

**SELEÇÃO DE CLONES E IDENTIFICAÇÃO
DE MARCADORES GENÉTICOS PARA
QUALIDADE DE PROCESSAMENTO DA
BATATA**

MARIO ALEJANDRO ANDREU

2004

MARIO ALEJANDRO ANDREU

**SELEÇÃO DE CLONES E IDENTIFICAÇÃO DE MARCADORES
GENÉTICOS PARA QUALIDADE DE PROCESSAMENTO DA
BATATA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agronomia, área de concentração em Genética e Melhoramento de Plantas, para obtenção do título de “Mestre”.

Orientador

Prof. César Augusto Brasil Pereira Pinto

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
2004

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos
da Biblioteca Central da UFLA**

Andreu, Mario Alejandro

Seleção de clones e identificação de marcadores genéticos para
qualidade de processamento da batata / Mario Alejandro Andreu. -- Lavras :
UFLA, 2004.

94 p. : il.

Orientador: César Augusto Brasil Pereira Pinto.

Dissertação (Mestrado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Melhoramento genético vegetal. 2. Marcador molecular. 3. *Solanum
tuberosum*. 4. Seleção de clone. 5. Regressão linear múltipla. 6. Backward. I.
Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-635.2123

MARIO ALEJANDRO ANDREU

**SELEÇÃO DE CLONES E IDENTIFICAÇÃO DE MARCADORES
GENÉTICOS PARA QUALIDADE DE PROCESSAMENTO DA
BATATA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agronomia, área de concentração em Genética e Melhoramento de Plantas, para obtenção do título de “Mestre”.

APROVADA em 27 de fevereiro de 2004

Prof. Márcio Henrique Pereira Barbosa	UFV
Prof. Dulcinéia de Carvalho	UFLA
Prof. João Bosco dos Santos	UFLA

Prof. César Augusto Brasil Pereira Pinto
UFLA
(Orientador)

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL

A mi esposa Mariela,

A mi hijo Mariano,

A mis padres Mario y Maria,

Ejemplos de lucha y persistência, que siempre estuvieron presentes física y espiritualmente para darme fuerzas y mostrarme el camino.

DEDICO

**“Hay hombres que de su ciencia
tienen la cabeza llena
hay sabios de todas menas,
mas digo, sin ser muy ducho,
es mejor que aprender mucho
aprender cosas buenas...”**

MARTIN FIERRO

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me ensinar o caminho, deixar viver meus sonhos e me dar tantos amigos importantes.

À UFLA, pela oportunidade de realizar meus trabalhos de pesquisa.

Ao meu orientador, Prof. César Brasil, pela orientação, paciência, incentivo, amizade e confiança.

Aos professores do Departamento de Biologia, pela ajuda e conhecimentos brindados na minha formação.

Ao funcionário do DBI, Raimundo Ferreira de Resende, pelo auxílio nos trabalhos e na condução dos experimentos de batata.

Aos “batateiros” e grandes amigos: Coloradinho, Dú, Ricardo, Alexandre, Cristiane, Luis e Cassiano.

Aos alunos e grandes amigos do DBI e do GEN, pela amizade e pelos bons momentos de convivência.

Aos amigos Lamartine, Peterson, Livia, Gustavo e Eduardo, que tiveram um papel muito importante no desenvolvimento deste trabalho

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para o êxito deste trabalho, meu muitíssimo obrigado!

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	i
ABSTRACT	iii
1 INTRODUÇÃO	01
2 REFERENCIAL TEÓRICO	03
2.1 Importância industrial da batata	03
2.2 Características principais dos tubérculos para fritura	06
2.2.1 Matéria seca	06
2.2.2 Açúcares redutores	07
2.3 Metabolismo dos carboidratos nos tubérculos de batata	11
2.3.1 Síntese de amido	11
2.3.3 Degradação do amido	14
2.3.4 Hexogênese	14
2.3.5 Glicólise	16
2.4 Melhoramento genético visando à qualidade industrial da batata	17
2.5 Aplicação dos marcadores genéticos ao melhoramento de plantas	20
2.5.1 Detecção de QTLs por meio de marcadores genéticos	21
2.5.2 Seleção assistida por marcadores - SAM	23
2.6 Tipos de marcadores genéticos	25
2.6.1 Marcadores isoenzimáticos	26
2.6.2 Marcadores moleculares	27
2.6.2.1 PCR (Polymerase Chain Reaction) e microssatélites (SSR – Simple Sequence Repeat)	27
2.6.2.2 Marcadores RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA)	29
3. MATERIAL E MÉTODOS	31
3.1 Material genético	31
3.2 Avaliações de campo	31

3.2.1 Detalhes experimentais	31
3.2.2 Características avaliadas	32
3.2.3 Análise genético-estatísticas	33
3.2.3.1 Análise de variância da safra de inverno 2002.....	33
3.2.3.2 Análise de variância da safra de inverno 2003.....	35
3.2.4 Teste de médias.....	36
3.2.5 Estimativas de parâmetros genéticos	36
3.2.6 Correlação de Pearson.....	37
3.2.7 Seleção de clones	38
3.3 Avaliações de laboratório.....	39
3.3.1 Material experimental	39
3.3.2 Extração de DNA.....	39
3.3.3 Extração de isoenzimas	40
3.3.4 Análise de RAPD	42
3.3.5 Análise com marcadores PCR e microssatélites	43
3.4 Análise estatística para detecção dos efeitos dos QTLs.....	45
3.4.1 Análise de variância	45
3.4.2 Análise de regressão linear múltipla	46
3.4.3 Seleção de marcadores	46
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
4.1 Avaliações de campo	48
4.1.1 Safra 2002. Segunda Geração Clonal (C2)	48
4.1.2 Safra 2002. Terceira Geração Clonal (C3).....	53
4.1.3 Safra 2003. Terceira Geração Clonal (C3).....	55
4.1.4 Safra 2003. Quarta Geração Clonal (C4)	58
4.1.5 Coeficiente de correlação entre gerações.....	61
4.2 Avaliações de laboratório.....	64
4.2.1 Análise de variância, regressão linear múltipla e Backward.....	65
4.3 Considerações gerais.....	70

5 CONCLUSÕES	72
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	73
ANEXOS	93

RESUMO

ANDREU, Mario Alejandro. **Seleção de clones e identificação de marcadores genéticos para qualidade de processamento da batata.** Lavras: UFLA, 2004. 94p. (Dissertação - Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas)*

O sucesso de um programa de melhoramento de batata depende fundamentalmente de algumas etapas, como a correta escolha de genitores e a eficiente seleção de genótipos superiores em populações segregantes. Uma das potentes ferramentas para auxiliar nesta seleção são os marcadores genéticos, que permitem a identificação precoce e precisa dos indivíduos com melhor combinação de alelos favoráveis. A detecção e posterior seleção assistida por marcadores de genes relacionados a características quantitativas poderia ter um grande impacto sobre as metodologias e estratégias de melhoramento usadas até agora, aumentando a eficiência da seleção. O presente trabalho objetivou avaliar e selecionar clones de batata para características agronômicas e de processamento e identificar, através de marcadores moleculares e bioquímicos, marcas associadas à melhor qualidade de processamento de diferentes genótipos de batata. Clones de segunda e terceira geração clonal (safra 2002) foram avaliados com base nas principais características de interesse agrônomo e de processamento. Os melhores clones foram selecionados para dar continuidade à terceira e quarta gerações clonais (safra 2003). Para a detecção de marcadores genéticos quarenta e dois genótipos foram divididos em dois grupos contrastantes para peso específico e cor de *chips* e selecionados pela estabilidade para essas características ao longo das gerações. Foram realizadas análises de variância, de regressão linear múltipla e de seleção de marcadores. As avaliações de campo indicaram que as estimativas de herdabilidade, tanto para os caracteres agrônômicos como os de qualidade, tiveram geralmente valores baixos nas gerações iniciais, mas incrementaram-se com o avanço das gerações e o aumento do número de repetições. Através da ANAVA dos marcadores genéticos foi possível detectar polimorfismos tanto para o peso específico, como para a cor de *chips*, que conjuntamente, explicaram 74,53% e 47,84% da variação fenotípica, respectivamente. Quando considerada a soma de quadrados parcial (tipo II), a maior parte dos marcadores foi não significativa indicando a existência de informações redundantes entre eles. Pela análise backward foram detectados os melhores marcadores que explicaram a maior parte da variância fenotípica tanto para o peso específico como para a cor de *chips*. Este trabalho permitiu selecionar clones com bom desempenho agrônomo e com características que conferem qualidades para o processamento industrial. Os coeficientes de correlação entre as gerações foram moderados, sugerindo a prática de seleção

* Orientador: César Augusto Brasil Pereira Pinto - UFLA

negativa leve para a maioria das características, com exceção do peso específico e da cor de *chips* que apresentaram altos valores de correlação a partir da terceira geração clonal. A baixa magnitude do coeficiente de correlação para a aparência geral dos tubérculos, indica que esse é um caráter pouco confiável para ser selecionado até a quarta geração clonal. Os marcadores genéticos explicaram grande parte da variação fenotípica, tanto para o peso específico como para a cor de *chips* e poderiam auxiliar os melhoristas em futuras seleções assistidas por marcadores.

ABSTRACT

ANDREU, Mario Alejandro. **Selection of clones and identification of genetic markers for tuber processing traits in potato.** Lavras: UFLA, 2004. 94p. (Master's Dissertation on Plants Genetics and Breeding)*

Success in potato breeding programs depends fundamentally on the correct choice of parents and the efficient selection procedure for identifying the superior genotypes from a segregating population. Genetic markers are a potent tool to aid selection and could allow an early identification of individuals with a better combination of favorable alleles. Marker assisted selection could have a great impact on the methodologies and improvement strategies to increase the efficiency of selection. The present study aimed to evaluate and select potato clones for agronomic and processing traits and to identify molecular and biochemical markers, associated with the superior processing qualities of different potato genotypes. Second and third clonal generations of potato were evaluated for the major agronomic and processing traits in the 2002-growing season. The best clones were selected and tested again (third and fourth generations) in the 2003-growing season. For the detection of genetic markers, forty-two potato genotypes were placed in two contrasting groups for tuber specific gravity and chip color according to their stability for these traits along the generations. ANOVA, multiple linear regression and Backward analysis were performed. Heritabilities and correlation coefficients among generations for agronomic and quality traits were moderate to high for the appraised characteristics. It was possible to detect 13 polymorphic loci for tuber specific gravity and 14 polymorphic loci for chip color that explained 74.5% and 47.8% of the phenotypic variation, respectively. When considered the type II sum of squares, most of the markers were not significant indicating the existence of redundant information among them. Through the Backward analysis there were detected the best markers that explained most of the phenotypic variation for tuber specific gravity and for chip color. This study allowed to conclude (a) heritabilities were low for agronomic and quality traits in the first generations but increased with the advance of generations and the increase in the number of replications, (b) the correlation coefficients among generations were moderate, suggesting a light negative selection for most traits but tuber specific gravity and chip color, which presented high correlation coefficients from the third clonal generation and thereafter, (c) the low magnitude of the correlation coefficient for

* Adviser Professor: César Augusto Brasil Pereira Pinto - UFLA

tuber general appearance showed that this is a little reliable character to accomplish selection in any generation, (d) it was possible to select genetic markers that explained most of the phenotypic variation for tuber specific gravity and for chip color, which could aid the potato breeders in future selections assisted by markers, (e) there were select clones with good agronomic and quality performance.

1 INTRODUÇÃO

A batata é o quarto cultivo em importância mundial depois do trigo, milho e arroz (Anon., 1985; Horton, 1988). No Brasil, a principal forma de consumo é *in natura*, enquanto que, em países industrializados, a batata processada representa quase a totalidade do consumo. Conseqüentemente, características, como a aparência geral, formato, tamanho, cor da periderme dos tubérculos, etc., influenciam a eleição dos consumidores, que consideram estas características associadas à “qualidade” da batata. Porém, a verdadeira qualidade da batata é dada pelo seu valor nutricional ou culinário após cozida ou processada (Dale & Mackay, 1994).

Certamente, o consumo de batata processada industrialmente, na forma de fritura, tem aumentado consideravelmente durante a última década, em muitos países. Uma explicação coerente para este fato, pode ser a rápida modernização e a presença ativa cada vez maior da mulher no mercado de trabalho, originando novos padrões alimentícios no sistema familiar, com maior tendência para o consumo de comida processada ou semiprocessada. Por outro lado, a globalização da economia tem criado uma homogeneização no consumo de alguns produtos que o consumidor procura, como a comida rápida, para a qual a batata é um dos cultivos mais aptos.

Para atender às demandas da indústria com cultivares de batata nacionais, que satisfaçam aos padrões de consumo para o processamento na forma de fritura, os programas de melhoramento genético tradicionais no Brasil têm dado, atualmente, alta prioridade à produção de novas cultivares mais adaptadas, produtivas e com boas qualidade culinárias, porém, ainda são poucas as cultivares lançadas ou à disposição do produtor. Contudo, os programas de melhoramento de batata estão passando por um período de grandes mudanças,

no que diz respeito às metodologias disponíveis para aumentar a precisão e acelerar a seleção de novos genótipos, com maior produtividade e qualidade para processamento industrial. Com o advento das modernas técnicas moleculares, um novo horizonte abriu-se aos melhoristas, vislumbrando-se maiores possibilidades de incrementar a precisão experimental e, conseqüentemente, aumentar os ganhos com a seleção, já que a probabilidade de selecionar genótipos superiores de batata para processamento é de baixa a moderada.

Dentre as principais contribuições que os marcadores genéticos podem trazer para o melhoramento de caracteres quantitativos da batata estão, i) a identificação e a localização de QTL s (“Quantitative Trait Loci”) com grandes efeitos individuais, podendo-se, desse modo, permitir a seleção de indivíduos com base nas informações diretas de seu genótipo e ii) incorporação das informações quanto ao genótipo de um indivíduo, obtida via marcadores genéticos, aos métodos clássicos de melhoramento, chamada seleção assistida por marcadores (“Marker Assisted Selection” – MAS).

A seleção assistida por marcadores (SAM) tem despontado nos últimos anos como uma dessas novas estratégias de seleção, já que os ganhos com os índices de marcador assistido são teoricamente maiores que com a seleção fenotípica. O presente trabalho objetivou:

- a) avaliar e selecionar, para as características agronômicas e de processamento, clones de batata previamente estudados por Amaro (2002);
- b) identificar marcadores moleculares e bioquímicos que explicam a variabilidade fenotípica, relacionada à qualidade para processamento de tubérculos de diferentes genótipos de batata.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Importância industrial da batata

O processamento da batata é tão antigo como o seu consumo *in natura*. Estudos arqueológicos demonstraram que a maior parte dos povos nativos das montanhas do Peru já processava o tubérculo desde o século II d.C. Este tipo de preparação facilitava o transporte e a conservação dos tubérculos, alimento básico e principal fonte de sobrevivência dos povos indígenas. (Talburt, 1975). Após a sua introdução na Europa, o processamento da batata foi “redescoberto”, em especial na forma de fritura, modalidade que se expandiu para o mundo todo, principalmente para a América do Norte, onde adquiriu grande importância (Hawkes, 1994). Já na segunda metade do século XX, os EUA destinavam cerca de 46% de sua produção total de batata para o processamento, sendo que grande parte da batata comercializada *in natura* também era consumida na forma de fritura (Talburt, 1975).

A tendência mundial do mercado da batata na última metade do século passado foi a redução do consumo do tubérculo *in natura* e o aumento do consumo da batata na forma de fritura (www.ers.usda.gov acesso: 15/12/02), uma vez que a batata minimamente processada detém os atributos de conveniência e de qualidade das batatas frescas. O propósito do seu fornecimento é o de disponibilizar um produto que não requeira nenhuma preparação posterior por parte do consumidor no que se refere à seleção, limpeza, lavagem, descascamento e corte. Outra grande vantagem desses produtos é a redução praticamente total dos desperdícios.

A globalização da economia tem levado à homogeneização de consumo de alguns produtos, como a comida rápida, para a qual a batata é um dos produtos mais aptos. Nos últimos 30 a 40 anos, a industrialização da batata vem

umentando em todas as partes do mundo, principalmente com os produtos “chips” e batata pré-frita congelada, seja pela disponibilidade do produto ao consumo imediato ou pela facilidade e rapidez no preparo final, respectivamente. Ressalta-se, também, o fator custo, visto que a indústria pode oferecer o produto a preços baixos por adquirir grandes volumes, estar perto do centro dos produtores, ter o produto disponível quando o mercado do produto *in natura* estiver com preços altos e possibilitar o aproveitamento de subprodutos de processamento (www.ers.usda.gov acesso: 15/12/02; Pereira et al., 1987; Silva, 1991).

O maior produtor mundial de batatas fritas é os EUA, que destinaram 70% da produção da batata fresca à indústria durante os anos de 2000 e 2001, o que representou 4,6 milhões de toneladas em produtos processados. No Brasil, no mesmo período, o volume de batata consumido pela indústria foi de 270.000 toneladas de batata fresca, o que corresponde ao 10% da produção nacional (Takano, 2001). Existe uma previsão estimada de aumento no consumo de produtos fritos em 25% para os próximos 10 anos, o que corresponde a aproximadamente 940.000 toneladas de batata fresca para a indústria. Caso neste período o Brasil ainda não tenha implementado uma forte política de industrialização da batata frita em larga escala, as perdas com as importações deste produto representarão aproximadamente 50 milhões de dólares (Takano, 2001). Mesmo com as cifras anteriormente apresentadas, as perspectivas para a exportação da batata frita são ainda mais promissoras com o recente surgimento de novos mercados importadores, como a União Européia e o Japão, que nos últimos anos vem apresentando uma alta demanda interna por este tipo de produto (www.inversiones.gov.ar acesso: 26/08/03). Percebendo tais oportunidades de mercado, novas empresas têm surgido no Brasil nos últimos anos, com uma capacidade produtiva de aproximadamente 4 toneladas/hora. Contudo, a empresa líder do mercado, a Elma Chips, já explora tal mercado com

sucesso desde 1974 (www.elmachips.com.br acesso: 15/12/02; Norio & Fukua, 2001).

Segundo Costa (1992) e Rodrigues (1990), no Brasil, o consumo da batata é quase exclusivamente na forma *in natura*, exceto uma pequena quantidade que é de alguma forma processada. Atualmente, existe uma diminuição no consumo da batata fresca, devido, principalmente, às dificuldades no armazenamento doméstico, descascamento, fritura ou cozimento (Davies & Mackay, 1994). Assim, o Brasil possui um mercado consumidor potencial para a batata processada industrialmente na forma de fritura, mas, para atender a essa demanda, são necessárias cultivares que satisfaçam a alguns padrões de qualidade. Essas cultivares devem possuir componentes de qualidade interna muito importantes que fazem a boa culinária, como altos teores de matéria seca e baixas concentrações de açúcares redutores, além de apresentar componentes de qualidade externa, como olhos pouco profundos, tamanho e formato adequados para cada finalidade (Lopes & Buso, 1997). São poucas as cultivares nacionais e estrangeiras que possuem as características anteriormente mencionadas, requeridas para atender ao crescente uso industrial. Por este motivo, o programa de melhoramento de batata da UFLA visa à criação de cultivares com maior produtividade, rusticidade e, principalmente, melhor qualidade.

Além do mercado promissor, o processamento da batata no Brasil ainda conta com outra grande vantagem, que é a produção de batata durante todo o ano, o que poderia atender à estabilidade de fornecimento de matéria-prima à indústria, sem necessidade de formação de grandes estoques armazenados em câmaras frias, que oneram os custos e depreciam o produto final. Mas, apesar dessas vantagens, alguns problemas necessitam ser superados, tais como adaptar a produção à necessidade da indústria, que requer preços mais constantes e matéria-prima de qualidade, conforme o tipo de utilização, o que demanda cultivares que atendam a tais especificações (Popp, 1993; Norio & Fukua, 2001).

2.2 Características principais dos tubérculos para fritura

2.2.1 Matéria seca

A quantidade de matéria seca é uma característica que depende, principalmente, do conteúdo de amido nos tubérculos de batata. A síntese, transporte e acúmulo da matéria seca são características quantitativas controlada por vários genes (Haynes & Haynes, 1983) e afetadas por diferentes fatores ambientais (Smith, 1975; Chen et al. 2001; Dale & Mackay, 1994), em especial o local, a época de cultivo, pragas e doenças.

Altas temperaturas, especialmente a noite, quando as plantas estão respirando e, portanto, gastando maior quantidade de energia, diminuem o teor de matéria seca. Isso explica porque tubérculos colhidos em condições tropicais apresentam menores teores de matéria seca que os colhidos em condições temperadas, quando se utiliza a mesma cultivar (Menezes, 2001; Manrique, 1989; Fontes & Finger, 1999; Malik et al., 1992 e Cacace et al., 1994)..

A proporção de matéria seca nos tubérculos de batata determina em grande parte o valor alimentício e da qualidade culinária. Altos teores de matéria seca favorecem a qualidade final do produto, conferindo-lhe menor absorção de óleo, maior rendimento e crocância, ficando menos engordurados e moles (Gould, 1989; Zorzella, 1999). Tubérculos com baixos conteúdos de matéria seca absorvem mais óleo durante a fritura, diminuem a qualidade e a vida útil do produto, alterando o sabor, bem como aumentando os custos da produção (Silva, 1991).

Para a produção industrial de “*chips*”, batata palha e palitos, o teor de matéria seca deve ser de 20% a 24%, que equivale a um peso específico de 1,080 a 1,095 (Pereira, 2000).

A estimativa do peso específico é geralmente a metodologia mais empregada para a determinação da matéria seca (Porter et al., 1964; Woodbury

& Weinheimer, 1965; Kleinkoff et al., 1987). Para a obtenção do peso específico deve-se estabelecer o peso dos tubérculos tanto no ar como na água, de acordo com a seguinte equação (Smith, 1975; Kleinkopf et al., 1987):

$$PE = \text{Peso no ar} / (\text{Peso no ar} - \text{Peso na água})$$

A vantagem desta metodologia é que, além de ser simples, é não destrutiva. Segundo Schippers (1976), existe correlação positiva entre o peso específico e o teor de matéria seca.

A acúmulo da matéria seca nos tubérculos maduros de batata é o resultado da fixação do carbono pela fotossíntese, a síntese de amido e sua conversão em sacarose nas folhas verdes ativas, o transporte vascular da sacarose das folhas até o tubérculo e a síntese e degradação do amido no tubérculo durante o crescimento e armazenamento (Chen et al., 2001). O amido constitui o componente majoritário da matéria seca, dando-lhe a propriedade de alimento energético que caracteriza a batata (Lorenzo, 1994).

2.2.2 Açúcares redutores

Os açúcares redutores são açúcares simples, formados nas plantas pelo processo da fotossíntese. O dióxido de carbono do ar e a água do solo combinam-se para formar estes açúcares nas folhas das plantas verdes, quando elas são expostas à luz. Na batata, estes açúcares simples, combinados na forma de sacarose, são transportados através da haste até os tubérculos. Posteriormente, dentro dos tubérculos, a sacarose é transformada em amido. O amido é armazenado nos tubérculos e continua a acumular-se até que a planta pára de manufaturar açúcares (Gould, 1989).

Dentre vários fatores ambientais importantes, o estresse é um dos que mais afetam a quantidade de açúcares sintetizados, como também a quantidade de amido e de sólidos totais acumulados durante o crescimento da planta. Após a colheita, durante o armazenamento, a temperatura dos tubérculos reduz e,

portanto, continuam a assimilar oxigênio e soltar dióxido de carbono. Este processo é conhecido como respiração, que é o inverso da fotossíntese e, nele, o amido é hidrolisado à sacarose e a sacarose é hidrolisada a açúcares redutores, liberando dióxido de carbono e água, que acumulam-se na atmosfera (Gould, 1989).

Em termos de qualidade para processamento, as altas concentrações de açúcares, principalmente das hexoses, glicose e frutose, são críticas, pois estes açúcares redutores influenciam diretamente a coloração dos produtos processados e, portanto, condicionam a sua aceitação pelos consumidores (Yada & Coffin, 1987; Pereira & Costa, 1997; Dale & Mackay, 1994). A principal razão destes açúcares redutores afetarem a qualidade da batata é o fato de que, sob altas temperaturas de fritura, ocorre a reação típica de Maillard entre os açúcares e os compostos nitrogenados dos grupos de α -aminoácidos presentes nos tubérculos (Schallenberg et al., 1959). Segundo Melo (1999) e Pereira (2000), os teores de açúcares redutores nos tubérculos de batata indicados para a indústria da batata frita devem ser abaixo de 0,2%. A cor desenvolvida após a fritura pode ser branco-amarelado (aceitável), passando por uma coloração ouro (desejável) e marrom-escuro (rejeitável).

A tendência para acumular maior ou menor concentrações de açúcares redutores nos tubérculos é uma característica sujeita a uma considerável influência genética, devido ao grande número de genes e também pelo ambiente (Stevenson et al., 1954; Melo, 1999), ou seja, é uma característica quantitativa, na qual ganhos com a seleção podem ser obtidos gradativamente (Love et al., 1998). Entre os fatores ambientais podem-se mencionar o grau de maturação dos tubérculos na época da colheita e as condições climáticas e nutricionais de cultivo (Gould, 1988; Melo, 1999).

As baixas concentrações de sacarose na colheita não garantem o sucesso com a seleção para melhor qualidade e resistência ao frio, o que poderia gerar

menor eficácia no processamento da batata. Altos conteúdos de sacarose na colheita podem ser rapidamente detectados num programa de melhoramento e determinados como inaceitáveis para o processamento. As determinações dos níveis de açúcares redutores e o conhecimento do controle genético podem indicar quais cruzamentos devem ser selecionados para o processamento e determinar quais parentais devem ser usados para o desenvolvimento de variedades para *chips* (Gould, 1989).

O tempo e as condições em que os tubérculos da maioria das cultivares ficam armazenados em câmara fria influenciam diretamente na coloração da batata após a fritura, já que estas condições promovem a conversão de amido em glicose e frutose (Davies & Viola, 1992; Copp et al., 2000; Sowokinos et al., 1997). O frio altera a composição lipídica das membranas plasmáticas celulares, o que produz um rápido aumento na atividade de diferentes enzimas envolvidas nas diferentes etapas de várias vias bioquímicas, relacionadas ao metabolismo de aminoácidos e carboidratos (Guy, 1990; Tomashow, 1990). Este fato indica que tanto as baixas como as altas temperaturas poderiam induzir à expressão diferencial de genes, sendo que as mudanças metabólicas produzidas pelo frio induzem à conversão da sacarose nos açúcares redutores glicose e frutose (Isherwood, 1976; Copp et al., 2000). Em algumas cultivares, o acondicionamento por um período de 2 a 4 semanas a 20-24°C, depois de armazenamento a frio, resulta numa rápida diminuição dos açúcares redutores, melhorando a sua condição para a fritura (Coelho et al, 1999; Chapper, et al., 2002). Infelizmente, após as batatas serem armazenadas a 4°C, nem todos os genótipos têm a mesma aceitabilidade para *chips* (Ap Rees & Morrell, 1990; Stevenson & Cunningham, 1961). O controle genético de resistência à reversão e ao acondicionamento são importantes no melhoramento da batata e a herdabilidade para a cor de *chips* no tetraplóide tem sido estudada (Colon et al., 1989; Ehlenfeldt et al., 1989; Lauer & Shaw, 1970). Existem cultivares que têm

uma relativa resistência ao adoçamento a frio (Gould, et al., 1979; Hermundstad & Peloquin, 1985) e um grande número delas tem demonstrado ter baixa atividade das enzimas que degradam o amido (Denny & Thornton, 1940; Denny & Thornton, 1941). Porém, a sensibilidade ao adoçamento a frio também pode ser função da propriedade dos próprios grânulos de amido, os quais podem influenciar a sua susceptibilidade à degradação por enzimas endógenas (Cottrell et al., 1995).

Três locos parecem estar envolvidos na herança ao acondicionamento. Tubérculos bons para a produção de *chips* ocorrem quando existe pelo menos um alelo dominante em cada um dos três locos. *Chips* pobres ocorrem quando pelo menos um loco tem todos os alelos recessivos. Segundo Thill & Peloquin (1994), para batata diplóides, os genótipos com uma constituição A_B_C_ são bons para a produção de *chips* claros, enquanto que genótipos do tipo A_B_cc demonstraram-se pobres para a produção *chips* claros.

Entre os diversos métodos utilizados para determinar as concentrações de açúcares redutores, estão as glico-fitas usadas para a determinação de glicose na urina ou no sangue humano, proposto por Neele & Louwes (1989), sendo geralmente as mais utilizadas, principalmente por ser uma metodologia rápida e barata de estimativa de glicose. A grande desvantagem desta metodologia é que as concentrações de açúcares redutores observadas nos tubérculos de batata estão bem acima daquelas encontradas no sangue ou na urina humana, diminuindo a precisão experimental dos dados obtidos a partir delas. Portanto, para aumentar a precisão experimental, Cunningham & Stevenson (1963), Pereira & Costa (1997), Douches et al. (1996) e Gould (1988) têm utilizado a coloração desenvolvida pelas fatias de batata após a fritura (*chips*) como uma estimativa indireta da concentração de açúcares redutores e da qualidade, comparando-as com tabelas comerciais ilustrativas, como as da “*Potato Chip and Snack Food Association*” dos EUA, que possui uma escala que varia de 1 a

5, sendo os *chips* com escores iguais ou inferiores a 2,5 considerados aceitáveis comercialmente.

2.3 Metabolismo dos carboidratos no tubérculo de batata

A distribuição dos carboidratos nas diversas partes das plantas através das várias vias biossintéticas, é um ponto importante e central para o crescimento, desenvolvimento e produtividade. A tuberização é acompanhada de duas mudanças bioquímicas: a acumulação de amido e a produção de novas proteínas específicas do tubérculo (Obata-Sasamoto & Suzuki, 1979). Na tuberização, ocorrem numerosos processos, como melhora na assimilação de CO₂ nas folhas, aumento no transporte de carbono para os tubérculos em desenvolvimento, diminuição dos níveis de açúcares redutores e incrementos nos níveis de sacarose, processo que leva à formação de altos teores de amido (Van Es & Hartmans, 1987). Todos esses processos são mais ou menos independentes entre eles.

Diversos passos bioquímicos estão envolvidos na produção de amido, constituinte principal da matéria seca dos tubérculos de batata e outras espécies, e na produção dos açúcares redutores, glicose e frutose (Sowokinos, 2001).

Durante a década passada, ferramentas moleculares usando *Agrobacterium* mediando a transferência de genes em batatas têm se tornado disponíveis para manipular e analisar a expressão gênica (Stitt & Sonnewald, 1995) e fornecido muitas informações referentes às contribuições, que cada enzima tem individualmente, na regulação do fluxo de carbono através da rota metabólica.

2.3.1 Síntese de amido

A rota metabólica dos açúcares e do amido em tubérculos de batata é mostrada na Figura 1.

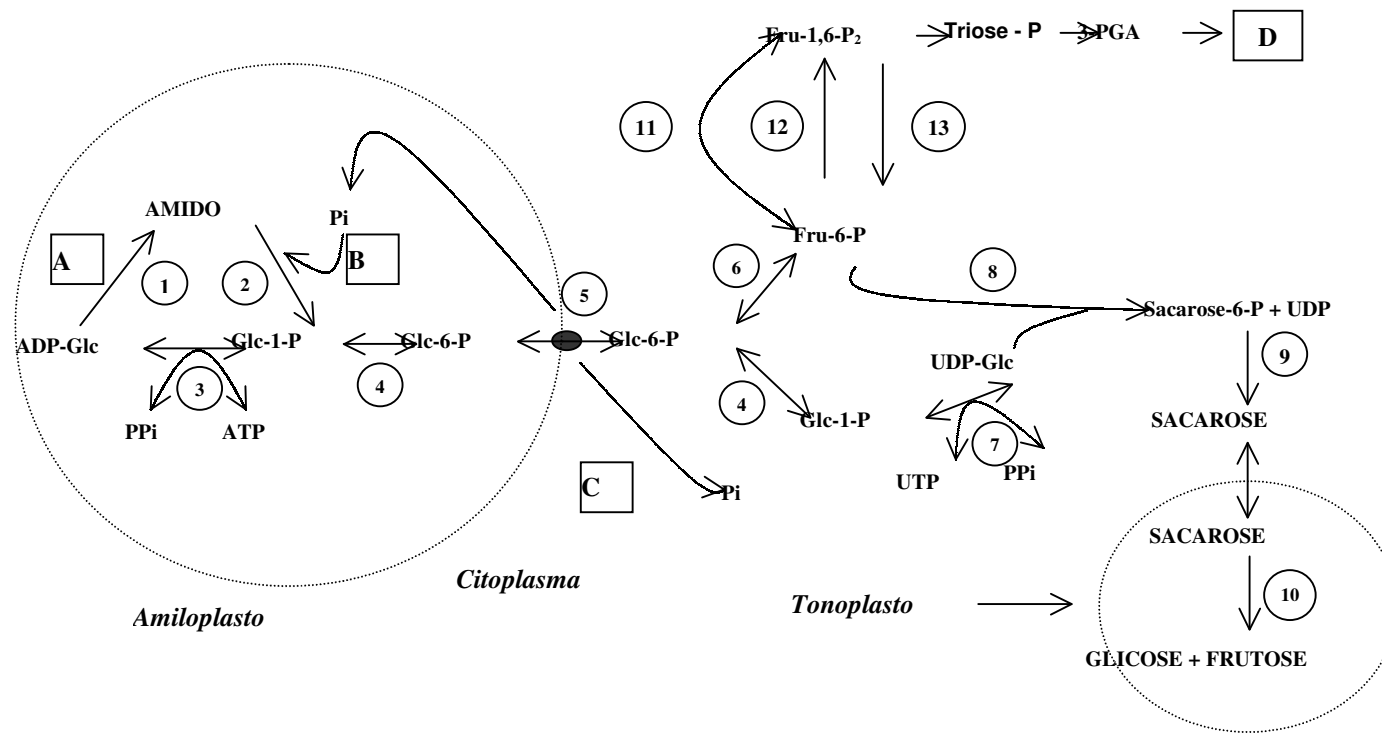


FIGURA 1. Metabolismo dos carboidratos em tubérculos de batata. A. Síntese de amido, B. Degradação de amido, C. Hexogênese e D. Glicólise. As enzimas representadas são (1) SS, (2) SP, (3) AGPase, (4) Pgm, (5) Glicose-6-fosfato (translocadora de fosfatos) (6) Fosfohexoseisomerase, (7) UGPase, (8) SPS, (9) Sacarose-6-fosfato fosfatase, (10) Invertase ácida, (11) PPi-PFK, (12) ATP-PFK, (13) FBPase. Adaptado de Sowokinos (2001).

A síntese de amido ocorre nos amiloplastos das células dos tubérculos de batata envolvendo adenosina difosfato glicose pirofosforilase (AGPase). A AGPase é uma enzima chave na biossíntese de amido nas plantas, sendo central no controle da capacidade de dreno nas plantas armazenadoras de amido (Preiss, 1988). Ela tem propriedades reguladoras em tecidos fotossintéticos e não fotossintéticos, sendo estimulada pelo 3-fosfoglicerato (3-PGA) e inibida por fósforo inorgânico (Pi) (Preiss, 82-88; Fernie, et al., 2002). Esta enzima tem regulação alostérica e está limitada ao tubérculo na batata. Pesquisas realizadas em plantas desprovidas de AGPase demonstraram que o conteúdo de amido foi reduzido (Müller-Röbert et al., 1992). Os genes que codificam para a AGPase continuam a funcionar desde que se codifiquem seqüencialmente outras enzimas responsáveis pela iniciação da síntese de amido codificadas pelos genes de amido sintetase (SS) e amido sintetase da destinada ao amiloplasto (GBSS) e a enzima ramificadora do amido (SBE), as quais formam a amilose e a amilopectina, respectivamente (Geigenberger et al., 1994).

O amido é um componente formado por dois polímeros específicos, a amilose, com enlaces α -1,4 glicosídicos lineares e a amilopectina, em que os enlaces α -1,4 da amilose são degradados a enlaces α -1,6 durante o processo de formação do amido, pela enzima SBE. As isoformas da amido sintetase (SS) que participam da formação do amido podem ser classificadas, de acordo com a sua localização dentro dos plastídios. A forma SS₁ é destinada exclusivamente ao amiloplasto e as outras estão localizadas predominantemente na fase solúvel do estroma dos plastídios (Edwards et al., 1999; Fulton et al., 2002).

A inibição da síntese de amido resulta em mudanças no desenvolvimento: primeiro, o número de tubérculos incrementa-se e segundo, a estrutura estolão/tubérculo é alterada (Müller-Röbert et al., 1992; Willmitzer, et al., 1994).

As perdas de amido são compensadas principalmente por aumentos nos níveis de sacarose e glicose. Devido a este aumento nos açúcares, os tubérculos acumulam altos conteúdos de água, diminuindo o conteúdo de sólidos (Willmitzer et al., 1994).

2.3.3 Degradação do amido

As enzimas que degradam o amido atuam diminuindo o grau de polimerização das uniões α -1,4 de unidades de glicose (Steup, 1990). Por meio da ação de enzimas hidrolíticas, o amido é degradado a uma mistura de dextrinas, maltose e glicose. A amido fosforilase (SP) transfere um resíduo glicosil de um extremo não reduzido de uma cadeia ligada à amilose ao fósforo inorgânico, formando glicose-1-fosfato (Glc-1-P) (Sowokinos, 2001). O processo de degradação do amido ocorre principalmente durante períodos de estresse e tem sido considerado um processo mais fosforolítico do que hidrolítico na natureza (Mares et al., 1985; Morell & Ap Rees, 1986). Esta visão é apoiada pelo fato de que a sacarose é o primeiro açúcar livre a se acumular durante os processos de estresse, mais que a maltose ou glicose (Sowokinos, 1990). Em tubérculos de batata, duas isoenzimas amido fosforilases, tipo L e H, têm sido descritas e acredita-se que sejam as responsáveis pela completa ruptura do amido (Sonnewald et al., 1995). O tipo L encontra-se nos amiloplastos, enquanto que o tipo H tem localização citossólica.

2.3.4 Hexogênese

A mais direta aproximação para tentar inibir o adoçamento em batatas poderia ser pelo entendimento dos passos envolvidos diretamente dentro das rotas metabólicas que produzem o adoçamento. A sacarose fosfato sintetase (SPS) é a enzima das plantas, que se acredita-se a maior responsável pela biossíntese da sacarose, tanto em tecidos fotossintéticos como não

fotossintéticos (Huber & Huber, 1996). A sacarose-6-fosfato (Sac-6-P) é sintetizada por UDP-Glc e frutose-6-fosfato (Fru-6-P), pela ação de SPS (Huber & Huber, 1992). Uma fosfatase específica imediatamente desfosforila a sacarose-6-fosfato a sacarose livre (Mares et al., 1985).

A sacarose é considerada como um produto de transporte da fotossíntese. O carbono é transportado das folhas pelos tecidos vasculares na forma de sacarose, que é posteriormente processado na forma de hexoses fosfatos (Nakata & Okita, 1994). Quando as duas hexoses componentes da sacarose (glicose e frutose) são dirigidas para formar amido, elas devem entrar primeiro no pool das hexoses fosfatos (Hajirazaei, et al., 2000; Sowokinos, 1994; Gould, 1988; Nakata & Okita, 1994).

Sung et al. (1989) explicam que esta conversão está associada seqüencialmente a duas enzimas: a primeira é a sacarose fosfato sintetase (SPS) a qual catalisa a formação de alta energia que contém os nucleotídeos de glicose, uridina difosfoglicose (UDP-Glc). A atividade de SPS é regulada alóstericamente por glicose-6-fosfato (Glc-6-P) (ativação) e P_i (inibição), sendo a atividade desta enzima inversamente correlacionada com o conteúdo de amido (Huber, 1981). O substrato para SPS, a UDP-Glc, é formada pela uridina difosfatoglicose pirofosforilase (UGPase). A enzima UGPase catalisa o primeiro passo comprometido na via de adoçamento em tubérculos de batata, por meio da formação de nucleotídeos glicosilados, como a UDP-Glc e por catalisar a conversão reversível dos metabólitos Glc-1-P e UDP-Glc. A UDP-Glc é um metabólito chave devido à sua ação reversível, já que, quando a tendência na célula é a formação de sacarose, contribui com um resíduo de glicose para a frutose-6-fosfato (Fru-6-P) para formar Sac-6-P, a qual é imediatamente desfosforilada à sacarose (Burrell, 1994). Quando a sacarose entra no tonoplasto, pode alternativamente ser clivada pela enzima invertase ácida, em glicose e frutose, originando açúcares redutores. No acondicionamento, os açúcares livres

produzidos nesta reação poderiam posteriormente ser fosforilados por uma enzima quinase apropriada, para tornar o processo reversível. As invertases e hexokinases estão envolvidas na degradação da sacarose. Isto é baseado em observações de que a atividade da invertase ácida está inversamente correlacionada com os conteúdos de sacarose (Hatzfeld et al., 1990; Ap Rees, 1974; Davies et al., 1989).

O metabólito UDP-Glc também catalisa a formação de Glc-1-P, a qual é, posteriormente, processada na forma de glicose-6-fosfato (Glc-6-P) pela enzima fosfoglucomutase plastidial (Pgm) (Shott et al., 1995) durante o processo de acumulação de amido nas células. A Glc-6-P é o único metabólito C₆ ou C₃ eficientemente transportado através da membrana do amiloplasto, para levar a cabo a síntese de amido (Tauberger et al., 2000). Para que UDP-Glc seja convertida a hexose fosfato, uma das bases de uniões α - β fosfodiéster deve ser clivada. Posteriormente, quando a hexose fosfato é transportada para dentro dos amiloplastos, ocorre uma nova interconversão de Glc-6-P para Glc-1-P, que é o metabólito usado como substrato pela AGPase (Nakata & Obita, 1994).

2.3.5 Glicólise

Na teoria, estresses, como o frio, afetam a ótima funcionalidade de algumas enzimas glicolíticas, incrementando a concentração de hexoses fosfatos, resultando no estímulo da síntese de sacarose (Dixon & Ap Rees 1980; Dixon et al., 1981; Hammond et al., 1990; Viola e Davies, 1994).

A enzima citosólica frutose 1,6 difosfatase (FBPase) catalisa a interconversão de frutose 1,6 difosfato (Fru-1,6-P₂) em Fru-6-P, para a síntese de Sac-6-P a partir da UDP-Glc pela UGPase e Fru-6-P, para, posteriormente, a Sac-6-P ser defosforilada produzindo o produto final, a sacarose (Figura 1).

A adenosina trifosfato fosfofrutokinase (ATP-PFK) catalisa a conversão irreversível da Fru-6-P em Fru-1,6-P₂ e é considerada como a enzima reguladora

da entrada na glicólise (Bryce & Hill, 1993). Segundo Kruger et al. (1988), durante o armazenamento frio dos tubérculos de batata, diminui a atividade desta enzima, causando uma redução na proporção de substratos que entram na glicólise e, portanto, um aumento na quantidade de açúcares acumulados.

A pirofosfato fosfofrutokinase (PPi-PFK) é uma enzima capaz de realizar a fosforilação reversível de Fru-6-P usando pirofosfato (PPi) como doador de fósforo (Kruger et al., 1988). A estimulação da PPi-PFK para a formação de Fru-1,6-P₂ favorece a glicólise, enquanto que a reação reversa (formação de Fru-6-P) favorece a formação de sacarose. Trevanion et al. (1991) concluíram que qualquer restrição (e.g. frio) na interconversão de Fru-6-P e Fru-1,6-P₂ poderia contribuir para a acumulação de hexoses fosfatos e, subseqüentemente, levar a um incremento na síntese de sacarose.

2.4 Melhoramento genético visando à qualidade industrial da batata

Devido ao constante crescimento e a demanda cada vez maior por parte da indústria, de cultivares de batata que atendam aos requerimentos de qualidade culinária para o processamento, a maioria dos programas de melhoramento de batata do mundo tem voltado seus trabalhos de pesquisa para aumentar os progressos genéticos obtidos com a seleção de novos materiais aptos para a indústria (Costa & Pereira, 1995; Melo, 1999).

Avaliar a contribuição do melhoramento genético da batata para a produtividade e a qualidade é um processo complexo, devido ao fato de que diferentes cultivares são destinadas para diferentes usos. Além do mais, a qualidade da batata difere com os tipos de utilização e a relativa importância do mercado, o qual determina a utilização, que muda o tempo todo. Conseqüentemente, tem-se documentado um incremento nos caracteres de qualidade com a introdução de novos cultivares dentro dessas classes de mercado (Douches et al., 1996).

Conforme relata a literatura, diversos resultados têm sido obtidos a partir do estudo dos caracteres que afetam a qualidade industrial. Conforme Singh (1969), é possível encontrar herdabilidades que variam de 5% a 60% entre diferentes pares de cruzamentos e, portanto, ganhos genéticos poderiam ser alcançados entre cruzamentos para alto peso específico e baixas concentrações de açúcares redutores, apesar de serem características consideravelmente afetadas pelo ambiente. Akeley & Stevenson (1944) obtiveram progênies com alto peso específico a partir dos cruzamentos de parentais com baixo e médio peso específico, indicando a existência de variação genética afetada por um grande efeito ambiental.

Conforme Cunningham & Stevenson (1963) e Singh (1969), nas primeiras gerações clonais, o peso específico é uma característica com herança quantitativa, de baixa herdabilidade e genes recessivos poderiam também estar envolvidos (Borger et al., 1954). Numerosos estudos têm confirmado a complexidade de expressão do peso específico sobre diferentes locais e estações (Killick & Simmonds, 1974; MacArthur & Killick, 1976).

Rodrigues (2001) encontrou que a seleção para a matéria seca propiciou maior ganho com a seleção do que para a cor de *chips* por apresentar maior herdabilidade e variância genética. Capezio et al. (1992-93), Amaro (2002) e Lambert (2001) também obtiveram valores de herdabilidade altos para o peso específico, quando avaliaram vários ciclos de seleção. Para a cor de *chips*, Cunningham & Stevenson (1963) verificaram alta herdabilidade, a partir da análise combinada da variância de 24 progênies, em dois anos de teste. Estes resultados são semelhantes aos encontrados por Rodrigues (2001), que encontraram herdabilidades moderadas para a cor de *chips* e altas para a matéria seca, nas condições climáticas do sul do Brasil. Conforme Dale e Mackay (1994), a cor do *chips* está intimamente relacionada com o conteúdo dos açúcares dos tubérculos que variam consideravelmente entre cultivares, locais e

estações do ano, afetando consideravelmente a correta estimativa da herdabilidade. Contudo, apesar de estimativas moderadas a altas de herdabilidade, tanto para peso específico como para cor de *chips* em batata, deve-se ressaltar que este é um parâmetro fortemente influenciado pelo ambiente, podendo os índices variarem de um ambiente para outro.

Depreende-se das pesquisas que, entre os principais problemas que afetam os rápidos progressos genéticos dos programas de melhoramento genético convencionais da batata, estão:

i) que este é um processo em que um grande número de genótipo é avaliado para identificar somente um pequeno número de indivíduos superiores, portanto, apresenta a dificuldade para encurtar os ciclos de seleção, devido à baixa eficiência da seleção precoce de bons genótipos (Maris, 1988; Anderson & Howard, 1981; Brown et al., 1984; Tai & Jeong, 1984; Pinto et al., 1994), já que as progênes selecionadas nas primeiras gerações são misturas de genótipos superiores e inferiores para várias características. O tempo que se gasta para desenvolver uma cultivar é de 12 a 15 anos (Tai & Jeong, 1984) devido à avaliação de clones avançados em múltiplos anos e locais para identificar genótipos superiores, tanto para características agronômicas, como de processamento. A necessidade de reduzir a quantidade de material para que possa ser avaliado mais precisamente nas gerações avançadas faz com que os melhoristas apliquem uma forte pressão de seleção sobre os genótipos nas primeiras gerações clonais, baseados, principalmente, nas avaliações visuais dos clones, as quais não são uma metodologia muito efetiva (Tai, 1975; Brown et al., 1984). Somente recomenda-se a seleção precoce para caracteres pouco influenciados pelo ambiente, como cor e textura da periderme, profundidade dos olhos e formato dos tubérculos (Jong & Burns, 1993).

ii) A seleção de genitores para melhoramento de características quantitativas baseadas somente em sua aparência fenotípica não permite uma

caracterização adequada e, por esta razão, é que seria muito importante, detectar genótipos superiores por meio da incorporação dos marcadores genéticos, como metodologia alternativa e complementar ao melhoramento genético convencional (Knapp, 1998).

2.5 Aplicação dos marcadores genéticos ao melhoramento de plantas

A ausência de segregação fenotípica discreta impossibilita o uso das técnicas mendelianas clássicas para se estudar os poligenes (Tanksley, 1993). A resolução dos caracteres quantitativos pela utilização de marcadores moleculares tem permitido identificar, mapear e medir os efeitos dos genes controladores dos caracteres quantitativos e é a contribuição de maior expressividade para o melhoramento (Zehr et al., 1992).

A seleção indireta, por meio de marcadores genéticos, tem sido sugerida para características com baixa herdabilidade, que requerem grandes populações para serem melhoradas, além de sua mensuração ser cara e difícil de realizar. Essas sugestões se baseiam no fato dos marcadores serem distribuídos amplamente pelo genoma e de possuírem genótipos conhecidos, possibilitando a identificação de indivíduos superiores de forma mais eficiente, reduzindo os custos (Zehr et al., 1992).

Há razões para se acreditar que a genética molecular não poderá substituir completamente os métodos de melhoramento tradicionais, devendo-se integrar a eles para se obter o máximo de ganho de forma econômica e racional (Lande & Thompson, 1990). Um método para integrar a genética molecular com a seleção artificial, com o objetivo de aumentar a eficiência do melhoramento, é conhecido como seleção assistida por marcadores (SAM). Este índice maximiza a taxa de melhoramento em caracteres quantitativos sob diferentes esquemas de seleção assistida por marcadores, combinando informações de polimorfismos

genético moleculares (locos marcadores) com dados de variação fenotípica entre os indivíduos (Lande & Thompson, 1990).

2.5.1 Detecção de QTLs por meio de marcadores genéticos

No começo do melhoramento, os estudos genéticos eram realizados utilizando-se marcadores morfológicos determinados por mutações simples em um gene particular, gerando alterações fenotípicas de fácil identificação no organismo. No entanto, devido ao reduzido número de marcadores fenotípicos disponíveis, a ausência de ligação destes com caracteres de importância econômica e aos efeitos deletérios das mutações limitou-se sua utilização (Guimarães & Moreira, 1999). O principal problema na identificação dos caracteres de importância econômica é que eles estão sob controle genético complexo governado por muitos genes, o que torna mais difícil sua compreensão e manipulação (Ferreira & Grattapaglia, 1998).

Existem, na atualidade, tentativas de identificar marcadores moleculares e bioquímicos, ligados a genes que afetam caracteres com herança quantitativa, os quais são o maior fator limitante nos programas de melhoramento de batata. Exemplo disso são os estudos realizados por Freyre & Douches (1994), que determinaram a existência de alguns locos isoenzimáticos com associação altamente significativa no controle do peso específico e a dormência dos tubérculos em batatas diplóides. Mais recentemente, Rocha et al. (2000) estabeleceram que a matéria seca dos tubérculos de batata silvestre tem uma associação altamente significativa com os sistemas isoenzimáticos isocitrato desidrogenase (IDH) e glutamato oxalacetato transaminase (GOT).

Porém, a complexidade das interações genótipo x ambiente deve ser elucidada em detalhes, antes que esse e outros locos isoenzimáticos sejam amplamente usados na determinação de caracteres quantitativos em batata. Por outro lado, os marcadores moleculares podem ajudar a resolver a complexidade

do controle dos caracteres quantitativos, pela identificação dos genes envolvidos e suas interações com o ambiente (Ferreira e Grattapaglia, 1998).

Entre as estratégias usadas para detectar poligenes, sob delineamentos com cruzamentos controlados, a técnica mais simples é a da análise de um só ponto. Nesta aproximação para detectar os QTLs são analisados os dados de um único marcador a cada vez. Esta técnica apresenta algumas desvantagens, como: a) quanto maior é a distância entre o QTL e o marcador, menor é a chance de ser detectado estatisticamente, devido às recombinações entre o poligene e o marcador serem mais frequentes, o que pode resultar em falhas de classificação; b) a magnitude do efeito de um QTL detectado será geralmente subestimada, devido também à recombinação entre o marcador e o poligene. Ambos os problemas podem ser minimizados com o aumento de marcadores pelo genoma (Tanksley, 1993). Nesta análise, o teste F é usado para determinar se existe uma variação significativa na expressão da característica associada com diferenças nas classes genótípicas do loco marcador. Com um valor significativo de F, poderia-se inferir que o marcador genético estaria ligado ao QTL (Ferreira, 1995).

A ligação com marcadores genéticos pode também ser avaliada por meio de uma regressão múltipla dos valores fenotípicos individuais com relação ao número de cópias de um alelo particular (0, 1) dos locos marcadores polimórficos (Lande & Thompson, 1990).

Moreno-Gonzalez (1992; 1993) apresenta métodos de regressão linear múltipla para estimar a associação de marcadores com os QTLs. Foi demonstrado que este é o método mais eficiente para detectar QTLs não ligados. Um problema do método é a sua dependência do tamanho amostral, possibilitando a estimativa de QTLs fantasma em alguns casos (Haley & Knott, 1992).

As análises de regressão linear múltipla com eliminação de marcadores pelo processo de Backward (Drapper & Smith, 1981), também têm sido considerada como um método eficiente para detecção dos melhores marcadores associados aos QTLs (Ferreira, 1995).

Segundo Lander & Botstein (1989) e Weller & Wyler (1992), um outro método para determinar a ligação entre um loco marcador e o QTL é baseado na análise da distribuição de um grupo de genótipos selecionados nos extremos dos valores fenotípicos de toda a população amostrada.

A epistasia pode ser estimada usando-se análise de variância com dois ou mais fatores (marcadores) e considerando-se a interação entre eles. Uma interação significativa entre dois marcadores sugere que os efeitos dos dois QTLs juntos, associados aos dois marcadores, não são simplesmente a soma de seus efeitos individuais (Ferreira, 1995).

2.5.2 Seleção assistida por marcadores – SAM

Tradicionalmente os progressos obtidos nas diferentes culturas por meio de melhoramento genético têm se baseado quase exclusivamente na análise de fenótipos e o maior ou menor sucesso destas análises dependem da herdabilidade do caráter considerado (Ferreira & Grattapaglia, 1998; Lanza et al., 2000).

No início dos anos 1980, com a combinação do desenvolvimento científico e tecnológico, surgiu uma nova metodologia para identificar aqueles genótipos com maior produtividade e adaptação, diretamente no de DNA. Este fato abriu novos caminhos para o desenvolvimento e implementação de programas de melhoramento genético que se baseiam na seleção de indivíduos pelos polimorfismos de seu DNA. Nesses programas, variantes da estrutura do DNA em um determinado loco servem como um marcador da presença de alelos, tendo efeitos positivos ou negativos no QTL que afeta a característica. A

seleção de indivíduos que possuem alelos favoráveis no QTL com base na avaliação direta de seu DNA é denominada SAM (Seleção Assistida por Marcadores) (Soller & Beckmann, 1983,1989; Soller, 1994). O uso, no melhoramento, da seleção assistida marcadores (SAM) surgiu como uma estratégia nova para incrementar os ganhos com a seleção (Dudley, 1993, Landen & Thompson, 1990, Knapp, 1998). Os ganhos com os índices de marcador assistido são teoricamente maiores que com a seleção fenotípica (Landen & Thompson, 1990) já que, quando a SAM é comparada com a seleção baseada nos fenótipos, a primeira resulta ser mais precisa, pois não é afetada pelos efeitos do ambiente e, portanto, pela herdabilidade da característica: não é limitada a um sexo: não destrói o indivíduo: tem ampla cobertura do genoma pelos marcadores e pode ser realizada bem cedo na vida de um indivíduo, sem importar o tamanho e o número de cruzamentos, reduzindo o tempo necessário para a obtenção de novos e melhores genótipos (Lanza et al., 2000).

A seleção assistida por marcadores não tem sido utilizada rotineiramente na prática, pelo fato de ter algumas desvantagens como o não conhecimento da sua eficiência e o seu alto custo. A precisão dos parâmetros obtidos por meio da seleção fenotípica gera grandes incertezas quando a herdabilidade é baixa e o número de amostras é pequeno (Baevis, 1994). Contudo, a seleção fenotípica é fortemente defendida em plantas cultivadas, desprezando a desvantagem teórica da demora com a seleção (Geiger, 1984; Stuber, 1994). A demora com a seleção se produz como consequência do elevado número de gerações, repetições, locais e anos necessários para incrementar a exatidão estatística e da herdabilidade da progênie avaliada (Lanza, et al., 2000).

Contudo, quando detectadas associações entre marcadores moleculares - QTLs, as mesmas podem ser usadas para melhorar a predição de valores genéticos. A seleção de características simples com o auxílio de marcadores moleculares passa a ter grande importância quando os caracteres avaliados são

de difícil mensuração ou quando se deseja selecionar para várias características simultaneamente. No entanto, a SAM tem sua maior contribuição na seleção de características quantitativas (Lanza et al., 2000). As associações entre marcadores genéticos e QTLs podem ser usadas para selecionar indiretamente caracteres quantitativos favoráveis para o melhoramento.

2.6 Tipos de marcadores genéticos

Entre os diferentes tipos de marcadores utilizados em estudos genéticos e no melhoramento de plantas têm-se os marcadores morfológicos, bioquímicos/enzimáticos e os moleculares. Por marcador molecular entende-se todo fenótipo molecular oriundo de um gene expresso ou segmento específico de DNA, correspondentes às regiões expressas ou não do genoma. Por marcadores bioquímicos, entendem-se aqueles derivados da análise isoenzimática (Ferreira & Grattapaglia, 1998). Até meados da década de 1960, os marcadores utilizados em estudos de genética e melhoramento eram controlados por genes associados a caracteres morfológicos. Entretanto, eles ocorrem em número muito reduzido para funcionar como marcadores (Hagiwara, 2001).

Nos últimos anos, o sistema de marcadores moleculares e bioquímicos tem ampliado os horizontes das pesquisas em batata pela aplicação de isoenzimas (Rasmussen & Rasmussen, 1995) de RAPD (Demeke et al, 1993; Sosinski & Douches, 1996) e microssatélites (Veilleux et al., 1995; Kawchuk et al., 1996, Milbourne et al., 1997). Portanto, os marcadores moleculares poderiam ter diversas aplicações tanto no estudo da genética como na prática do melhoramento de plantas. Os marcadores moleculares apresentam amplas vantagens sobre os marcadores morfológicos por fornecer um número quase ilimitado de polimorfismos, distribuídos aleatoriamente ao longo de todo o genoma e por serem independentes dos efeitos ambientais e do estado fisiológico das plantas, permitindo a identificação mais precisa dos genótipos em

qualquer estágio de desenvolvimento. Além disso, fornecem aos melhoristas informações genéticas adicionais e mais detalhadas dos genótipos, aumentando a probabilidade de se desenvolver variedades melhoradas (Lanza et al., 2000).

Em caso de se contar adicionalmente com informação genética e bioquímica sobre as vias metabólicas que controlam uma dada característica, a detecção dos marcadores e sua associação com determinadas características chegam a ser mais precisas e ajudam a desenvolver sistemas de seleção mais eficientes.

2.6.1 Marcadores isoenzimáticos

Definem um grupo de múltiplas formas moleculares de uma mesma enzima que ocorre em uma espécie, como resultado da presença de mais de um gene codificando cada uma das enzimas (Moss, 1982). Estas múltiplas formas podem desempenhar as mesmas atividades catalíticas, mas podem ter diferentes propriedades cinéticas e, portanto, ser separadas por processos bioquímicos, ou seja, diferem no mesmo grupo na suas seqüências de aminoácidos, podendo variar a natureza protéica secundária, terciária ou quaternária da enzima, alterando a afinidade da enzima pelo substrato.

Segundo Allicchio et al. (1987), a identificação isoenzimática mostra vantagens comparadas com o uso de características morfológicas, principalmente porque esta é uma técnica de rápida aplicação e porque os alelos e locos enzimáticos são comumente codominantes. As enzimas têm sido usadas como marcadores bioquímicos para a identificação de híbridos somáticos intra-específicos de batata (Austin et al., 1985; Heinz & Schieder, 1986). Augustin & Costa (1992) caracterizaram 12 cultivares de batata por peroxidases, fosfatases e esterases, discriminando nove delas.

A análise isoenzimática está fundamentada nas variações observadas na migração das enzimas em gel submetido a um campo elétrico, como resultado de

variações das seqüências de DNA que codificam estas enzimas. Portanto, estas diferenças poderiam ter base genética e ser herdáveis (Murphy et al., 1990).

Entre as vantagens desta técnica estão os baixos custos e a facilidade, quando comparadas com os marcadores moleculares; embora o número de locos analisados seja limitado, muitos deles podem ser analisados rápida e simultaneamente. Caracterizam-se por serem marcadores codominantes, portanto, podendo-se detectar locos homozigóticos e heterozigóticos. Uma desvantagem é que o ambiente exerce considerável influência sobre o polimorfismo enzimático e na sua atividade (Ferreira & Grattapaglia, 1998; Desborough & Peloquin, 1968; Ford & Taylor, 1997).

2.6.2 Marcadores moleculares

2.6.2.1 PCR (Polymerase Chain Reaction) e microssatélites (SSR – Simple Sequence Repeat)

A técnica PCR (“Polymerase Chain Reaction”) foi desenvolvida em 1984, por Kary Mullis (Mullis & Falloona, 1987). É uma metodologia poderosa para a amplificação, *in vitro*, de seqüências de DNA usando oligonucleotídeos iniciadores ou *primers* de seqüência conhecida e complementares às extremidades do segmento a ser amplificado, direcionando a síntese de DNA alvo, em ciclos repetidos (Mullis, 1990). A reação de PCR é realizada em um termociclador, que fornece as temperaturas e respectivos tempos adequados à desnaturação da molécula de DNA, separando as fitas complementares, o anelamento dos *primers* e a extensão do DNA em cada ciclo de replicação, durante os 25 a 40 ciclos. Com o uso da tecnologia de PCR, moléculas simples de DNA podem ser seletivamente amplificadas em alguns milhões de vezes, em poucas horas (Rasmussen & Rasmussen, 1995).

Os sítios de microssatélites são muito freqüentes e amplamente distribuídos nos genomas eucariontes com uma freqüência de 1 a cada 50000 pb com repetições de seqüências simples curtas de 1-5 bases, repetidas em *tandem*, freqüentemente polimórficas e em número variável, sendo denominadas microssatélites (Hamada, et al., 1982; Tautz & Renz, 1984; Litt & Luty, 1989) ou seqüências simples repetidas (SSR). As seqüências de DNA que flanqueiam os microssatélites são geralmente conservadas entre os indivíduos da mesma espécie, permitindo a confecção de *primers* específicos que as amplificam, via PCR (Powell et al., 1996; Fisher et al., 1996; Primmer et al., 1997; Ferreira & Grattapaglia, 1998; Hayden & Sharp, 2001). O uso de primers para detectar microssatélites em batata foram originalmente desenvolvidos no SCRI (Scottish Crop Research Institute) (Provan et al., 1996).

Os polimorfismos dos microssatélites são dados pela diferença em tamanho das seqüências repetidas. Cada segmento amplificado é de tamanho diferente e representa um alelo diferente do mesmo loco. Cada loco de microssatélites é analisado individualmente ao se construir especificamente um par de primers para sua amplificação. Os microssatélites apresentam-se como uma das classes de marcadores mais promissoras para utilização em programas de melhoramento, pelo fato de apresentarem vantagens sobre os demais marcadores baseados em PCR, como o RAPD, porque são altamente reproduzíveis e somaticamente estáveis, por possuírem expressão codominante (Bryan, et al., 2000), serem amplamente multialélicos e, sobretudo, serem muito freqüentes e distribuídos ao acaso, permitindo a mais completa cobertura do genoma eucariótico (Ferreira & Grattapaglia, 1998; Lanza, et al., 2000) Porém, os marcadores SSR ainda têm limitações em relação ao seu alto custo, quando comparados com os *primers* de RAPD ou as isoenzimas e também devido à sua relativa alta especificidade com relação à espécie estudada, em oposição aos marcadores RAPD (Westman & Kresovich, 1998).

2.6.2.2 Marcadores RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA)

A técnica de RAPD, descrita independentemente por Welsh & McClelland (1990) e Williams et al. (1990), é uma variante do PCR, na qual se utiliza um único *primer* em vez de pares de *primers* e estes são mais curtos, geralmente oligonucleotídeos contendo 10 bases e de seqüência arbitrária, dispensando assim o conhecimento prévio da seqüência do fragmento de DNA complementar ao *primer* e diminuindo o seu custo (Tingey et al., 1992). É uma técnica simples, rápida e com uma grande sensibilidade para detectar polimorfismos pelas mudanças no DNA. além disso, os resultados são independentes da influência do ambiente e do tipo de tecido, provendo maior resolução que as isoenzimas. Contudo, existem problemas inerentes à reproducibilidade dos padrões de amplificação, além do baixo conteúdo de informação genética por loco, uma vez que são marcadores dominantes. O problema da reproducibilidade pode ser contornado com a padronização das condições de reação entre os diversos laboratórios ou pela seleção de *primers* com maior reproducibilidade para uma determinada cultivar (Skroch & Nienhuis, 1995).

Com este tipo de marcador podem-se detectar apenas dois alelos por loco, sendo que a presença de uma banda no gel identifica indivíduos homozigóticos dominantes (AA) e heterozigóticos (Aa), não permitindo a discriminação entre eles. O alelo recessivo (aa) é identificado pela ausência de banda (Lanza et al., 2000).

Cada *primer* normalmente amplifica vários fragmentos em regiões arbitrárias do genoma, os quais são separados por eletroforese. Devido ao número quase ilimitado de *primers* diferentes, capazes de amplificar um grande número de seqüências aleatórias, visualizadas por meio de bandas distintas, há a possibilidade de alguns *primers* amplificarem fragmentos do genoma próximos ao alelo de interesse (Skroch et al., 1992).

Os resultados obtidos pela análise de RAPD têm sido amplamente usados em batata e outras espécies para determinar a diversidade genética (Demeke et al., 1996), identificação de variedades (Demeke et al., 1993), para fazer mapas de ligação (Martin et al., 1991) e estudos taxonômicos (Demeke et al., 1992).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material genético

Na safra de inverno do ano 2002, avaliaram-se, em dois ensaios, 154 clones de segunda geração clonal e 140 clones de terceira geração clonal, previamente selecionados por Amaro (2002). Foram utilizadas como testemunhas as cultivares 'Achat', 'Atlantic', 'Asterix' e 'Monalisa'. No ensaio conduzido durante a safra de inverno de 2003, avaliaram-se 32 clones de terceira geração e 30 clones de quarta geração, provenientes da seleção dos melhores clones da safra de 2002, juntamente com as testemunhas 'Atlantic' e 'Monalisa'.

3.2 Avaliações de campo

3.2.1 Detalhes experimentais

Foram realizados quatro experimentos, todos eles conduzidos nas safras de inverno (maio a agosto) de 2002 e 2003, na área experimental do Departamento de Biologia da UFLA, em Lavras, Sul de Minas Gerais, localizada a 918,80 m de altitude, 21° 14'S de latitude e 40° 17'W de longitude.

Para as avaliações dos clones de segunda e terceira gerações na safra de 2002, os delineamentos experimentais empregados foram, respectivamente, o de blocos aumentados e de látice simples 12 x 12, com parcelas de uma linha com cinco plantas, no espaçamento de 0,30m x 0,80 m entre as linhas.

Os clones de terceira e quarta gerações na safra de 2003 foram avaliados utilizando-se o delineamento de blocos casualizados, com duas e três repetições, respectivamente. As parcelas foram de uma única linha com cinco plantas, no espaçamento de 0,30m x 0,80m entre as linhas.

A adubação de plantio, para todos os ensaios, foi efetuada com a formulação comercial 4-14-8 (N,P₂O₅, K₂O), na dosagem de 3,0 t/ha, aplicando-se, na ocasião do plantio, o inseticida de solo Carbofuran. Por volta de trinta a quarenta dias após o plantio, foi feita uma adubação de cobertura com sulfato de amônio (300 kg/ha) e realizada a amontoa. Os tratos culturais posteriores foram os normalmente recomendados para a cultura comercial.

3.2.2 Características avaliadas

Foram consideradas para análise aquelas características de maior importância para a produção e industrialização dos tubérculos:

- produção de tubérculos: produção total dividida pelo número de plantas da parcela (g/planta);
- número de tubérculos por planta: número total de tubérculos dividido pelo número de plantas da parcela;
- porcentagem de tubérculos graúdos: produção de tubérculos com diâmetro transversal maior que 45 mm, dividido pela produção total, expresso em porcentagem;
- peso médio de tubérculos graúdos: peso de tubérculos graúdos dividido pelo número de tubérculos graúdos;
- peso específico de tubérculos: determinado pela expressão $PE = \frac{\text{Peso no ar}}{(\text{Peso no ar} - \text{Peso na água})}$, obtidos em balança hidrostática;
- aparência externa de tubérculos (formato, profundidade dos olhos, presença de defeitos fisiológicos): variando de 1 (má aparência) a 4 (ótima aparência);
- cor de *chips*: determinada utilizando-se tubérculos graúdos ($\varnothing > 45$ mm) e sadios. Os tubérculos foram lavados e cortados em fatias finas (2-3 mm), que logo foram fritas em gordura vegetal hidrogenada numa temperatura inicial de 180°C, até parar de borbulhar. A avaliação da cor

foi efetuada de acordo com uma tabela da *Potato Chip and Snack Food Association* (E.U.A), variando de 1-claro a 5-escuro (Douches et al., 1996).

3.2.3 Análises genético-estatística

3.2.3.1 Análise de variância da safra de inverno 2002

Foram realizadas análises de variância para todos os caracteres avaliados, conforme o modelo estatístico para blocos aumentados (Federer, 1956):

$$Y_{ij} = \mu + t_i + t_{i(j)} + b_j + e_{j(i)}$$

em que:

Y_{ij} : é a observação do i-ésimo tratamento regular ou i' - ésimo tratamento comum no j - ésimo bloco;

μ : é o efeito fixo da média geral do ensaio;

t_i : é o efeito fixo do i-ésimo tratamento comum (i' = 1, 2);

$t_{i(j)}$: é o efeito aleatório do i-ésimo tratamento regular (i= 1,2,..., n) dentro do j-ésimo bloco;

b_j : é o efeito aleatório do j-ésimo bloco incompleto (j= 1,2,..., r);

$e_{j(i)}$: é o efeito aleatório do erro experimental do i-ésimo tratamento regular ou i-ésimo tratamento comum dentro do j-ésimo bloco, assumindo-se que os erros são independentes e normalmente distribuídos com média zero e variância σ^2 .

As análises de variância foram realizadas usando o programa "MAPGEN", desenvolvido por Ferreira (1993). A recuperação da informação interblocos foi feita considerando-se a seguinte expressão, derivada por Ferreira (1996), citado por Barbosa (1996), para estimar o erro efetivo após a análise

intrablocos:

$$QME = \left[1 + \frac{1}{(r+c-1)} + \frac{r}{c(r+c-1)} + \frac{(r-2n) \sum_{k=1}^b n_k^2}{cn^2(r+c-1)} + \frac{b \sum_{k=1}^b n_k^2}{n^2(r+c-1)} \right] \cdot QME_{int}$$

em que:

QME: quadrado médio do erro efetivo;

r: número total de tratamentos regulares;

c: número total de tratamentos comuns;

n: número total de parcelas;

b: número de blocos do experimento;

n_k : número de parcelas em cada bloco ($k=1, \dots, b$)

QME int: quadrado médio do erro da análise intrablocos;

De posse das médias ajustadas, obteve-se a soma de quadrados e novo quadrado médio para clones, sendo a esperança matemática equivalente a $\sigma^2 + \sigma_G^2$, em que σ^2 é a variância do erro efetivo e σ_G^2 é a variância genética.

A análise de variância das características avaliadas no experimento em látice simples 12 x 12 foi realizada, com base no seguinte modelo estatístico (Steel & Torrie, 1980):

$$Y_{ijk} = \mu + t_i + r_j + b_{(kj)} + e_{ijk}$$

em que:

Y_{ijk} : é a observação referente ao clone i no bloco k dentro da repetição j;

μ : é o efeito fixo da média geral do ensaio;

t_i : é o efeito fixo do clone i, sendo ($i=1, 2, \dots, n$);

- r_j : é o efeito aleatório da repetição j , sendo ($j = 1,2$);
- $b_{(k)j}$: é o efeito aleatório do bloco k , na repetição j , sendo ($k = 1,2,\dots, v$);
- e_{ijk} : é o efeito aleatório do erro experimental da parcela que recebeu o clone i no bloco k dentro da repetição j , assumindo-se que os erros são independentes e normalmente distribuídos com média zero e variância σ^2 .

As análises do experimento em látice foram feitas com o auxílio do software estatístico MSTAT-C. Utilizou-se o quadrado médio do tratamento ajustado e o quadrado médio do resíduo para compor o teste F. As médias obtidas foram ajustadas levando-se em consideração a recuperação da informação interblocos.

3.2.3.2 Análise de variância da safra de inverno 2003

Os dados obtidos de todos os caracteres avaliados foram submetidos à análise de variância, empregando-se o seguinte modelo estatístico para blocos casualizados (Steel & Torrie, 1980):

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

sendo que:

- Y_{ij} : é a observação do i -ésimo tratamento na j -ésima repetição;
- μ : é o efeito fixo da média geral do ensaio;
- t_i : é o efeito fixo do i -ésimo tratamento, sendo ($i = 1,2,\dots, n$);
- r_j : é o efeito aleatório da j -ésima repetição, sendo ($j = 1,2$ e 3);
- e_{ij} : é o efeito aleatório do erro experimental do i -ésimo tratamento, na j -ésima repetição, assumindo-se que os erros são independentes e normalmente distribuídos com média zero e variância σ^2 .

3.2.4 Teste de médias

Para a comparação entre as médias dos valores obtidos dos tratamentos pelo índice de Mulamba & Mock (1978), foi utilizado o teste de Scott & Knott (1974) do programa SISVAR.

3.2.5 Estimativas de parâmetros genéticos

A partir das esperanças dos quadrados médios das análises de variância, foram estimadas as variâncias genéticas (σ_G^2) e fenotípicas (σ_F^2) para os caracteres avaliados nos experimentos de clones, de acordo com o procedimento mostrado por Venkovsky & Barriga (1992). Foram estimadas as herdabilidades no sentido amplo, por meio da expressão:

$$h_a^2 = \frac{\sigma_G^2}{\sigma^2 + \sigma_G^2} \cdot 100$$

em que:

σ_G^2 : é a variância genética;

σ^2 : é a variância residual.

Para as estimativas das herdabilidades, foram obtidos os intervalos de confiança, conforme as expressões apresentadas por Knapp, Stoup & Ross (1985):

$$LI = 1 - [(Q_1/Q_2) \cdot F_{(1-\alpha/2)}]^{-1}$$

$$LS = 1 - [(Q_1/Q_2) \cdot F_{(\alpha/2)}]^{-1}$$

em que:

LS: limite superior de confiança;

LI: limite inferior de confiança;

F: valor tabelado da distribuição F de Snedecor a partir dos graus de liberdade gl_1 (tratamentos) e gl_2 (resíduo) e de α (nível de significância de 0,05);

Q_1 : quadrado médio de tratamentos;

Q_2 : quadrado médio do resíduo.

Foram também obtidos os coeficientes de variação genética e ambiental para as características, a partir das expressões:

$$CV_G (\%) = \frac{\sqrt{\sigma_G^2}}{m} \quad \text{e} \quad CV_e (\%) = \frac{\sqrt{\sigma^2}}{m}$$

em que:

CV_G : é o coeficiente de variação genética em porcentagem;

CV_e : é o coeficiente de variação ambiental em porcentagem;

m : é a média geral do ensaio para a característica considerada;

σ_G^2 : é a variância genética;

σ^2 : é a variância residual.

3.2.6 Correlação de Pearson

Foram realizadas as estimativas de correlações simples para algumas características entre as diferentes gerações. O estimador do coeficiente de correlação entre duas características X e Y foi dado pela seguinte expressão:

$$r = \frac{C\hat{o}v(X, Y)}{\sqrt{\hat{V}(X)\hat{V}(Y)}}$$

em que:

$$C\hat{ov}(X, Y) = \frac{\sum_{i=1}^n (Y_i - \bar{Y})^2 (X_i - \bar{X})^2}{n-1}$$

$$\hat{V}(X) = \frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}{n-1}$$

$$\hat{V}(Y) = \frac{\sum_{i=1}^n (Y_i - \bar{Y})^2}{n-1}$$

Os coeficientes de correlação foram testados pela estatística t, para a verificação da hipótese de nulidade ($H_0: \rho=0$), a partir da expressão (Cruz e Regazzi, 1997):

$$t = \frac{r}{\sqrt{1-r^2}} \sqrt{n-2}$$

em que t está associado a n-2 graus de liberdade e nível de significância α .

3.2.7 Seleção dos clones

Para auxílio da seleção de clones superiores, foi utilizado o índice com base na soma de postos (Mulamba & Mock, 1978). Esse índice consiste em classificar os materiais em relação a cada um dos caracteres, em ordem favorável ao melhoramento. As ordens referentes a cada caráter são somadas, resultando em uma medida tomada como índice para seleção dos materiais (Cruz & Regazzi, 1997). Os caracteres usados para construção das médias do índice foram produção, porcentagem de tubérculos graúdos, peso específico de

tubérculos e cor de *chips* que são considerados relevantes, tanto pela sua importância agrônômica como industrial.

3.3 Avaliações de laboratório

3.3.1 Material experimental

Foram utilizados neste experimento 42 genótipos de batata, provenientes de diferentes cruzamentos, previamente estudados por Amaro (2002), pela estabilidade de seus valores para peso específico e cor de fritura ao longo das gerações, desde a etapa de *seedlings*.

Estes genótipos foram dispostos para análise em dois grupos contrastantes, pelos seus altos e baixos conteúdos de peso específico e pelos padrões aceitáveis ($\leq 2,5$) e rejeitáveis ($\geq 3,0$) de cor após a fritura, a saber: i) 25 genótipos com alto peso específico e 17 genótipos com baixo peso específico, ii) 24 genótipos com padrões rejeitáveis para cor de *chips* ($\geq 3,0$) e 18 genótipos com padrões aceitáveis para cor de *chips* ($\leq 2,5$).

O peso específico e a cor dos *chips* foram determinados de acordo com o procedimento descrito no item 3.2.2.

Devido às ótimas condições climáticas durante os experimentos na safra de 2002, quase a totalidade dos clones, apresentou comportamentos aceitáveis na fritura (cor clara) imediatamente após a colheita. Dessa forma, estes clones foram dispostos em câmara fria por um período de dois meses para acelerar a indução da conversão de amido em açúcares redutores nos diferentes genótipos.

3.3.2 Extração de DNA

A extração de DNA foi feita dos 42 genótipos previamente mencionados. Foi utilizado para a extração o procedimento modificado de Rogers e Bendich (1988). Aproximadamente 2g de folhas jovens de cada planta

foram macerados com areia esterilizada, juntamente com 10 mL de tampão de extração pré-aquecido a 65°C [2% de brometo de cetiltrimetil-amônia (CTAB), 100mM de TRIS (pH 8,0); 20mM de EDTA (pH 8,0); 1,4M de NaCl; 1% de polivinilpirrolidona (PVP); 8,6mL de água pura] e 40 µl de β-mercaptoetanol. Posteriormente, o material triturado foi colocado em banho-maria (65°C) por 30 minutos, agitando-se a cada 10 minutos. Após o banho-maria, adicionaram-se 10mL da solução clorofórmio:álcool isoamil (24:1), seguido da homogeneização e centrifugação durante 10 minutos a 5000 rpm para separar a fase orgânica da aquosa. O sobrenadante, que contém os ácidos nucléicos, foi misturado com 30mL da solução (6:1) de álcool 95% e acetato de amônio 7,5M e mantido no freezer (-20°C) por uma noite para precipitar o DNA. Após a precipitação, os DNAs foram transferidos para tubos de microcentrífuga ‘Eppendorf’, centrifugados e secos. Em seguida, os ácidos nucléicos foram reidratados em tampão TE (1mM de TRIS e 0,1 mM de EDTA). Posteriormente, foi realizada a segunda extração com clorofórmio:álcool isoamil (24:1) e os ácidos nucléicos foram precipitados pela adição de, pelo menos, três volumes de uma mistura de acetato de sódio 3M:etanol 95% (1:20). A solução de álcool acetato de sódio foi eliminada, o DNA dissolvido em 300 µL de TE e quantificado, utilizando-se um fluorímetro Hoefffer Scientific TKO 100, e, posteriormente, diluído para a concentração de 10ng/µL, utilizada nas reações de amplificação.

3.3.3 Extração de isoenzimas

Para as análises eletroforéticas dos grupos de clones de batata foram utilizados homogenados de folhas, contadas a partir do ápice, em duas fases de desenvolvimento das plantas, i) tecido foliar da parte mediana de plantas antes da floração, tomando-se qualquer um dos folíolos da 3^a ou 4^a folha, ii) tecido foliar da parte mediana de plantas em plena floração, em que foram tomados os

folíolos da 4^a ou 5^a folha. Foram utilizadas, no mínimo, cinco plantas de cada clone para cada um dos três sistemas enzimáticos analisados.

No procedimento de extração foram usados 500 mg de tecido foliar de cada amostra, 0,5 mg de polivinilpirrolidona - PVP e 0,1 mL de solução tampão n.º 1 de Alfenas et al. (1998), acrescida de 0,15% de 2-mercaptoetanol. O material foliar foi macerado manualmente com uso de almofariz e pistilo previamente resfriados, sendo a extração feita a baixa temperatura, com a utilização de cubos de gelo em torno do almofariz.

Os extratos obtidos na maceração foram colocados em eppendorfs previamente identificados e levados para serem centrifugados a 12.000 rpm a 4°C por 10 minutos para a separação da fase sólida do sobrenadante. O sobrenadante foi posteriormente extraído e colocado em tubos ‘Eppendorf’ de 5 mL e resfriado a 4°C até o momento da aplicação.

Foram aplicados 10 µL de sobrenadante dos extratos obtidos na maceração com pipeta automática na canaleta do gel para proceder à corrida eletroforética.

Testes preliminares foram feitos, alterando-se as concentrações dos géis e as concentrações das amostras, o que indicou as condições adequadas para a obtenção de melhor nitidez e repetibilidade das bandas.

A eletroforese de isoenzimas foi conduzida em cuba vertical, utilizando-se gel de poliacrilamida como suporte, sendo de 4,5% o gel de concentração e 12% o gel de separação. Na corrida eletroforética usou-se corrente de 10 mA para cada gel e o tempo total da corrida foi de 3 horas a 4°C.

Foram usados três sistemas enzimáticos, α -esterase (EST, E.C.* 3.1.1.1), peroxidase (PO, E.C. 1.11.1.7) e malato desidrogenase (MDH, E.C. 1.1.1.37), escolhidos por apresentarem bandas polimórficas com possibilidade de interpretação.

* E.C. Enzyme Commission

Após as migrações das amostras no gel, foram feitas as revelações a partir da metodologia de Alfenas et al. (1998). Depois da revelação, os géis foram lavados em água corrente para remoção do excesso de solução e fixados com solução de glicerol 10%. Para a documentação dos géis, estes foram colocados entre folhas de papel celofane mediante o uso do conjunto Gel Dryer (modelo 583 – BioRad).

3.3.4 Análise de RAPD

Os grupos constituídos por genótipos com altos e baixos conteúdos de matéria seca e cores claras e escuras dos *chips*, foram avaliados com 82 *primers* decâmeros (Operon Technologies Inc., Alameda, CA, EUA). Os *primers* decâmeros foram selecionados na base da sua homologia de 70%-80% de suas bases constituintes, com *primers* utilizados por Chen et al. (2001), para a detecção e mapeamento de genes relacionados ao metabolismo de carboidratos em tubérculos de batata (Tabelas 1A e 1B).

Cada reação foi realizada misturando-se reagentes com as seguintes concentrações: 200 μ M dNTP (mistura equitativa de ATP, GTP, CTP e TTP); 0,6 unidades de *Taq* DNA polimerase, 0,4 μ M de *primer*, tampão de reação (50mM de TRIS; 2,0mM MgCl₂; 20mM KCl; 250 μ g/mL de albumina soro bovino; 1% de ficoll 400; 1mM de tartrazine) 20ng de DNA genômico e água pura até o volume de 12 μ L.

As reações de amplificação foram realizadas em microtubos ‘Eppendorf’ (0,2mL), em termociclador Eppendorf Mast erCycler Gradient 5331, com programação para 42 ciclos, subdivididos em 2 programas: 1) nos dois primeiros ciclos, a desnaturação do DNA foi feita a 94°C, por 2 minutos e a elongação a 72°C por um minuto; 2) adicionalmente, mais 40 ciclos de 94°C por 15 segundos para desnaturação, 37°C por 15 segundos para anelamento e

72°C por 1 minuto para alongação. Finalmente, foi programada uma etapa de 3 minutos a 72°C para alongação final.

Após a amplificação, os produtos da reação foram separados por eletroforese, em gel de agarose a 1% em tampão TBE (0,045M de TRIS-Borato e 0,001M de EDTA) a 90 volts por 2,5 horas. Os fragmentos de DNA foram corados com brometo de etídio a uma concentração de 0,5µg/mL, visualizados em transiluminador de luz ultravioleta e as imagens capturadas com câmera digital KODAK DC 290 Zoom.

Com os *primers* que produziram polimorfismos entre os grupos, procedeu-se à abertura dos mesmos, isto é, as reações individuais com os componentes dos grupos.

As bandas foram classificadas visualmente como intensas, médias e fracas, baseando-se na resolução e grau de amplificação. Foram usadas as bandas intensas e médias para a análise. No gel, cada banda foi considerada um caráter único. A partir das bandas obtidas por esses *primers*, foi construída uma matriz de zero e um, na qual um indicava a presença de banda e zero a ausência. Essa matriz foi usada para realizar a análise de variância e estimar os coeficientes de regressão totais e parciais.

3.3.5 Análise com marcadores PCR e microssatélites

Foram testados três pares de *primers* de PCR e um par de *primers* de microssatélites (SSR) (Tabela 1), especialmente construídos para detectar alguns dos genes relacionados ao metabolismo dos carboidratos na batata, segundo Chen et al. (2001).

As reações de polimerase em cadeia (PCR) foram efetuadas em termociclador Eppendorf MasterCycler Gradient 5331. As reações foram constituídas por 30ng de DNA; 200µM dNTP; 0,6 unidades de *Taq* DNA polimerase; 0,2µM de cada primer; tampão de reação (50mM TRIS, 2mM

MgCl₂, 20mM KCl, 250µg/mL de Albumina soro bovino, 1% de ficoll 400, 1 mM de tartrazine) e água pura até o volume de 14µL.

A reação de PCR incluiu uma desnaturação inicial a 94°C, por dois minutos, seguida por 28 ciclos com desnaturação a 94°C por 30 segundos, anelamento com temperatura variável de acordo com as especificações dadas para cada primer por 30 segundos e elongação a 72°C, por um minuto, com uma etapa de extensão final por 5 minutos a 72°C.

Os fragmentos obtidos por meio de PCR foram separados em gel de agarose preparados com TBE 1X (0,045M de tris-borato e 2,0mM EDTA), com a concentração de 2,5% para análise dos grupos. A eletroforese foi conduzida em tampão TBE 1X à voltagem constante de 100V, durante um período variável de 3,5 a 4 horas. A visualização do gel foi efetuada sobre luz UV e registrada no computador por câmara fotográfica digital KODAK DC 290 Zoom.

TABELA 1. *Primers* de microssatélites e de PCR utilizados para a detecção de polimorfismos relacionados ao metabolismo de carboidratos em batata.

Gene	Primer (5' -> 3')		SSR / PCR
Amido Sintetase	TCTCTTGACACGTGTCACTGAAAC TCACCGATTACAGTAGGCAAGAGA	SS	SSR
Invertase ácida solúvel	GTCTTCGATAAGACTTTTCGAG CAGTGGTCGGGTCTCTAAAGT	Pain-1	PCR
Translocador Glicose-6-Fosfato	GGCTCACACAATTGGTCATGTG CCAAGATTGCAATAGCAGCACC	Gpt	PCR
Amido Sintetase solúvel I	CTGTCAGTATCCGATCAGCAAC CTTCTTACTGCAGACCTGGAAC	Sss I	PCR

3.4 Análise estatística para detecção dos efeitos dos QTLs

3.4.1 Análise de variância

Os modelos de análise de variância foram estipulados de acordo com as análises de um só ponto entre os dados de peso específico e de cor dos *chips* dos 42 genótipos para cada loco marcador e avaliado pelo programa estatístico SISVAR versão 4.5 (Ferreira, 1999). Os testes F foram usados para detectar diferenças significativas estatisticamente entre as médias das classes genotípicas para uma probabilidade de ($P < 0,05$) e ($P < 0,01$). A diferença significativa entre as médias para peso específico e cor de *chips* foi interpretada como ligação do QTL ao loco marcador.

O modelo estatístico adotado foi:

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

em que, Y_{ij} é o valor fenotípico do j -ésima planta, pertencente à i -ésima classe genotípica do marcador sob estudo; μ é uma constante inerente a todas as observações; t_i é o efeito da i -ésima classe genotípica e e_{ij} é o erro aleatório atribuído a observações Y_{ij} , tal que $e_{ij} \cap \text{NID}(0, \sigma^2)$; $i=0$ (para a classe genotípica do marcador mm), 1 (para a classe genotípica do marcador M₋); $j=1,2,\dots,k_i$, sendo k_i o número total de plantas pertencentes a i -ésima classe genotípica do marcador. A ligação foi detectada pela significância do teste F obtido ($P < 0,05$ e $P < 0,01$).

Para detectar e mensurar os efeitos epistáticos ou de ligação gênica entre os locos significativos, foi realizada avaliação pelo modelo de análise de variância, utilizando duas marcas simultaneamente.

3.4.2 Análise de regressão linear múltipla

A análise de regressão linear múltipla dos marcadores foi realizada conforme procedimentos descritos por Edwards et al. (1987). A variância fenotípica total explicada pelos marcadores foi estimada pelo coeficiente de determinação (R^2). Os locos com F significativos detectados na análise de variância de um só ponto, portanto, associados à QTL, foram combinados num novo modelo de análise de variância multilocos, para prever a variação fenotípica total para peso específico e cor de *chips*, explicados somente pelos QTLs detectados.

A porcentagem de variação fenotípica explicada pelos marcadores de maior importância obtidos por meio de valores significativos do teste de F da análise de variância ($P < 0,05$ e $P < 0,01$) foi determinada pelo coeficiente de determinação parcial (Draper & Smith, 1981).

Foi realizada também uma análise de regressão linear múltipla do tipo de soma quadrados parcial ou do tipo II, metodologia que consiste na redução de um parâmetro (marcador) por vez, a partir do modelo completo (totalidade de marcadores significativos) de parâmetros avaliados, para determinar a significância estatística de cada marcador, quando é considerado conjuntamente com os efeitos produzidos pelos outros marcadores sobre a variação fenotípica. Para realizar esta análise foi utilizado o programa SISVAR versão 4.5 (Ferreira, 1999).

3.4.3 Seleção de marcadores

Para a eliminação de marcas não informativas utilizou-se o processo de seleção de variáveis regressoras, Backward (Draper & Smith, 1981), pela sua simplicidade de aplicação e pela alta eficiência na determinação dos marcadores associados a QTLs com informação não redundante (Ferreira, 1995).

O modelo estatístico adotado foi:

$$Y_i = b_0 + b_1M_1 + b_2M_2 + e_i$$

em que Y_i representa o fenótipo da i -ésima planta; M_1 e M_2 representam as marcas polimórficas dos marcadores

No processo de Backward, inicialmente, todos os marcadores significativos foram colocados no modelo. O marcador de menor F parcial e que não apresentou significância ($P < 0,05$) foi eliminado. Os marcadores remanescentes constituíram um novo modelo, no qual o processo de eliminação de variáveis foi novamente realizado. O processo continuou até que todos os marcadores do modelo apresentassem F parcial significativo. Para obter o F parcial, foi necessário calcular a soma de quadrados de um marcador (i), eliminando-se os efeitos dos marcadores remanescentes do modelo atual. Esta soma de quadrados foi obtida por:

$$SQ (M_i/\text{Marcadores remanescentes}) = \hat{b}_i^2 / K_{ii}$$

em que \hat{b}_i é a estimativa do coeficiente de regressão para o i -ésimo marcador; k_{ii} é o elemento da i -ésima coluna da matriz $(X'X)^{-1}$, do sistema de equações normais; $SQ (M_i/\text{marcadores remanescentes})$ é a soma de quadrados do i -ésimo marcador ajustado para os demais marcadores presentes no modelo, a qual possui 1 grau de liberdade. Dessa forma, o F parcial (Draper e Smith, 1981) foi calculado por:

$$F_{\text{parcial}} = \frac{SQ (M_i/\text{Marcadores remanescentes}) / 1}{QM \text{ resíduo}}$$

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Avaliações de campo

4.1.1 Safra 2002. Segunda geração clonal (C2)

Neste experimento, de todas as características avaliadas, somente o número de tubérculos por planta e o peso médio de tubérculos graúdos não apresentaram diferenças significativas entre os clones, indicando a existência de variabilidade genética para as demais características. Na Tabela 2 é mostrado o resumo das análises de variância para as características. A análise não foi realizada para os 207 clones incluídos inicialmente no experimento, uma vez que alguns tratamentos regulares foram eliminados pela produção de tubérculos muito pequenos, com dificuldades de determinação dos pesos na balança hidrostática ou, mesmo, pela perda total da parcela no campo, devido, principalmente, à alta incidência de fatores ambientais adversos, como altas temperaturas, sementes com qualidade diferenciada para os diversos clones, etc. Isso não representa um problema para o delineamento de blocos aumentados, para o qual não há restrições quanto ao tamanho dos blocos, podendo estes variar ao longo do experimento (Bearzoti, 1994).

Os coeficientes de variação ambiental situaram-se entre 1,01%, obtido para o peso específico de tubérculos, e de 36,96%, para o número de tubérculos por planta e 32,85%, para a cor de *chips* (Tabela 2). É comum encontrar altos valores de coeficientes de variação ambiental para várias características na cultura da batata, principalmente nas fases iniciais dos programas de melhoramento, em que a disponibilidade de tubérculos-semente é bastante limitada e, geralmente, os experimentos são sem repetições (Vermeer, 1990).

TABELA 2. Resumo das análises de variância para as características produção por planta, número de tubérculos graúdos por planta, porcentagem de tubérculos graúdos, peso médio de tubérculos graúdos, peso específico de tubérculos, aparência geral e cor dos *chips*. Safra 2002. Segunda Geração Clonal.

FV	GL	Quadrado Médio						
		Produção (g/planta)	Número de tubérc./planta	% de tubérculos graúdos	Peso médio de Tubérculos Graúdos (g)	Peso específico de tubérculos	Aparência geral	Cor de <i>Chips</i>
Clones	154	82826,79*	5,89ns	438,62**	900,45ns	$3,6 \times 10^{-4}$ *	0,56**	0,41*
Erro Efetivo	54	33636,13	5,25	266,26	777,97	$2,6 \times 10^{-4}$	0,08	0,36
Média		724,10	6,20	60,64	114,90	1,0733	2,32	1,82
CV _e (%)		25,33	36,96	23,11	24,29	1,01	12,48	32,85
σ^2_G		49160,66	0,64	172,36	122,03	$1,0 \times 10^{-4}$	0,48	0,05
h^2_a		0,59	0,11	0,28	0,12	0,22	0,29	0,12
IC ^a		0,38 a 0,74	-0,35 a 0,44	0,08 a 0,62	-0,30 a 0,46	-0,10 a 0,54	-0,08 a 0,55	-0,33 a 0,45
CV _G		30,65	12,90	21,65	9,61	0,93	18,87	12,28
CV _G /CV _e		1,21	0,35	0,94	0,39	0,92	1,51	0,37

** significativo a 1% de probabilidade, * significativo a 5% de probabilidade e ns não significativo pelo teste de F, respectivamente; ^aIntervalo de confiança para as estimativas das herdabilidades.

Portanto, ocorre uma forte influência de fatores não genéticos sobre o desempenho dos clones, podendo isso contribuir para elevar o coeficiente de variação dos experimentos (Brown, 1987; Pinto, Valverde & Rossi, 1994).

O coeficiente de variação para produção por planta foi de 25,33%, sendo este valor semelhante ao encontrado por Lambert (2001) e Menezes (1999), para esta característica na cultura da batata.

A média geral para todas as características avaliadas é apresentada também na Tabela 2. A média geral para produção foi de 724,10g/planta, com a maioria dos clones apresentando tubérculos graúdos (60,64%). Aproximadamente 36% da população de clones apresentaram médias acima de 900g/planta, superando as médias observadas para as cultivares testemunhas, que foram de 917 g/planta para ‘Monalisa’, 889g/planta para ‘Asterix’, 856g/planta para ‘Achat’ e 390g/planta para ‘Atlantic’. A cultivar ‘Monalisa’ apresentou a maior porcentagem de tubérculos graúdos, 81%, enquanto a cultivar ‘Achat’ apresentou o menor valor, 53%.

O peso específico de tubérculos dos clones apresentou média geral de 1,0733 que é considerada razoável, em relação aos valores desejados para qualidade de tubérculos que, segundo Gould (1988), devem possuir teores maiores que 1,080 para os tubérculos dedicados para indústria e para consumo de mesa. Contudo, aproximadamente 33% da população apresentaram peso específico acima de 1,0868, superior às médias das testemunhas ‘Atlantic’ (1,0866), ‘Asterix’ (1,0721), ‘Monalisa’ (1,0676) e ‘Achat’ (1,0555). A média obtida para a aparência geral dos tubérculos foi baixa, sendo um parâmetro de pouca confiabilidade para realizar seleção nas gerações precoces (Anderson & Howard, 1981; Brown et al., 1984; Tai & Jeong, 1984; Pinto et al., 1994). A cor dos *chips* apresentou valor médio aceitável, já que valores iguais ou menores a 2,5 são aceitos pela indústria de processamento (Douches et al., 1996).

As estimativas da herdabilidade no sentido amplo foram geralmente baixas, com exceção do caráter produção, que apresentou um valor moderado. Estes resultados devem-se à grande influência do ambiente nas expressões destes caracteres e, sobretudo, à falta de repetição na avaliação dos tratamentos, devido ao pequeno número de tubérculos avaliados (Knapp, 1998), portanto, não é recomendada a seleção baseada nestes caracteres (Pinto, Valverde & Rossi, 1994). Contudo, as razões entre o coeficiente de variação genético (CV_G) e o coeficiente de variação ambiental (CV_e) foram para produção por planta e aparência geral, maiores ou iguais a 1, sendo esta uma situação favorável para se aplicar a seleção de clones para essas características nesta geração (Vencovsky & Barriga, 1992).

Aproximadamente 20% dos clones que se destacaram dos demais e das testemunhas, por combinar em seus tubérculos valores razoáveis e aceitáveis, tanto para características de interesse agrônomo como de interesse industrial, foram selecionados com base no índice de Mulamba & Mock (1978) para dar continuidade à terceira geração clonal na safra de 2003. As médias são mostradas na Tabela 3. As características que mais chamam atenção nos clones selecionados em C2 são o peso específico de tubérculos e a cor de *chips*, com valores considerados aceitáveis para processamento em todos os materiais selecionados, porém, a maioria dos clones não conseguiu combinar caracteres de alta produtividade com os de alta qualidade.

O índice de Mulamba & Mock foi utilizado devido à simplicidade de sua aplicação, tendo em vista que foi tão eficiente quanto outros tipos de índices empregados para a cultura da batata (Barbosa & Pinto, 1998). Segundo os autores, a utilização desse índice possibilitou a obtenção de uma melhor distribuição percentual de ganhos para os caracteres sob seleção, em relação à seleção direta para os mesmos.

TABELA 3. Médias dos 30 melhores clones selecionados com base no índice de Mulamba & Mock (1978) e das testemunhas, para produção por planta, porcentagem de tubérculos graúdos, peso específico e cor dos *chips*. Segunda geração clonal. Safra 2002.

Clone GBA	Produção (g/planta)	% de tubérculos graúdos	Peso específico de tubérculos	Cor de <i>Chips</i>	Índice de Mulamba e Mock
8.143	1809	82	1,0947	1,8	17a
14.097	983	63	1,0936	2,0	46b
8.168	970	75	1,0800	1,1	68b
29.029	995	84	1,0815	2,1	71b
2.068	1182	56	1,0758	1,5	73b
2.071	962	30	1,0877	1,5	76b
29.052	927	75	1,0746	1,3	78b
2.132	434	75	1,0767	2,3	90b
5.085	592	69	1,0921	1,8	90b
8.074	945	79	1,0745	2,1	90b
14.059	800	60	1,0943	2,5	93c
8.203	890	82	1,0787	1,1	94c
14.106	897	55	1,0823	2,3	96c
1.080	1195	77	1,0752	1,1	98c
8.069	1104	85	1,0696	1,7	100c
8.080	945	68	1,0739	1,1	102c
5.116	720	76	1,0862	2,1	103c
14.075	1552	80	1,0682	1,1	104c
14.091	875	76	1,0801	1,0	104c
29.091	702	63	1,0861	2,1	105c
8.061	760	68	1,0760	1,5	110c
14.160	977	45	1,0858	1,6	111c
5.067	820	61	1,0827	3,0	112c
8.092	747	80	1,0904	1,0	112c
14.051	1280	65	1,0746	1,5	114c
5.069	991	72	1,0766	2,1	116c
12.091	934	72	1,1025	1,7	116c
1.236	720	65	1,0861	2,0	117c
29.060	810	81	1,0797	2,0	118c
1.212	781	86	1,0790	1,5	119c
Asterix	889	70	1,0721	1,7	141d
Atlantic	390	63	1,0866	1,1	159e
Monalisa	917	81	1,0676	2,4	169e
Achat	856	53	1,0555	2,2	248f

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott e Knott (1974) $P < 0,05$.

4.1.2 Safra 2002. Terceira geração clonal (C3)

Para todas as características avaliadas, os clones apresentam diferenças significativas, evidenciando a existência de ampla variabilidade genética entre os clones. O resumo das análises de variância é mostrado na Tabela 4. Quando consideradas todas as médias das características avaliadas, somente as características de interesse industrial, como peso específico de tubérculos com um valor abaixo do ideal para o processamento e a cor de *chips*, que teve um valor aceitável ($< 2,5$), todos os demais valores médios para as outras características foram baixos.

As estimativas das herdabilidades, de modo geral, foram moderadas para todas as características, a exceção da aparência geral, que apresentou o menor valor (0,41) e a cor de *chips*, que teve o maior valor (0,98). O alto valor de herdabilidade para cor de *chips* é explicado pelo uso, nesta geração, de repetições nos testes de fritura, aumentando a precisão experimental, já que estes testes apresentaram pouca variação de cor de uma amostra a outra e entre os tubérculos de um mesmo clone, devido, principalmente, à presença de uniformidade climática, com temperaturas amenas, durante o período de permanência do experimento a campo. Cunningham & Stevenson (1963) também verificaram alta herdabilidade para este caráter, a partir da análise combinada de variância de 24 progênies, em dois anos de teste.

As relações CV_G/CV_e foram, em geral, menores que a unidade, sendo somente a característica cor de *chips* maior ou igual que 1 (Tabela 4). Dessa maneira, para esta geração, a seleção de clones baseados nesta característica, pode ser eficiente.

Neste experimento, também foram selecionados aproximadamente 20% dos clones que destacaram-se sobre os demais e sobre as testemunhas, por suas características de qualidade e produtividade, baseando a seleção no índice de Mulamba & Mock (1978) para dar continuidade à quarta geração clonal na safra

TABELA 4. Resumo das análises de variância para as características produção por planta, número de tubérculos graúdos por planta, porcentagem de tubérculos graúdos, peso médio de tubérculos graúdos, peso específico de tubérculos, aparência geral e cor dos *chips*. Safra 2002. Terceira Geração Clonal.

FV	GL	Quadrado Médio						
		Produção (g/planta)	Número de tubérc./planta	% de tubérculos graúdos	Peso médio de tubérculos graúdos (g)	Peso específico de tubérculos	Aparência geral	Cor de <i>Chips</i>
Clones	139	77892,91**	7,67**	722,37**	2189,11**	$1,9 \times 10^{-4}$ **	0,76**	(136) 0,97**
Erro	105	36270,09	3,77	347,98	1096,02	$0,8 \times 10^{-4}$	0,45	(103) 0,01
Média		498,90	5,29	47,11	106,88	1,0786	1,90	2,06
CV _e (%)		38,17	36,67	39,59	30,97	0,82	35,34	5,42
σ^2_G		20811,41	1,95	187,57	546,54	$5,5 \times 10^{-4}$	0,15	0,48
σ^2_F		38846,45	3,83	361,18	1094,55	$9,5 \times 10^{-4}$	0,38	0,49
h^2_a		0,54	0,51	0,52	0,50	0,58	0,41	0,98
IC ^a		0,34 a 0,68	0,30 a 0,66	0,31 a 0,67	0,29 a 0,66	0,40 a 0,71	0,16 a 0,59	0,98 a 0,99
CV _G		28,91	26,40	29,04	21,87	0,69	20,39	33,68
CV _G /CV _e		0,75	0,72	0,73	0,71	0,85	0,58	6,21

** significativo a 1% de probabilidade pelo teste de F; ^aIntervalo de confiança para as estimativas das herdabilidades.

de 2003. As médias dos clones e das testemunhas são apresentados na Tabela 5. A maioria dos clones selecionados desta geração combinou boas características, tanto produtivas como de qualidade. Novamente, o índice de Mulamba e Mock foi utilizado para discriminar entre os melhores clones, devido à simplicidade de sua aplicação (Barbosa & Pinto, 1998).

4.1.3 Safra 2003. Terceira geração clonal (C3)

Na Tabela 6 é mostrado o resumo das análises de variância e as médias gerais para todas as características. Nesta geração, a maioria das características apresentou diferenças significativas, observando-se que existe variabilidade genética entre os clones avaliados, a exceção de produção por planta e porcentagem de tubérculos graúdos.

Diferentemente do experimento realizado durante a safra de 2002, as médias para a maioria das características sofreram um leve incremento, devido, principalmente, à multiplicação somente de material selecionado pelo seu bom comportamento produtivo e de qualidade. A exceção foi o peso específico de tubérculos que manteve-se quase constante e a aparência geral, que mostrou um decréscimo na média geral de uma safra para outra, devido, principalmente, a fatores ambientais, como solo e temperatura, que afetaram os genótipos.

Os coeficientes de variação em geral foram menores que na safra do ano anterior, possivelmente graças à utilização de duas repetições, o que contribui para um melhor controle da variação não-genética. A exceções foram produção de tubérculos e aparência geral, que apresentaram coeficientes de variação maiores quando avaliados no mesmo período do ano anterior, indicando a existência de variabilidade e maior influência do ambiente sobre estas características. Os valores variaram entre 31,16%, para aparência geral até 0,49%, para peso específico de tubérculos (Tabela 6).

TABELA 5. Médias dos 30 melhores clones selecionados com base no índice de Mulamba & Mock (1978) e das testemunhas, para produção por planta, porcentagem de tubérculos graúdos, peso específico e cor dos *chips*. Terceira Geração Clonal. Safra 2002.

Clone GBA	Produção (g/planta)	% de tubérculos graúdos	Peso específico de tubérculos	Cor de <i>Chips</i>	Índice de Mulamba e Mock
5.32	924	71	1,0939	2,0	26a
1.29	771	96	1,0909	1,5	29a
15.22	941	63	1,1140	3,0	32a
29.21	787	87	1,0890	1,5	34a
3.05	1072	96	1,0818	2,0	48a
5.05	750	82	1,0871	1,5	53a
8.30	891	92	1,0813	1,0	54a
5.22	700	83	1,0921	2,5	54a
7.48	779	84	1,0839	2,0	55a
29.15	860	86	1,0798	1,0	61a
4.21	740	62	1,0905	1,5	62a
26.30	765	70	1,0866	2,2	62a
26.05	782	74	1,0810	2,0	72a
16.48	839	19	1,1032	2,0	73a
20.06	695	78	1,0834	4,0	81a
26.43	671	55	1,0872	2,0	83a
5.33	636	56	1,0876	1,5	84a
1.13	620	83	1,0820	2,5	88a
16.20	580	73	1,0864	3,5	89a
2.28	690	87	1,0784	2,5	91a
17.24	538	68	1,0870	2,0	93a
1.39	695	69	1,0769	1,0	106b
9.13	502	92	1,0785	1,5	115b
22.15	751	83	1,0683	2,0	119b
5.13	690	82	1,0695	4,5	136b
20.21	565	57	1,0762	3,0	144b
16.30	420	50	1,0936	2,7	146b
35.01	741	59	1,0674	3,0	150b
7.28	498	60	1,0762	2,0	151b
16.50	200	51	1,0926	3,0	152b
Asterix	831	56	1,0764	3,0	161b
Atlantic	242	10	1,0856	2,0	264c
Monalisa	710	83	1,0670	4,0	224c
Achat	564	44	1,0666	2,5	289c

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott e Knott (1974) $P < 0,05$.

TABELA 6. Resumo das análises de variância para as características produção por planta, número de tubérculos graúdos por planta, porcentagem de tubérculos graúdos, peso médio de tubérculos graúdos, peso específico de tubérculos, aparência geral e cor dos *chips*. Safra 2003. Terceira Geração Clonal.

FV	GL	Quadrado Médio						
		Produção (g/planta)	Número de tubérc./planta	% de tubérculos graúdos	Peso médio de tubérculos graúdos (g)	Peso específico de tubérculos	Aparência geral	Cor de <i>Chips</i>
Clones	31	124919,34ns	9,42**	315,32ns	2103,87**	$9,2 \times 10^{-4}$ **	0,96**	0,87**
Erro	33	75887,33	3,44	190,45	923,40	$2,8 \times 10^{-4}$	0,45	0,27
Média		914,80	8,61	60,91	131,40	1,0728	2,15	2,29
CV _e (%)		30,11	21,55	22,66	23,13	0,49	31,16	22,80
σ^2_G		24516,70	2,99	62,43	590,23	$3,2 \times 10^{-4}$	0,25	0,30
σ^2_F		62439,67	4,71	157,66	1051,93	$4,6 \times 10^{-4}$	0,48	0,43
h^2_a		0,28	0,63	0,40	0,56	0,41	0,52	0,70
IC ^a		-0,23 a 0,70	0,25 a 0,82	-0,23 a 0,70	0,11 a 0,75	0,38 a 0,85	0,04 a 0,77	0,37 a 0,85
CV _G		17,11	20,08	12,97	18,49	0,53	23,25	23,92
CV _G /CV _e		0,57	0,93	0,57	0,80	1,08	0,75	1,05

** significativo a 1% de probabilidade, * significativo a 5% de probabilidade e ns. não significativo pelo teste de F, respectivamente; ^aIntervalo de confiança para as estimativas das herdabilidades.

As estimativas da herdabilidade no sentido amplo e dos coeficientes de variação genético são mostradas na Tabela 6. As herdabilidades foram de moderadas a moderadamente altas, a exceção da produção que apresentou um baixo índice (0,28). As características cor de *chips* e número de tubérculos por planta apresentaram as herdabilidades mais altas (0,70) e (0,63), respectivamente. As únicas características com a razão entre o coeficiente de variação genética (CV_G) e o coeficiente de variação ambiental (CV_e) maior que a unidade foram peso específico de tubérculos e cor de *chips*, sendo esta uma situação favorável para a seleção de clones com estas características, segundo Vencovsky & Barriga (1992).

As médias dos melhores clones e das testemunhas desta geração são apresentados na Tabela 7. Foi empregado o índice de Mulamba & Mock para discriminar entre os melhores clones devido à simplicidade de sua aplicação (Barbosa & Pinto, 1998).

4.1.4 Safra 2003. Quarta geração clonal (C4)

Neste experimento, exceto para a aparência geral dos tubérculos, houve diferenças significativas entre os clones para todas as outras características avaliadas, indicando a existência de variabilidade genética. Na Tabela 8 são mostrados o resumo das análises de variância e também as médias gerais para todas as características. diferente do experimento de clones de terceira geração clonal da safra de 2002, as médias para a maioria das características foram superiores, a exceção da aparência geral, que melhorou sensivelmente e das características de interesse para o processamento, como o peso específico de tubérculos, que mostrou uma leve diminuição e a cor de *chips*, que produziu produtos fritos mais claros que a geração anterior.

Os coeficientes de variação variaram de 55,87% para aparência geral até 0,72 para peso específico de tubérculos. Em geral, os coeficientes de variação

TABELA 7. Médias dos 20 melhores clones selecionados com base no índice de Mulamba & Mock (1978) e das testemunhas, para produção por planta, porcentagem de tubérculos graúdos, peso específico e cor dos *chips*. Terceira Geração Clonal. Safra 2003.

Clone GBA	Produção (g/planta)	% de tubérculos graúdos	Peso específico de tubérculos	Cor de <i>Chips</i>	Índice de Mulamba e Mock
14.091	1150	80	1,0852	2,0	13 ^a
8.061	906	78	1,0798	2,0	30b
14.075	1180	71	1,0723	3,3	34b
5.067	1022	61	1,0775	2,3	37b
1.080	1150	80	1,0677	3,0	38b
8.080	1010	74	1,0709	2,5	39b
8.203	765	80	1,0722	1,5	40b
14.051	1070	67	1,0670	1,2	40b
8.069	1067	68	1,0691	2,0	41b
2.132	950	58	1,0761	1,7	36b
5.089	990	58	1,0761	1,7	42b
1.212	845	78	1,0712	2,8	44b
2.068	1630	55	1,0695	2,3	44b
5.116	752	55	1,0798	1,5	49b
5.069	828	52	1,0810	2,0	49b
5.089	990	63	1,0686	2,0	51b
8.144	716	45	1,0822	1,5	51b
29.029	1000	53	1,0702	2,3	54b
14.153	941	53	1,0725	3,0	54b
14.097	800	41	1,0797	2,0	56b
Monalisa	1150	77	1,0652	4,0	45b
Atlantic	550	55	1,0752	2,3	70c

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott e Knott (1974) $P < 0,05$.

diminuíram para a maioria das características, exceto para aparência geral e para cor de *chips*. O uso de maior número de repetições em C4 do que em C3 contribuiu para o aumento da precisão experimental das características avaliadas diminuindo o erro experimental.

As estimativas das herdabilidades, de modo geral, foram amplamente superiores às observadas em C3 (Tabela 4). Apesar disso, para o caráter aparência geral, a estimativa da herdabilidade foi mais baixa do que a encontrada no experimento de inverno de 2002, sendo este o menor índice de todos os avaliados (0,25). Apesar das altas herdabilidades, as relações CV_G/CV_e

TABELA 8. Resumo das análises de variância para as características produção por planta, número de tubérculos graúdos por planta, porcentagem de tubérculos graúdos, peso médio de tubérculos graúdos, peso específico de tubérculos, aparência geral e cor dos *chips*. Safra 2003. Quarta Geração Clonal.

FV	GL	Quadrado Médio						
		Produção (g/planta)	Número de tubérc./planta	% de tubérculos graúdos	Peso médio de tubérculos graúdos (g)	Peso específico de tubérculos	Aparência geral	Cor de <i>Chips</i>
Clones	29	90296,85**	9,00**	493,37**	1976,88**	$2,2 \times 10^{-4}$ **	1,92ns	1,73**
Erro	58	35969,43	3,41	104,61	580,45	$0,6 \times 10^{-4}$	1,44	0,05
Média		781,77	7,21	65,89	134,36	1,0743	2,14	1,77
CV _e (%)		24,26	25,63	15,52	17,03	0,72	55,87	12,94
σ^2_G		18189,14	1,86	129,59	465,48	$5,50 \times 10^{-4}$	0,16	0,56
σ^2_F		30098,95	3,00	164,46	658,96	$7,53 \times 10^{-4}$	0,64	0,58
h^2_a		0,60	0,62	0,79	0,71	0,73	0,25	0,96
IC ^a		0,22 a 0,78	0,26 a 0,79	0,41 a 0,89	0,42 a 0,84	0,47 a 0,85	-0,47 a 0,59	0,94 a 0,98
CV _G		17,21	18,91	17,28	16,06	0,69	18,69	42,28
CV _G /CV _e		0,71	0,74	1,11	0,94	0,96	0,33	3,27

** significativo a 1% de probabilidade, * significativo a 5% de probabilidade e ns. não significativo pelo teste de F, respectivamente; ^aIntervalo de confiança para as estimativas das herdabilidades.

somente foram maiores que a unidade para porcentagem de tubérculos graúdos e cor de *chips*. Não deve-se descartar, no entanto, que os índices tanto de peso médio de tubérculos graúdos e peso específico de tubérculos estiveram muito próximos da unidade, sendo também caracteres com condições favoráveis para praticar-se seleção (Vencovsky & Barriga, 1992).

Os 20 melhores clones e as testemunhas desta geração foram classificados com base em suas médias para caracteres de interesse agrônomo e de processamento por meio do índice de Mulamba & Mock (Tabela 9).

4.1.5 Coeficiente de correlação entre gerações

Uma das maneiras de estimar a eficiência da seleção nas diferentes gerações clonais pode ser por meio dos coeficientes de correlação entre as gerações. Assim, deveriam ser esperadas correlações altas entre as gerações se o comportamento dos clones fosse semelhante através das mesmas.

Para determinar a eficiência da seleção, foram estimadas as correlações de Pearson (correlações simples) entre gerações, para algumas características apresentadas na Tabela 10.

Entre as gerações C2 x C3, no geral, os coeficientes de correlação entre as cinco características foram significativos, exceto para aparência geral, que também apresentou um valor baixo, provavelmente devido às condições ambientais e à interação genótipo x ambiente. Estes resultados sugerem a não utilização da aparência geral como parâmetro válido para realizar seleção fenotípica nestas gerações.

O valor positivo mais alto, observado entre C2 x C3, foi para a cor de *chips*, indicando a possibilidade de se realizar seleção moderada para esta característica a partir de C2. Segundo Thill & Peloquin (1995), genótipos que são indicados para o processamento na forma de *chips* devem apresentar-se dentro de um escore aceitável já nas primeiras gerações clonais. De fato, no

TABELA 9. Médias dos 20 melhores clones selecionados com base no índice de Mulamba & Mock (1978) e das testemunhas, para produção por planta, porcentagem de tubérculos graúdos, peso específico e cor dos *chips*. Quarta geração clonal. Safra 2003.

Clone GBA	Produção (g/planta)	% de tubérculos graúdos	Peso específico de tubérculos	Cor de <i>Chips</i>	Índice de Mulamba e Mock
29.21	926	64	1,0823	1,2	22a
1.39	940	80	1,0772	1,1	25a
3.05	773	75	1,0854	1,0	26a
2,28	946	85	1,0792	3,3	30a
16.48	1073	56	1,0682	2,0	34a
4.21	748	72	1,0804	2,0	35a
5.33	681	71	1,0802	2,0	36a
9.13	980	76	1,0739	1,3	37a
26.30	913	69	1,0755	1,5	37a
5.32	606	64	1,0861	1,2	40a
5.13	952	82	1,0646	3,1	43a
5.05	1026	72	1,0653	1,2	45a
15.22	955	67	1,0773	2,3	45a
7.28	816	48	1,0763	3,2	46a
29.15	647	60	1,0682	1,2	49a
1.13	680	61	1,0727	1,8	50a
35.01	847	58	1,0660	2,3	51a
1.29	440	74	1,0802	1,0	52a
26.05	580	66	1,0747	3,1	53a
8.30	440	80	1,0786	1,0	55a
Monalisa	1000	70	1,0618	2,5	53a
Atlantic	646	67	1,0836	1,0	39a

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott e Knott (1974) $P < 0,05$.

TABELA 10. Coeficientes de correlação de Pearson entre gerações de seleção para as características agrônômicas e de processamento.

Característica	C2 x C3	C3 x C4
Produção (g/planta)	0,40**	0,31*
Porcentagem de tubérculos graúdos	0,39*	0,72**
Aparência Geral	0,09 ns	0,26*
Peso específico	0,46**	0,73**
Cor de <i>chips</i>	0,55**	0,79**

** e *: significativo a 1% e 5% de probabilidade respectivamente; ns: não significativo.

presente trabalho, 93,38% e 74,30% dos clones apresentaram escore de cor aceitável na C2 e C3, respectivamente.

As correlações para produção, porcentagem de tubérculos graúdos e peso específico de tubérculos foram de magnitude moderada, indicando a possibilidade de selecionar estes clones com uma intensidade moderada a partir de C2.

Assim, estes resultados apóiam a idéia que um dos principais fatores que limitaram os altos índices de correlação nestas gerações foi a variação não genética entre os clones. Esta variação não genética deve-se, entre outros fatores, ao número limitado de plantas, geralmente em torno de cinco e à não utilização de repetições na C2, condição imposta pelo grande número de clones a serem avaliados e a pouca disponibilidade de tubérculos.

Entre as gerações C3 x C4, os valores de coeficiente de correlação foram de moderada a alta magnitude. Ao contrário do observado em C2 x C3, os valores mais altos foram para porcentagem de tubérculos graúdos, peso específico e cor de *chips*, sugerindo a possibilidade de seleção dos genótipos superiores para estas características a partir da C3, conduzindo para o avanço de gerações somente os clones selecionados.

Conforme Dale & Mackay (1994), as condições de baixas temperaturas são as responsáveis pela acumulação de açúcares redutores nos tubérculos de batata, o que produz o escurecimento dos produtos fritos e a diminuição dos teores de amido. No entanto, não se observaram condições de temperaturas adversas nesta safra, que afetassem a produção de *chips* de boa qualidade na maioria dos clones.

4.2 Avaliações de laboratório

Dos *primers* construídos com a finalidade de detectar polimorfismos para os genes envolvidos nas rotas metabólicas, que determinam a distribuição de carboidratos nas células dos tubérculos de batata, somente o *primer* de microssatélite relacionado ao gene da amido sintetase apresentou polimorfismos que permitiram detectar variação entre os genótipos para a acumulação de amido nos tubérculos. O resultado era esperado, devido ao fato da amido sintetase ser uma enzima importante no metabolismo do amido, funcionando como precursora direta da formação do amido nos tubérculos de batata (Martin & Smith, 1995; Sowokinos, 2001) (Figura 1). Kawchuk et al. (1996) também obtiveram polimorfismos com microssatélites associados a amido sintetase na avaliação de 95 cultivares tetraplóides de batata. Porém, o gene da amido sintetase solúvel tipo I não apresentou polimorfismos aparentes, apesar de sua função mais importante encontrar-se principalmente nos cloroplastos das folhas e em menor quantidade nos amiloplastos (Abel et al., 1996).

Os primers de PCR para detecção de polimorfismos nos genes para invertase ácida solúvel e para translocadora de glicose-6-fosfato, também não apresentaram variações aparentes.

A invertase ácida participa diretamente no metabolismo de carboidratos, limitando a capacidade de adoçamento dos tubérculos de batata, ou seja, da eficiência para hidrolisar sacarose a açúcares redutores livres (Sowokinos, 2001) (Figura 1). Em condições de baixas temperaturas, a atividade desta enzima geralmente é aumentada nos tubérculos (Pressey, 1969; Sasaki, et al., 1971). Alguns promotores podem ser ativados nos tubérculos, por alterações produzidas pelas baixas temperaturas e desativados quando se retorna a temperaturas normais (Van Berkel, et al., 1994). A falta de polimorfismo gênico observado na análise de PCR indica que esta enzima forma parte de uma rota metabólica integrada, em que as invertases responderiam às altas concentrações de sacarose,

produzindo açúcares redutores livres. Portanto, não seriam as variações nos genes das invertases as causas diretas da acumulação destes açúcares.

A ausência de polimorfismo para o gene produtor da enzima translocadora de glicose-6-fosfato para dentro e fora do amiloplasto foi devido, possivelmente ao fato desta enzima, apesar de ocupar um lugar central no metabolismo dos carboidratos, não ter se mostrado como responsável direta pela acumulação ou degradação do amido, indicando que outras enzimas teriam uma maior responsabilidade nestas atividades metabólicas (Figura 1).

Dos 82 *primers* de RAPD utilizados, 20 produziram 52 locos marcadores polimórficos para serem submetidos a análise de variância (Tabelas 1A, 1B).

Os três sistemas isoenzimáticos utilizados (α -esterase, peroxidase e malato desidrogenase) apresentaram 33 bandas polimórficas, tanto nos materiais avaliados antes da floração como durante a floração.

4.2.1 Análise de variância, regressão linear múltipla e Backward

Os resultados da análise de variância das 86 bandas polimórficas avaliadas indicaram que um loco de microssatélite, três locos de RAPD e nove bandas isoenzimáticas polimórficas mostraram associação significativa com o peso específico. Para cor dos *chips*, a análise de variância indicou associação significativa de um loco de microssatélite, doze locos de RAPD e uma banda isoenzimática (Tabela 11).

Quando considerados novamente todos os marcadores para análise por meio da análise de regressão linear múltipla do tipo da soma de quadrados parcial (SQ tipo II), em que foram avaliados os efeitos de cada marcador em relação aos demais marcadores, observou-se que os resultados não foram coincidentes com aqueles obtidos pela análise de variância de cada marcador individualmente, resultando na quase totalidade dos marcadores não

significativos, a exceção de SSR-2, A10.4, Est-4 (amostragem em floração) e Prx-1 (amostragem antes da floração) para peso específico e de A10.2, C01.3, G05.2 para cor de *chips* (Tabela 11).

TABELA 11. Marcadores genéticos com associação significativa ao peso específico e à cor de *chips*.

Marcador ^a Peso Específico	R ² parcial (%)	SQ tipo II ^b	Marcador Cor de <i>Chips</i>	R ² parcial (%)	SQ tipo II ^b
SSR-2	12,50 **	*	SSR-2	0,52 **	ns
A07.1	0,70 *	ns	A07.3	1,48 *	ns
A10.4	9,99 **	*	A10.2	4,27 **	*
G03.2	2,87 *	ns	AE05.2	3,71 *	ns
<i>Est-4</i> ¹	8,03 **	ns	AT02.2	12,60 *	ns
<i>Est-4</i> ²	16,65 *	*	AT10.2	3,65 *	ns
<i>Est-5</i> ²	0,09 *	ns	C01.3	3,30 *	**
<i>Prx-1</i> ¹	33,90 *	**	E06.1	5,36 *	ns
<i>Prx-6</i> ¹	11,64 **	ns	F13.1	1,52 *	ns
<i>Prx-10</i> ¹	4,58 *	ns	F13.5	4,27 *	ns
<i>Prx-2</i> ²	4,61 *	ns	G03.1	0,70 *	ns
<i>Prx-5</i> ²	17,21 **	ns	G05.1	0,62 *	ns
<i>Mdh-2</i> ²	0,08 *	ns	G05.2	4,11 **	*
			<i>Mdh-3</i> ²	7,89 *	ns
R ² (%) ^c	74,53		R ² (%) ^c	47,84	
R ² (%) total	15,53		R ² (%) total	6,28	

^aLocos isoenzimáticos encontram-se em itálico, os outros são marcadores RAPD obtidos com *primers* decâmeros Operon. A nomenclatura para RAPD é a estabelecida por Quiros et al. (1993).

^bSoma de quadrados do tipo II

^cCoefficiente de determinação explicado pelos marcadores com F significativos (P,0,05 e P,0,01) da análise de variância de um só ponto.

** significativo a 1% de probabilidade,* significativo a 5% de probabilidade e ns (não significativo) pelo teste de F, respectivamente.

¹Amostragem antes da floração.

²Amostragem durante a floração.

A proporção de variância fenotípica total explicada por todos os marcadores foi de 15,53% para o peso específico e de 6,28% para a cor de *chips*. Estes valores são bem diferentes dos observados na análise de regressão linear múltipla realizada somente com locos de F significativo obtidos por meio da análise de variância de um só ponto. Esta análise indicou que os marcadores significativos explicaram, no conjunto, 74,53% de variação fenotípica do peso específico e 47,84% para a cor de *chips*, sendo este resultado próximo ao observado por Douches & Freyre (1994), que estimaram uma variação fenotípica total de 43,5% para cor de *chips* quando estimada com 12 marcadores de RAPD e um marcador isoenzimático explicando esses QTLs. A provável causa da diferença entre os coeficientes de determinação é que marcadores com pequeno efeito sobre a variação fenotípica dos caracteres considerados para a análise contribuem igualmente para aumentar o erro experimental e, conseqüentemente, diminuir a precisão experimental na estimação da variação fenotípica.

A proporção de variância fenotípica individual dos marcadores foi determinada pelos valores de R^2 parcial obtidos das análises de regressão linear múltipla de marcadores cujos F foram significativos. Estes valores variaram de 0,08% até 33,90% e 0,52% até 12,60%, para peso específico e cor de *chips*, respectivamente. Estes resultados são maiores que os encontrados por Freyre & Douches (1994), que obtiveram valores de R^2 de 4% até 15,8% na avaliação de locos individuais.

A significância do teste F nas análises de variância multilocos dos marcadores tomados dois a dois, para estimar interações epistáticas ou de ligação gênica, que proporcionam informações redundantes, demonstraram que somente as interações entre o marcador de RAPD F13.1 e o marcador isoenzimático *Est-4*, produto de amostras obtidas durante a época de floração das plantas e G03.2 junto com *Mdh-2*, também produto do mesmo período de

obtenção das amostras, mostraram significância ($P < 0,05$). Contudo, a significância obtida por análise de variância para cada variável demonstrou que F13.1 (marcador para cor de *chips*) e *Est-4* (marcador para peso específico) tiveram associação somente com o caráter peso específico de tubérculos. Portanto, o loco isoenzimático estaria próximo de um QTL, que explica a variação de peso específico e do loco que teria influência na determinação da cor dos *chips*, mas que não conseguiria influenciar o peso específico. Em relação à interação G03.2 (marcador para peso específico) e *Mdh-3* (marcador para cor de *chips*), a significância ($P < 0,01$) foi detectada tanto para a variável peso específico como para a variável cor de *chips*. Isso demonstra que estes marcadores estão próximos a um QTL, que seria importante na rota metabólica para determinar tanto o acúmulo de amido como a concentração dos açúcares redutores. É necessário salientar, entretanto, que o fato de que a maioria dos marcadores não ter apresentado significância por meio da análise de variância de dois marcadores tomados simultaneamente, não representa que estes marcadores não sejam importantes para explicar a variação do caráter, mas indica que a presença deles não apresentou nenhuma informação adicional importante, ou vice-versa.

Para sanar o problema de informações redundantes e avaliar o efeito de dois ou mais marcadores simultaneamente, foi realizada a análise de regressão múltipla com eliminação de marcadores pelo processo de Backward (Draper & Smith, 1981). A significância da análise de variância e o F parcial estão apresentados na Tabela 12.

TABELA 12. Marcadores remanescentes selecionados pela metodologia de Backward.

Marcador Peso Específico	R ² parcial (%)	Marcador Cor de Chips	R ² parcial (%)
SSR-2	16,47 *	G05.2	20,78 **
A10.4	15,27 *	A10.2	20,67 **
<i>Est-4</i> ¹	13,18 *		
<i>Est-4</i> ²	22,74 **		
<i>Prx-1</i> ¹	35,99 **		
<i>Prx-2</i> ²	20,60 **		
<i>Mdh-2</i> ²	15,64 *		
R ² (%) total	73,51	R ² (%) total	41,93

**significativo a 1% de probabilidade e *significativo a 5% de probabilidade pelo teste de F, respectivamente.

¹Amostragem antes da floração.

²Amostragem durante a floração.

Verificou-se que vários marcadores não significativos incluídos no modelo inicial foram descartados. Os marcadores remanescentes estariam mais próximos do QTL, sendo estes mais importantes. Observa-se que, com a retirada dos marcadores com informação redundante, a importância dos marcadores remanescentes aumentou, como pode ser visto pelo aumento da estimativa do F parcial e o incremento na proporção de variância fenotípica explicada por cada um deles.

Os marcadores remanescentes para peso específico demonstraram explicar 73,51% da variação fenotípica. Para a cor de chips, foram detectados dois marcadores remanescentes, G05.2 e A10.2, que conseguiram explicar 47,84% da variação fenotípica total. Este resultado está de acordo com as estimativas feitas por Douches & Freyre (1994), que encontraram no cromossomo 2 da batata um loco polimórfico para a cor de chips altamente significativo, associado ao primer G05.

A identificação de vários primers associados a diferentes QTLs apóia a idéia do controle poligênico envolvido nos caracteres que determinam a qualidade de processamento da batata. Os resultados de Pereira et al. (1993),

examinando a cor dos *chips* em cruzamentos 4X, também demonstraram a existência de um modelo poligênico.

4.3 Considerações gerais

A identificação de QTLs para peso específico de tubérculos e cor de *chips* podem ser de grande valor para os melhoristas de batata. Estes QTLs poderiam ser introduzidos via seleção assistida por marcadores em diferentes clones e cultivares.

Os resultados obtidos neste trabalho demonstram que foi possível detectar marcadores do tipo isoenzimático, de RAPD e microssatélites ligados aos locos relacionados com a determinação da qualidade de processamento da batata. Estes marcadores podem auxiliar futuramente num programa de melhoramento com seleção assistida de diferentes formas: i) existem diferenças de custo entre empregar marcadores bioquímicos (técnica simples e de custo relativamente baixo, que permite a análise de um grande número de plantas em pouco tempo, não é um processo destrutivo e possibilita o estudo de vegetais em qualquer estágio, embora o número de locos que podem ser analisados seja limitado) e marcadores moleculares (técnica de custo mais elevado, que fornece um número ilimitado de polimorfismos distribuídos aleatoriamente ao longo de todo o genoma e que é independente dos efeitos ambientais e do estado fisiológico das plantas, permitindo a identificação precisa dos genótipos em estádios iniciais do desenvolvimento). Portanto, o fator custo não seria limitante, podendo-se usar uma ou outra técnica, de acordo com a disponibilidade econômica de cada programa de melhoramento; ii) a identificação precoce de tubérculos com alta produtividade, altos teores de matéria seca e capacidade para produção de *chips* é hoje um dos principais objetivos dos programas de melhoramento de batata. Os marcadores genéticos permitiriam aumentar a eficiência da seleção nas primeiras gerações clonais para estas características em que, pelo fato do grande

número de indivíduos obtidos nestas gerações aumentou os tempos e custos dos testes individuais, o que, somado à herança tetrassômica e o multialelismo da batata, complica a detecção de genótipos superiores; iii) a identificação precoce de genótipos superiores poderia diminuir o número de anos, repetições e locais empregados para se desenvolver novas cultivares.

Como muitos dos 42 genótipos escolhidos para a análise com marcadores genéticos perderam-se no campo de um ano para outro, não foi possível realizar uma nova avaliação da produtividade e da qualidade dos clones e, conseqüentemente, uma nova repetição com os marcadores, que permitisse confrontar os dados para duas as gerações. Portanto, no futuro, seria interessante avaliar desde a geração *seedlings* até pelo menos duas gerações à frente, a associação dos caracteres peso específico e cor de *chips* com os marcadores genéticos detectados neste trabalho, para estabelecer a viabilidade de implementação da seleção assistida por marcadores como ferramenta capaz de auxiliar aos melhoristas nos programas de melhoramento.

5 CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos nas populações estudadas e sob as condições em que foram conduzidos os experimentos, pôde-se concluir que:

1. foi possível obter e selecionar clones com bom desempenho agrônômico e com características que conferem qualidades para o processamento industrial aceitáveis;
2. as estimativas de herdabilidade, tanto para caracteres agrônômicos como os de qualidade, tiveram geralmente valores baixos nas primeiras gerações, mas incrementaram-se com o avanço das gerações e o aumento do número de repetições;
3. os coeficientes de correlação entre as gerações foram moderados, sugerindo a prática de seleção negativa leve para a maioria das características, a exceção de peso específico e cor de *chips*, que apresentaram altos valores de correlação a partir da terceira geração clonal e, portanto, poderia aplicar-se maiores intensidades de seleção. A baixa magnitude do coeficiente de correlação para a aparência geral dos tubérculos demonstra que esse é um caráter pouco confiável para realizar seleção em qualquer geração;
4. foi possível encontrar e selecionar vários marcadores genéticos que explicaram grande parte da variação fenotípica observada, tanto para o peso específico como para a cor de *chips*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABEL, G. J. W.; SPRINGER, F.; WILLMITZER, L.; KOSSMANN, J. Cloning and functional analysis of a cDNA encoding a novel 139 kDa starch synthase from potato (*Solanum tuberosum* L.). **Plant Journal**, Oxford, v. 10, n. 6, p. 981-991, Dec. 1996.

AKELEY, R. V.; STEVENSON, F. J. The inheritance of dry matter content in potatoes. **American Potato Journal**, Orono, v. 21, n. 2, p. 83-89, Feb. 1944.

ALFENAS, C. A. ; PETERS, I.; BRUNE, W.; PASSADOR, G. C. **Eletroforese de proteínas e isoenzimas afins**: fundamentos e aplicações em plantas e microorganismos. Viçosa: UFV, 1998. 574 p.

ALLICCHIO, R.; ANTONIOLI, C.; GRAZIANI, L.; RONCARATI, R.; VANNINI, C. Isoenzyme variation in leaf-callus regenerated plants of *Solanum tuberosum*. **Plant Science**, Oxford, v. 53, n. 1, p. 81-86, 1987.

AMARO, G. B **Seleção precoce de clones de batata para caracteres do tubérculo**. 2002. 73 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

ANDERSON, J. A. D.; HOWARD, H. W. Effectiveness of selection in the early stages of potato breeding programmes. **Potato Research**, Wageningen, v. 24, n. 3, p. 289-299, 1981.

ANON. **Food and Agricultural Organization yearbook for 1985**. Rome: FAO, 1985. 331p. Series 39.

AP REES, T. Pathways of carbohydrate breakdown in plants. MTP International Reviews of Science. **Plant Biochemistry**, v. 11, n. 1, p. 89-127, 1974.

AP REES, T.; MORRELL, S. Carbohydrate metabolism in developing potatoes. **American Potato Journal**, Orono, v. 67, n. 12, p. 835-847, Dec. 1990.

AUGUSTIN, E.; COSTA, D. M. Caracterização de cultivares de batata através de isoenzimas. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 10, n. 1, p. 3-5, maio 1992.

AUSTIN, S.; BAER, M. A.; EHLENFELDT, M.; HEGELSON, J. P. Intra-specific fusions in *Solanum tuberosum*. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 71, n. 2, p. 172-175, 1985.

BARBOSA, M. H. **Capacidade combinatória e comparação entre critérios de seleção de clones de batata (*Solanum tuberosum* L.)**. 1996. 143 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

BARBOSA, M. H.; PINTO, C. A. B. P. Eficiência de índices de seleção na identificação de clones superiores de batata. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 33, n. 2, p. 149-156, fev. 1998.

BEARZOTI, E. **Comparação entre métodos estatísticos na avaliação de clones de batata em um programa de melhoramento**. 1994. 128 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola Superior de Agricultura de Lavras, Lavras, MG.

BEAVIS, W. D. The power and deceit of QTL experiments: Lessons from comparative QTL studies. In: ANNUAL CORN AND SORGHUM INDUSTRY RESEARCH, 49., 1994, Washington. **Proceedings...** Washington: American Seed Trade Association, 1994. p. 250-266.

BORGER, H. von; KOHLER, D.; SENGBUSCH, R. V. Untersuchungen über die Züchtung von Kartoffeln mit hohem Starkeertrag. **Züchter**, Hannover, v. 24, p. 273-276, 1954.

BROWN, J. A. A comparison between single plant plots and five plant plots for the initial selection stage of a potato breeding programme. **Euphytica**, Wageningen, v. 36, n. 3, p. 711-718, 1987.

BROWN, J. A.; CALIGARY, P. D. S.; MACKAY, G. R.; SWAN, G. E. L. The efficiency of seedling selection by visual preference in a potato breeding programme. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 103, n. 2, p. 339-346, Oct. 1984.

BRYAN, G.; DE JEONG, W.; PROVAN, J.; MILBOURNE, D.; MCNICOLL, J.; DAVIDSON, J.; RAMSAY, G.; WAUGH, R. Potato genomics: a general strategy for the molecular genetic characterization of *Solanum* germoplasm. **Breeding and Genetics**, v. 1, p. 101-104, 2000.

BRYCE, J. H.; HILL, S. A. Energy production in plant cells. In: LEE, P. J.; LEEGOOD, R. C. (Ed.). **Plant biochemistry and molecular biology**. Chichester: Wiley, 1993. p. 1-21.

BURRELL, M. M. Control of carbohydrate metabolism in potato tubers. In: BELKNAP, W. R.; VAYDA, M. E.; PARK, W. P. (Ed.). **The molecular and cellular biology of the potato**. 2. ed. Wallingford: C. A. B. International, 1994. p. 44-55.

CACACE, J. E.; HUARTE, M. A.; MONTI, M. C. Evaluation of potato cooking quality in Argentina. **American Potato Journal**, Orono, v. 71, n. 3, p. 145-153, Mar.1994.

CAPEZIO, S.; HUARTE, M.; CARROZZI, L. Selección por peso específico en generaciones tempranas en el mejoramiento de la papa. **Revista Latinoamericana de la Papa**, Lima, v. 5/6, p. 54-63, 1992/93.

CHAPPER, M.; BACARIN, M. A.; PEREIRA, A. da S.; TERRIBLE, L. C. Carboidratos não estruturais em tubérculos de dois genótipos de batata armazenados em duas temperaturas. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 20, n. 4, p. 583-588, dez. 2002.

CHEN, X.; SALAMINI, F.; GEBHARDT, C. A potato molecular-function map for carbohydrate metabolism and transport. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 102, n. 2/3, p. 284-295, Feb. 2001.

COELHO, A. H. R.; VILELA, E. R.; CHAGAS, S. J. de R. Qualidade de batata (*Solanum tuberosum* L.) para fritura, em função dos níveis de açúcares redutores e de amido, durante o armazenamento refrigerado e à temperatura ambiente com atmosfera modificada. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 23, n. 4, p. 899-910, out./dez. 1999.

COLON, L. T.; SIJPES, L.; HARTMANS, K. J. The cold stability of *Solanum goniocalyx* and *S. phureja* can be transferred to adapted diploid and tetraploid *S. tuberosum* germoplasm. In: LOUWES, K. M.; TOUSSAINT, H. A. J. M.; DELLAERT, L. M. W. (Ed.). **Parental line breeding and selection in potato breeding**. Wageningen: Pudoc, 1989. p. 76-80.

COPP, L. J.; BLENKINSO, R. W.; YADA, R. Y.; MARANGONI, A. G. The relationship between respiration and chip color during long-term storage of potato tubers. **American Potato Journal**, Orono, v. 77, n. 5, p. 279-287, Sept./Oct. 2000.

COSTA, D. M. Duas novas cultivares de batata (*Solanum tuberosum* L.) criadas pela EMBRAPA/CNPF. **HortiSul**, Pelotas, v. 2, n. 3, p. 28-31, 1992.

COSTA, D. M.; PEREIRA, A. da S. Criação de Cultivares de Batata (*Solanum tuberosum* L.) para Mesa e Processamento. In: REUNIÃO ANUAL DE PESQUISA COM BATATA EM SANTA CATARINA E NO RIO GRANDE DO SUL, 2., 1995. p. 8-10.

COTTRELL, J. E.; DUFFUS, C. M.; PATERSON, L.; MACKAY, G. R. Properties of potato starch: effects of genotype and growing conditions. **Phytochemistry**, Oxford, v. 40, n. 4, p. 1057-1064, Nov. 1995.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa: UFV, 1997. 390 p.

CUNNINGHAM, C. E.; STEVENSON, F. J. Inheritance of factors affecting potato chip color and their association with specific gravity. **American Potato Journal**, Orono, v. 40, n. 8, p. 253-265, Aug. 1963.

DALE, M. F. B.; MACKAY, G. R. Inheritance of table and table and processing quality. In: MACKAY, G. R.; BRADSHAW, J. E. **Potato genetics**. 2. ed. Cambridge: CAB International, 1994. p. 285-315.

DAVIES, H. V.; JEFFERIES, R. A.; SCOBIE, L. Hexose accumulation in cold stored tubers of potato (*Solanum tuberosum* L.): the effects of water stress. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 134, n. 4, p. 471-475, June 1989.

DAVIES, H. V.; MACKAY, G. R. Exploitation of genetic variation to improve potato quality. **Aspects of Applied Biology**, Lanhan, v. 39, n. 1, p. 45-49, 1994.

DAVIES, H. V.; VIOLA, R. Regulation of sugar accumulation in stored potato tubers. **Postharvest News and Information**, Oxon, v. 3, n. 1, p. 97-100, Feb. 1992.

DE JONG, H.; BURNS, V. J. Inheritance of tuber shape in cultivated diploid potatoes. **American Potato Journal**, Orono, v. 70, n. 3, p. 267-283, Mar. 1993.

DEMEKE, T.; ADAMS, R. P.; CHIBBAR, R. Potential taxonomic use of Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD): a case study in *Brassica*. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 84, n. 7/8, p. 990-994, Sept. 1992.

DEMEKE, T.; KAWCHUK, L. M.; LYNCH, D. R. Identification of potato cultivars and clonal variants by random polymorphic DNA analysis. **American Potato Journal**, Orono, v. 70, n. 8, p. 561-570, Aug. 1993.

DEMEKE, T.; LYNCH, D. R.; KAWCHUK, L. M.; KOZUB, G. C.; ARMSTRONG, J. D. Genetic diversity of potato determined by random amplified polymorphic DNA analysis. **Plant Cell Report**, New York, v. 15, n. 9, p. 662-667, May 1996.

DESBOROUGH, S. L.; PELOQUIN, S. J. Potato variety identification of electrophoretic patterns of tuber proteins and enzymes. **American Potato Journal**, Orono, v. 45, n. 6, p. 220-229, June 1968.

DENNY, F. E.; THORNTON, N. C. Factors for color in the production of potato chips. **Contribution Boyce Thompson Institute**, Menasha, v. 11, p. 291-303, 1940.

DENNY, F. E.; THORNTON, N. C. Potato varieties: sugar forming characteristics of tubers in cold storage and suitability for production of potato chips. **Contribution Boyce Thompson Institute**, Manasha, v. 12, p. 217-252, 1941.

DIXON, W. L.; AP REES, T. Carbohydrate metabolism during cold-inducing sweetening of potato tubers. **Phytochemistry**, Oxford, v. 19, n. 8, p. 1653-1656, Aug. 1980.

DIXON, W. L.; FRANKS, F.; AP REES, T. Cold lability of phosphofructokinase from potato tubers. **Phytochemistry**, Oxford, v. 20, n. 5, p. 969-972, May 1981.

DOUCHES, D. S.; FREYRE, R. Identification of genetic factors influencing chip color in diploid potato (*Solanum spp.*). **American Potato Journal**, Orono, v. 71, n. 9, p. 581-590, Sept. 1994.

DOUCHES, D. S.; MAAS, D.; JASTREBSKI, K. CHASE, R. W. Assessment of potato breeding progress in the USA over the last century. **Crop Science**, Madison, v. 36, n. 6, p. 1544-1552, Nov./Dec. 1996.

DRAPER, N. R.; SMITH, H. **Applied regression analysis**. 2. ed. New York: John Wiley, 1981. 709 p.

DUDLEY, J. W. Molecular markers in plant improvement: Manipulation of genes affecting quantitative traits. **Crop Science**, Madison, v. 33, n. 6, p. 660-668, Nov./Dec. 1993.

EDWARDS, A.; BORTHAKUR, A.; BORNEMANN, S.; VENAIL, J.; DENYER, K.; WAITE, D.; FULTON, D.; SMITH, A.; MARTIN, C. Specificity of starch synthase isoforms from potato. **European Journal of Biochemistry**, Oxford, v. 266, n. 3, p. 724-736, Dec. 1999.

EDWARDS, M. D.; STUBER, C. W.; WENDELL, J. F. Molecular-marker facilitated investigation of quantitative-trait loci in maize. I. numbers, genomic distribution and types of gene action. **Genetics**, Baltimore, v. 116, n. 1, p. 113-125, May 1987.

EHLENFELDT, M. K.; BOE, A. A.; JOHANSEN, R. H. Inheritance of reducing sugar accumulation in progeny lines of cold chipping potato clones. **American Potato Journal**, Orono, v. 66, p. 519, 1989. Abstracts.

FEDERER, W. T. **Augmented designs. Hawain Planter's Record**, Honolulu, v. 55, 1956. p. 191-208.

FERNIE, A. R.; WILLMITZER, L.; TRETHERWAY, N. Sucrose to Starch: a transition in molecular plant physiology. **Trends in Plant Science**, London, v. 7, n. 1, p. 35-41, Jan. 2002.

FERREIRA, D. F. **Eficiência de métodos de mapeamento de locos quantitativos (QTL's) e da seleção assistida por marcadores moleculares através de simulação**. 1995. 210 p. Tese (Doutorado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP.

FERREIRA, D. F. **MAPGEN**, 1993. Disponível em: <www.ufla.br>. Acesso em: dia mês ano.

FERREIRA, D. F. **SISVAR 4. 5**, 1999. Disponível em: <www.ufla.br>. Acesso em: dia mês ano.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análises genéticas**. 3. ed. Brasília: EMBRAPA-CENARGEN, 1998. 220 p.

- FISHER, P. J.; GARDNER, R. C.; RICHARDSON, T. E. Single locos microsatellites isolated using 5'anchored PCR. **Nucleic Acids Research**, Oxford, v. 24, n. 21, p. 4369-4371, Nov. 996.
- FONTES, P. C. R.; FINGER, F. L. Dormência dos tubérculos, crescimento da parte aérea e tuberação da batateira. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 20, n. 197, p. 24-29, 1999.
- FORD, R.; TAYLOR, W. J. The application of RAPD markers for potato cultivar identification. **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria, v. 48, n. 8, p. 1213-1217, 1997.
- FREYRE, R.; DOUCHES, D. S. Development of a model for marker-assisted selection of specific gravity in diploid potato across environments. **Crop Science**, Madison, v. 34, n. 5, p. 1361-1368, Sept./Oct. 1994.
- FULTON, D. C.; EDWARDS, A.; PILLING, E.; ROBINSON, H. L.; FAHY, B.; SEALE, R.; KATO, L.; DONALD, A. M.; GEIGENBERGER, P.; MARTIN, C.; SMITH, A. M. Role of Granule-bound Starch Synthase in Determination of Amylopectin Structure and Starch Granule Morphology in Potato. **Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v. 277, n. 13, p. 10834-10841, Mar. 2002.
- GEIGENBERGER, P.; MERLO, L.; REIMHOLZ, R.; STITT, M. When growing potatoes tubers are detached from their mother plant there is a rapid inhibition of starch synthesis, involving inhibition of ADPase. **Planta**, Berlin, v. 193, n. 4, p. 486-493, May 1994.
- GEIGER, H. E. Selection in early generations. In: EUCARPIA CONGRESS: efficiency in plant breeding, 10., 1984, Wageningen. **Proceedings...** Wageningen, 1984. p. 65-71.
- GOULD, W. A. Quality of potatoes for chip manufacture. In: SYMPOSIUM POTATO, 1988, Fort Collins. Fort Collins: The Potato Association, 1988. p. 11-21.
- GOULD, W. A. Specific gravity – its measurement and use. In: ORR, P. H.; PRESTON, D. A. (Ed.). **Chipping Potato Handbook**. Minnesota: The Snack Food Association, 1989. p. 18-21.

GOULD, W. A.; HAIR, B.; BAROUDI, A. Evaluation of potato cultivars before and after storage regimes for chipping. **American Potato Journal**, Orono, v. 56, n. 3, p. 133-144, Mar. 1979.

GUIMARÃES, C. T.; MOREIRA, M. A. Genética Molecular aplicada ao melhoramento de plantas. In: BORÉM, A. (Ed.). **Melhoramento de plantas cultivadas**. Viçosa: UFV, 1999. p. 715-740.

GUY, C. L. Cold acclimation and freezing stress tolerance: role of protein metabolism. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 41, p. 277-291, 1990.

HAGIWARA, W. E. **Emprego de RAPD em programa de retrocruzamento em feijão**. 2001. 75 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

HAJIRAZAEI, M.; TAKAHATA, Y.; TRETHERWAY, R. N.; WILLMITZER, L.; SONNEWALD, U. Impact of elevated cytosolic and apoplastic invertase activity on carbon metabolism during potato tuber development. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 51, p. 439-445, Feb. 2000. Supplement.

HALEY, C. S.; KNOTT, S. A. A simple regression method for mapping quantitative trait loci in line crosses using flanking markers. **Heredity**, Oxford, v. 69, n. 4, p. 315-324, Oct. 1992.

HAMADA, H.; PETRINO, M. G.; KAKUNAGA, T. A novel repeated element with Z-DNA forming potential is widely found in evolutionary diverse eukaryotic genomes. **Proceedings of National Academic of Science**, Washington, v. 79, n. 21, p. 6465-6469, Nov. 1982.

HAMMOND, J. B. W.; BURRELL, M. M.; KRUGER, N. J. Effect of low temperature on the activity of phosphofructokinase from potato tubers. **Planta**, Berlin, v. 180, n. 4, p. 613-616, Mar. 1990.

HATZFELD, W. D.; DANCER, J.; STITT, W. M. Fructose-2,6-biphosphate, metabolites and coarse control of pyrophosphate: fructose-6-phosphate phosphotransferase during triose-phosphate cycling in heterothrophic cell suspension cultures of *Chenopodium rubrum*. **Planta**, Berlin, v. 180, n. 2, p. 205-211, Sept. 1990.

- HAYDEN, M. J.; SHARP, P. J. Targeted development of informative microsatellite (SSR) markers. **Nucleic Acid Research**, Oxford, v. 29, n. 8, p. 170-176, July 2001.
- HAYNES, K. G.; HAYNES, F. L. Stability of high specific gravity genotypes of potatoes under high temperatures. **American Potato Journal**, Orono, v. 60, n. 1, p. 17-26, Jan. 1983.
- HAWKES, J. G. Origins of cultivated potatoes and species relationships. In: BRADSHAW, J. E.; MACKAY, G. R. **Potato Genetics**, Wallingford: CAB International, 1994. p. 3-42.
- HEINZ, D. J.; SCHIEDER, O. An improved culture method of mechanically isolated heterocaryons of potato. **Potato Breeding**, v. 97, p. 255-260, 1986.
- HERMUNDSTAD, S. A.; PELOQUIN, S. J. Male fertility and 2n pollen production in haploid-wild species hybrids. **American Potato Journal**, Orono, v. 62, n. 9, p. 479-487, Sept. 1985.
- HORTON, D. E. Potatoes: truly a world crop. **SPAN**, Near Derby, v. 30, n. 3, p. 116-118, 1988.
- HUBER, S. C. Interspecific variation in activity and regulation of leaf sucrose phosphate synthase. **Zeitschrift fur Pflanzenphysiologie**, Jena, v. 102, n. 5, p. 443-450, 1981.
- HUBER, S. C.; HUBER, J. L. A. role and regulation of sucrose-phosphate synthase in higher plants. **Annual Review of Plant Physiology and Molecular Biology**, Palo Alto, v. 47, p. 431-444, 1996.
- HUBER, S. C.; HUBER, J. L. A. Role of sucrose-phosphate synthase in sucrose metabolism in leaves. **Plant Physiology**, Rockville, v. 99, n. 4, p. 1275-1278, Aug. 1992.
- ISHERWOOD, F. A. Starch-sugar interconversion in *Solanum tuberosum*. **Phytochemistry**, Oxford, v. 15, n. 1, p. 33-41, Jan. 1976.
- KAWCHUK, L. M.; LYNCH, D. R.; THOMAS, J.; PENNER, B.; SILLITO, D.; KULCSAR, F. Characterization of *Solanum tuberosum* simple sequence repeats and application to potato cultivar identification. **American Potato Journal**, Orono, v. 73, n. 8, p. 325-335, Aug. 1996.

KILLICK, R. J.; SIMMONDS, N. W. Specific gravity of potato tubers as a character showing small genotype-environment interactions. **Heredity**, Oxford, v. 32, n. 2, p. 109-112, Feb. 1974.

KLEINKOPF, G. E.; WESTERMANN, D. T.; WILLE, M. J.; KLEINSCHMIDT, G. D. Specific gravity of Russet Burbank potatoes. **American Potato Journal**, Orono, v. 64, n. 11, p. 579-587, Nov. 1987.

KNAPP, S. J. Marker-assisted selection as a strategy for increasing the probability of selecting superior genotypes. **Crop Science**, Madison, v. 38, n. 6, p. 1164-1174, Nov./Dec. 1998.

KNAPP, S. J.; STOUP, W. W.; ROSS, W. M. Exact confidence intervals for heritability on a progeny mean basis. **Crop Science**, Madison, v. 25, n. 1, p. 192-194, Jan./Feb. 1985.

KRUGER, N. J.; HAMMOND, J. B. W.; BURRELL, M. M. Molecular characterization of four forms of phosphofructokinase purified from potato tuber. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, San Diego, v. 267, n. 2, p. 690-700, Dec. 1988.

LAMBERT, E. S. **Híbridos interespecíficos de batata com diferentes proporções de espécies exóticas**. 2001. 90 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

LANDE, R.; THOMPSON, R. Efficiency of marker-assisted selection in the improvement of quantitative traits. **Genetics**, Baltimore, v. 124, n. 3, p. 743-756, Mar. 1990.

LANDER, E. S.; BOTSTEIN, D. Mapping complex genetic traits in humans: new methods using a complete RFLP linkage map. **Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology**, Plainview, v. 51, n. 1, p. 49-62, 1986.

LANDER, E. S.; BOTSTEIN, D. Mapping mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. **Genetics**, Baltimore, v. 121, n. 1, p. 185-199, Jan. 1989.

LANZA, M. A.; GUIMARÃES, C. T.; SCHUSTER, I. Aplicação de marcadores moleculares no melhoramento genético. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 21, n. 197, p. 97-108, 2000.

LAUER, F.; SHAW, R. A possible genetic source for chipping potatoes from 40 F storage. **American Potato Journal**, Orono, v. 47, n. 8, p. 275-278, Aug. 1970.

LITT, M.; LUTY, J. A. A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. **American Journal of Human Genetics**, Chicago, v. 44, n. 3, p. 398-401, Mar. 1989.

LOPES, C. A.; BUSO, J. A. Escolha da cultivar. In: LOPES, C. A.; BUSO, J. A. (Ed.) **Cultura da batata** (*Solanum tuberosum* L.). Brasília: EMBRAPA/CNPH, 1997. p. 3-4. (EMBRAPA/CNPH. Instruções técnicas, 8).

LORENZO, P. Caracterización de los componentes químicos fundamentales relacionados con la calidad de la papa (*Solanum tuberosum* L.). **Cultivos Tropicales**, La Habana, v. 15, n. 1, p. 66-68, 1994.

LOVE, S. L.; PAVEK, J. J.; JOHNS, A. T.; BOHL, W. Breeding progress for potato chip quality in North American cultivars. **American Journal of Potato Research**, Orono, v. 75, n. 1, p. 27-36, Jan./Feb. 1998.

MacARTHUR, A. W.; KILLICK, R. J. Environmental and genetic variation in some economically important traits in potatoes. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 8, n. 1, p. 39-43, Jan. 1976.

MALIK, N. J.; DWELLE, R. B.; THORNTON, M. K.; PAVEK, J. J. Dry matter accumulation in potato clones under seasonal high temperature conditions in Pakistan. **American Potato Journal**, Orono, v. 69, n. 10, p. 667-676, Oct. 1992.

MANRIQUE, L. A. Analysis of growth of Kennebeck potatoes grown under different environments in the tropics. **American potato Journal**, Orono, v. 66, n. 5, p. 277-291, May 1989.

MARES, D. J.; SOWOKINOS, J. R.; HAWKER, J. S. Carbohydrate metabolism in developing potato tubers. In: LI, P. H. (Ed.). **Potato physiology**. New York: Academic Press, 1985. p. 279-327.

MARIS, B. Correlations within and between characters between and within generation as a measure for early generation selection in potato breeding. **Euphytica**, Wageningen, v. 37, n. 3, p. 205-224, 1988.

MARTIN, C.; SMITH, A. M. Starch biosynthesis. **The Plant Cell**, Rockville, v. 7, n. 7, p. 971-985, July 1995.

MARTIN, G. B.; WILLIAMS, J. G. K.; TANKSLEY, S. D. Rapid identification of markers linked to a *Pseudomonas* resistance genes in tomato using random primer and near-isogenic lines. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Washington, v. 88, n. 6, p. 2336-2340, Mar. 1991.

MELO, P. E. Cultivares de batata potencialmente úteis para processamento na forma de fritura no Brasil e manejo para obtenção de tubérculos adequados. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 20, n. 197, p. 112-119, 1999.

MENEZES, C. B. **Escolha de genitores e seleção de clones de batata para as safras de inverno e das águas**. 1999. 117 p. Dissertação - Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

MENEZES, C. B. de; PINTO, C. A. B. P.; NURMBERG, P. L.; LAMBERT, E. de S. Combining ability of potato genotypes for cool and warm seasons in Brazil. **Crop Breeding and applied Biotechnology**, Londrina, v. 1, n. 2, p. 145-147, 2001.

MILBOURNE, D.; MEYER, R.; BRADSHAW, J. E.; BAIRD, E.; BONAR, N.; PROVAN, J.; POWELL, W.; WAUGH, R. Comparison of PCR-based marker system for the analysis of genetic relationships in cultivated potato. **Molecular Breeding**, Dordrecht, v. 3, n. 2, p. 127-136, 1997.

MORENO-GONZALEZ, J. Estimates of marker-associated QTL effects in Monte-Carlo backcross generations using multiple regression. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 85, n. 4, p. 423-434, Dec. 1992.

MORRELL, S.; AP REES, T. Control of the hexose content of potato tubers. **Phytochemistry**, Oxford, v. 25, n. 5, p. 1073-1076, May 1986.

MOSS, D. W. **Isoenzymes**. New York: Chapman & Hall, 1982. 120 p.

MULAMBA, N. N.; MOCK, J. J. Improvement of yield potential of the method Eto Blanco maize (*Zea mays* L.) population by breeding for plant traits. **Egyptian Journal of Genetics and Citology**, Alexandria, v. 7, n. 1, p. 40-51, 1978.

MÜLLER-RÖBER, B.; SONNEWALD, U.; WILLMITZER, L. Inhibition of ADP-glucose pyrophosphorylase in transgenic potatoes leads to sugar-storing tubers and influences tuber formation and expression of tuber storage protein genes. **EMBO Journal**, Oxford, v. 11, n. 4, p. 1229-1238, Apr. 1992.

MULLIS, K. B. The unusual origin of the polymerase chain reaction. **Scientific American**, New York, v. 262, n. 4, p. 36-43, Apr. 1990.

MULLIS, K. B.; FALLOONA, F. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase catalysed chain reaction. **Methods Enzymology**, San Diego, v. 55, p. 335-350, 1987.

MURPHY, R. W.; SITES, J. W. Jr.; BUTH, D. G.; HANFLER, C. H. Proteins Isozymes electrophoresis. In: HILLS, D. M.; MORITZ, C. (Eds). **Molecular systematics**. Sunderland MA: Sinauer Associaes, 1990. p. 45-126.

NAKATA, P. A.; OKITA, T. W. Studies to enhance starch biosynthesis by manipulation of ADP-glucose pyrophosphorilase genes. In: BELKNAP, W. R.; VAYDA, M. E.; PARK, W. P. (Ed.). **The molecular and cellular biology of the potato**. 2. ed. Wallingford: C. A. B. International, 1994. p. 31-44.

NEELE, A. E. F.; LOUWES, K. M. Early selection for chip quality and dry matter content in potato seedling populations in greenhouse or screenhouse. **Potato Research**, Wageningen, v. 32, n. 2, p. 293-300, June 1989.

NORIO, R.; FUKUA, R. M. A indústria fala. **Batata Show**, Itapetininga, n. 1, p. 19-20, maio 2001.

OBATA-SASAMOTO, H.; SUZUKI, H. Activities of enzymes relating to starch synthesis and endogenous levels of growth regulators in potato stolon tips during tuberization. **Physiology Plantarum**, Copenhagen, v. 45, n. 3, p. 320-324, 1979.

PEREIRA, A. da S. Composição química, valor nutricional e industrialização. In: REIFSCHNEIDER, F. J. B. (coord.). **Produção de batata**. Brasília: Linha, 1987. p. 12-28.

PEREIRA, A. da S. Melhoramento genético da Batata. In: SIMPÓSIO DE ATUALIZAÇÃO E MELHORAMENTO DE PLANTAS, 4., 2000, Lavras. **Anais...** Lavras: UFLA, 2000. p. 41-50.

PEREIRA, A. da S.; COFFIN, R. H.; YADA, R. Y.; MACHADO, V. S. Inheritance patterns of reducing sugars in potato tubers after storage at 12C and 4C followed by reconditioning. **American Potato Journal**, Orono, v. 70, n. 1, p. 71-76, Jan. 1993.

PEREIRA, A. da S.; COSTA, D. da M. Qualidade e estabilidade de chips de batata. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 15, n. 1, p. 62-65, maio 1997.

PINTO, C. A. B. P.; VALVERDE, V. I. R.; ROSSI, M. S. Eficiência da seleção nas primeiras gerações clonais em batata (*Solanum tuberosum* L.). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 5, p. 771-778, maio 1994.

POPP, P. A. industrialização da batata no Brasil. In: ENCONTRO NACIONAL DE PRODUÇÃO DE BATATA, 7., 1994, Araucária. **Anais...** Araucária, 1994. p. 60-61.

PORTER, W. L.; FITZPATRICK, T. J.; TALLEY, E. A. Studies of the relationship of specific gravity to total solids of potatoes. **American Potato Journal**, Orono, v. 41, n. 10, p. 189-195, Oct. 1964.

POWELL, W.; MORGANTE, M.; ANDRE, C.; HANAFEY, M.; VOGEL, J.; TINGEY, S.; RAFALSKI, A. The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germoplasm analysis. **Molecular Breeding**, Dordrecht, v. 2, n. 3, p. 225-238, 1996.

PREISS, J. Biosynthesis of starch and its regulation. In: PREISS, J. (Ed.) **The biochemistry of plantas**. San Diego: Academic Press, 1988. p. 181-254. (Carbohydrates, v. 14).

PREISS, J. Regulation of the biosynthesis and degradation of starch. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v. 33, p. 431-454, 1982.

PRESSEY, R. Role of invertase in accumulation of sugars in cold-stored potatoes. **American Potato Journal**, Orono, v. 71, n. 1, p. 59-68, Jan. 1969.

PRIMMER, C. R.; RAUDSEPP, T.; CHOWDHARRY, B. P.; MOLLER, A. P.; ELLEGREN, H. Low frequency of microsatellite in the avian genome. **Genome Research**, New York, v. 7, n. 5, p. 471-482, May 1997.

PROVAN, J.; POWELL, W.; WAUGH, R. Microsatellite analysis of relationships within cultivated potato (*Solanum tuberosum*). **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 92, n. 8, p. 1078-1084, June 1996.

QUIROS, C. F.; CEADA, A.; GEORGEUSCU, A.; HU, J. Use of RAPD markers in potato genetics: segregations in diploid and tetraploid families. **American Potato Journal**, Orono, v. 70, n. 1, p. 35-42, Jan. 1993.

RASMUSSEN, J. O.; RASMUSSEN, O. S. Characterization of somatic hybrids of potato by use of RAPD markers and isozyme analysis. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 93, n. 2, p. 357-364, Feb. 1995.

ROCHA, B. H. G.; AUGUSTIN, E.; SILVA, J. B. da; PEREIRA, A. da S. Associação entre isoenzimas e matéria seca em batata silvestre. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n. 12, p. 2415-2421, dez. 2000.

RODRIGUES, A. F. S. **Seleção paracor do chips, matéria seca e produção em batata (*Solanum tuberosum* L.)**. 2001. 42 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

RODRIGUES, N. S. S. **Avaliação tecnológica e sensorial de novos genótipos de batata (*Solanum tuberosum* L.) para industrialização na forma de pré fritas congeladas**. 1990. 177 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

ROGERS, S. O.; BENDICH, A. J. Extration of DNA from plants tissues. **Planta Molecular Biology Manual A6**, v. 6, p. 1-10, 1988.

SASAKI, T.; TADOKORO, K.; SUZIKI, S. Multiple forms of invertase of potato tuber stored at low temperature. **Phytochemistry**, Oxford, v. 10, p. 2047-2050, 1971.

SCHALLENBERG, R. S.; SMITH, O.; TREADAWAY, R. H. Role of sugars in the browning reaction in potato chips. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 7, n. 4, p. 274-277, July/Aug. 1959.

SCHIPPERS, P. A. The relationship between specific gravity and percentage dry matter in potato tubers. **American Potato Journal**, Orono, v. 53, n. 4, p. 111-122, Apr. 1976.

SCOTT, A. J.; KNOTT, M. A. A cluster analysis method for gruping mean in the analyses of variance. **Biometrics**, Fort Collins, v. 30, n. 3, p. 507-512, Sept. 1974.

SHOTT, K.; BORCHERT, S.; MÜLLER-RÖBERT, B.; HELDT, H. W. transport of inorganic phosphate and C3 and C6 sugar phosphates across the envelope membranes of potato tuber amyloplast. **Planta**, New York, v. 196, n. 4, p. 647-652, July 1995.

SILVA, A. C. F. da. Batata: alguns aspectos importantes. **Agropecuária Catarinense**, Florianópolis, v. 4, n. 4, p. 38-41, 1991.

SINGH, K. B. Inheritance of specific gravity in potato tuber. **Indian Journal of Genetics and Plant Breeding**, New Delhi, v. 29, n. 3, p. 433-437, 1969.

SKROCH, P. W.; NIENHUIS, J. Qualitative and quantitative characterization of RAPD variation among snap bean (*Phaseolus vulgaris*) genotypes. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 91, n. 6/7, p. 1078-1085, Nov. 1995.

SKROCH, P. W.; SANTOS, J. B. dos; NIENHUIS, J. Genetic relationships among *Phaseolus vulgaris* genotypes based on RAPD marker data. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, Fort Collins, v. 35, p. 23-24, 1992.

SMITH, O. Effect of Cultural and Environmental Conditions and Potatoes for Processing. In: TALBURT, W. F.; SMITH, O. (Ed.) **Potato Processing**. 3. ed. Westport: AVI, 1975, p. 67 -125.

SOLLER, M. Marker-assisted selection, an overview. **Animal Biotechnology**, Madison, v. 5, p. 193-208, 1994.

SOLLER, M.; BECKMANN, J. S. Genetics polymorphism in varietal identification and genetic improvement. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 67, n. 1, p. 25-33, 1983.

SOLLER, M.; BECKMANN, J. S. Molecular markers in between-breed introgression programs. In: EXPERT CONSULTATION ON BIOTECHNOLOGY FOR LIVESTOCK PRODUCTION AND HEALTH: biotechnology for livestock production, 1986, Rome. **Proceedings...** New York: Plenum Press, 1989. p. 127-137.

SONNEWALD, U.; BASNER, G.; BURKHARD, G.; STEUP, M. A second L-type isozyme of potato glucan phosphorylase: cloning antisense inhibition and expression analysis. **Plant Molecular Biology**, Dordrecht, v. 27, n. 3, p. 567-576, Feb. 1995.

SOSINSKI, B.; DOUCHES, D. S. Using polymerase chain reaction-based DNA amplification to fingerprint North American potato cultivars. **Hortscience**, Alexandria, v. 31, p. 130-133, 1996.

SOWOKINOS, J. R. Stress-induced alterations in carbohydrate metabolism. In: VAYDA, M. E.; PARK, W. P. (Ed.). **The molecular and cellular biology of the potato**. Wallingford: C. A. B. International, 1990. p. 137-158.

SOWOKINOS, J. R. Biochemical and Molecular control of cold-induced sweetening in potatoes. **American Journal of Potato Research**, Orono, v. 78, n. 3, p. 221-236, May/June 2001.

SOWOKINOS, J. R. Post-harvest regulation of sucrose accumulation in transgenic potatoes: role and properties of potato tuber UDP-glucose pyrophosphorylase. In: BELKNAP, W. R.; VAYDA, M. E.; PARK, W. P. (Ed.). **The molecular and cellular biology of the potato**. 2. ed. Wallingford: C. A. B. International, 1994. p. 81-106.

SOWOKINOS, J. R.; THOMAS, C.; BURREL, M. M. Pyrophosphorylases in Potato. **Plant Physiology**, Rockville, v. 113, n. 2, p. 511-517, Feb. 1997.

STEEL, R. G. D.; TORRIE, J. H. **Principles and procedures of statistics**. 2. ed. New York: McGraw-Hill, 1980. 633 p.

STEUPE, M. Starch degrading enzymes. In: LEA, P. J. **Methods in plant biochemistry**. London: Academic Press, 1990. v. 3, p. 103-128.

STEVENSON, F. J.; AKELEY, R. V.; McLEAN, J. G. Potato utilization in relation to variety (heredity), and environment. **American Potato Journal**, Orono, v. 31, p. 327-340, 1954.

STEVENSON, F. J.; CUNNINGHAM, C. E. Chip color in relation to potato storage. **American Potato Journal**, Orono, v. 38, p. 105-113, 1961.

STITT, M.; SONNEWALD, U. Regulation of metabolism in transgenic plants. **Annual Review of Plant Physiology and Molecular Biology**, Palo Alto, v. 46, p. 341-368, 1995.

STUBER, C. W. Successes in the use of molecular markers for yield enhancement in corn. In: ANNUAL CORN AND SORGHUM INDUSTRY RESEARCH: Conference of American Seed Trade Association, 49., 1994, Washington, DC. **Proceedings...** Washington, 1994. p. 232-238.

SUNG, S. S.; XU, D. P.; BLACK, C. C. Identification of actively filling sucrose sinks. **Plant Physiology**, Rockville, v. 89, n. 4, p. 1117-1121, Apr. 1989.

TAKANO, K. Batata pré frita congelada: questão de tempo. **Batata Show**, Itapetininga, n. 3, p. 16, set. 2001.

TALBURT, M. S. History of potato processing. In: TALBURT, W. F.; SMITH, O. **Potato processing**. 3. ed. Westport: Avi publishing company, 1975. Cap. 1, p. 1-10.

TANKSLEY, S. D. Mapping polygenes. **Annual Review of Genetics**, Palo Alto, v. 27, p. 205-234, 1993.

TAI, G. C. C. Effectiveness of visual selection for early generations seedlings of potato. **Crop Science**, Madison, v. 15, n. 1, p. 15-18, Jan./Feb. 1975.

TAI, G. C. C.; YOUNG, D. A. Early generation selection for important agronomic characteristics in potato breeding population. **American Potato Journal**, Orono, v. 61, n. 7, p. 419-439, July 1984.

TAUBERGER, E.; FERNIE, A. R.; EMMERMANN, M.; RENZ, A.; KOSSMANN, J.; WILLMITZER, L.; TRETHERWAY, R. N. Antisense inhibition of plastidial phosphoglucomutase provides compelling evidence that potato tuber amyloplast import carbon from the cytosol in the form of glucose-6-phosphate. **Plant Journal**, Oxford, v. 23, n. 1, p. 43-53, July 2000.

TAUTZ, D.; RENZ, M. Simple sequences are ubiquitous repetitive components of eukaryotic genomes. **Nucleic Acid Research**, Oxford, v. 12, n. 10, p. 4127-4138, 1984.

THILL, C. A.; PELOQUIN, S. J. A breeding method for accelerated development of cold chipping clones in potato. **Euphytica**, Wageningen, v. 84, n. 1, p. 73-80, 1995.

THILL, C. A.; PELOQUIN, S. J. Inheritance of potato chip color at the 24-chromosome level. **American Potato Journal**, Orono, v. 71, n. 10, p. 629-646, Oct. 1994.

THOMASHOW, M. F. Molecular genetics of cold acclimation in higher plants. **Advanced Genetics**, New York, v. 28, p. 99-131, 1990.

TINGEY, S. V.; REFLASKI, J. A.; WILLIAMS, J. G. K. Genetic analysis with RAPD markers. In: APPLICATIONS OF RAPD TECHNOLOGY TO PLANT BREEDING, 1992, Minneapolis. **Proceedings...** Minneapolis: Crop Science Society of America, 1992. p. 3-8.

TREVANION, S. J.; KRUGER, N. J. Effect of temperature on the kinetics properties of pyrophosphate: fructose-6-phosphate phosphotransferase from potato tuber. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 137, n. 6, p. 753-759, Apr. 1991.

VAN BERKEL, J.; SALAMINI, F.; GEBHARDT, C. Transcripts accumulating during cold storage of potato (*S. tuberosum* L) tubers are sequence related to stress - responsive genes. **Plant Physiology**, Rockville, v. 104, n. 2, p. 445-452, Feb. 1994.

VAN ES, A.; HARTMANS, K. J. Starch and sugars during tuberization, storage and sprouting. In: RASTOVSKI, A.; VAN ES, A. et al. (Ed.) **Storage potatoes**. Wageningen: PUDOC, 1987. p. 79-113.

VEILLEUX, R. E.; SHEN YIN, L.; PAZ, M. M. Analysis of the genetic composition of anther-derived potato by randomly amplified polymorphic DNA and simple sequence repeats. **Genome**, Ottawa, v. 38, n. 6, p. 1153-1162, Dec. 1995.

VENCOVSKY, R.; BARRIGA, P. **Genética biométrica no fitomelhoramento**. Ribeirão Preto: SBG, 1992. 496 p.

VERMEER, H. Optimising potato breeding I. The genotypic, environmental and genotype-environmental coefficients of variation for tuber yield and other traits in potato (*Solanum tuberosum* L.) under different experimental conditions. **Euphytica**, Wageningen, v. 49, n. 3, p. 229-239, Sept. 1990.

VIOLA, R.; DAVIES, H. V. Effect of temperature on pathways of carbohydrate metabolism in tubers of potato (*Solanum tuberosum* L.). **Plant Science**, Clare, v. 103, n. 2, p. 135-143, 1994.

WELLER, J. I.; WYLER, A. Power of different sampling strategies to detect quantitative trait loci variance effects. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 83, n. 5, p. 582-588, May 1992.

WELSH, J.; MCCLELLAND, M. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. **Nucleic Acid Research**, Oxford, v. 18, n. 24, p. 7213-7218, Dec. 1990.

WESTMAN, A. L.; KRESOVICH, S. The potential of cross-taxa simple sequence repeat (SSR) amplification between *Arabidopsis thaliana* L. and crop brassicas. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 96, p. 272-281, 1998.

WILLIAMS, G. K.; KUBELIK, A. R.; LIVAK, K. L.; RAFALSKI, J. A.; TINGEY, S. V. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. **Nucleic Acids Research**, v. 18, p. 6531-6535, 1990.

WILLMITZER, L.; FROMMER, W.B.; KOSSMANN, J.; MÜLLER-RÖBER, J.; RIESMIER, U. SONNEWALD, U.; FLÜGGE, I.; HELDT, H. Transgenic potatoes changed in carbohydrate partitioning and allocation. In: BELKNAP, W.R.; VAYDA, M.E.; PARK, W.P. (Eds.) **The molecular and Cellular Biology of the Potato**. 2 ed. Wallingford: C.A.B. International, p. 57-65, 1994.

WOODBURY, G. W.; WEINHEIMER, W. H. Specific gravity – solids correlations in Russet Burbank with respect to point of origin and storage history. **American Potato Journal**, Orono, v. 42, n. 4, p. 98-104, 1965.

YADA, R. ; MARANGONI, A. ; STANLEY, D. Avoiding chilling injury in the storage of fruits and vegetables. **Highlights Of Agricultural And Food Research In Ontario**, California, v. 13, n. 4; p. 25-28, 1990.

ZEHR, B. E.; DUDLEY, J. W.; CHOJECKI, J. Some practical considerations for using RFLP markers to aid in selection during inbreeding of maize. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 84, n. 5/6, p. 704-708, 1992.

ZORZELLA, C. A.; VENDRUSCOLO, J. L.; PEREIRA, A. da Relação entre matéria seca, absorção de gordura e rendimento na fritura de batatas processadas na forma de “chips”. In: SIMPOSIO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIA DE ALIMENTOS, 3., 1999, Campinas. **Resumos....** Campinas: UNICAMP, 1999. p. 170.

ANEXOS

	Página
TABELA 1A. Relação dos <i>primers</i> de RAPD monomórficos ou de escassa resolução utilizados nos experimentos, para detecção de QTL's associados a peso específico e cor de <i>chips</i>	94
TABELA 2A. Relação de <i>primers</i> polimórficos utilizados nos experimentos, para detecção de QTL's associados a peso específico e cor de <i>chips</i>	94

TABELA 1A. Relação dos *primers* de RAPD monomórficos ou de escassa resolução utilizados nos experimentos, para detecção de QTL's associados a peso específico e cor de *chips*.

OPA-05	OPAM-19	OPB-15	OPC-19	OPF-20	OPL-07	OPX-09
OPA-06	OPAP-16	OPB-16	OPC-20	OPG-13	OPL-10	OPX-13
OPA-07	OPAT-11	OPB-17	OPE-04	OPH-08	OPM-09	OPY-04
OPA-11	OPAT-15	OPB-20	OPE-07	OPH-14	OPM-20	OPY-08
OPA-12	OPAU-03	OPC-02	OPE-09	OPK-01	OPO-20	OPY-17
OPAB-02	OPAU-06	OPC-03	OPF-03	OPK-02	OPP-07	OPY-18
OPAF-04	OPAU-07	OPC-04	OPF-06	OPL-01	OPP-19	OPY-19
OPAL-07	OPAU-08	OPC-05	OPF-07	OPL-02	OPW-04	
OPAL-16	OPB-10	OPC-08	OPF-08	OPL-04	OPW-12	

TABELA 2A. Relação de *primers* polimórficos utilizados nos experimentos, para detecção de QTL's associados a peso específico e cor de *chips*.

<i>Primer</i>	Seqüência	Bandas polimórficas	<i>Primer</i>	Seqüência	Bandas polimórficas
OPA-07	5'-GAAACGGGTG-3'	3	OPE-11	5'-GAGTCTCAGG-3'	3
OPA-10	5'-GTGATCGCAG-3'	5	OPF-05	5'-CCGAATTCCC-3'	2
OPAE-05	5'-CCTGTCAGTG-3'	5	OPF-13	5'-GGCTGCAGAA-3'	5
OPAF-15	5'-CACGAACCTC-3'	4	OPF-14	5'-TGCTGCAGGT-3'	1
OPAT-02	5'-CAGGTCTAGG-3'	5	OPG-03	5'-GAGCCCTCCA-3'	5
OPAT-10	5'-ACCTCCGGTC-3'	4	OPG-05	5'-CTGAGACGGA-3'	3
OPBB-08	5'-TCGTCAAGG-3'	3	OPG-12	5'-CAGCTCACGA-3'	1
OPC-01	5'-TTCGAGCCAG-3'	3	OPG-13	5'-CTCTCCGCCA-3'	2
OPE-05	5'-TCAGGGAGGT-3'	2	OPP-14	5'-CCAGCCGAAC-3'	2
OPE-06	5'-AAGACCCCTC-3'	1	OPQ-05	5'-CCGCTCTTG-3'	3