos os experimentos foram monitoradas as temperaturas

a cada hora durante 100 dias do ciclo da cultura utilizando o datalogger (OM-EL-USB-1-PRO-A) marca (OMEGA). Os tratos culturais empregados foram semelhantes aos das lavouras comerciais na região de sul de Minas Gerais, desde o preparo do solo até o manejo das irrigações. Para todos os clones foram avaliados os seguintes caracteres:

- a) Produtividade total de tubérculos ($\text{g} \times \text{planta}^{-1}$): produção de tubérculos dividida pelo número de plantas da parcela;
- b) Produtividade de tubérculos graúdos: produção de tubérculos com diâmetro transversal acima de 45 mm, dividida pelo número de plantas da parcela;
- c) Teor de matéria seca dos tubérculos: determinada pela expressão $MS = (-217,2) + (221,2 \times PE)$, onde $PE = \text{Peso no ar} / (\text{Peso no ar} - \text{Peso na água})$, obtido em balança hidrostática (SCHIPPERS, 1976);
- d) Duração do ciclo vegetativo: número de dias entre emergência (pelo menos 3 plantas emergidas da parcela) e seca natural das ramas (pelo menos três plantas secas).
- e) Período de enchimento de tubérculos (PEN): número de dias entre o início da tuberização (tomados em casa de vegetação) e o final do ciclo vegetativo (tomado em campo).

Para a identificação dos genótipos tolerantes ao calor foi utilizado o índice citado por Demirel et al. (2017) sendo calculado pela fórmula:

$$HTI = (Y_s \times Y_f) / (\bar{Y}_f)^2$$

Y_s : média do genótipo no ambiente com estresse (média das safras da seca e das “águas”);

Y_f : média do genótipo no ambiente sem estresse (safra de inverno);

\bar{Y}_f : média geral do ambiente sem estresse (safra de inverno).

Esse índice foi calculado para os caracteres de produtividade de tubérculos graúdos (HTI PROD) e teor de matéria seca dos tubérculos (HTI MS) para cada genótipo. Além disso, avaliou-se graficamente o desempenho dos genótipos no ambiente com e sem estresse de calor, quanto à produtividade de tubérculos graúdos e matéria seca dos tubérculos. As médias foram plotadas tanto no ambiente sem estresse (safra de inverno) (eixo x), como no ambiente em condição de estresse (médias das safras da seca e das “águas”) (eixo y). Duas retas traçadas na média de todos os genótipos, em cada ambiente, distribuíram os genótipos em quatro quadrantes: aqueles tolerantes ou sensíveis ao calor (acima ou abaixo da média do eixo y), e aqueles responsivos ou não a temperaturas amenas (acima ou abaixo da média do eixo x).

2.3.1 Índices morfofisiológicos em condições de campo

Foram realizados três experimentos semelhantes em campo nos mesmos períodos citados no item 2.2. Para esse experimento foram utilizados quatro genótipos: as cultivares Asterix e Ágata (sensíveis ao calor) e Markies e o clone CBM 16-16 (tolerantes calor). Foram realizadas quatro épocas de amostragens, aos 30, 50, 70 e 90 dias após a emergência (DAE). Cada época de colheita foi conduzida como um experimento em delineamento em blocos completos casualizados com três repetições. As parcelas experimentais foram constituídas de duas plantas espaçadas de 0,30 m x 0,80 m. Foram determinados os seguintes índices morfofisiológicos:

a) Matéria seca da parte aérea ($g \times planta^{-1}$): obtida pela secagem das folhas e hastes das plantas da parcela, em estufa a 60 °C com fluxo de ar forçado até peso constante, dividida pelo número de plantas da parcela.

b) Matéria seca dos tubérculos ($g \times planta^{-1}$): obtida pela secagem dos tubérculos, em estufa a 60 °C com fluxo de ar forçado até peso constante, dividido pelo número de plantas da parcela.

c) Matéria seca total da planta: soma da matéria seca de tubérculos e da parte aérea.

d) Produtividade total de tubérculos ($g \times planta^{-1}$): produção de tubérculos dividida pelo número de plantas da parcela;

e) Índice de colheita (%): é a relação entre a matéria seca particionada para os tubérculos e a matéria seca total da planta, conforme a equação.

$$IC_i(\%) = \frac{W_{tub_i}}{W_{tub_i} + W_{rama_i}} \times 100$$

$IC_i(\%)$: partição de matéria seca para os tubérculos observada, referente à época de amostragem i ;

W_{tub_i} : matéria seca dos tubérculos na época de colheita i ;

W_{rama_i} : matéria seca da parte aérea na época de colheita i .

f) Taxa de crescimento da cultura ($g \text{ MS} \times planta^{-1} \times dia^{-1}$): para cada época de amostragem e estimada conforme a equação:

$$TCC = \frac{W_{pl_i} - W_{pl_{i-1}}}{DAE_i - DAE_{i-1}} \times 100$$

TCC : taxa de crescimento médio da cultura;

W_{pl_i} : matéria seca da planta (parte aérea e tubérculos) na época de colheita i ;

$W_{pl_{i-1}}$: matéria seca da planta (parte aérea e tubérculos) na época de colheita $i-1$;

DAE_i : número de dias após a emergência na época de colheita i ;

DAE_{i-1} : número de dias após a emergência na época de colheita $i-1$.

g) Taxa de tuberização (g MS x planta⁻¹ x dia⁻¹): para cada época de amostragem e estimada conforme a equação:

$$TUB_i = \frac{W_{i_{tub}} - W_{tubi-1}}{DAE_i - DAE_{i-1}}$$

TUB_i : taxa de tuberização observada, na época de colheita i ;

$W_{i_{tub}}$: matéria seca dos tubérculos na época de colheita i ;

W_{tubi-1} : matéria seca dos tubérculos na época de colheita $i-1$;

DAE_i : número de dias após a emergência na época de colheita i ;

DAE_{i-1} : número de dias após a emergência na época de colheita $i-1$.

h) Área foliar: Foi utilizado o método dos discos foliares a partir de amostras de 27 discos retirados de diferentes porções da folha, por meio de um perfurador com 9 mm de diâmetro. A área foliar (AF) foi obtida pelo produto entre a área total dos discos e o peso seco total das folhas, dividido pelo peso médio dos discos (FERNANDES, 2000).

2.4 Comportamento dos genótipos mantidos em câmara de crescimento

Foram conduzidos dois experimentos mantidos em câmara de crescimento climatizada. O primeiro foi conduzido no período de Dezembro/ 2016 a Fevereiro /2017 e simulado condições sem estresse de calor. Para simular as condições sem o estresse, referente a safra de inverno, foi mantido um fotoperíodo de 11:43, 11:22 e 11:12 horas de luz para o primeiro, segundo e terceiro mês, respectivamente, foi mantido na câmara umidade relativa do ar em torno de 60 e com densidade de fluxo de fótons em torno de 400 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, com temperatura média de 22 °C durante o dia e 18 °C durante a noite até o final do experimento. O segundo experimento foi conduzido no período de Março a Maio /2017 e simulado condições com

estresse de calor. Para simular as condições com estresse, referente a safra das “águas”, foi mantido na câmara umidade relativa do ar em torno de 60 %, com fotoperíodo de 12:50, 13:00 e 12:55 horas de luz para o primeiro, segundo e terceiro mês, respectivamente (com densidade de fluxo de fótons em torno de $400 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$), além de temperatura média em torno de 30 °C durante o dia e 25 °C durante a noite até o final do experimento.

Os dois experimentos foram realizados em delineamento de blocos completos casualizados com três repetições sendo considerado um vaso de 3L com uma planta por repetição. Os tratamentos foram os mesmos citados no item 3.3.1. Quatro épocas de amostragens foram efetuadas, aos 20, 40, 60 e 80 dias após a emergência (DAE). Foram analisados a termoestabilidade da membrana, a peroxidação lipídica da membrana, o teor de peróxido de hidrogênio e as atividades das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX).

2.4.1 Termoestabilidade da membrana celular

A Termoestabilidade da membrana (TM) foi determinada pelo extravasamento de eletrólitos. Para cada parcela foram retirados três discos foliares de 9 mm cada a partir da quarta folha mais jovem, posteriormente, os discos foram lavados com água destilada e imersos em 20 mL de água destilada por 24 horas. Após esse período foi realizada a primeira medição da condutividade da solução (T1) com um condutivímetro digital portátil (TECNOPON mCA-150P). Em seguida, as amostras foram aquecidas em água (60 °C) por 10 minutos e resfriadas em temperatura ambiente por 5 minutos. Posteriormente, foi realizada nova medição da condutividade da solução T2). A termoestabilidade da membrana foi expressa em porcentagem como aumento da condutividade em relação à condutividade inicial e foi calculada pela fórmula $(T2 - T1 / T1 \times 100)$.

2.4.2 Atividades enzimáticas, peróxido de hidrogênio e peroxidação lipídica

Para cada época de avaliação foram coletadas aproximadamente 0,2 g de folhas de cada parcela, envolvidas em saquinhos plásticos e mergulhadas em nitrogênio líquido. Em seguida as amostras foram maceradas em nitrogênio líquido com 50% de polivinil polipirrolidona (PVPP) até obtenção de um pó fino. Em seguida foi adicionado 1,5 mL de tampão de extração constituído de 375 μL de tampão fosfato de potássio 100 mM pH 7,8, 15 μL de EDTA 0,1 M 75 μL de ácido ascórbico 10mM e 1035 μL de água destilada (SCHWANZ e POLLE, 2001).

Após homogeneização, o extrato enzimático foi centrifugado a 10000 rpm por 10 minutos, a 4 °C, para coleta do sobrenadante, que foi utilizado para realizar as determinações das atividades das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX).

2.4.2.1 Superóxido dismutase (SOD)

A atividade da SOD foi avaliada pela capacidade da enzima em inibir a fotorredução do azul de nitrotetrazólio (NBT), proposta por Giannopolitis e Ries (1977), com modificações. Foram adicionados 10µL do extrato enzimático a 190 µL do meio de incubação composto por: tampão fosfato de potássio 50 mM (pH 7,8), metionina 14 mM, EDTA 0,1 mM, NBT 75 µM e riboflavina 2 µM. As placas contendo o meio de incubação mais amostra foram iluminadas com lâmpada fluorescente de 20 W por 7 minutos. Para o controle, foi utilizado o mesmo meio de reação sem a amostra. As leituras foram realizadas a 560 nm e o cálculo da enzima foi realizado com a seguinte equação: % de inibição = $(A_{560} \text{ amostra com extrato enzimático} - A_{560} \text{ controle sem enzima}) / (A_{560} \text{ controle sem enzima})$. Uma unidade da SOD corresponde à quantidade de enzima capaz de inibir em 50% a fotorredução do NBT nas condições do ensaio.

2.4.2.2 Catalase (CAT)

A CAT foi avaliada segundo Havir e McHale (1987), em que uma alíquota de 9 µL do extrato enzimático foi adicionada a 161 µL do meio de incubação, contendo fosfato de potássio 100 mM (pH 7,0) e peróxido de hidrogênio 12,5 mM, incubado a 28 °C. A atividade dessa enzima foi determinada pelo decréscimo na absorbância a 240 nm, a cada 15 segundos, por 3 minutos, monitorado pelo consumo de peróxido de hidrogênio. O coeficiente de extinção molar utilizado foi de 36 mM⁻¹cm⁻¹.

2.4.2.3 Ascorbato peroxidase (APX)

A atividade da APX foi determinada pelo acompanhamento da taxa de oxidação do ascorbato a 290 nm, a cada 15 segundos, por 3 minutos. Uma alíquota de 6µL do extrato enzimático foi adicionada a 164 µL do tampão de incubação composto por fosfato de potássio 100 mM (pH 7,0), ácido ascórbico 0,5 mM e peróxido de hidrogênio 0,1 mM (NAKANO; ASADA, 1981).

2.4.2.4 Peróxido de hidrogênio (H₂O₂)

Matéria fresca de folhas (200 mg) foram maceradas em nitrogênio líquido com polivinil polipirrolidona (PVPP), homogeneizados em 1,5 mL de ácido tricloroacético (TCA) 0,1%

(m/v) e centrifugados a 12.000 g por 15 minutos, a 4 °C. O H₂O₂ foi determinado medindo-se a absorbância a 390 nm em um meio de reação, contendo 45 µL de tampão de fosfato de potássio 10 mM, pH 7,0, 45 µL do extrato e 90 µL de iodeto de potássio 1M (VELIKOVA;YORDANOV; EDREVA, 2000). A quantificação foi realizada, com base na curva padrão de peróxido de hidrogênio, com concentrações conhecidas.

2.4.2.5 Peroxidação lipídica

A peroxidação lipídica foi determinada, por meio da quantificação de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico, conforme descrito por Buege e Aust (1978). Duzentos miligramas de folhas foram macerados em nitrogênio líquido, acrescido de 20% de PVPP (m/v) e homogeneizados em 1,5 mL de ácido tricloroacético (TCA) 0,1% (m/v). O homogeneizado foi centrifugado a 10.000 g, por 10 minutos. Alíquotas (125 µL) do sobrenadante foram adicionadas ao meio de reação, contendo 0,5% (m/v) de ácido tiobarbitúrico (TBA) e 10% (m/v) de TCA, incubando-se, em seguida, a 95 °C, por 30 minutos. A reação foi paralisada por resfriamento rápido em gelo e as leituras foram determinadas em espectrofotômetro a 535 nm e 600 nm. O TBA forma complexos de cor avermelhada com aldeídos de baixa massa molecular, como o malondialdeído (MDA), produto secundário do processo de peroxidação. A concentração do complexo MDA/TBA foi calculada pela seguinte equação: $[MDA] = (A_{535} - A_{600}) / (\xi \cdot b)$, em que: ξ (coeficiente de extinção = $1,56 \times 10^{-5} \text{ cm}^{-1}$); b (comprimento ótico = 1).

2.5 Análises estatísticas

Os dados coletados em campo e casa de vegetação foram submetidos à análise de variância (ANAVA), usando o delineamento de blocos completos casualizados, de acordo com o seguinte modelo estatístico:

$$Y_{ij} = \mu + t_i + b_j + e_{ij}$$

em que:

Y_{ij} : valor observado na parcela que recebeu o tratamento i no bloco j;

μ : efeito fixo da média geral do experimento;

t_i : efeito aleatório do tratamento i;

b_j : efeito aleatório do bloco j;

e_{ij} : erro experimental assumindo-se que os erros são independentes e normalmente distribuídos com média zero e variância σ^2 .

Foi realizada também a ANAVA conjunta, para os experimentos de campo e para os de casa de vegetação, de acordo com o seguinte modelo estatístico:

$$Y_{ijk} = \mu + s_k + b_{j(k)} + t_i + t_{S_{ik}} + e_{ijk}$$

em que:

Y_{ijk} : é a resposta média do clone i no ambiente k para o caráter considerado;

μ : efeito fixo da média geral do experimento;

s_k : é o efeito fixo da safra k ;

$b_{j(k)}$: efeito aleatório do bloco j na safra k ;

t_i : é o efeito aleatório do clone i ;

$t_{S_{ik}}$ é o efeito aleatório da interação do clone i com a safra k ;

e_{ijk} : erro experimental, assumindo-se que os erros são independentes e normalmente distribuídos com média zero e variância σ^2 .

As médias dos genótipos foram agrupadas pelo teste de Scott-Knott (1974), além disso, foram realizadas correlações de Pearson entre os índices de tolerância ao calor e as produtividades de tubérculos graúdos e teor de matéria seca dos tubérculos. Para os índices morfofisiológicos foram realizadas análises de variância para cada época de colheita, em seguida, obtidas as médias ajustadas de para cada genótipo e posteriormente realizada a análise de regressão polinomial de segundo grau utilizando o programa Statistica 12 (Statsoft, Tulsa, OK, EUA). Foram realizadas análises de variância para cada época de amostragem dos experimentos em câmara de crescimento, e as médias ajustadas dos genótipos foram representadas em gráficos de barras com os erros padrões da média.

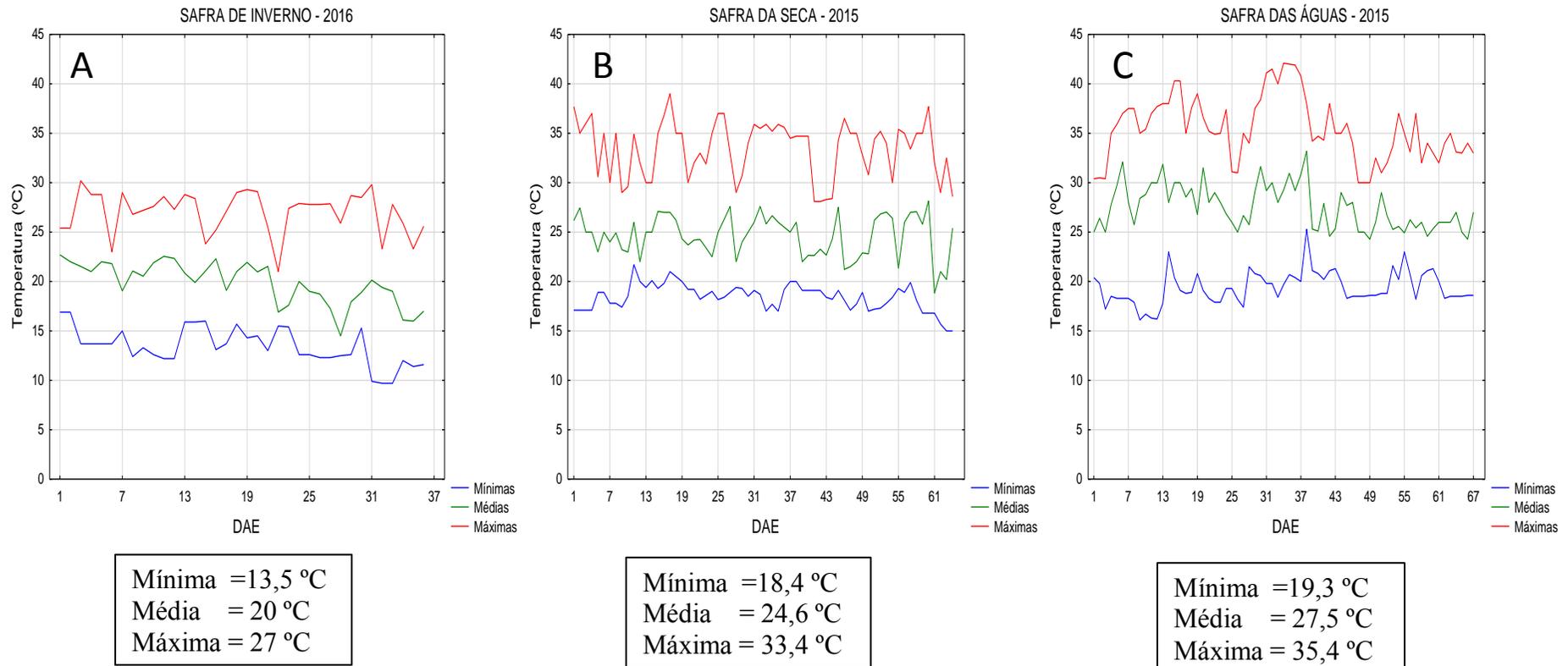
Para todas as análises foram computados o coeficiente de variação ambiental (CV) e a acurácia seletiva (\hat{r}_{gg}) (RESENDE; DUARTE, 2007). As análises estatísticas utilizadas nos experimentos foram computadas utilizando os programas computacionais SAS 9.1 e R.

3. RESULTADOS

3.1 Variação da temperatura nos experimentos de início da tuberização em casa de vegetação

Para os experimentos realizados na casa de vegetação foram observadas diferenças na temperaturas entre as três safras (Figura 1A). Na safra de inverno ocorreram as menores temperaturas com mínimas em torno dos 13,5 °C, enquanto que, para as safras das “águas” e da seca as temperaturas mínimas tiveram média de 19,3 e 18,4 °C, respectivamente (Figura 1B e C). As temperaturas médias para as safras das “águas” e da seca variaram em torno dos 27,5 e 24,6 °C, respectivamente, já para a safra de inverno foi observado temperaturas mais amenas sendo a média em torno dos 20 °C (Figura 1A). Para a temperatura máxima foi observado que os maiores valores foram na safra das “águas”, sempre com valores acima dos 30 °C, média em torno dos 35,4 °C, e o maior valor próximo dos 42 °C (Figura 1C), na safra da seca a média de temperatura máxima foi em torno dos 33,4 °C, não sendo observado valores acima dos 40 °C, já na safra de inverno vale destacar que a temperatura máxima ficou em torno dos 27 °C e não atingiu valores acima dos 30 °C (Figura 1A).

Figura 1. Variações das temperaturas mínimas, médias e máximas registradas durante a avaliação do início da tuberização nos três experimentos realizados nas safras de inverno, da seca e safra das “águas” em casa de vegetação. (DAE = dias após a emergência das plantas).

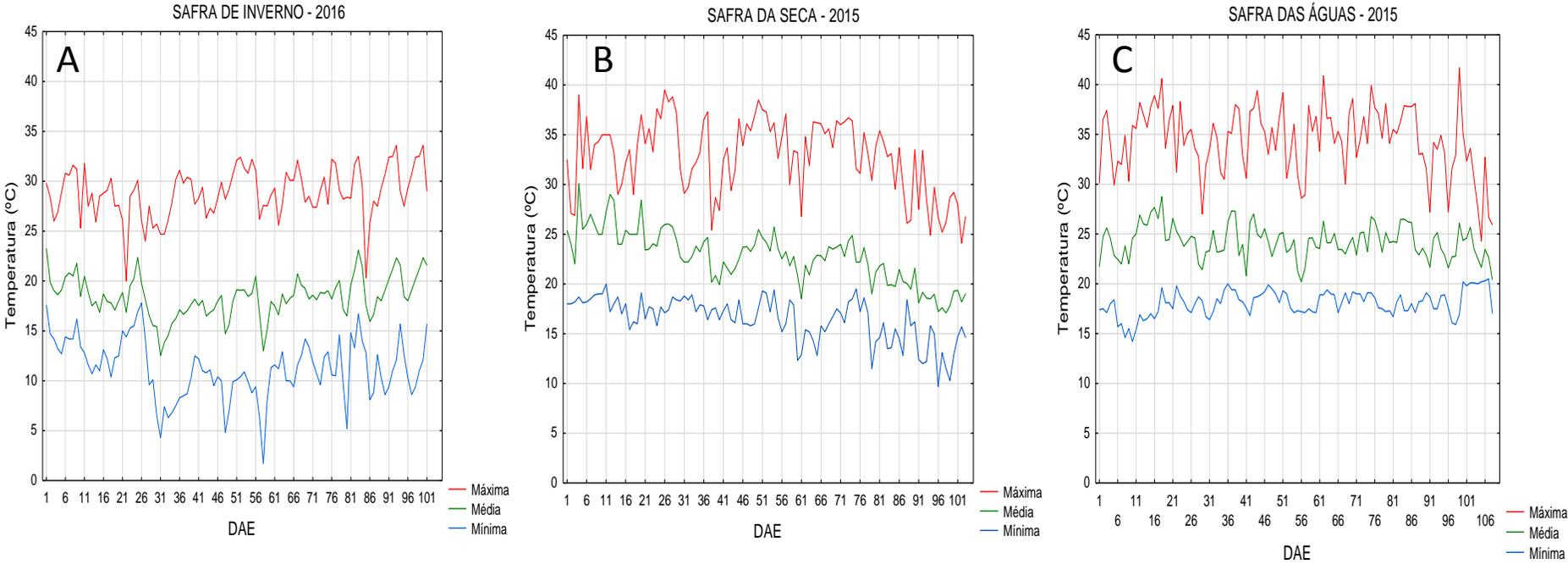


Fonte: Do autor (2018).

3.2 Variação da temperatura e do fotoperíodo nos experimentos de avaliação de caracteres agronômicos no campo

Na safra de inverno foram observadas temperaturas mais amenas quando comparado com as outras safras, com média em torno dos 18,5 °C (Figura 2A). A média das temperaturas mínimas ficou em torno 11,2 °C e as temperaturas de até 15 °C representaram 38,6% dos registros durante todo o ciclo. A média das temperaturas máximas ficou em torno de 28,8 °C. Estas temperaturas mais elevadas ocorreram principalmente durante o dia, sendo que as temperaturas noturnas sempre estiveram dentro da faixa ideal. Nas safras da seca e das “águas” as temperaturas foram bem mais elevadas (Figura 2B e C). A média das temperaturas ficou em torno dos 22,7 °C (safra da seca) e 24,2 °C (safras das “águas”). As temperaturas mínimas tiveram média de 16,4 (safra da seca) e 18,0 °C (safra das “águas”) e as temperaturas abaixo de 15 °C representaram apenas 6,2 e 0,2% das temperaturas registradas durante todo o ciclo vegetativo. As médias das máximas ficaram acima de 30 °C nas duas safras (Figura 2B e C).

Figura 2. Variações das temperaturas mínimas, médias e máximas registradas nos três experimentos realizados nas safras de inverno, da seca e safra das “águas” no campo. Lavras, MG. (DAE = dias após a emergência das plantas).



Mínima = 11,2 °C
Média = 18,5 °C
Máxima = 28,8 °C

Mínima = 16,4 °C
Média = 22,7 °C
Máxima = > 30°C

Mínima = 18 °C
Média = 24,2 °C
Máxima = > 30°C

Fonte: Do autor (2018).

3.3 Início da tuberização

Para o início da tuberização foi observado diferenças significativas no nível de 5% de probabilidade pelo teste F entre todos tratamentos e também entre os clones em todas as safras (Tabela 1).

Tabela 1. Resumo das análises de variância para início da tuberização dos genótipos de batata nas safras de inverno, da seca e das "águas" realizadas em Lavras, MG.

Fonte de variação	Safra de Inverno		Safra da Seca		Safra das Águas	
	GL	Tuberização	GL	Tuberização	GL	Tuberização
Bloco	4	14,68	4	57,61	4	22,81
Tratamentos	25	33,03*	25	347,54*	25	214,58*
Entre clones	19	25,89*	19	388,10*	19	211,91*
Entre Testemunhas	5	23,95	5	47,84	5	248,18*
Clone vs Testemunhas	1	221,27*	1	1069,80*	1	15,87
Erro	78	10,35	65	32,23	61	83,76
Acurácia %		82,85		95,21		78,06
CV %		18,72		17,51		23,56
Média geral		17		34		39
Média clone		18		36		41
Média test.		15		28		35

*- Significativo a 5%, pelo teste F.

Fonte: Do autor (2018).

O CV dos experimentos variou entre 17,51 % até 24,79 % e acurácia variou de 82 % a 95,21 %, o que evidenciam boa precisão experimental (Tabela 1). Quando se observa o contraste entre os clones e as testemunhas foi observada diferença significativa para os experimentos das safra da seca e de inverno (Tabela 1).

No experimento realizado na safra de inverno foram observadas que as temperaturas da casa de vegetação e do campo permanecerem entre a faixa ótima de tuberização, desse modo, foi considerado que os dois ambientes obtiveram as mesmas temperaturas. Sendo assim, observou-se que a média do início da tuberização de todos genótipos foi em tornos dos 17 dias após a emergência das plantas (Tabela 1).

Para os experimentos realizados sob temperaturas mais elevadas (safra da seca e das "águas") foi estimado o início da tuberização de cada genótipo com base na diferença entre as temperaturas da casa de vegetação e do campo dessas safras com a safra de inverno, juntamente com a diferença entre o início de tuberização na casa de vegetação desses genótipos nessas mesmas safras. Essa estimativa do início da tuberização foi realizada para se obter o resultado

mais aproximado da tuberização dos genótipos no campo. Desse modo, as médias estimadas foram de 34 e 39 dias após a emergência das plantas, para a safra da seca e das (“águas”), respectivamente (Tabela 1).

De modo geral, as testemunhas iniciaram a tuberização mais precocemente que os clones em todas as safras (Tabela 1). Com a elevação da temperatura há atraso na tuberização, sendo estimado que em média o incremento de 1 °C atrasou em 3,8 dias o início da tuberização dos genótipos entre as safras de inverno (média de 18,5 °C) e das “águas” (média de 24,2 °C). Quando se compara as safras de inverno e da seca (média de 22,7 °C) ficou evidenciado que todos os genótipos atrasaram para tuberizar em aproximadamente 4 dias. Entretanto, quando se compara as safras da seca com a das “águas” o atraso no número de dias para o início da tuberização foi de aproximadamente 3,3 dias.

A análise de variância conjunta para o início da tuberização (Tabela 2) evidencia as diferenças entre as safras, como já comentado, mas chama a atenção para a interação tratamentos por safras. Este resultado indica que os genótipos atrasaram o início da tuberização de diferentes maneiras, por exemplo, o clone IRF 10-44 apresentou atraso de 5 dias, enquanto que para o clone IRF 01-41 o atraso foi de 36 dias considerando as safras de inverno e da seca (Tabela 5). Para a safra das “águas” em relação à safra da seca, o clone IRF 09-44 apresentou atraso de 12 dias, ao passo que, para o clone IRF 17-02 não houve diferença (Tabela 5).

Tabela 2. Resumo da análise de variância conjunta para início da tuberização dos genótipos para as três safras realizadas em Lavras, MG.

Fonte de variação	GL	QM
		Início da Tuberização
Safra	2	11824*
Bloco (Safra)	12	31
Tratamentos	25	361*
Entre clones	19	377*
Entre Testemunhas	5	179*
Clone vs Testemunhas	1	1588*
Tratamento x Safra	50	117*
Entre clones x Safra	38	126*
Entre testemunhas x Safra	10	77*
Clone vs testemunhas x Safra	2	394*
Erro	216	32
Acurácia %		95,44
CV %		20,10

*- Significativo a 5%, pelo teste F.

Fonte: Do autor (2018).

3.4. Duração do ciclo vegetativo e período de enchimento dos tubérculos

Foram observadas diferenças significativas para a duração do ciclo vegetativo entre os genótipos e também entre clones e testemunhas, separadamente, nas três safras (Tabela 3). Os CVs dos experimentos variaram entre 4,37 % até 8,32 % e as acurácias variaram de 74,23 % a 87,84 %, o que evidenciam boa precisão experimental (Tabela 3). Na análise conjunta foram observadas diferenças significativas para tratamentos, como também para o desdobramento de clones e testemunhas, entretanto, não foi observada diferença significativa entre as safras (Tabela 4). Além disso, foi observada diferença significativa para a interação tratamentos por safras (Tabela 4), ou seja, os genótipos apresentaram comportamento não coincidente nas diferentes safras. Como exemplo os genótipos Asterix, IRF 02-71 e IRF 06-46 aumentaram o ciclo vegetativo quando se compara as safras de inverno, da seca e das “águas”, respectivamente. Entretanto, outros genótipos como IRF 01-41, IRF 01-52 e IRF 17-02 variaram a duração do ciclo vegetativo, tendo aumento entre as safras de inverno e da seca e diminuição do ciclo vegetativo quando se compara as safras da seca e das “águas” (Tabela 5).

Para o período de enchimento de tubérculos (PEN) ficou evidenciado que o aumento da temperatura diminuiu o número de dias para o enchimento de tubérculos (Figura 4 e Tabela 5), tendo uma redução média de 23 dias quando se comparou as safras de inverno (temperatura média de 18,5 °C) e das “águas” (temperatura média de 24,2 °C). Entretanto, comparando as safras da seca e das “águas” o efeito da temperatura foi bem menor, ocorrendo redução de apenas 3 dias no período de enchimento dos tubérculos. Além disso, observou-se que alguns genótipos diminuíram o PEN, enquanto, outros aumentaram (Tabela 5).

Tabela 3. Resumo das análises de variância para duração do ciclo vegetativo dos genótipos de batata nas safras de inverno, da seca e das “águas”. Lavras, MG.

Fonte de variação	Safra de Inverno		Safra da Seca		Safra das Águas	
	QM					
	GL	Ciclo	GL	Ciclo	GL	Ciclo
Bloco	2	3,71	2	64,42	2	12,57
Tratamentos	25	143,75*	25	112,01*	25	73,01*
Entre clones	19	133,27*	19	104,04*	19	75,25*
Entre Testemunhas	5	206,23*	5	136,99*	5	79,30*
Clone vs Testemunhas	1	33,26	1	119,10	1	2,93
Erro	43	64,34	44	31,14	48	17,66
Acurácia %		74,23		87,84		87,05
CV %		8,32		5,76		4,37

*- Significativo a 5%, pelo teste F.

Fonte: Do autor (2018).

Tabela 4. Resumo da análise de variância conjunta para duração do ciclo vegetativo dos genótipos de batata nas safras de inverno, da seca e das “águas”. Lavras, MG.

Fonte de variação	GL	QM
		Ciclo
Tratamentos	25	198,84*
Entre clones	19	164,56*
Entre Testemunhas	5	363,10*
Clone vs Testemunhas	1	4,43
Safras	2	27,26
Bloco(Safras)	6	21,70
Tratamentos x Safra	50	65,79*
Entre clones x Safra	38	74,66*
Entre Test x Safra	10	29,70
Clone vs Test x Safra	2	75,69
Erro	133	36,92
Acurácia %		90,20
CV %		6,33

*- Significativo a 5%, pelo teste F.

Fonte: Do autor (2018).

Tabela 5. Médias dos tratamentos para início da tuberização em (DAE), duração do ciclo vegetativo em (DAE) e período de enchimento dos tubérculos (PEN) em dias, para as safras de inverno, da seca e das “águas”. Lavras, MG.

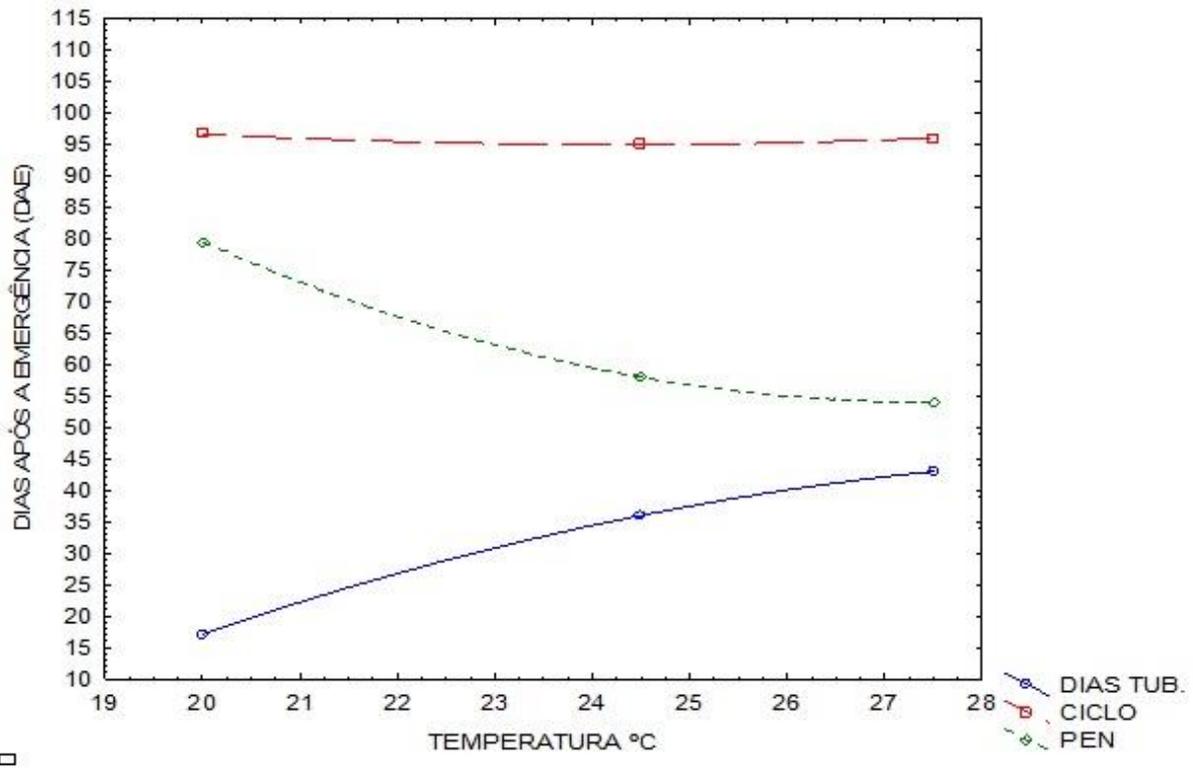
GENÓTIPOS	SAFRA DE INVERNO			SAFRA DA SECA			SAFRA DAS ÁGUAS		
	TUB	CICLO	PEN	TUB	CICLO	PEN	TUB	CICLO	PEN
ÁGATA	11 b	89 b	78 b	20 d	85 b	65 a	25 d	90 c	65 a
ASTERIX	13 b	86 b	73 b	28 d	88 b	60 a	37 c	93 c	56 b
MARKIES	15 b	105 a	90 a	29 d	103 a	74 a	41 c	105 a	64 a
CBM.09-10	16 b	100 a	84 a	29 d	92 b	63 a	28 d	95 b	67 a
CBM.16-16	16 b	102 a	86 a	34 d	98 a	64 a	43 b	96 b	53 b
CBM.24-06	17 b	104 a	87 a	29 d	92 b	63 a	33 c	99 b	66 a
IRF.01-08	19 a	97 a	78 b	39 d	93 b	54 b	48 b	95 b	47 b
IRF.01-41	23 a	102 a	79 a	59 c	105 a	46 b	62 a	95 b	33 b
IRF.01-52	21 a	98 a	77 b	49 a	109 a	60 a	54 a	100 a	46 b
IRF.02-14	17 b	102 a	85 a	47 b	93 b	46 b	55 a	105 a	50 b
IRF.02-45	20 a	89 b	69 b	39 b	90 b	51 b	37 c	98 b	61 a
IRF.02-71	20 a	87 b	67 b	55 c	99 a	44 b	59 a	104 a	45 b
IRF.04-26	16 b	94 b	78 b	20 a	92 b	72 a	26 d	95 b	69 a
IRF.06-104	15 b	99 a	84 a	30 d	91 b	61 a	31 d	85 c	54 b
IRF.06-46	14 b	91 b	77 b	38 d	96 b	58 a	40 c	99 b	59 a
IRF.07-61	18 a	104 a	86 a	40 c	100 a	60 a	44 b	96 b	52 b
IRF.09-18	20 a	82 b	62 b	26 c	87 b	61 a	26 d	89 c	63 a
IRF.09-35	16 b	91 b	75 b	33 d	88 b	55 b	34 c	88 c	54 b
IRF.09-44	15 b	100 a	85 a	32 c	94 b	62 a	44 b	96 b	52 b
IRF.09-68	17 b	89 b	72 b	34 d	93 b	59 a	36 c	95 b	59 a
IRF.10-24	17 b	110 a	93 a	31 d	96 b	65 a	34 c	102 a	68 a
IRF.10-44	18 a	97 a	79 a	23 d	90 b	67 a	26 d	98 b	72 a
IRF.12-34	18 a	101 a	83 a	27 d	89 b	62 a	34 c	97 b	63 a
IRF.14-31	15 b	100 a	85 a	27 d	96 b	69 a	41 c	98 b	57 b
IRF.17-02	20 a	92 b	72 b	47 d	107 a	60 a	47 b	101 a	54 b
IRF.32-02	20 a	104 a	84 a	28 b	97 b	69 a	37 c	90 c	53 b
Média geral	17	97	80	34	95	60	39	96	57
Média clone	18	96	79	36	95	59	41	96	56
Média test.	15	98	83	28	93	65	35	96	62

*Médias seguidas por letras iguais na mesma coluna pertencem ao mesmo grupo pelo teste de Scott-Knott, a 5 % de probabilidade.

Fonte: Do autor (2018).

Fazendo uma comparação do efeito da temperatura nos três caracteres (início da tuberização, duração do ciclo vegetativo e PEN) foi observado que o calor teve pouca influência na duração do ciclo vegetativo, entretanto, ficou evidenciado que com o aumento da temperatura ocorreu atraso do início da tuberização e, conseqüentemente, diminuição do período de enchimento de tubérculos (Figura 3).

Figura 3. Variações das médias para início da tuberização (DIAS TUB), duração do ciclo vegetativo (CICLO) e período de enchimento dos tubérculos (PEN) em relação à temperatura (°C) nas três safras de inverno, da seca e safra das “águas”. Lavras, MG. DAE= Número de dias após a emergência. DIAS.TUB: ($y = -187,75 + 15,1906 * x - 0,247 * x^2$); CICLO: ($y = 149,53 - 4,50 * x + 0,09 * x^2$); PEN: ($y = 399,81 - 25,19 * x + 0,45 * x^2$).



Fonte: Do autor (2018).

3.5 Produtividade de tubérculos e teor de matéria seca

O resumo das análises de variância individuais das três safras é apresentado na Tabela 6. Os maiores CVs e as menores acurácias para produtividade foram observados na safra das “águas”, o que indica que as temperaturas mais altas diminuíram a precisão experimental. Para as três safras foram observadas diferenças significativas para os tratamentos para todos os caracteres (Tabela 6).

Na análise conjunta entre as três safras foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos e também para o desdobramento de clones e testemunhas para todos os caracteres (Tabela 7). Entre as safras foram observadas diferenças significativas para produtividade total de tubérculos e teor de matéria seca dos tubérculos. A interação entre tratamentos por safras foi significativa para todos os caracteres, o que evidencia que os genótipos possuem comportamento não coincidente nas diferentes safras (Tabela 7).

Tabela 6. Resumo das análises de variância individuais para produtividade total de tubérculos (Prod. Total) (g x planta⁻¹), produtividade de tubérculos graúdos (Prod. de graúdos) (g x planta⁻¹) e teor de matéria seca de tubérculos (MS) dos genótipos nas safras de inverno, seca e das “águas” realizadas em Lavras, MG.

Fonte de variação	SAFRA DE INVERNO				SAFRA DA SECA				SAFRA DAS “ÁGUAS”			
	GL	QM			GL	QM			GL	QM		
		Prod. total	Prod. de graúdos	MS		Prod. total	Prod. de graúdos	MS		Prod. total	Prod. de graúdos	MS
Bloco	2	31571	21823	0,78	2	31188	15065	4,84	2	58310	57578	6,91
Tratamentos	25	144179*	124947*	5,01*	25	195357*	125022*	5,43*	25	109613*	140181*	9,31*
Entre clones	19	151060*	129976*	4,45	19	199558*	118429*	4,70*	19	84442	44317	6,53*
Entre Testemunhas	5	153890	133836*	7,68*	5	210865*	174673*	9,30*	5	184190*	138762*	21,79*
Clone vs Testemunhas	1	17217	4429	0,26	1	29805	1833	0,02	1	220059	122928	0,06
Erro	43	65170	41804	2,72	44	53026	25748	1,60	48	55563	55896	2,61
Acurácia %		74,00	81,58	67,56		85,33	89,09	83,98		70,17	66,86	84,69
CV %		35,10	46,87	8,17		32,64	41,16	7,13		38,78	50,23	9,23

*Significativo a 5%, pelo teste F.

Fonte: Do autor (2018).

Tabela 7. Resumo da análise de variância conjunta para produtividade total de tubérculos (Prod. Total) ($\text{g} \times \text{planta}^{-1}$), produtividade de tubérculos graúdos (Prod. de graúdos) ($\text{g} \times \text{planta}^{-1}$) e teor de matéria seca dos tubérculos (MS) dos genótipos de batata nas safras de inverno, da seca e das “águas”. Lavras, MG.

Fonte de variação	GL	Quadrado Médio		
		Prod. total	Prod. de graúdos	MS
Tratamentos	25	257310*	204135*	12,61*
Entre clones	19	232703*	175355*	8,92*
Entre Testemunhas	5	380912*	342663*	29,05*
Clone vs Testemunhas	1	96485	50644	0,36
Safras	2	294702*	59920	155,90*
Bloco(Safras)	6	49140	35621	4,02*
Tratamentos x Safra	50	94865*	55589*	3,60*
Entre clones x Safra	38	99741*	58934*	3,39
Entre Test x Safra	10	83298	51179	4,88*
Clone vs Test x Safra	2	88134	40892	0,04
Erro	133	57418	34066	2,28
Acurácia %		89,73	91,27	90,47
CV %		35,31	46,06	8,19

*- Significativo a 5%, pelo teste F.

Fonte: Do autor (2018).

Na Tabela 8 estão apresentadas as médias dos genótipos nas três safras para os caracteres estudados. Ficou evidenciado que o aumento da temperatura diminuiu a produtividade total de tubérculos e também o teor de matéria seca de tubérculos. Além disso, houve aumento significativo da porcentagem de desordens fisiológicas, sendo que na safra de inverno não foi observado nenhum tubérculo contendo rachaduras ou embonecamentos. Já na safra da seca os genótipos apresentaram média de 10,4 % dos tubérculos com desordens fisiológicas e na safra das “águas” essa porcentagem foi ainda maior com média de 33,5%. Na safra das “águas”, onde se verificou as temperaturas mais altas, a redução da produtividade total de tubérculos foi de 13,7% e de 9,3% para a produtividade de tubérculos graúdos em relação à safra de inverno (Tabela 8). O teor de matéria seca nesta safra foi reduzido em 2,7%. Foi estimado que em média o incremento de 1 °C reduziu em 0,47% o teor de matéria seca dos tubérculos entre as safras de inverno (média de 18,5 °C) e das “águas” (média de 24,2 °C). Quando se compara as safras de inverno e da seca (média de 22,7 °C) houve uma redução média de 0,59%. Entretanto, quando se compara as safras da seca com a das “águas” essa redução foi de apenas 0,13 %.

Considerando o índice de tolerância ao calor citado por Demirel et al. (2017) para produtividade de tubérculos graúdos, os genótipos tolerantes foram Markies, CBM 09-10, CBM 16-16, IRF 02-71, IRF 07-61 IRF 09-44 e IRF 10-24 porque apresentaram valores maiores que a média geral (Tabela 8). Além disso, foram observadas correlações significativas e de alta magnitude (0,81 e 0,92) entre o índice e a produtividade de tubérculos graúdos nos ambientes

com estresse (média das safras da seca e das “águas”) e sem estresse (safra de inverno), respectivamente.

Outra forma de identificar os clones tolerantes ao calor é por meio da representação gráfica. A Figura 4 mostra a média de produtividade de tubérculos graúdos para todos os genótipos nos ambientes com e sem estresse de calor. Foi observado que os genótipos definidos como tolerantes pelo índice estão dentro do quadrante IV, ou seja, são os genótipos tolerantes e responsivos que apresentaram médias acima da média geral para os dois ambientes. Contudo, para o genótipo CBM 09-10 isso não foi observado (Figura 4).

Para o teor de matéria seca dos tubérculos foi observado o mesmo comportamento. Os genótipos que apresentaram índices maiores que a média geral (Tabela 8) estão presentes no quadrante IV da Figura 5, que mostra a média de teor de matéria seca de todos os genótipos nos ambientes com e sem estresse. Entretanto, os genótipos Asterix e IRF 01-08 foram agrupados em outros quadrantes na Figura 5. Além disso, também foram observadas correlações significativas e de alta magnitude (0,88 e 0,83) entre o índice e o teor de matéria seca de tubérculos nos ambientes com e sem estresse, respectivamente.

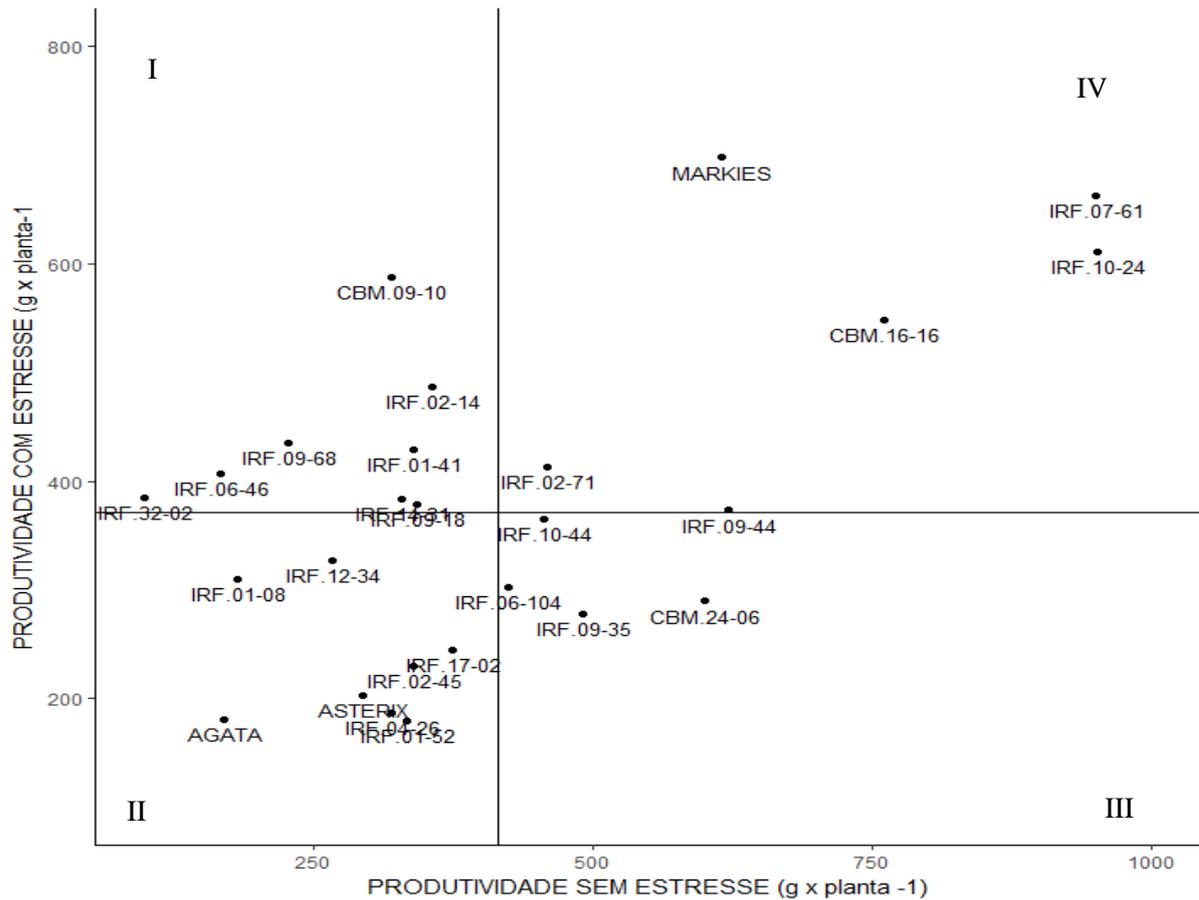
Levando em consideração a média dos índices dos dois caracteres (produtividade de tubérculos graúdos e teor de matéria seca de tubérculos) os genótipos que obtiveram índices acima da média geral foram Markies, CBM 16-16, CBM 09-10, IRF 02-71, IRF 09-44, IRF 07-61 e IRF 10-24 e identificados como os mais tolerantes ao calor (Tabela 8), e além disso, os quatro primeiros genótipos citados foram agrupados no quadrante IV das Figuras 4 e 5, ou seja, eles obtiveram médias acima da média geral para os dois caracteres nos ambientes contrastantes.

Destaca-se a superioridade dos genótipos com o ciclo vegetativo mais longo (acima dos 100 DAE) (Markies, IRF 10-24, IRF 17-02, IRF 01-41, e IRF 02-14) foram 32 e 84% superiores comparado as médias dos cinco genótipos com os menores ciclos vegetativos (abaixo dos 91 DAE) (IRF 09-18, Asterix, Ágata, IRF 09-35 e IRF 06-104) para produtividade total de tubérculos e produtividade de tubérculos graúdos, respectivamente, na média das três safras (Tabela 5 e 8). Além disso, quando se leva em consideração o início da tuberização e ciclo vegetativo, o desempenho dos genótipos com tuberização mais precoce e os maiores ciclos (IRF 10-24 e Markies) foi 73 e 163% superior aos genótipos com tuberização precoce e ciclo mais longo (Asterix e IRF 09-35) na média das três safras para os mesmos caracteres (Tabela 5 e 8).

Tabela 8. Médias dos tratamentos para produtividade total de tubérculos (Prod) (g x planta⁻¹), produtividade de tubérculos graúdos (g x planta⁻¹), teor de matéria seca de tubérculos (MS) e os índices de tolerância ao calor para produtividade de tubérculos graúdos (HTI PROD) e teor de matéria seca dos tubérculos (HTI MS) nas três safras. Lavras, MG.

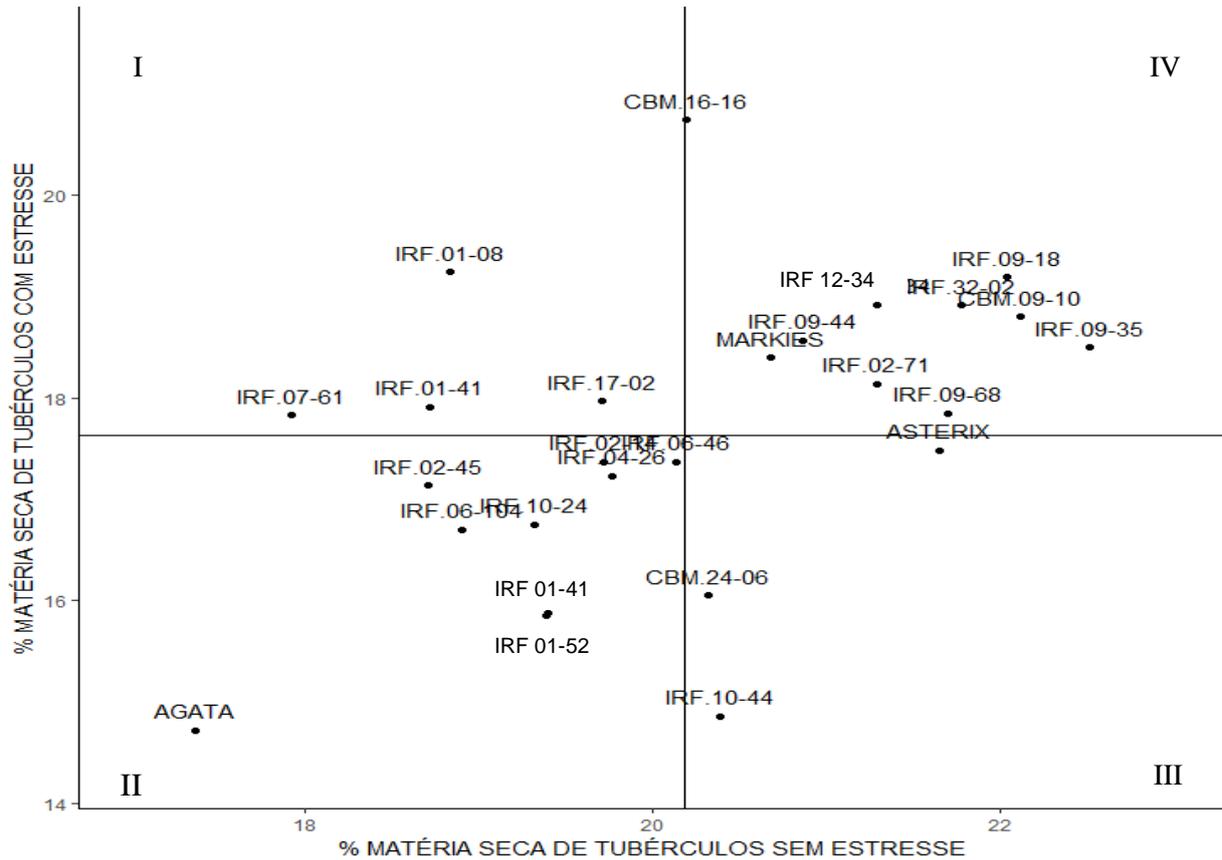
CLONE	SAFRA DE INVERNO			SAFRA DA SECA			SAFRA DAS ÁGUAS			HTI PROD	HTI MS
	Prod.	Prod.graúdos	MS	Prod.	Prod. graúdos	MS	Prod	Prod. graúdos	MS		
ÁGATA	306,6 c	171,1 b	17,4 b	595,8 b	116,6 c	14,8 c	438,3 b	245,0 b	14,5 b	0,18	0,63
ASTERIX	567,5 b	295,0 b	21,7 a	505,5 b	158,8 c	17,5 b	692,2 b	246,7 b	17,4 b	0,35	0,93
MARKIES	839,1 a	615,0 a	20,7 a	1172,2 a	705,5 a	18,2 a	880,0 a	690,0 a	18,5 a	2,49	0,93
CBM 09-10	711,1 a	319,4 b	22,1 a	936,7 a	616,6 a	19,6 a	795,5 a	558,3 a	17,9 a	1,09	1,02
CBM 16-16	942,2 a	760,0 a	20,2 b	721,7 a	410,0 b	19,5 a	1026,6 a	686,7 a	22,1 a	2,42	1,03
CBM 24-06	796,7 a	600,0 a	20,3 b	516,7 b	280,0 c	17,0 b	399,4 b	299,4 b	15,1 b	1,01	0,80
IRF 01-08	533,3 b	183,0 b	18,8 b	666,7 a	426,6 b	19,3 a	326,6 b	193,3 b	19,1 a	0,33	0,89
IRF 01-41	480,0 b	340,0 b	18,7 b	859,3 a	583,3 a	18,5 a	595,0 a	274,6 b	17,3 b	0,85	0,82
IRF 01-52	525,0 b	333,3 b	19,4 b	354,2 c	158,3 c	16,2 b	336,6 b	202,2 b	15,5 b	0,35	0,75
IRF 02-14	500,8 b	355,8 b	19,7 b	773,3 a	533,3 b	18,1 a	613,3 b	440,0 b	16,6 b	1,00	0,84
IRF 02-45	776,6 a	340,0 b	18,7 b	224,2 d	130,8 c	17,2 b	500,8 b	330,0 b	17,1 b	0,45	0,79
IRF 02-71	680,0 a	460,0 b	21,4 a	483,3 b	345,8 c	17,1 b	765,0 b	480,0 b	19,2 a	1,10	0,95
IRF 04-26	590,0 b	320,0 b	19,7 b	404,2 c	110,8 c	16,5 b	383,3 b	263,9 b	17,9 a	0,35	0,84
IRF 06-104	637,5 a	425,0 b	18,9 b	607,8 b	288,3 c	17,1 b	506,7 b	316,7 b	16,3 b	0,75	0,77
IRF 06-46	539,6 b	166,7 b	20,1 b	610,0 b	416,6 b	18,5 a	570,8 b	396,7 b	16,2 b	0,39	0,86
IRF 07-61	1153, a	950,0 a	17,9 b	1183,3 a	792,5 a	18,3 a	823,3 a	533,3 a	17,4 b	3,65	0,78
IRF 09-18	653,3 a	343,3 b	22,0 a	836,7 a	391,6 b	18,1 a	741,6 b	365,0 b	20,3 a	0,75	1,04
IRF 09-35	900,0 a	491,7 b	22,5 a	533,3 b	215,2 c	18,4 a	584,3 b	341,1 b	18,6 a	0,79	1,02
IRF 09-44	960,8 a	621,7 a	20,9 a	610,0 b	486,6 b	17,3 b	375,8 b	260,0 b	19,8 a	1,35	0,95
IRF 09-68	544,4 b	227,8 b	21,7 a	733,3 a	483,3 b	17,7 a	508,3 b	386,7 b	17,9 a	0,57	0,95
IRF 10-24	1226,7 a	950,8 a	19,3 b	904,2 a	545,8 b	16,5 b	901,0 a	675,6 a	16,9 b	3,37	0,79
IRF 10-44	760,0 a	456,7 b	20,4 b	575,0 b	270,8 c	14,7 c	570,0 b	460,0 b	15,0 b	0,97	0,74
IRF 12-34	1041,7 a	266,7 b	21,3 a	534,2 b	223,3 c	19,6 a	769,4 b	430,6 b	18,2 a	0,51	0,99
IRF 14-31	600,0 b	330,0 b	19,4 b	1025,0 a	500,0 b	17,3 b	433,0 b	266,7 b	14,5 b	0,73	0,76
IRF 17-02	610,0 b	375,0 b	19,7 b	705,0 a	220,0 c	19,4 a	619,4 b	270,0 b	16,5 b	0,53	0,87
IRF 32-02	250,0 c	100,0 c	21,8 a	1013,3 a	586,7 a	19,4 a	488,8 b	183,3 b	18,6 a	0,22	1,01
Médias	697,2	415,3	20,2	695,5	384,5	17,7	601,7	376,7	17,5	1,02	0,88

Figura 4. Média de produtividade de tubérculos graúdos para todos os genótipos no ambiente sem estresse de calor (safra de inverno) e no ambiente com estresse de calor (média das safras de seca e das “águas”). Quadrante I - Genótipo tolerante ao calor mais não responsivo; Quadrante II – Genótipo sensível ao calor e não responsivo; Quadrante III – Genótipo sensível ao calor e responsivo; Quadrante IV – Genótipo tolerante ao calor e responsivo.



Fonte: Do autor (2018).

Figura 5. Média de porcentagem de matéria seca de tubérculos para todos os genótipos no ambiente sem estresse de calor (safra de inverno) e no ambiente com estresse de calor (média das safras de seca e das “águas”). Quadrante I - Genótipo tolerante ao calor mais não responsivo; Quadrante II – Genótipo sensível ao calor e não responsivo; Quadrante III – Genótipo sensível ao calor e responsivo; Quadrante IV – Genótipo tolerante ao calor e responsivo.



Fonte: Do autor (2018).

3.6 Índices morfofisiológicos dos genótipos tolerantes e sensíveis ao calor em condições de campo

Nas Figuras 6 à 9 estão representados os comportamentos médios dos genótipos Markies e CBM 16-16 (tolerantes ao calor) e Ágata e Asterix (sensíveis ao calor) para os caracteres morfofisiológicos referentes às quatro épocas de avaliação: 30, 50, 70 e 90 dias após a emergência das plantas.

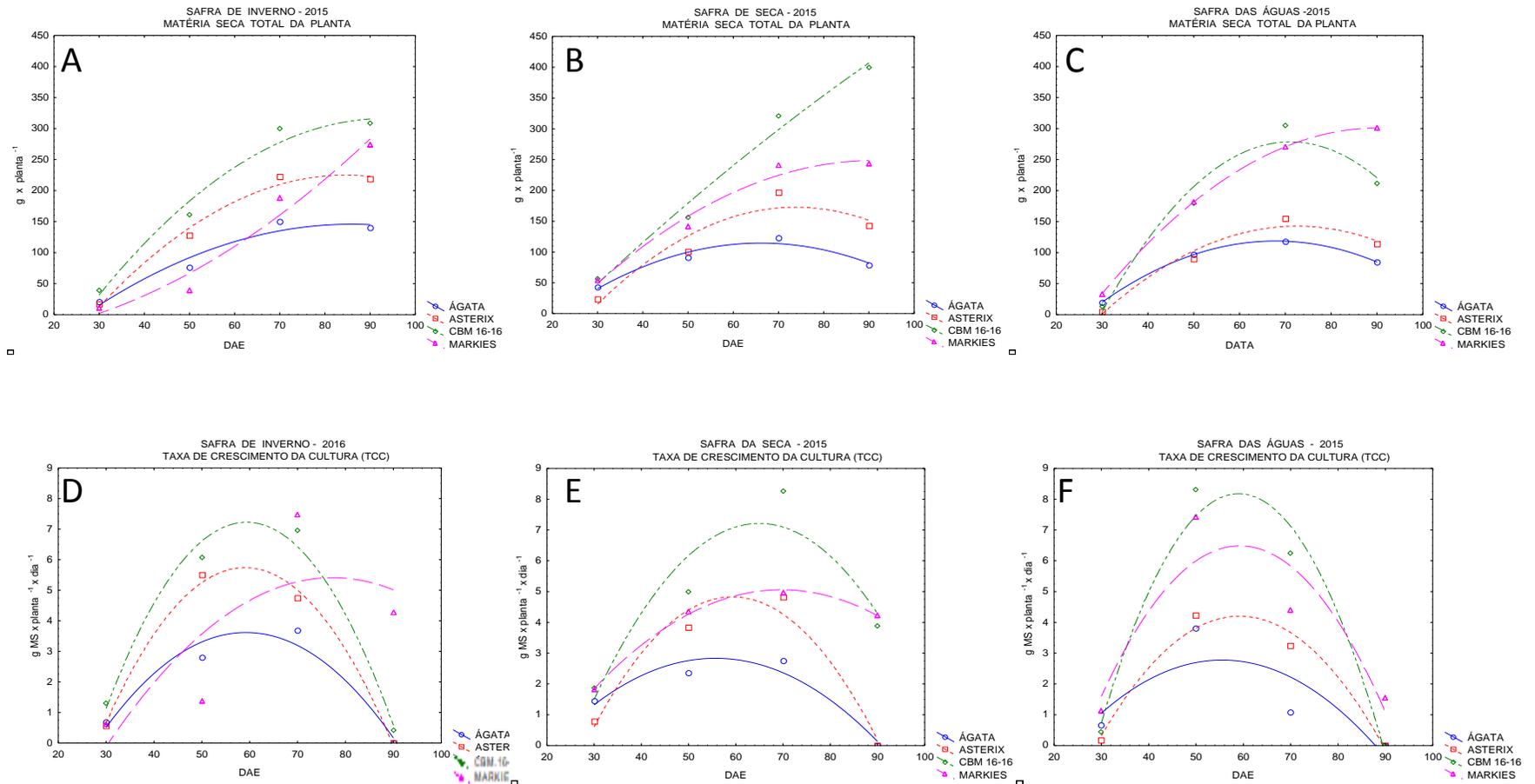
Para a matéria seca total da planta (parte aérea + tubérculos) não foram observadas diferenças significativas entre as médias das três safras (Figura 6A, B e C). Porém os genótipos tolerantes ao calor produziram maior conteúdo de matéria seca total em todas as safras, comparado aos genótipos sensíveis. Ficou evidenciado também que nas safras com as temperaturas mais elevadas (safra da seca e das “águas”) os genótipos tolerantes praticamente produziram a mesma quantidade de matéria seca observada na safra de inverno. Por outro lado, os genótipos não tolerantes apresentaram reduções significativas no conteúdo de matéria seca. Esse resultado também foi observado para a taxa de crescimento da cultura (TCC), que representa a produção de matéria seca total da planta por dia. Nas três safras os genótipos tolerantes ao calor obtiveram maiores valores ao longo de todo ciclo se comparado aos genótipos sensíveis (Figura 6D, E e F). Além disso, observou-se que os genótipos tolerantes ao calor apresentaram TCC entre 70 e 80 DAE bem superiores aos genótipos sensíveis.

Embora não tenha sido observado influência marcante da temperatura na matéria seca total da planta, quando se analisa separadamente a parte aérea e os tubérculos, ficou evidenciado o efeito acentuado da temperatura na partição da matéria seca para estes órgãos. Por exemplo, na safra de inverno a partição da matéria seca para a parte aérea representou aproximadamente 25% aos 50 DAE e menos de 20% aos 70 DAE para todos os genótipos. Entretanto nas safras com temperaturas mais elevadas, a partição de matéria seca para a parte aérea foi aumentada, principalmente para os genótipos tolerantes ao calor (Figura 7A, B e C). Resultado semelhante foi observado para a área foliar (Figura 7D, E e F). Para a matéria seca da parte aérea a média dos quatro genótipos entre 50 e 70 DAE sob temperaturas elevadas foi 205% superior à média observada na safra de inverno. Para a área foliar a superioridade em relação à safra de inverno foi de 105%. Já para a matéria seca dos tubérculos ocorreu o contrário, ou seja, as médias dos quatro genótipos aos 90 DAE na safra de inverno foram 24,4 e 62,2% superiores em relação às safras da seca e das “águas”, respectivamente (Figura 8A, B e C). Estes resultados em conjunto mostraram que o aumento da temperatura eleva a partição de fotoassimilados para a parte aérea da planta em detrimento dos tubérculos.

A influência das temperaturas altas na partição dos fotoassimilados da planta ficou também evidente quando se comparou a taxa de tuberização (TTUB) (Figura 8D, E e F), que corresponde ao acúmulo de matéria seca nos tubérculos por dia. Observou-se que no período de maior TTUB (entre 55 e 70 DAE) a média dos quatro genótipos na safra de inverno foi 25% superior se comparado a média dos mesmos genótipos na safra da seca e 144% nas “águas” (Figura 8D, E e F).

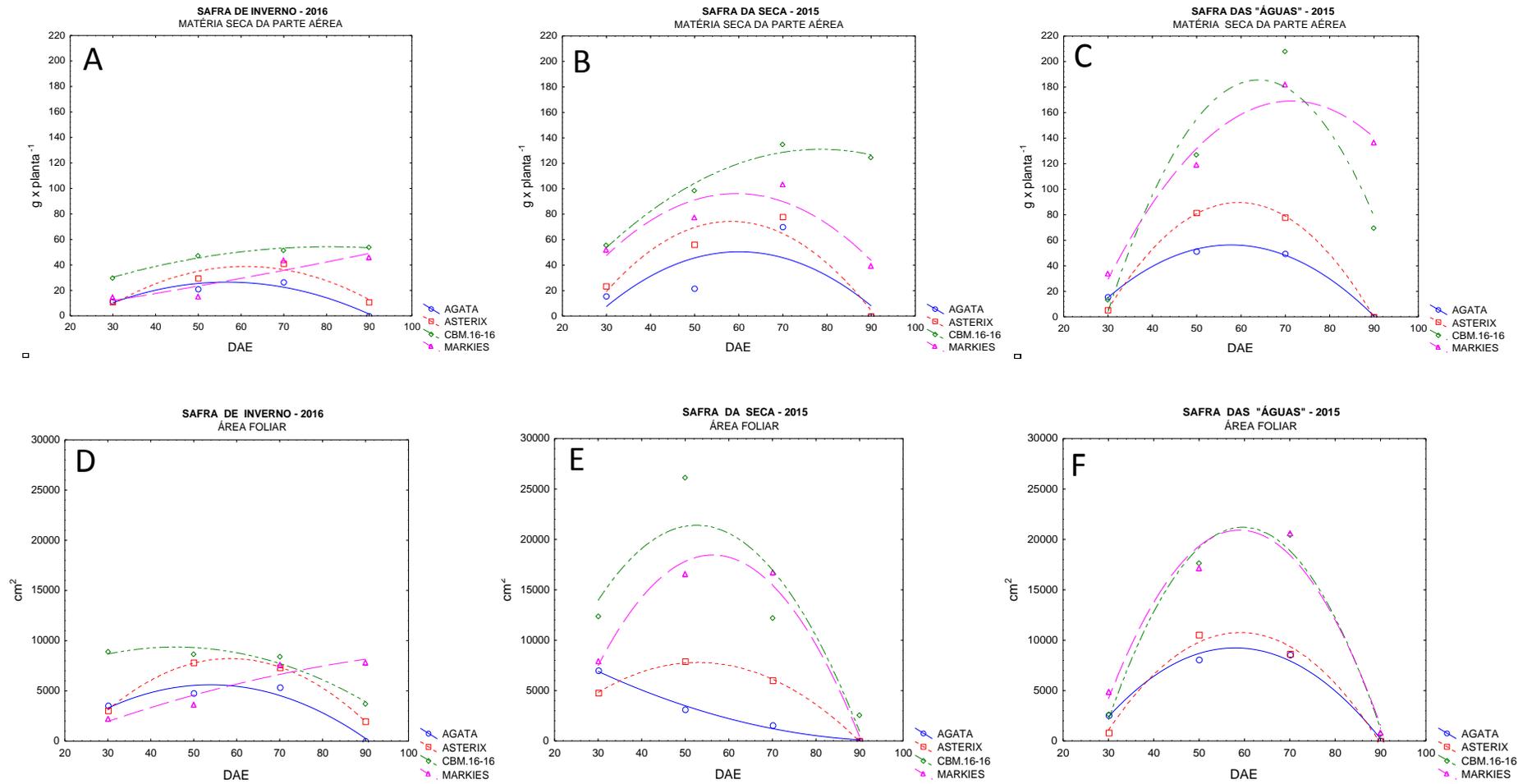
Os índices de colheita (IC) que correspondem a porcentagem de matéria seca particionada para os tubérculos, foram menores nas safras com maiores temperaturas (safra da seca e das “águas”) quando comparadas com os da safra de inverno (Figura 9A, B e C), o que resultou em menor produtividade (Figura 9D, E e F).

Figura 6. Matéria seca total da planta (A), (B) e (C) e taxa de crescimento da cultura (D), (E) e (F) dos genótipos Ágata, Asterix (sensíveis ao calor) e Markies e CBM 16-16 (tolerantes ao calor) nas safras de inverno, safra da seca e safra das “águas”, respectivamente. Lavras, MG. DAE – Dias após a emergência das plantas.



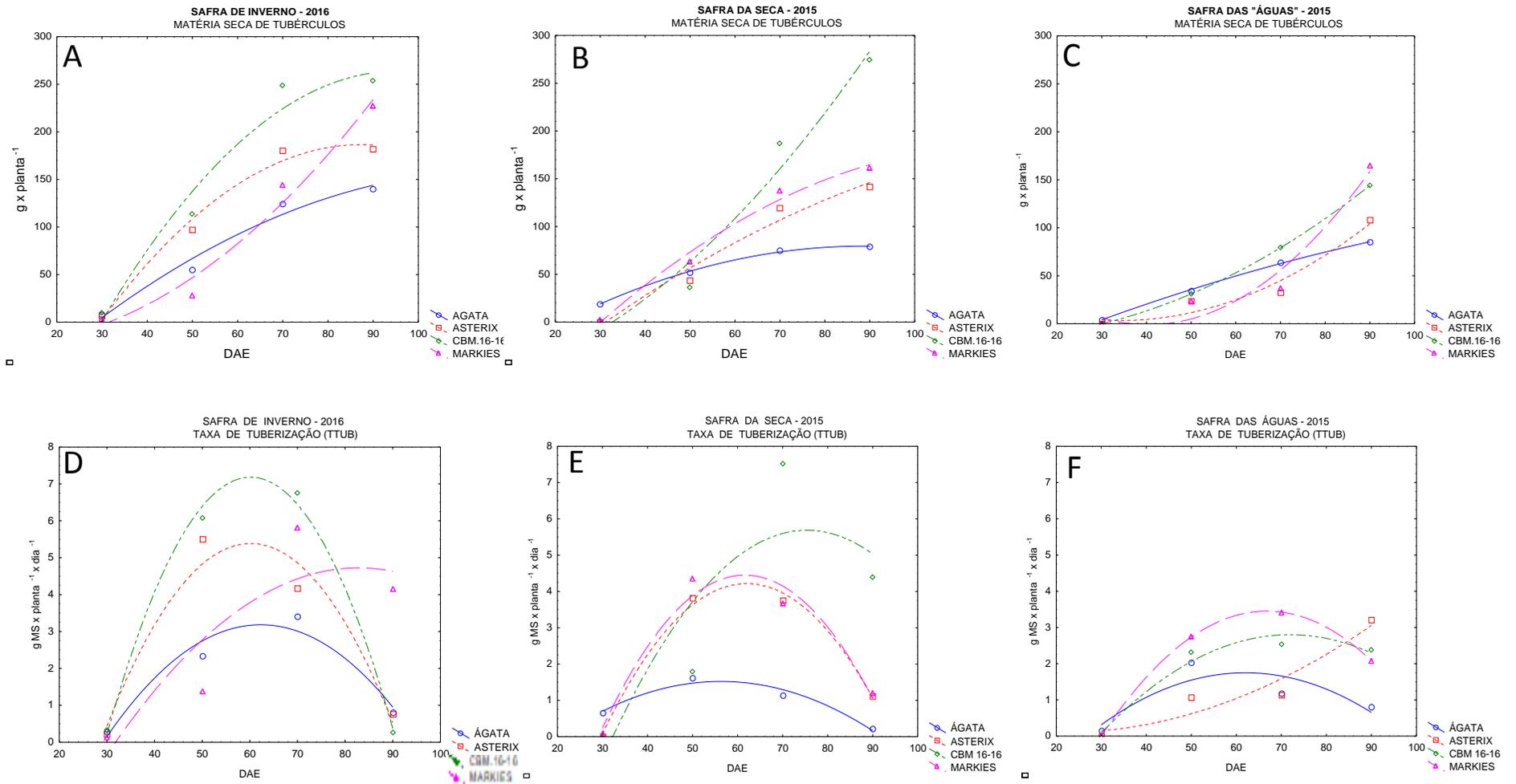
Fonte: Do Autor (2018).

Figura 7. Matéria seca da parte aérea (A), (B) e (C) e área foliar (D), (E) e (F) dos genótipos Ágata, Asterix (sensíveis ao calor) e Markies e CBM 16-16 (tolerantes ao calor) nas safras de inverno, safra da seca e safra das “águas”, respectivamente. Lavras, MG. DAE – Dias após a emergência das plantas.



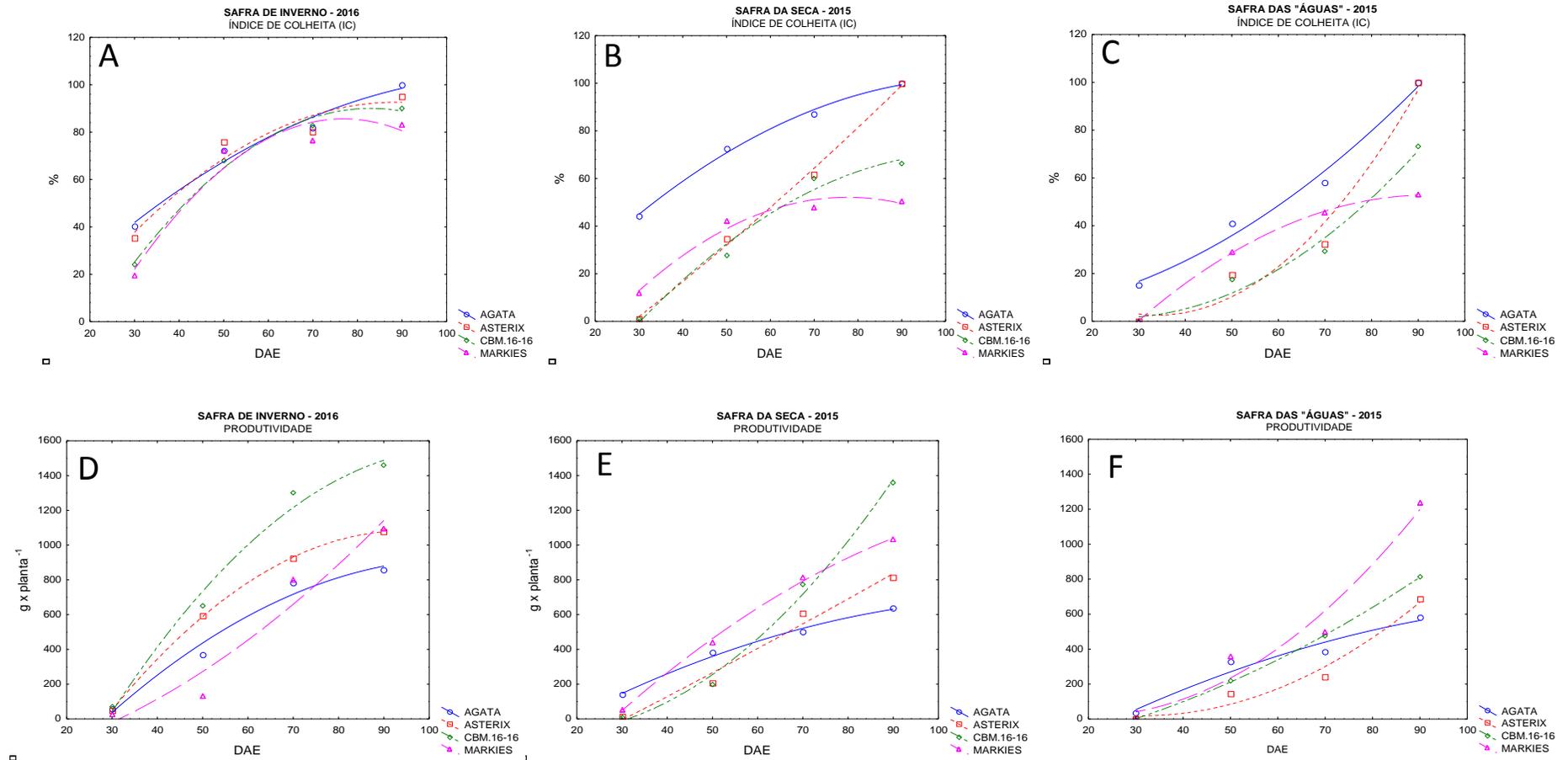
Fonte: Do Autor (2018).

Figura 8. Matéria seca de tubérculos (A), (B) e (C) e taxa de tuberização dos tubérculos (D), (E) e (F) dos genótipos Ágata, Asterix (sensíveis ao calor) e Markies e CBM 16-16 (tolerantes ao calor) nas safras de inverno, safra da seca e safra das “águas”, respectivamente. Lavras, MG. DAE – Dias após a emergência das plantas.



Fonte: Do Autor (2018).

Figura 9. Índice de colheita (A), (B) e (C) e produtividade total de tubérculos (D), (E) e (F) dos genótipos Ágata, Asterix (sensíveis ao calor) e Markies e CBM 16-16 (tolerantes ao calor) nas safras de inverno, safra da seca e safra das “águas”, respectivamente. Lavras, MG. DAE – Dias após a emergência das plantas.



Fonte: Do Autor (2018).

3.7 Sistema antioxidante dos genótipos mantidos em câmara de crescimento

Com relação a termoestabilidade da membrana, que corresponde a porcentagem de eletrólitos que extravasaram do meio celular após os estresse térmico, foi observado grande variação dos valores de condutividade elétrica dos genótipos ao longo do ciclo vegetativo para os dois ambientes com e sem estresse de calor (Figura 10A, B, C e D). Entretanto, não foram observadas diferenças significativas entre as médias dos genótipos tolerantes ao calor (Markies e CBM 16-16) e os sensíveis (Ágata e Asterix) para as diferentes épocas de avaliação nos dois experimentos (Figura 10A, B, C e D). Para peroxidação lipídica no experimento com estresse somente aos 40 DAE os genótipos tolerantes obtiveram menores médias se comparado aos genótipos sensíveis (Figura 11B). Além disso, aos 60 DAE houve uma redução significativa na concentração de MDA para o genótipo CBM 16-16 quando se comparam com as outras épocas de avaliação (Figura 11C). Para o experimento sem estresse houve diferença significativa entre os genótipos aos 40 e 60 DAE, sendo observado menores valores para os genótipos tolerantes aos 60 DAE (Figura 11B e C)

Em relação a enzima superóxido dismutase (SOD) foi observado comportamento semelhante de todos genótipos para cada época de avaliação nos dois experimentos (Figura 12A, B, C e D). Ficou evidenciado que no experimento com estresse houve decréscimo de 60, 50 e 35% da ação enzimática aos 20, 40 e 60 DAE se comparado ao sem estresse. Entretanto, aos 80 DAE ocorreu aumento da ação enzimática em 48% no ambiente com estresse. Para a concentração do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) não foram observadas diferenças significativas entres os genótipos nos dois experimentos para todas as épocas de avaliação (Figura 13A, B, C e D), embora, houve diminuição da concentração ao longo do ciclo da planta nos dois experimentos para a Asterix e também para o CBM 16-16 e Markies no experimento sem estresse.

Não foram observadas diferenças significativas para a enzima ascorbato peroxidase (APX) entre os genótipos no experimento com estresse, já no sem estresse a Ágata e o CBM 16-16 obtiveram as menores médias aos 40 DAE (Figura 14A, B, C e D). Contudo, no experimento com estresse houve maior atividade enzimática aos 20 e 40 DAE, sendo 101 e 194% superior em média em relação ao ao experimento com temperaturas amenas (Figura 14A, B). Para a catalase (CAT) não foi observado diferenças significativas entres os genótipos nos dois experimentos (Figura 15A, B, C e D). Embora, no experimento com estresse houve aumento significativo da ação enzimática ao longo do ciclo vegetativo, sendo observado os maiores valores aos 80 DAE (Figura 15A, B, C e D).

Figura 10. Termoestabilidade da membrana celular aos 20 DAE (A), 40 DAE (B), 60 DAE (C) e 80 DAE (D), para os genótipos tolerantes ao calor (Markies e CBM 16-16) e sensíveis ao calor (Ágata e Asterix) para os experimentos com e sem estresse de calor. Lavras, MG. As barras mostram o erro padrão da média.

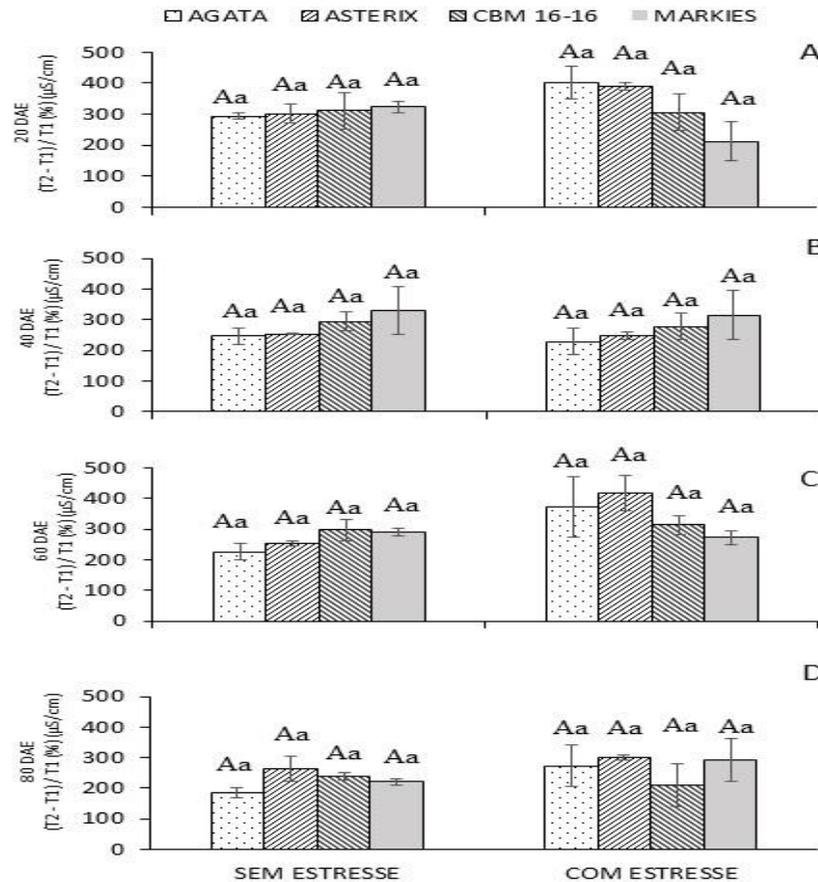
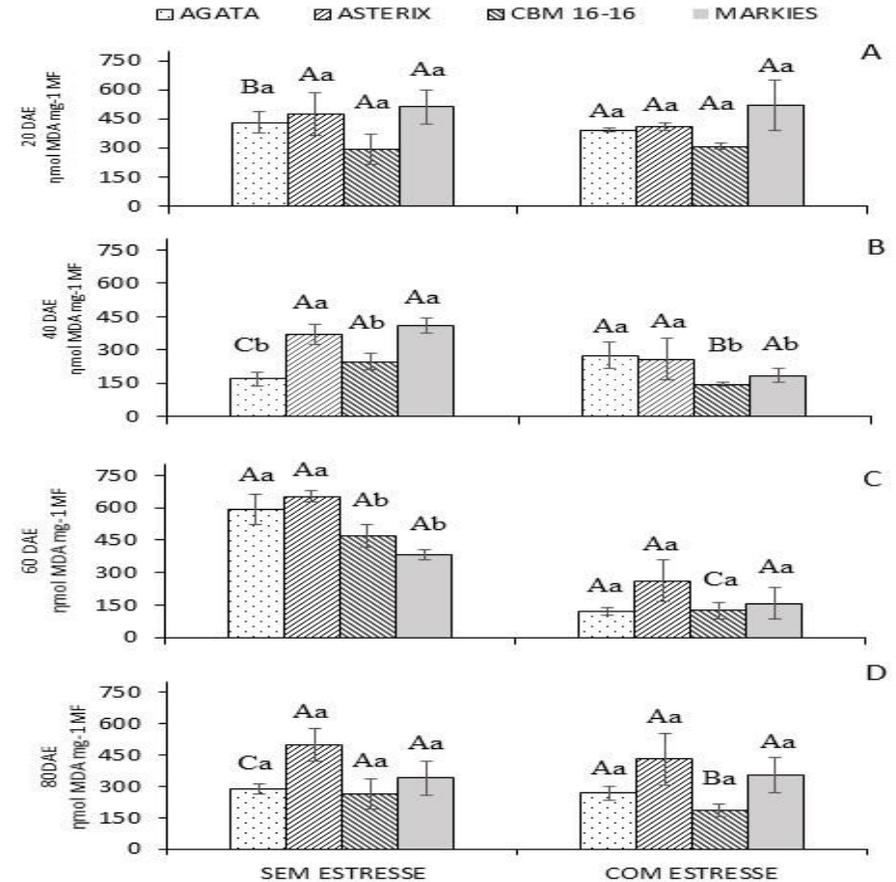


Figura 11. Peroxidação lipídica equivalente ao conteúdo de malondialdeído (MDA) aos 20 DAE (A), 40 DAE (B), 60 DAE (C) e 80 DAE (D), para os genótipos tolerantes ao calor (Markies e CBM 16-16) e sensíveis ao calor (Ágata e Asterix) para os experimentos com e sem estresse de calor. Lavras, MG. As barras mostram o erro padrão da média.



*- As letras maiúsculas comparam as médias dos genótipos entre as épocas de avaliação dentro de cada experimento e as letras minúsculas comparam as médias entre os genótipos dentro de cada época de avaliação pelo teste de Scott-Knott, a 5 %. Fonte: Do Autor (2018).

Figura 10. Termoestabilidade da membrana celular aos 20 DAE (A), 40 DAE (B), 60 DAE (C) e 80 DAE (D), para os genótipos tolerantes ao calor (Markies e CBM 16-16) e sensíveis ao calor (Ágata e Asterix) para os experimentos com e sem estresse de calor. Lavras, MG. As barras mostram o erro padrão da média.

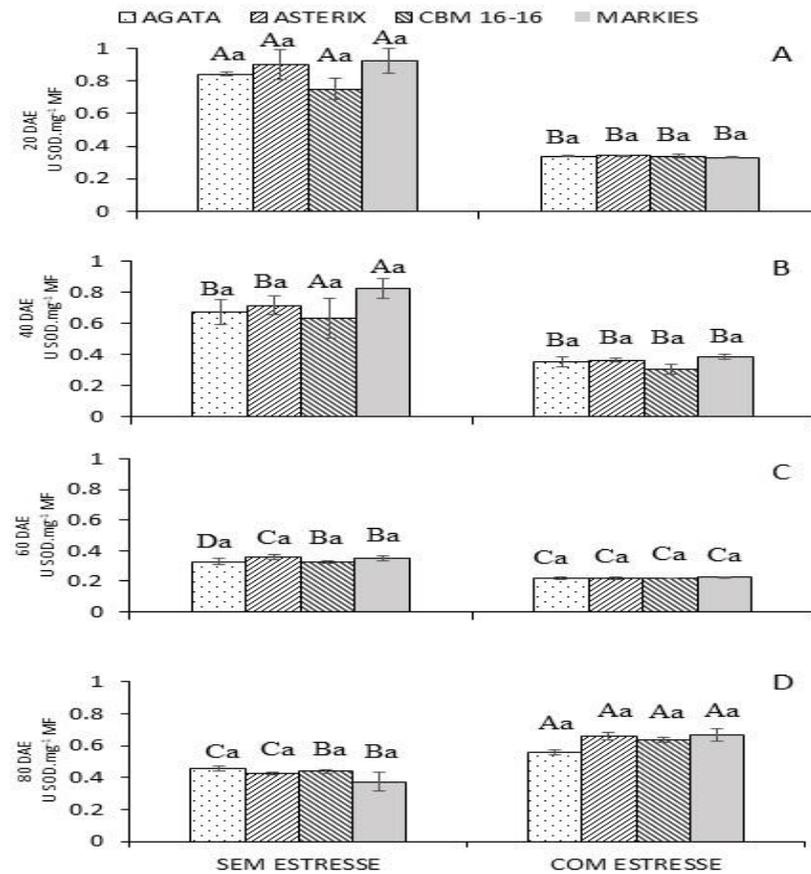
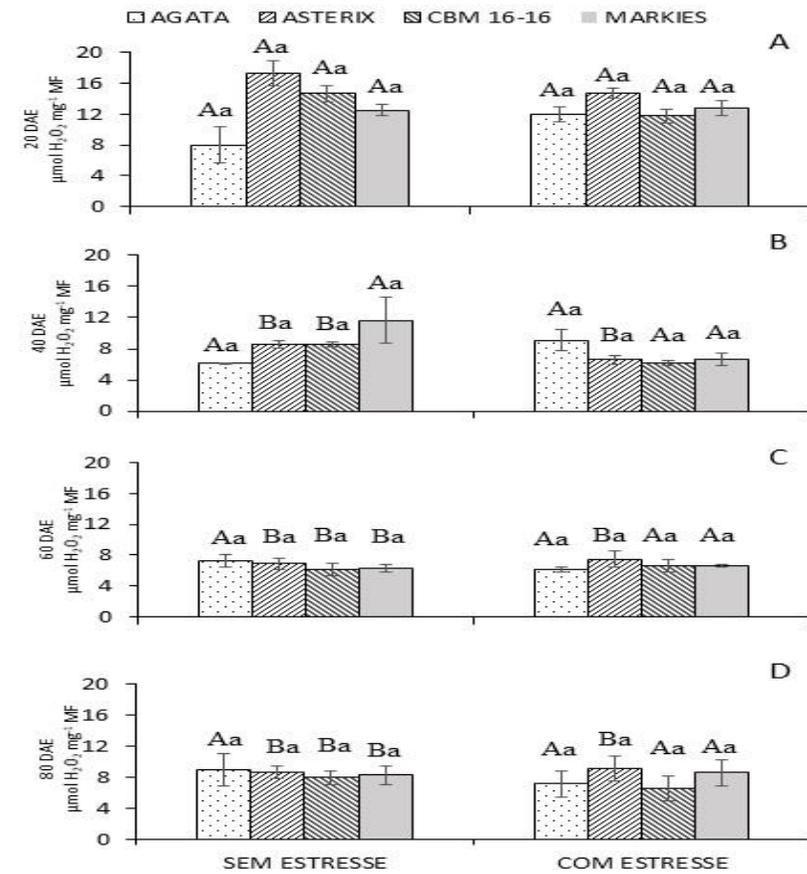


Figura 13. Teor de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) aos 20 DAE (A), 40 DAE (B), 60 DAE (C) e 80 DAE (D), para os genótipos tolerantes ao calor (Markies e CBM 16-16) e sensíveis ao calor (Ágata e Asterix) para os experimentos com e sem estresse de calor. Lavras, MG. As barras mostram o erro padrão da média.



*- As letras maiúsculas comparam as médias dos genótipos entre as épocas de avaliação dentro de cada experimento e as letras minúsculas comparam as médias entre os genótipos dentro de cada época de avaliação pelo teste de Scott – Knott, a 5 %. Fonte: Do Autor (2018).

Figura 14. Ascorbato peroxidase (APX) aos 20 DAE (A), 40 DAE (B), 60 DAE (C) e 80 DAE (D), para os genótipos tolerantes ao calor (Markies e CBM 16-16) e sensíveis ao calor (Ágata e Asterix) para os experimentos com e sem estresse de calor. Lavras, MG. As barras mostram o erro padrão da média.

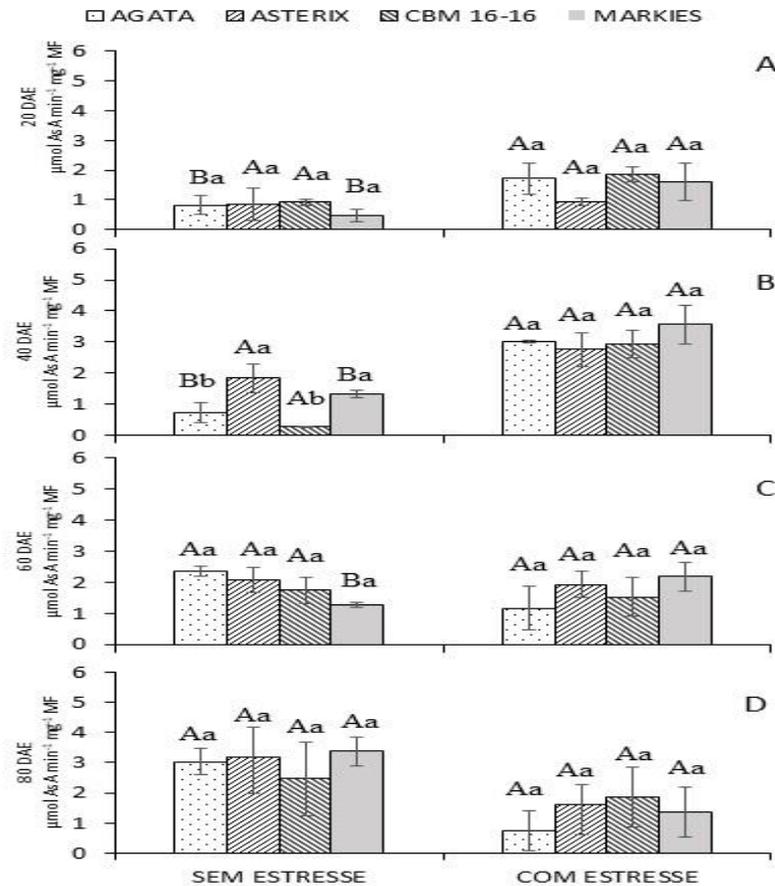
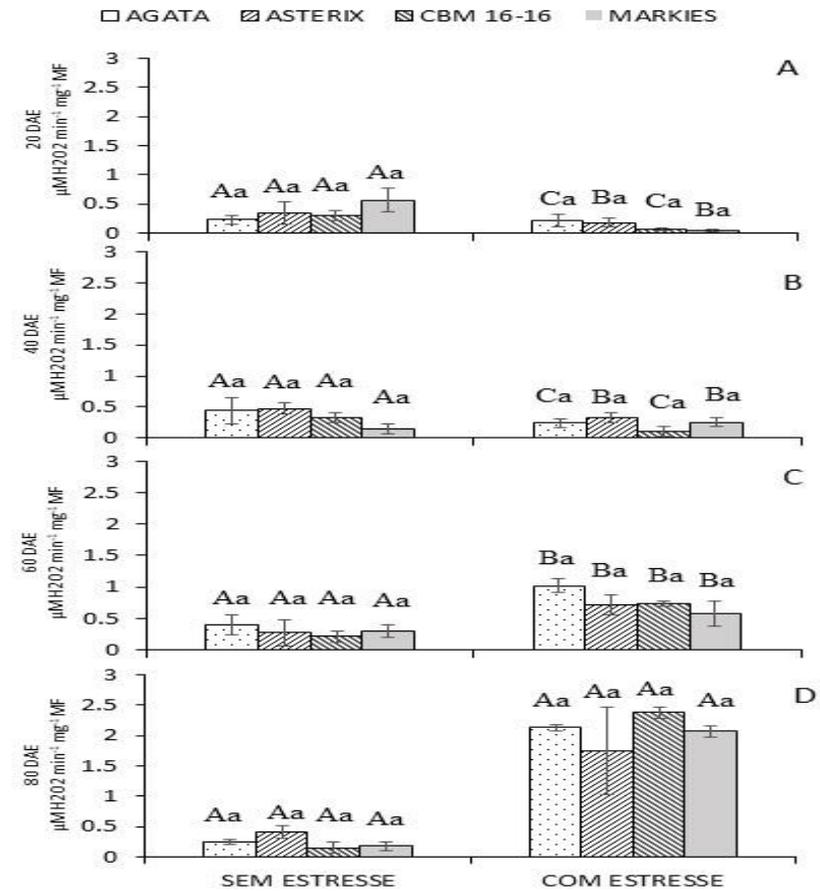


Figura 15. Atividade enzimática da catalase (CAT) aos 20 DAE (A), 40 DAE (B), 60 DAE (C) e 80 DAE (D), para os genótipos tolerantes ao calor (Markies e CBM 16-16) e sensíveis ao calor (Ágata e Asterix) para os experimentos com e sem estresse de calor. Lavras, MG. As barras mostram o erro padrão da média.



*- As letras maiúsculas comparam as médias dos genótipos entre as épocas de avaliação dentro de cada experimento e as letras minúsculas comparam as médias entre os genótipos dentro de cada época de avaliação pelo teste de Scott – Knott, a 5 %. Fonte: Do Autor (2018).

4. DISCUSSÃO

4.1 Início da tuberização e duração do ciclo vegetativo

No Brasil a produção de batata ocorre durante o ano todo e é dividida em três safras: de inverno, da seca e das “águas”. As safras da seca e das “águas” representam cerca de 80% da produção total brasileira, e ocorrem no período mais quente do ano, sendo normalmente conduzidas em regiões de maiores altitudes, buscando sempre condições de temperaturas mais amenas (MENEZES et al., 1999; IBGE, 2017). A safra de inverno é realizada principalmente nos estados de Minas Gerais e São Paulo e contribui com menor parcela para produção total, embora tenha rendimento 17% superior às outras safras, com média de 33,6 t.ha⁻¹ (IBGE, 2017). Uma das causas dessa superioridade é devido às temperaturas mais baixas durante os meses que a cultura é conduzida. Neste trabalho as temperaturas das safras da seca e das “águas” foram mais drásticas do que aquelas em que ocorrem nas regiões produtoras (Figura 3).

A temperatura tem influência na cultura da batata do início do plantio até o final do ciclo. Durante a brotação da batata semente não são desejáveis temperaturas baixas, porque causam atraso na emergência. Entretanto, no período da tuberização, já não são desejáveis as temperaturas altas, pois elas atrasam o seu início (MENEZES et al., 1999). Por fim, na última fase de desenvolvimento da planta que é o tempo de crescimento e enchimento dos tubérculos, as altas temperaturas estimulam o desenvolvimento da parte aérea, reduzindo a partição de fotoassimilados para os tubérculos, produzindo tubérculos menores e com menor teor de matéria seca o que acarreta perda de produtividade (MENEZES et al., 1999; MENEZES; PINTO; LAMBERT, 2001).^o

Neste trabalho verificou-se que para o início da tuberização ficou evidente o efeito do calor quando foi comparado as diferentes safras. Na safra de inverno os genótipos tuberizaram mais rápido, entretanto, nas safras da seca e das “águas” com temperaturas médias elevadas os mesmos genótipos atrasaram significativamente o início da tuberização (Figura 1) e (Tabela 1). Van Dan et al. (1996) observaram os mesmos resultados, e que temperaturas médias em torno dos 15 - 19 °C e fotoperíodo curto (12 h) foram os mais adequados para o início e crescimento dos tubérculos. Segundo Levy e Veilleux (2007), a temperatura ótima para formação de tubérculos é 20 °C e temperaturas inferiores a 15 °C ou superiores a 25 °C atrasam este processo. Menzel (1983) e Jackson (1999) relatam que tanto o crescimento quanto o início da tuberização são influenciados por um controle hormonal comum, e que a temperatura

exerce influência alterando o balanço entre os níveis de giberelinas (GA). Temperaturas elevadas aumentam as concentrações de GA nos estolões inibindo o início da tuberização.

Neste trabalho não foi observado diferenças na duração do ciclo vegetativo em função das temperaturas, embora tenha sido significativa a interação genótipos por safras (Tabela 4). Ribeiro (2010) trabalhando com genótipos de batata de diferentes ciclos vegetativos observou resultado diferente, uma diminuição do ciclo quando esses foram plantados na safra das “águas”. Ficou evidenciado que em média o calor acarretou maior influência no início da tuberização do que na duração do ciclo vegetativo, o que refletiu diretamente no período de enchimento de tubérculos (Figura 4). Na safra das “águas”, com temperaturas mais elevadas, os genótipos Markies e CBM 16-16 (tolerantes ao calor) foram os mais produtivos, entretanto, apresentaram menores períodos de enchimento de tubérculos se comparado aos genótipos Ágata e Asterix (sensíveis ao calor). Este resultado demonstra que provavelmente esse caráter apresenta uma associação fraca com a tolerância ao calor (Tabela 5 e 8). Lyra et al (2015) demonstraram que a correlação entre o período de enchimento dos tubérculos e a produtividade de tubérculos foi de apenas 0,44.

4.2 Produtividade de tubérculos e teor de matéria seca

As principais cultivares plantadas no Brasil são Ágata, Asterix, Atlantic, Cupido, Caesar, Monalisa e Markies todas com origem em países de clima temperado, o que aumenta a necessidade de desenvolver cultivares mais adaptadas ao clima tropical. Isso fica evidenciado quando se compara o desempenho das principais cultivares utilizadas pelos produtores brasileiros, a Ágata (destinada ao mercado *in natura*) e Asterix (para o mercado pré-frita congelada e também *in natura*). Nas safras com temperaturas mais elevadas elas obtiveram desempenhos abaixo da média geral para produtividade de tubérculos graúdos e teor de matéria seca dos tubérculos (Tabela 8). Por outro lado, a cultivar Markies obteve ótimo desempenho agrônômico em todas as safras, sendo considerado um genótipo tolerante e responsivo ao estresse de calor (Tabela 8).

Destacou-se o clone do programa de melhoramento de batata da UFPA (PROBATATA) CBM 16-16, que apresentou comportamento tolerante e responsivo para o estresse de calor (Tabela 8). Esse genótipo já foi utilizado em diversos trabalhos (MENEZES; PINTO; LAMBERT, 2001; LAMBERT et al., 2006; RODRIGUES et al., 2009; PINTO et al., 2010; LYRA et al., 2015) e em todos apresentou bom desempenho agrônômico quando foi plantado em ambientes com estresse de calor e também em condições com temperaturas ideais.

Outros genótipos que se destacaram foram os clones CBM 09-10, IRF 02-71, IRF 07-61 e IRF 10-24 por apresentarem bom desempenho agrônomico tanto para a safra das “águas” com temperaturas elevadas quanto para safra de inverno (Tabela 8). Lyra et al. (2015) trabalharam com esses mesmos clones IRF e observaram que eles obtiveram bons desempenhos agrônomicos quando foram plantados em condições de temperaturas altas (Lavras - MG) e de temperaturas mais amenas (Bom Repouso - MG). Esses resultados demonstraram que esses materiais possuem grande valor tanto para serem avançados para avaliações de clones elite, bem como para uso no programa de melhoramento como genitores para a formação de uma nova população.

Temperaturas médias entre 5 e 21 °C são as ideais para o desenvolvimento da cultura da batata (HAVERKORT; VERHAGEN, 2008). Segundo os autores, temperaturas acima de 21 °C (média dia/noite) são consideradas elevadas para o cultivo, sendo observado em ambientes que possuem amplitude entre 15 – 27 °C. Nos experimentos realizados em campo foi observado que as temperaturas mais elevadas ocorreram nas safras da seca e das “águas” (Figura 3), o que ocasionou redução significativa na produtividade total de tubérculos, matéria seca de tubérculos e aumento da porcentagem de desordens fisiológicas (Tabela 8). Esse resultado já era esperado, pois diversos trabalhos associam o baixo desempenho agrônomico ao estresse ocasionado pelo calor (SARQUÍS et al., 1996; MENEZES et al., 1999; MENEZES; PINTO; LAMBERT, 2001; TIMLIN et al., 2006; DEMIREL et al., 2017). Além disso, neste trabalho foi estimado que o incremento de 1 °C reduziu em 0,47% o teor de matéria seca dos tubérculos, com um valor base de 20,2% e temperatura média de 18,5 °C (Figura 3) e (Tabela 8). Haverkort e Harris (1987) encontraram valores parecidos, a concentração de matéria seca dos tubérculos diminuiu em 0,45% por cada 1 °C aumentado com um valor base de 20% a uma temperatura média diária de 14 °C. Os bataticultores em geral preferem cultivares de ciclo curto, a fim de ter o retorno mais rápido do capital investido. Entretanto, foi constatado nesse trabalho que as maiores produtividades ocorreram aos clones de ciclo longo, independente da safra (Tabela 5 e 8). Essa tendência foi descrita por Silva et al. (2009) e Lyra et al. (2015), provavelmente devido os clones de ciclo longo apresentarem maior longevidade da parte aérea e crescimento mais vigoroso, o que possibilitou a formação de maior número de tubérculos por planta e maior taxa de tuberização ao longo do período de enchimento dos tubérculos.

Quando se associa o início da tuberização e duração do ciclo vegetativo ficou evidenciado que em média os clones com tuberização precoce e ciclo vegetativo longo foram mais produtivos que os de tuberização tardia e ciclo vegetativo curto para as três safras (Tabela

5 e 8), o que corrobora com a estratégia proposta por Lyra et al. (2015) que para melhoria da produtividade nas condições tropicais é recomendado a seleção de genótipos que tuberizam precocemente e apresentam ciclo vegetativo mais longo.

Tradicionalmente a estratégia de seleção para tolerância ao calor consiste em avaliar os genótipos no ambiente com estresse e selecionar aqueles que têm melhor desempenho nessas condições (SOUZA et al., 2011). Entretanto realizar essa seleção direta somente no ambiente com estresse geralmente é difícil, porque alguns fatores incontrolláveis como ocorrência de outros tipos de estresses bióticos e abióticos podem afetar a precisão da seleção (SOUZA et al., 2011). Além disso, essa estratégia não representa a realidade do produtor, que sempre procura as melhores condições ambientais para realizar o plantio. A alternativa para esse problema é a seleção dos genótipos nos dois ambientes (LAMBERT; PINTO; MENEZES, 2006). Menezes et al. (2001) conseguiram identificar genitores e famílias superiores em ambientes com e sem estresse por calor, tendo êxito com a seleção baseada na média, mesmo na presença de interação genótipos por ambientes.

O índice de tolerância ao calor citado por Demirel et al. (2017), que leva em consideração a média dos genótipos nos ambientes com e sem estresse para produtividade, foi eficiente em identificar os genótipos tolerantes (Tabela 8). Entretanto, não houve 100% de coincidência com relação a representação gráfica das médias (Figura 5 e 6), sendo esse último método também eficiente em identificar os genótipos tolerantes e responsivos ao calor. Para maior eficiência desse índice é sugerido também utiliza-lo para o teor de matéria seca dos tubérculos, que é um caráter muito influenciado pela temperatura e utilizado como critério de seleção para tolerância ao calor (TAI, LEVY; COLEMAN, 1994; WAHID et al., 2007).

4.3 Índices morfofisiológicos

As altas temperaturas estimulam o crescimento da parte aérea aumentando a respiração e transpiração, conseqüentemente, reduzindo a partição de fotoassimilados para os tubérculos, o que acarreta perda de produtividade e diminuição do teor de matéria seca a níveis indesejáveis, especialmente para a indústria de processamento de batata (TIMLIN et al., 2006; LEVY; VEILLEUX, 2007; HAVERKORT; VERHAGEN, 2008; HANCOCK et al., 2014; DEMIREL et al., 2017). Neste trabalho ficou evidenciado que o aumento da temperatura eleva a partição de fotoassimilados para a parte aérea da planta em detrimento dos tubérculos (Figura 8 e 9). Em estudo realizado por Wolf et al. (1990) foi observado que sob o efeito de temperaturas elevadas existe maior partição de assimilados e translocação de C_{14} entre os vários órgãos da planta de batata como folhas e hastes do que para os tubérculos.

Nas safras da seca e das “águas”, em média, os genótipos obtiveram menor taxa de tuberização e índice de colheita, resultando em menor alocação da matéria seca para os tubérculos e redução na produtividade quando se compara com a safra de inverno (Figura 9 e 10). Manrique (1989) relatou resultado semelhante, demonstrando que a taxa de crescimento dos tubérculos reduziu significativamente devido a elevação da temperatura. Observou-se que a cultivar Ágata (sensível ao calor) apresentou maior IC ao longo do ciclo mesmo nas safras da seca e das “águas” (Figura 10B e C). Provavelmente isso se deve à tuberização mais precoce desse genótipo mesmo em ambientes com temperaturas mais altas. Entretanto, por apresentar ciclo vegetativo mais curto (média de 88 DAE) ela não consegue mais produzir fotoassimilados e translocá-los para os tubérculos no final do ciclo. Vale destacar que o índice de colheita é uma medida relativa, de modo que, os genótipos com maior partição de matéria seca para os tubérculos não necessariamente são os mais produtivos.

Nas safras com temperaturas médias elevadas, os genótipos tolerantes (Markies e CBM 16-16) apresentaram ciclo vegetativo longo, além disso, obtiveram maiores teores de matéria seca da parte aérea e área foliar, conseguindo manter por mais tempo sua área fotossintética ativa, o que resultou em maior produtividade total de tubérculos. Ribeiro (2010), também observou esse resultado, os genótipos de batata com ciclo vegetativo mais longo apresentaram uma degradação da clorofila mais lenta e foram mais produtivos. Wolf et al. (1990) também observaram que sob estresse de calor, genótipos de batata que possuem maior eficiência fotossintética e menor taxa de degradação da clorofila foram os mais tolerantes. Segundo Levy e Veilleux (2007) a tolerância ao calor está relacionada com a capacidade da planta em manter o crescimento da parte aérea e dos tubérculos sob altas temperaturas através do particionamento balanceado dos fotoassimilados. George et al. (2018) relatam que um genótipo de batata tolerante é aquele que consegue rápido fechamento de dossel para maximizar a fotossíntese e que consiga manter a tuberização sob altas temperaturas.

4.4 Sistema antioxidante dos genótipos mantidos em câmara de crescimento

Durante os processos metabólicos de todas as células aeróbicas são produzidas espécies reativas de oxigênio (EROs), sendo que o estresse provocado pelo calor pode aumentar a sua formação (WAHID et al., 2007). Dentre as principais EROs destacam-se o ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$) e o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (ASADA, 1999). Em altas concentrações o poder oxidativo dessas EROs se torna potencialmente perigoso para o meio celular podendo ser altamente citotóxicas por reagir com lipídeos, proteínas e DNA, além de

causar peroxidação lipídica e enfraquecendo as membranas celulares (BREUSEGEM et al., 2001; GECHEV et al., 2006).

Em condições normais as plantas produzem espécies reativas de oxigênio e o sistema de defesa antioxidante é equilibrado. Quando ocorre um estresse aumenta as EROs, e consequentemente, aumenta a atividade do sistema enzimático de defesa antioxidante para resistir ao estresse, o que permite a planta aumentar seu ciclo de vida. Vale ressaltar que o ambiente com estresse realizado neste trabalho foi conduzido para simular as condições de temperatura da safra das “águas”, ou seja, com temperaturas médias elevadas. Entretanto, não foram observadas diferenças significativas para teor de H_2O_2 entre os ambientes com e sem estresse (Figura 15A, B, C e D). Além disso, a peroxidação lipídica foi igual ou menor no ambiente com estresse se comparado ao ambiente sem estresse (Figura 18A, B, C e D). Uma possível explicação para esse resultado foi a aclimação das plantas no experimento com estresse, ou seja, por elas serem expostas ao estresse térmico desde o início da emergência até o final do ciclo, elas desenvolveram outros mecanismos para tentar mitigar o efeito do calor. Gulen e Eris (2003) trabalhando com morango em diferentes estresses térmicos, observaram que as plantas aclimatadas previamente foram mais tolerantes, e os autores sugerem que essa tolerância pode estar associada ao acúmulo de várias proteínas estáveis ao calor. Xu et al. (2006) também observaram resultado semelhante: eles aclimataram duas cultivares de gramíneas por três dias a 30 °C e posteriormente as plantas foram expostas a diferentes estresses térmicos. Os autores observaram que não houve diferença significativa da peroxidação lipídica e teor de H_2O_2 entre as plantas aclimatadas e não aclimatadas, e por outro lado, observaram aumento da atividade das enzimas APX nas plantas previamente aclimatadas. Estes resultados indicam que a aclimação ao calor pode ser útil para aliviar a peroxidação lipídica da membrana de plantas sob estresse térmico.

Neste trabalho observou-se que a maior atividade da SOD no ambiente com estresse foi somente aos 80 DAE (Figura 14D). A SOD atua na primeira linha de defesa contra as EROs, dismutando duas moléculas do ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$) em peróxido de hidrogênio e oxigênio (ASADA, 1999). Possivelmente, com a aclimação das plantas a maior ação dela ocorreu com o aumento da senescência das plantas associado ao longo período exposto ao estresse térmico. Para a APX foi observado resultado semelhante ao encontrado por Xu et al. (2006), no qual as plantas expostas ao estresse apresentaram maior atividade enzimática no início do ciclo vegetativo (20 e 40 DAE) quando comparado às plantas em temperaturas ideais (Figura 16 A e B). Por outro lado, a maior ação da CAT ocorreu a partir dos 60 DAE no ambiente com estresse (Figura 16C e D). A diferença entre APX e CAT é que ambas

pertencem a diferentes classes de limpeza: a primeira é responsável pela modulação mais fina das concentrações de peróxido de hidrogênio, já a segunda atua somente quando existem altos níveis de H₂O₂ (GECHEV et al., 2006). Essa maior atividade da CAT no ambiente com estresse provavelmente ocorreu com o aumento da senescência das plantas associado ao longo período exposto às temperaturas elevadas.

A termoestabilidade da membrana tem sido utilizada em diversos trabalhos e também por diferentes metodologias (BLUM et al., 2001; ALMESELMANI et al., 2006; SAEED et al., 2007; SAVIĆ et al., 2012; AL MAHMUD et al., 2015). Neste trabalho não foi observado diferenças significativas entre as médias dos genótipos tolerantes (Markies e CBM 1616) dos genótipos sensíveis ao calor (Ágata e Asterix) (Figura 12A, B, C e D), o que evidencia que a metodologia utilizada não foi eficiente em identificar os genótipos tolerantes.

5. CONCLUSÕES

O aumento da temperatura atrasou o início da tuberização, e conseqüentemente, diminuiu o período de enchimento de tubérculos, sendo estimado que em média o incremento de 1 °C atrasou em 3,8 dias o início da tuberização dos genótipos entre as safras de inverno (média de 18,5 °C) e das “águas” (média de 24,2 °C).

Nas safras com temperaturas elevadas houve uma diminuição da produtividade total de tubérculos e também do teor de matéria seca de tubérculos comparado com a safra de inverno. Foi estimado que em média o incremento de 1 °C reduziu em 0,47% o teor de matéria seca dos tubérculos entre as safras de inverno e das “águas”.

Os genótipos Markies, CBM 16-16, CBM 09-10, IRF 02-71, IRF 09-44, IRF 07-61 e IRF 10-24 foram identificados como os mais tolerantes ao calor.

Altas temperaturas elevaram a partição de fotoassimilados para a parte aérea da planta em detrimento dos tubérculos. Os genótipos mais produtivos em temperaturas elevadas apresentaram maior área foliar e matéria seca da parte aérea.

As análises do sistema de defesa antioxidante realizado neste trabalho não permitiram a diferenciação entre os genótipos tolerantes e sensíveis ao calor quando esses foram submetidos ao estresse durante todo o ciclo vegetativo.

REFERÊNCIAS

- ALMESELMANI, M.; DESHMUKH, P. S.; SAIRAM, R. K.; KUSHWAHA, S. R.; SINGH, T. P. Protective role of antioxidant enzymes under high temperature stress. **Plant science**, v. 171, n. 3, 3p. 82-388, 2006.
- AL MAHMUD, A.; HOSSAIN, M.; KADIAN, M. S.; HOQUE, M. A. Physiological and biochemical changes in potato under water stress condition. **Indian Journal of Plant Physiology**, v. 20, n. 4, p. 297-303, 2015.
- ASADA, K. The water–water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. **Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol**, v. 50, p. 601–639, 1999.
- BENITES, F.; PINTO, C. Genetic gains for heat tolerance in potato in three cycles of recurrent selection. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 11, p. 133-140, 2011.
- BLUM, A.; KLUEVA, N; NGUYEN, H. T. Wheat cellular thermotolerance is related to yield under heat stress. **Euphytica**, v. 117, n. 2, p. 117-123, 2001.
- BREUSEGEM, F. V.; VRANOVA, E.; DAT, J.F.; INZE, D. The role of active oxygen species in plant signal transduction. **Plant Science**, v. 161, p. 405-414, 2001.
- BUEGE, J. A.; AUST, S. D. Microsomal lipid peroxidation. *Methods in Enzimology*, San Diego, v. 52, p. 302-310, 1978.
- DEMIREL, U.; ÇALIŞKAN, S.; YAVUZ, C.; TINDAŞ, İ.; POLGAR, Z.; VASZILY, Z.; ÇALIŞKAN, M. E. Assessment of morphophysiological traits for selection of heat-tolerant potato genotypes. **Turkish Journal of Agriculture and Forestry**. v. 41, n. 3, p. 218-232, 2017.
- FAOSTAT. Food and Agriculture Organization Corporate Statistical Database, 2016. Disponível em <<http://faostat.fao.org/site/562/default.aspx>> Acesso em 03/05/2018.
- FERNANDES, P.D. **Análise de crescimento e desenvolvimento vegetal**. Campina Grande: UFPB, Departamento de Engenharia Agrícola, 22p, 2000.
- GECHEV, T.S.; BREUSEGEM, F.V.; STONE, J.M.; DENEV, I.; LALOI, C. Reactive oxygen species as signals that modulate plant stress responses and programmed cell death. **BioEssays**, v. 28, n. 11, p. 1091–1101, 2006.
- GEORGE, T. S.; TAYLOR, M. A.; DODD, I. C.; WHITE, P. J. Climate Change and Consequences for Potato Production: a Review of Tolerance to Emerging Abiotic Stress. **Potato Research**, p .1-30, 2018.
- GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxide dismutases: I. occurrence in higher plants. **Plant Physiology, Rockville**, v. 59, n. 2, p. 309-314, Feb. 1977.

GIORDANO, L. D. B.; BOITEUX, L. S.; SILVA, J. B. C. D.; CARRIJO, O. A. Seleção de linhagens com tolerância ao calor em germoplasma de tomateiro coletado na região Norte do Brasil. **Horticultura Brasileira**, v. 23, p. 105-107, 2005.

GULEN, H.; ERIS, A. Some physiological changes in strawberry (*Fragaria* × *ananassa* ‘Camarosa’) plants under heat stress. **The Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v. 78, n. 6, p. 894-898, 2003.

HANCOCK, R. D.; MORRIS, W. L.; DUCREUX, L. J.; MORRIS, J. A.; USMAN, M.; VERRALL, S. R.; FULLER, J.; SIMPSON, C. G.; ZHANG, R.; HEDLEY, P. E.; TAYLOR, M. A. Physiological, biochemical and molecular responses of the potato (*Solanum tuberosum* L.) plant to moderately elevated temperature. **Plant, cell & environment**, v. 3, n. 2, p.439-450. 2014.

HAVERKORT, A. J.; HARRIS, P. M. A model for potato growth and yield under tropical highland conditions. **Agricultural and forest meteorology**, v. 39, n. 4, p. 271-282, 1987.

HAVERKORT, A. J.; VERHAGEN, A. Climate change and its repercussions for the potato supply chain. **Potato Research**, Wageningen, v. 51, n. 3-4, p. 223- 237, 2008.

HAVIR, E. A.; MCHALE, N. A. Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. **Plant Physiology, Rockville**, v. 84, n. 2, p. 450-455, 1987.

IBGE. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola**, Rio de Janeiro: Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística v. 30, n. 1, p. 1-81, 2017.

JACKSON, Stephen D. Multiple signaling pathways control tuber induction in potato. **Plant physiology**, v. 119, n. 1, p. 1-8, 1999.

LAMBERT, E. D. S.; PINTO, C. A. B. P.; MENEZES, C. B. DE. Potato improvement for tropical conditions: II. Selection indices and efficiency of indirect selection. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 6, p. 185-193, 2006.

LEVY, D.; KASTENBAUM, E.; ITZHAK, Y. Evaluation of parents and selection for heat tolerance in the early generations of a potato (*Solanum tuberosum* L.) breeding program. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 82, n. 2, p. 130-136, 1991.

LEVY, D.; VEILLEUX, R. E. Adaptation of potato to high temperatures and salinity - A review. **American Journal of Potato Research**, v. 84, n. 6, p. 487-506, 2007.

LYRA, D. H.; RIBEIRO, G. H. M. R.; DE FIGUEIREDO, I. C. R.; GUEDES, M. L.; CARNEIRO, O. L. G.; PINTO, C. A. B. P.; DA SILVA PEREIRA, A. Início da tuberização, duração do ciclo vegetativo e tolerância ao calor em genótipos de batata. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 50(7), 582-592, 2015.

MANRIQUE, L. A. Analysis of growth of Kennebec potatoes grown under differing environments in the tropics. **American Potato Journal**, v. 66, n. 5, p. 277-291, 1989.

MENEZES, C. B. de.; PINTO, C. A. B. P.; NUMBERG, P. L.; LAMBERT, E. de SOUZA. Avaliação de genótipos de batata (*Solanum tuberosum* L.) nas safras “das águas” e de inverno no sul de minas gerais. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 23, n. 4, p. 776-783, 1999.

MENEZES, C. DE; PINTO, C.; LAMBERT, E. D. S. Combining ability of potato genotypes for cool and warm seasons in Brazil. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 1, n. 2, p. 145-157, 2001.

MENZEL, C. M. Tuberization in potato at high temperatures: gibberellin content and transport from buds. **Annals of Botany**, v. 52, n. 5, p. 697-702, 1983.

NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant and Cell Physiology**, Oxford, v. 22, n. 5, p. 867-880, 1981.

PINTO, C. A.; TEIXEIRA, A. L.; NEDER, D. G.; ARAÚJO, R. R.; SOARES, A. R.; RIBEIRO, G. H.; LEPRE, A. L. Potential of elite potato clones as new cultivars for Minas Gerais State, Brazil. **Horticultura Brasileira**, v. 28, n. 4, p. 399-405, 2010.

RESENDE, M. D. V. de; DUARTE, J. B. Precisão e controle de qualidade em experimentos de avaliação de cultivares. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 37, n. 3, p. 182-194, 2007.

RIBEIRO, G. H. M. R. **Relação entre a duração do ciclo vegetativo e a tolerância ao calor em batata**. 67 p. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2010.

RODRIGUES, G. B.; PINTO, C. A. B.; BENITES, F. R.; MELO, D. S. Seleção para duração do ciclo vegetativo em batata e relação com a produtividade de tubérculos. **Horticultura Brasileira**, v. 27, n. 3, p. 280-285, 2009.

SAEED, A.; HAYAT, K.; KHAN, A. A.; IQBAL, S. Heat tolerance studies in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). **Int. J. Agri. Biol**, v. 9, n. 4, p. 649-652. 2007

SARQUÍS, J. I.; GONZALEZ, H.; BERNAL-LUGO, I. Response of two potato clones (*S. tuberosum* L.) to contrasting temperature regimes in the field. **American potato journal**, v. 73, n. 7, p. 285-300, 1996.

SAVIĆ, J., DRAGIĆEVIĆ, I., PANTELIĆ, D., OLJAČA, J., & MOMČILOVIĆ, I. Expression of small heat shock proteins and heat tolerance in potato (*Solanum tuberosum*). **Archives of Biological Sciences**, v. 64, n. 1, p. 135-144, 2012.

SCHIPPERS, P. The relationship between specific gravity and percentage of dry matter in potato tubers. **American Journal of Potato Research**, Orono, v. 53, p. 111-122, 1976.

SCHWANZ, P.; POLLE, A. Differential stress responses of antioxidative systems to drought in pendunculate oak (*Quercus robur*) and maritime pine (*Pinus pinaster*) grown under high CO₂ concentrations. **Journal of Experimental Botany**, v. 52, n. 354, p. 133-143, 2001.

SCOTT, A.; KNOTT, M. Cluster-analysis method for grouping means in analysis of variance. **Biometrics**, Washington, v. 30, n. 3, p. 507-512, 1974.

SILVA, F. L.; PINTO, C. A. B. P.; DONIZETI, J. A.; BENITES, F. R. G.; ANDRADE, C. M.; RODRIGUES, G. B.; BHERING, L. L. Caracterização morfofisiológica de clones precoces e tardios de batata visando à adaptação a condições tropicais. **Bragantia**, v. 68, n. 2, p. 295-302, 2009.

SOUZA, M.A.; PIMENTEL, A.J.B.; RIBEIRO, G. Melhoramento para tolerância ao calor. In: FRITSCHÉ-NETO, R.; BORÉM, A. (eds) **Melhoramento de plantas para condições de estresses abióticos**. Visconde do Rio Branco. Suprema, 2011. p.199-226,

TAI, G.C.C., LEVY, D., COLEMAN, W.K. Path analysis of genotype-environment interaction of potatoes exposed to increasing warm climate. **Euphytica**, 75:49-61, 1994.

TIMLIN, D.; LUTFOR RAHMAN, S. M.; BAKER, J., REDDY, V. R.; FLEISHER, D.; QUEBEDEAUX, B. Whole plant photosynthesis, development, and carbon partitioning in potato as a function of temperature. **Agronomy Journal**, v. 98, n. 5, p. 1195-1203, 2006.

VELIKOVA, V.; YORDANOV, I.; EDREVA, A. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: protective role of exogenous polyamines. *Plant Science*, Limerick, v. 151, n. 1, p. 59-66, Feb. 2000.

WAHID, A.; GELANI, S.; ASHRAF, M.; FOOLAD, M. R. Heat tolerance in plants: an overview. **Environmental and Experimental Botany**, v. 6, n. 3, 199-223. 2007.

WOLF, S.; MARANI, A.; RUDICH, J. Effects of temperature and photoperiod on assimilate partitioning in potato plants. **Annals of Botany**, New York, v. 66, n. 5, p. 513-520, Nov. 1990.

XU, S.; LI, J.; ZHANG, X.; WEI, H.; CUI, L. Effects of heat acclimation pretreatment on changes of membrane lipid peroxidation, antioxidant metabolites, and ultrastructure of chloroplasts in two cool-season turfgrass species under heat stress. **Environmental and Experimental Botany**, v. 56, n. 3, p. 274-285, 2006.

CAPÍTULO 3 HEAT TOLERANCE IN DIPLOID WILD POTATO SPECIES

Abstract

Potatoes are a cool season crop. Yet, with growth in the world population and rising temperatures, more heat tolerant cultivars are going to be needed. The objectives of this work were to identify heat tolerance in diploid wild *Solanum* species, as measured by the ability to form microtubers in tissue culture, and to compare four different methods of evaluating heat tolerance. In each of five experiments conducted over time, four nodal cuttings from up to 20 genotypes from each of ten diploid wild potato species were grown in MS medium supplemented with 8% sucrose and cultured at 19 °C (cool) and 25 °C (warm) in the dark. The four methods involved in evaluating heat tolerance were: percent microtuberization under warm conditions, difference in percent microtuberization between cool and warm conditions, microtuber yield under warm conditions, and the difference in microtuber yield between cool and warm conditions. There were significant differences among species and the species x temperature interaction was significant for percent microtuberization and microtuber yield. Percent microtuberization in five of the species was similar under cool and warm temperatures; greater under cool temperatures for three species; and, greater under warm temperatures for two species. Microtuber yield in four of the species was similar under cool and warm temperatures; greater under cool temperatures for six species; and, greater under warm temperatures for one species. *Solanum berthaultii*, *S. sogarandinum*, *S. kurtzianum*, and *S. candolleianum* were the most heat tolerant species evaluated. Tolerance to heat stress is present in this wild species germplasm.

Key Words: *In vitro* screening, *Solanum* species, microtuberization

1. Introduction

With growth in the world population, increased food production will be necessary. However, increases in food production will be more difficult to achieve in the face of rising global temperatures. The combination of these factors pose large risks to food security globally (Mall et al., 2016). High temperatures could have a strong negative effect on crop production, however, heat tolerant crop cultivars could be used to mitigate the effects of global warming (Hijmans 2003).

Potato production has been expanding rapidly worldwide (Birch et al. 2012), with the largest increases in production occurring in subtropical and tropical areas. Potatoes produce more food per unit area of production than any other crop (Oerke et al. 2012) and in addition to their high starch content, are a good source of essential amino acids, vitamins, and minerals (Woolfe and Poats 1987).

Potatoes are generally considered a cool season crop. The optimal temperature for tuberization is 20 °C; temperatures below 15 °C or above 25 °C delay the beginning of tuberization (Levy and Veilleux 2007). Low temperatures lead to delayed emergence due to slower metabolism and growth. Temperatures above 25 °C cause delays in the onset of tuberization and stimulate development of the above-ground portions of the plant, resulting in decreased yields due to a reduced photosynthetic capacity, increased losses associated with increased respiration, and decreased partitioning of photoassimilates to tubers (Levy and Veilleux 2007).

Heat tolerance has been defined as the ability of the plant to grow and produce economic yield under high temperatures (Wahid et al. 2007). The most widely used selection strategy to identify heat tolerance is to evaluate genotypes in a heat stress

environment and to select those that have superior yields as compared to cultivars with better performance under these conditions (Wahid et al. 2007).

Wild potato species are of considerable interest to potato breeders because of their resistance to pests and pathogens and their adaptation to climatic extremes (Hawkes 1992). Wild potato species inhabit a diverse range of habitats and might be expected to possess different levels of genetically determined stress tolerance (Smillie et al. 1983). Several wild diploid potato species, including *Solanum berthaultii*, *S. chacoense*, and *S. stoloniferum*, among others, show good levels of heat tolerance and have been used in breeding programs (Reynolds and Ewing 1989). However, screening wild species for traits of interest can be difficult. Wild potato species are short-day adapted; they tuberize under short-day conditions, whereas commercial potatoes are long-day adapted. Thus, it is difficult to access the heat tolerance of wild potato species under the long-day growing conditions that prevail in most potato growing regions in the U.S. Under long-day growing conditions, these wild species produce stolons but rarely produce tubers. As an alternative to the strategy of selection in natural environments, it is possible to carry out selection in controlled environments. Khan et al. (2015) reported a positive correlation ($r = 0.57$) for heat tolerance between *in vitro* screening of families of true seed at 25 °C and field evaluation of tuber families in an arid sub-tropical environment in South America with short days. They also reported that microtuber production in the 32 °C *in vitro* treatment resulted in very low microtuberization and excluded that data from further analysis. Percent tuberization in the families ranged from 53-57% in the 18 °C *in vitro* treatment to 25-55% in the 25 °C *in vitro* treatment.

One way to control environmental effects is through the use of tissue culture. In controlled environments the effect of heat stress can be isolated from other external factors. Tissue culture is characterized by very flexible rapid multiplication and enables the production of microtubers in culture through the use of individual nodes with axillary buds (Donnelly et al. 2003; Gopal et al. 2004; Mohapatra and Batra 2017). Microtubers are particularly convenient for handling, storage, and as material free of plant pathogens (Wang & Hu, 1982). In microtuberization protocols, plantlets are grown on a medium containing elevated sucrose (8% or 9%) to stimulate microtuberization (Donnelly et al. 2003) and in the dark because light delays microtuberization (Dobranszki and Mandi 1993). Khan et al. (2015) reported that under continuous darkness microtuberization was completed within 10-12 weeks.

The objectives of this research were to identify heat tolerant germplasm within ten diploid wild species described as heat tolerant (USDA, ARS, National Genetic Resources Program, 2017), as measured by the ability to form microtubers in tissue culture, and to compare four different methods of defining heat tolerance, namely, the percent microtuberization under warm temperatures, the difference in percent microtuberization under warm and cool temperatures, the yield of microtubers under warm temperatures, and the difference in yield of microtubers under warm and cool temperatures.

2. Materials and Methods

The experiment was conducted at the United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service, in Beltsville, Maryland USA. True seed of ten diploid wild potato species described as heat tolerant (USDA, ARS, National Genetic Resources Program, 2017) were obtained from the NRSP-6 United States Potato Genebank located in Sturgeon Bay, WI (Table 1).

Fifty true seeds of each species were aseptically sterilized in 70% ethanol for 30 seconds), followed by soaking in a 1:1 Chlorox (8% Sodium bisulfate): sterile, distilled

deionized water solution for 15 minutes, and then rinsed in sterile, distilled deionized water. The seeds were placed on filter paper in plastic petri dishes and allowed to dry overnight in darkness. After drying, each seed was placed in one 25 mm borosilicate culture tube with 9 ml MS Medium, pH = 5.8 (Murashige and Skoog, 1962).

After *in vitro* growth, the plants were micropropagated in MS medium (pH = 5.8) supplemented with 8% sucrose to induce microtuberization. Ten nodal cuttings of each genotype were prepared and divided into two groups of four tubes and the other two nodal cuttings were saved for subsequent replications and micropropagation. The first group of four tubes was cultured at 19 °C (cool temperature) and the second group at 25 °C (warm temperature) in the dark. The experiments were conducted a total of five times as plant material became available. Up to 20 genotypes per accession were evaluated.

After 12 weeks incubation, tubes were removed from the dark and the data were recorded. The following traits were recorded: presence of microtubers (yes/no), number of microtubers per node, yield (g node⁻¹) of microtubers, and presence or absence of sprouts on the microtubers.

Percent microtuberization was modeled using a generalized linear mixed effects ANOVA (Stroup 2015) with a binomial distribution and logit link function in PROC GLIMMIX (SAS 2012). Species, genotypes(species), temperature, temperature x species, and temperature x genotypes(species) were modeled as fixed effects. Random effects were: experiment, experiment x genotypes(species), and experiment x species x temperature. To compare percent microtuberization from cool versus warm temperatures, for each species and for each genotype(species), a t-test was conducted on the logit (i.e., model) scale; which are equivalently reported as odds ratios (OR) (Hosmer et al. 2013) on the original (percent microtuberization) data scale. Percent microtuberization is statistically similar between cool and warm temperatures when the 95% confidence interval for the odds ratio contains 1. When the upper (lower) confidence limit of the odds ratio was less (greater) than 1, the percent microtuberization under cool temperatures was significantly less (greater) than the percent microtuberization under warm temperatures.

Microtuber yield was modeled using a general linear mixed effects ANOVA with a normal distribution in PROC MIXED (SAS 2012). The fixed effects for this model were identical to those specified in the percent microtuberization model; with all other effects left unspecified, and hence pooled into the model's residual term. For each species and for each genotype(species), a t-test was conducted to compare microtuber yields from cool vs warm temperatures.

Four methods were used to evaluate heat tolerance. The first method considered the species with the greatest microtuberization yield under warm temperature *in vitro* conditions to be the most heat tolerant. The second method ranked species for heat tolerance based on the difference in microtuberization yields between warm and cool temperature *in vitro* conditions; the larger this difference, the more heat tolerant the species. The third method ranked species for heat tolerance based on the percent microtuberization under warm temperatures. The fourth method ranked species for heat tolerance based on the difference in percent microtuberization between warm and cool temperature *in vitro* conditions. Species and genotypes were ranked from best (rank=1) to worst (rank=10 for species, rank=143 for genotypes) for each of these methods and these ranks were summed to identify the most heat tolerant species and the most heat tolerant genotypes.

Sprouting at cool and warm temperature conditions was compared by estimating an odds ratio for the condition main-effect in a generalized linear model with a binary distribution, logit link function, and fixed effects: genotype, temperature, genotype x temperature, experiment; and random effects: experiment x genotype, experiment x temperature, experiment x genotype x temperature.

3. Results and Discussion

Selection for heat tolerance under field conditions can be difficult and time consuming. Germplasm has to be multiplied for testing, environmental conditions may not be favorable for evaluating the trait of interest, genotype x environmental sources of variation are frequently quite large, plants may be subject to many extraneous sources of variation, such as disease or insect pests, and experimental error can be quite large. Day-length adaptation, or lack thereof, poses an additional challenge in trying to evaluate wild potato species germplasm in the U.S.

In contrast, *in vitro* selection offers many advantages: rapid micropropagation of plant material, controlled environmental conditions, and minimal extraneous sources of variation. This *in vitro* study, which measured microtuberization yield and percent microtuberization in wild potato species, was conducted in the dark, thus eliminating differences in photoperiodic tuberization responses.

General Analysis

Significant differences existed among species, genotypes within species, temperature and the interaction between temperature and species for microtuber yield (Table 2). For percent microtuberization there were significant differences among species and the interaction between species and temperature was significant (Table 2).

Species and Genotypes (Species)

There were significant differences amongst species for microtuber yield and percent microtuberization (Table 2). Average microtuber yields were superior to the overall mean in *ber*, *brc*, *cnd*, *ktz*, *rap*, *sgr* and *ver* (Figure 1). Average microtuber yields were greatest in *ver* and smallest in *vrn*. *Blv* was the most variable species for microtuber yield; variations in the remaining species were similar. Percent microtuberization exceeded the overall mean in *brc*, *cnd*, *ktz*, *mcd*, *rap*, and *ver*. Percent microtuberization was greatest in *brc* (57%) and least in *vrn* (11%) (Figure 2).

There was significant variation amongst genotypes within species for microtuber yield, but not for percent microtuberization, indicating that yield of microtubers, rather than percent microtuberization can detect significant genotypic differences within *Solanum* species for heat tolerance. Khan et al. (2015) also reported that *in vitro* screening can help discriminate heat-tolerant groups of potato germplasm and can be used in potato breeding programs seeking to identify heat-tolerant families or genotypes. Unlike this study, though, they found that percent tuberization could discriminate heat-tolerant groups. The differences in these two studies may in part be due to the difference in genetic materials evaluated: our study evaluated the same genotypes in different environments, their study evaluated the same segregating families, not the same genotypes, in different environments.

Temperature

In vitro temperature had a significant effect on microtuber yield (Table 2), which was 27% greater under cool temperatures than warm (0.083 vs 0.064 g node⁻¹) (Table 3). Several reports in the literature have suggested that the optimal temperature for microtuber induction is between 18 - 20 °C, whereas growth at 25 °C resulted in decreased yields (Wang & Hu, 1982; Levy and Veilleux 2007). However, *in vitro* temperature had no effect on percent microtuberization. Khan et al. (2015) also reported no significant difference in their *in vitro* assay for percent microtuber production at 18 and 25 °C, but overall, their results show the expected tendency for a lower percent tuberization at higher temperatures.

Species x Temperature

The species x temperature interaction effect was significant for both microtuber yield and percent microtuberization (Table 2). Average microtuber yield was similar under cool and warm temperatures for *ber*, *blv*, *ktz* and *vrn*; significantly greater under cool temperature than warm for *brc*, *cnd*, *mcd*, *rap* and *ver*; and, significantly greater under warm temperature than cool for *sgr* (Table 4). Percent microtuberization was similar under cool and warm temperatures for *ber*, *blv*, *cnd*, *rap* and *vrn*; greater under cool temperatures than warm for *brc*, *mcd* and *ver*; and, significantly greater under warm temperatures than cool for *ktz* and *sgr* (Table 4).

Genotype Within Species x Temperature

No significant differences were found for the interaction of genotypes within species x temperature for either microtuberization yield or percent microtuberization (Table 2).

Methods of Evaluating Heat Tolerance in Species

Heat tolerance has been defined as the ability of a plant to grow and produce economic yield under high temperatures (Wahid et al. 2007), a definition obviously not suitable for classifying wild species germplasm evaluated under warm temperatures *in vitro*. This definition is also not suitable for evaluating wild species germplasm *in vivo* under the long day photoperiods that occur during the growing season in most regions of the U.S. Most of the wild species evaluated would fail to tuberize under these conditions. Alternate methods of identifying heat tolerant wild species germplasm need to be developed. In this study, we looked at several different methods of rating heat tolerance.

The first method considered the species with the greatest microtuberization yield under warm temperature *in vitro* conditions to be the most heat tolerant. Under this definition, the five most heat tolerant species were *ber* > *sgr* > *ktz* > *ver* > *cnd* (Table 4). The advantage of this method is that it measures the phenotypic response of the plant to growing in a warm environment. The disadvantage is that there is a lot of genetic variation for tuber yielding ability among genotypes, and therefore, components of yielding ability and heat tolerance cannot be separated.

The second method ranked species for heat tolerance based on the difference in microtuberization yields between warm and cool temperature *in vitro* conditions; the larger this difference, the more heat tolerant the species. Under this definition, the four most heat tolerant species were *sgr* > *ber* > *ktz* > *vrn* (Table 4). For these four species, yields under warm temperature conditions were greater than yields under cool temperature conditions; in the other six species, the reverse was true: yields were greater under cool temperatures. The advantage of this method is that the yield response of each genotype to warm temperatures can be ascertained. The disadvantage is that if a genotype is low yielding under both cool and warm conditions, the difference in yield between the two temperature growing conditions may indicate that the genotype is more heat tolerant than it really is. A poor yielding genotype under both temperature conditions is not of much value as a parent.

The correlation between the first method (microtuberization yield under warm conditions) with the second method (differences in microtuberization yield under warm and cool conditions) was only moderate ($r = 0.51$, $P = 0.13$) and not significant, indicating that these two variables are measuring different aspects of heat tolerance (Table 5).

The third method ranked species for heat tolerance based on the percent microtuberization under warm temperatures. Under this definition, the four most heat tolerant species were *ktz* > *rap* > *sgr* > *brc* (Table 4). These four species all had >50% microtuberization under warm temperatures. The remaining six species all had <50% microtuberization under warm temperatures. Khan et al. (2015) reported that percent

microtuberization in their tetraploid family groups ranged from 25-55% in the 25 °C *in vitro* treatment. Our numbers (16-68%) are in this range, also.

The fourth method ranked species for heat tolerance based on the difference in percent microtuberization between warm and cool temperature *in vitro* conditions. Under this definition, the six most heat tolerant species were *ktz* > *sgr* > *vrn* > *rap* > *ber* > *cnd* (Table 4). In these six species, percent microtuberization was greater under warm *in vitro* conditions. In the remaining four species, percent microtuberization was greater under cool *in vitro* conditions.

The correlation between percent microtuberization under warm temperatures and the difference in percent microtuberization under warm and cool conditions was moderate ($r=0.43$, $P=0.21$), and not significant, indicating again, that these two variables are measuring different aspects of heat tolerance (Table 5). From the supplementary information in the paper by Khan et al. (2015) we were able to calculate the correlation between the percent microtuberization under warm temperature *in vitro* conditions and the difference in percent microtuberization under warm and cool *in vitro* conditions for their five family groups as 0.99, $P=0.002$. The higher correlation in Khan et al.'s germplasm than our germplasm may partially be due to ploidy differences, as the former were tetraploids and the later diploids. Tetraploids are thought to be better buffered against environmental extremes because of the greater number of alleles at a given locus. Differences could also be due to inherent genetic differences between more adapted and wild species germplasm, since the tetraploid germplasm had already been selected for adaptation to the lowland tropics and the wild species we investigated had not undergone any selection. Differences could also be due to the fact that each family group in Khan et al.'s study consisted of several different crosses.

There was a positive correlation between percent microtuberization under warm *in vitro* conditions and microtuber yield under warm *in vitro* conditions ($r=0.64$, $P=0.05$), as might be expected. However, there was no correlation between percent microtuberization under warm *in vitro* conditions and the difference in microtuber yield under warm and cool conditions ($r=0.03$, $P=0.93$). There was a significant correlation between the difference in percent microtuberization under warm and cool *in vitro* conditions and the difference in microtuber yield under warm and cool *in vitro* conditions ($r=0.80$, $P<0.001$), and a significant correlation between the difference in percent microtuberization under warm and cool *in vitro* conditions and microtuber yield under warm conditions ($r=0.64$, $P<0.005$).

Because the various methods of identifying heat tolerant species varied, we ranked the species from best (rank=1) to worst (rank=10) for each method and then summed the rankings across species (Table 4). The species with the least sums, and presumably the most heat tolerant based on all four criteria, were *ktz* = *sgr* > *ber* > *rap*. The least heat tolerant species were *mcd* and *blv*.

Still, the question remains as to how these *in vitro* assessments of heat tolerance will correlate to the field under *in vivo* conditions. As mentioned earlier, it is not possible to evaluate this wild species germplasm under the long-day conditions that occur in the northern U.S. during the growing season. However, Khan et al. (2015) were able to evaluate their germplasm *in vitro* and *in vivo*. In the heat stress environment of Tacna, in southern Peru, they reported finding a significant positive correlation ($r=0.57$) between percent microtuberization under warm temperature *in vitro* conditions and percent tuberization *in vivo* among families. At the clonal level, they reported finding lower correlations ($r=0.29$) between percent microtuberization *in vitro* and a harvest index *in vivo* among clones grown in heat stress environments.

Methods of Evaluating Heat Tolerance in Genotypes

The same four methods of identifying heat tolerant wild species germplasm were used to identify heat tolerant clones within the species. In all, there were 143 clones across ten species.

The correlation between the first method (microtuberization yield under warm conditions) and the second method (difference in microtuberization yield under warm and cool conditions) was only moderate ($r=0.46$, $P<0.001$) but significant (Table 5).

The correlation between the third method (percent microtuberization under warm temperatures) and the fourth method (difference in percent microtuberization under warm and cool conditions) was also moderate ($r=0.46$, $P<0.001$), but significant (Table 5).

The highest correlations were between differences in percent microtuberization under warm and cool conditions and microtuber yield under warm and cool conditions ($r=0.70$, $P<0.001$), and between microtuberization yield under warm conditions and the difference in microtuber yield under warm and cool conditions ($r=0.64$, $P<0.0001$). There was a significant moderate correlation between microtuberization yield under warm conditions and the difference in percent microtuberization under cool and warm *in vitro* conditions and the difference in microtuber yield under warm and cool conditions ($r=0.40$, $P<0.0001$). The weakest correlation was between differences in microtuberization yield under warm and cool conditions and percent microtuberization under warm conditions ($r=0.20$, $P=0.05$). The correlations involving individual clones are similar to the correlations involving species and indicate that these variables are measuring different aspects of heat tolerance.

Because the various methods of identifying heat tolerant clones can produce variable results, we ranked the clones from best (rank=1) to worst (rank=143) for each method and then summed the rankings across clones. The 20 clones with the least sums, which are presumably the most heat tolerant based on all four criteria, were from *ber* (3), *brc* (1), *cmd* (4), *ktz* (6), *sgr* (5), and *vrn* (1). The sums for these 20 clones ranged from 23 to 124, which indicates how much variation there was in the rankings among the various methods.

Microtuber Sprouting

Warm temperature growing conditions *in vitro* resulted in significantly more sprouted microtubers (33.0%) than under cool temperatures (14.8%) ($\chi^2=23.49$, $P<0.0001$). Equivalently, microtubers under warm temperature growing conditions are 2.83 times more likely to sprout than microtubers under cool temperature conditions, with odds ratio 95% confidence interval (1.56, 5.15). This agrees with previous reports that high temperatures during tuber bulking and maturation may shorten tuber dormancy or even release the inhibition of tuber buds, resulting in pre-harvest sprouting (Levy and Veilleux 2007).

4. Conclusions

Tolerance to heat stress is present in this wild species germplasm. The results suggest that wild species accessions should be screened first to identify the most heat tolerant wild species and that the simple observation of percent microtuberization could be used to identify the more heat tolerant species. Then fine-screening within the most heat tolerant wild species should be conducted to identify the most heat tolerant genotypes within those species by measuring both percent microtuberization and microtuber yield. This dual evaluation and selecting strategy represents the best allocation of resources for selection of parents from multiple *Solanum* species to be used in future breeding efforts for the development of cultivars with heat tolerance. In the future, we intend to cross these heat tolerant wild species genotypes with Haynes' long-day adapted *phu-stn* population (Haynes and Qu 2018) and haploids extracted from *S. tuberosum* cultivars.

Acknowledgements

The authors acknowledged to the Research Foundation of the state of Minas Gerais - FAPEMIG for financial support of the scholarship. The technical assistance of Karen Frazier is gratefully acknowledged.

References

Birch, P. R., G. Bryan., B. Fenton., E.M. Gilroy., I. Hein., J.T. Jones., and I.K. Toth. 2012. Crops that feed the world 8: Potato: are the trends of increased global production sustainable? *Food Security* 4: 477-508.

Dobranszki, J., and M. Mandi. 1993. Induction of in vitro tuberization by short day period and dark treatment of potato shoots grown on hormone-free medium. *Acta Biologica Hungarica* 44: 411-420.

Donnelly, d.J., W.K. Coleman., and S.E. Coleman. 2003. Potato microtuber production and performance: a review. *American Journal of Potato Research* 80: 103-115.

Gopal, J., J.L. Minocha., and H.S. Dhaliwal. 1998. Microtuberization in potato (*solanum tuberosum* L.). *Plant Cell Reports* 10: 794-798.

Gopal, J., A. Chamail., and D. Sarkar. 2004. In vitro production of microtubers for conservation of potato germplasm: effect of genotype, abscisic acid, and sucrose. *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant* 40: 485-490.

Haynes, K.G. and X. Qu. 2018. Three cycles of recurrent maternal half-sib selection continue to reduce foliar late blight in a diploid hybrid *Solanum phureja*-*S. stenotomum* population. *American Journal of Potato Research* Submitted 4/xx/2018.

Hawkes, J.G. 1992. Biosystematics of the potato. In *The Potato Crop*, ed. P. Harris, 15-69. London: Chapman & hall.

Hijmans, R.L. 2003. The effect of climate change on global potato production. *American Journal of Potato Research* 80: 271-280.

Hosmer Jr., D.W., S. Lemeshow, and R.X. Sturdivant. 2013. Applied Logistic Regression, Third Edition, New York: Wiley.

Khan, M.A., S. Munive, and M. Bonierbale. 2015. Early generation in vitro assay to identify potato population and clones tolerant to heat. *Plant Cell Tiss Organ Cult* 121: 45-52. doi: 10.1007/s11240-014-0677-z.

Levy, D., and R.E. Veilleux, 2007. Adaptation of potato to high temperatures and salinity - a review. *American Journal of Potato Research* 84: 487-506.

Lutaladio, N., and L. Castaldi. 2009. Potato: The hidden treasure. *Journal of Food Composition and Analysis* 22: 491-493.

Mall, R.K., A. Gupta., and G. Sonkar. 2016. Effect of climate change on agricultural crops. In *Current developments in biotechnology and bioengineering: crop modification, nutrition, and food production*, ed Dubey, S.K, A. Pandey, R.S. Sangwan 23-46. Amsterdam: Elsevier.

Mohapatra, P.P., and V.K. Batra. 2017. Tissue culture of potato (*solanum tuberosum l.*): a review. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci* 6: 489-495. doi: 10.20546/ijcmas.2017.604.058.

Murashige T., and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant* 15: 473-497.

Oerke, E.C., H.W. Dehne., F. Schönbeck., and A. Weber. 2012. Crop production and crop protection: estimated losses in major food and cash crops. Amsterdam: Elsevier.

Reynolds, M.P., and E.E. Ewing. 1989. Heat tolerance in tuber bearing *solanum* species: a protocol screening. *American Potato Journal* 66: 63-74.

SAS version 9.4. 2012. SAS/STAT version 14.1, PROC GLIMMIX, SAS Institute, Inc., Cary, NC. USA.

Smillie, R.M., S.E. Hetherington., C. Ochoa., and P. Malagamba. 1983. Tolerances of wild potato species from different altitudes to cold and heat. *Planta* 159: 112-118.

Stroup, W.W. 2015. Rethinking the Analysis of Non-Normal Data in Plant and Soil Science. *Agronomy Journal* 107(2): 811-827.

USDA, ARS, National Genetic Resources Program. 2017. Germplasm resources information network- (GRIN). <https://npgsweb.ars-grin.gov/gringlobal/methodaccession.aspx?id1=73005&id2=7001>. Accessed 1 Feb 2017.

Wahid, A., S. Gelani., M. Ashraf., M.R. Foolad. 2007. Heat tolerance in plants: an overview. *Environmental and Experimental Botany* 6: 199-223.

Wang P., and C. Hu. 1982. In vitro mass tuberization and virus free seed potato production in taiwan. *American Potato Journal* 59: 33-37.

Woolfe, J.A., and S.V. Poats. 1987. The potato in the human diet. Cambridge: Cambridge University Press.

Table 1. Species, plant introduction (PI) number, country of origin, species abbreviation and number of genotypes evaluated in ten wild diploid species classified as heat tolerant at the U.S. Potato Genebank and evaluated in the current study.

Species	PI Number	Origin	Abbreviation	No. Genotypes
<i>Solanum berthaultii</i>	PI 310926	Bolivia	<i>ber</i>	15
<i>Solanum boliviense</i>	PI 265578	Bolivia	<i>blv</i>	3
<i>Solanum brevicaulis</i>	PI 208562	Argentina	<i>brc</i>	20
<i>Solanum candolleianum</i>	PI 210043	Peru	<i>cnd</i>	20
<i>Solanum kurtizianum</i>	PI 320296	Argentina	<i>ktz</i>	15
<i>Solanum microdontum</i>	PI 218222	Argentina	<i>mcd</i>	13
<i>Solanum raphanifolium</i>	PI 265862	Peru	<i>rap</i>	13
<i>Solanum sogarandium</i>	PI 230510	Peru	<i>sgr</i>	9
<i>Solanum verrucosum</i>	PI 195170	Mexico	<i>ver</i>	15
<i>Solanum vernei</i>	PI 320329	Argentina	<i>vrn</i>	20

Table 2. ANOVA results for microtuber yield (g node⁻¹) and percent tuberization of 143 genotypes of ten diploid wild potato species under warm and cool *in vitro* conditions.

Source of Variation	df	Yield (g node ⁻¹)	(%) Microtuberization
Species	9	***	***
Genotype (species)	133	***	ns
Temperature	1	***	ns
Species x Temperature	9	***	***
Genotype(species)x Temperature	133	ns	ns

*** = significant at $P \leq 0.001$; ns = non-significant.

Table 3. Least squares means for average microtuber yield (g node⁻¹) and percent microtuberization of ten diploid wild potato species grown under cool (C) and warm (W) *in vitro* conditions, the P-value for *t* test of whether the difference in average microtuber yield between the two temperature treatments is significant, and the odds-ratio (OR) test of whether the ratio of percent microtuberization in cool to warm temperature treatments is significantly different than 1, upper and lower confidence intervals of the OR test for each species, and results of the OR test.

Sp.	Average yield (g node ⁻¹)			(%) Microtuberization					
	Cool	Warm	<i>Pr</i> > <i>t</i>	Cool	Warm	Odds Ratio	Lower OR	Upper OR	Results OR ¹
<i>ber</i>	0.084	0.100	Ns	29.25	33.20	0.83	0.53	1.31	Similar
<i>blv</i>	0.057	0.032	Ns	43.44	28.46	1.93	0.78	4.81	Similar
<i>brc</i>	0.127	0.060	***	64.28	50.12	1.79	1.20	2.67	C > W
<i>cnd</i>	0.093	0.069	*	41.27	43.35	0.91	0.62	1.37	Similar
<i>ktz</i>	0.083	0.090	Ns	44.16	68.39	0.36	0.23	0.57	W > C
<i>mcd</i>	0.089	0.036	***	68.01	33.06	4.30	2.62	7.08	C > W
<i>rap</i>	0.092	0.064	*	45.40	51.56	0.78	0.49	1.23	Similar
<i>sgr</i>	0.055	0.098	**	27.00	50.74	0.35	0.20	0.62	W > C
<i>ver</i>	0.130	0.069	***	53.87	43.12	1.54	1.00	2.36	C > W
<i>vrn</i>	0.024	0.029	Ns	7.83	15.93	0.44	0.14	1.39	Similar
Mean	0.083	0.064		42.45	41.79				

*, **, *** = significant at P=0.05, 0.01 and 0.001 respectively; Ns = non-significant.

¹Odds Ratio test (OR) 95% confidence interval, [Lower OR, Upper OR], including 1 indicates statistically similar percent microtuberization. Lower OR > 1 indicates percent microtuberization under cool conditions superior to warm conditions. Upper OR < 1, indicates percent microtuberization under warm conditions superior to cool conditions.

Table 4. Rankings¹ and sum of the rankings of ten diploid wild potato species grown under warm and cool *in vitro* conditions by 1) microtuberization yield under warm *in vitro* conditions (first method), 2) difference in microtuberization yield under warm and cool *in vitro* conditions (second method), 3) percent microtuberization under warm *in vitro* conditions (third method), and 4) difference in percent microtuberization under warm and cool *in vitro* conditions (fourth method).

Species	Method				Sum
	First	Second	Third	Fourth	
<i>ber</i>	1	2	7	5	15
<i>blv</i>	9	6	9	9	33
<i>brc</i>	7	10	4	8	29
<i>cnd</i>	5	5	5	6	21
<i>ktz</i>	3	3	1	1	8
<i>mcd</i>	8	8	8	10	34
<i>rap</i>	6	7	2	4	19
<i>sgr</i>	2	1	3	2	8
<i>ver</i>	4	9	7	7	27
<i>vrn</i>	10	4	10	3	27

¹ Rankings for first and third method: 1 = highest to 10 = lowest microtuberization yield and percent tuberization, respectively.

Rankings for second and fourth method: 1 = largest difference to 10 = smallest difference in microtuberization yield and percent tuberization between warm and cool *in vitro* conditions, respectively. In cases where performance was better under cool conditions, the differences would be indicated by negative numbers.

Table 5. Correlations among four different traits for evaluating heat tolerance at the species level (n=10) (top line) and at the clonal level (n=143) (bottom line): yield under warm *in vitro* conditions (warmyld), difference in yield under warm and cool *in vitro* conditions (diffyld), percent microtuberization under warm *in vitro* conditions (warm%), and difference in percent microtuberization under warm and cool *in vitro* conditions (diff%).

	<u>diffyld</u>	<u>warm%</u>	<u>diff%</u>
warmyld	0.51 ns 0.46 ***	0.64 * 0.64 ***	0.64 * 0.40 ***
diffyld	----	0.03 ns 0.20 *	0.80 ** 0.70 ***
warm%			0.43 ns 0.46 ***

ns, *, **, *** Not significant, significant at $P= 0.05$, 0.01 , and < 0.0001 level, respectively.

Figure 1. Average microtuber yield (g node^{-1}) (indicated by the dot) and the 95% confidence interval of each of the means (indicated by the line) of ten diploid wild potato species under cool and warm tissue culture conditions.

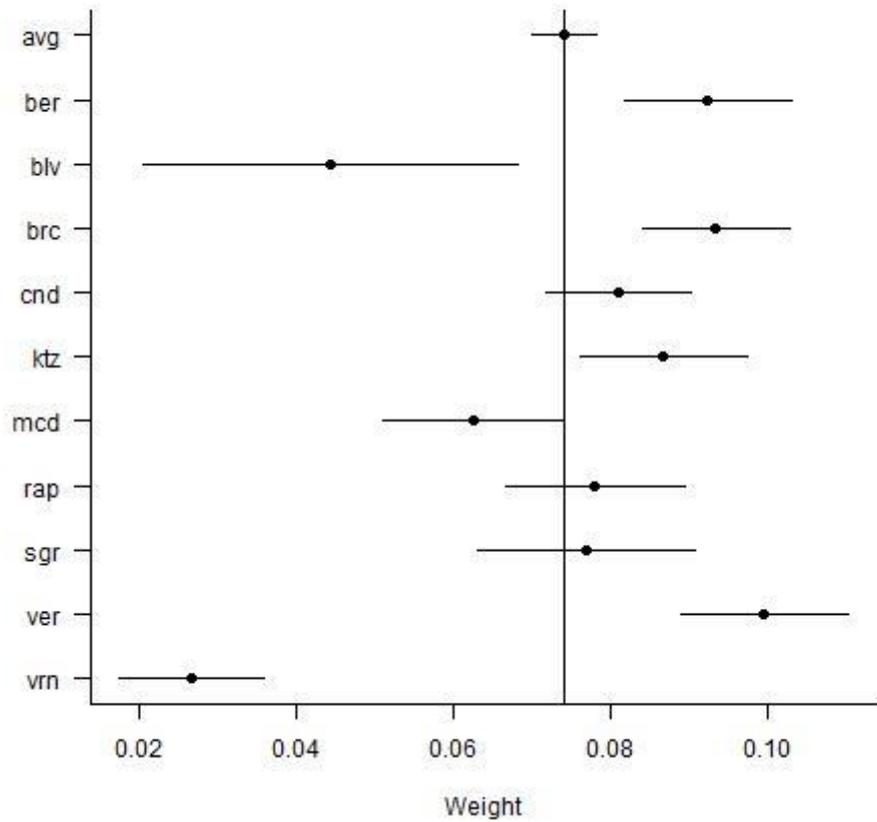


Figure 2. Average percent microtuberization (indicated by the dot) and 95% confidence interval of the means (indicated by the line) of ten diploid wild potato species under cool and warm tissue culture conditions.

