



EDUARDO ALVES DA SILVA

**COMBINATORY CAPACITY AND METHYLATION
PROFILE IN SWEETPOTATO GENOTYPES**

**LAVRAS – MG
2023**

EDUARDO ALVES DA SILVA

**COMBINATORY CAPACITY AND METHYLATION PROFILE IN
SWEETPOTATO GENOTYPES**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, área de concentração em Produção Vegetal para obtenção do título do Doutor.

Prof. Dr. Valter Carvalho de Andrade Júnior
Orientador

Prof. Dr. Niranjan Baisakh
Coorientador

Prof. Dr. Don R. Labonte
Coorientador

**LAVRAS - MG
2023**

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

Silva, Eduardo Alves da.

Combinatory capacity and methytion profile in sweetpotato
genotypes / Eduardo Alves da Silva. - 2023.

87 p. : il.

Orientador(a): Valter Carvalho de Andrade Júnior.

Coorientador(a): Niranjan Baisakh, Don R Labonte.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2023.

Bibliografia.

1. *Ipomoea batatas* L. 2. Dialelos. 3. Melhoramento genético. I.
Andrade Júnior, Valter Carvalho de. II. Baisakh, Niranjan. III.
Labonte, Don R. IV. Título.

EDUARDO ALVES DA SILVA

**CAPACIDADE COMBINATÓRIA E PERFIL DE METILAÇÃO EM GENÓTIPOS
DE BATATA-DOCE**

**COMBINATORY CAPACITY AND METHYLATION PROFILE IN
SWEETPOTATO GENOTYPES**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, área de concentração em Produção Vegetal para obtenção do título do Doutor.

APROVADA em 29 de agosto de 2023.

Dr. Edgard Henrique Costa Silva UNOESTE

Dr. Ernani Clarete da Silva UFSJ

Dr. Sebastião Marcio de Azevedo UFLA

Dr. Welison Andrade Pereira UFLA

Prof. Dr. Valter Carvalho de Andrade Júnior
Orientador

Prof. Dr. Niranjan Baisakh
Coorientador

Prof. Dr. Don R. Labonte
Coorientador

**LAVRAS - MG
2023**

Aos meus pais José e Maria, pela motivação, apoio e amor incondicional.

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida, por me dar sabedoria, paciência e fôlego de vida a cada amanhecer. Expresso minha profunda gratidão aos meus queridos pais, Maria e José, por sua constante força, incentivo incansável na busca dos meus ideais, e pelo amor carinhoso que permeou toda a minha jornada pessoal e acadêmica.

Recordo com carinho meu saudoso irmão Elcimar (*in memoriam*), e estendo minha gratidão aos irmãos Jose Maria, Luciene e Luciano, assim como a toda a minha família - cunhadas e sobrinhos - que, apesar da distância física, sempre me apoiaram com afeto, fortalecendo-me moralmente e trazendo alegria aos meus dias, tornando-os mais inspiradores. Um agradecimento especial aos tios, tias, primos e sobrinhos, cujo amor, incentivo e carinho têm sido inestimáveis ao longo da minha trajetória.

Quero também expressar minha sincera gratidão à Universidade Federal de Lavras (UFLA) e ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, por me proporcionarem a oportunidade de realizar meu doutorado. É com profundo reconhecimento que cito o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e a Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG), por suas bolsas de financiamento e apoio fundamental para a condução da pesquisa.

Ao respeitado Prof. Dr. Valter Carvalho de Andrade Júnior, minha gratidão por sua orientação, amizade, paciência, dedicação, confiança e compreensão em todos os momentos. Aos professores Dr. Niranjana Baisakh e Dr. Don R Labonte da Louisiana State University (LSU-EUA), expresso minha profunda gratidão pela orientação valiosa, amizade e apoio constante.

Minha gratidão também se estende aos amigos que construí em Lavras - Orlando, Ariana, Mariana, Jeferson, Taula, Camila, Emerson, Mohammed, Mannon, Maria e André - e aos amigos que fiz em Baton Rouge - Justin, Charles, Tolulupe, Christian, Marlon, Marcos, Samuel, Fagner, Sothy, Alê, Jessica, Nahyuen, Yumi, Paul, Chelsea, Hari, Ernesto e tantos outros. Não posso deixar de mencionar a minha família da The Chapel e da Baptist College Ministry (BCM), que me acolheram e tornaram-se meu porto seguro enquanto estive longe.

Uma menção especial aos funcionários do Centro de Desenvolvimento e Transferência de Tecnologia (CDTT/ESAL/UFLA) e do Setor de Olericultura, cujas instalações e materiais foram essenciais para meus experimentos. Minha gratidão ao Núcleo de Estudos em Olericultura (NEO) e ao Núcleo de Estudos em Fitopatologia (NEFIT), pela camaradagem, boa vontade e amizade.

Não posso deixar de reconhecer os professores do departamento de agricultura e genética, cuja orientação científica contribuiu significativamente para o meu crescimento pessoal e profissional. A todos que, de alguma forma, participaram na concretização desta importante etapa da minha jornada, expresso minha mais sincera gratidão. Que todos encontrem a felicidade!

Aos professores da banca avaliadora, Professor Dr. Valter, Professor Dr. Edgard, Professor Dr. Ernani, Professor Dr. Sebastião, Professor Dr. Welison, por gentilmente cederem seu tempo para contribuir de forma científica e moral a este trabalho.

Este trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES - Código de Financiamento 001 e do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.

Minha gratidão eterna! Expresso minha gratidão a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

Muito obrigado!

“O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis.”

(José de Alencar)

“O valor das coisas não está no tempo que elas duram, mas na intensidade com que acontecem. Por isso, existem momentos inesquecíveis, coisas inexplicáveis e pessoas incomparáveis.”

(Fernando Pessoa)

RESUMO

Programas de melhoramento de batata-doce necessitam ampliar constantemente a variabilidade na população e entender processos genéticos para se obter êxito. O uso de dialelos em batata-doce possibilita ampliar a variabilidade genética e selecionar genótipos superiores para diferentes aptidões, enquanto os estudos epigenéticos, como os padrões de metilação do DNA, permitem obter informações sobre regulação gênica e herança epigenética. Estas ações colaboram para o sucesso de um programa de melhoramento genético. Assim, objetivou-se com esta pesquisa: i) Estimar a capacidade de combinação de cruzamentos entre clones de batata-doce e identificar as melhores hibridações para características agrônômicas de interesse e; ii) Comparar os padrões de metilação do DNA de duas cultivares de batata-doce mantidas em casa de vegetação e cultura de tecidos por meio da análise de polimorfismo de amplificação sensível à metilação (MSAP). O estudo foi dividido em dois capítulos. No primeiro experimento foram avaliados 378 genótipos irmão-completos de batata-doce, provenientes de um dialelo parcial composto por 12 parentais, incluindo sete cultivares comerciais e cinco genótipos elites pré-avaliados, que também foram incluídos como testemunhas. O delineamento experimental utilizado foi em blocos incompletos, com duas repetições dos genótipos IC e doze repetições de cada testemunha. Aos 145 dias após o plantio, foram coletados os dados de produtividade de ramos, produtividade de raízes totais e comerciais, peso unitário de raízes totais e comerciais, porcentagem de raízes comerciais, bem como as massas secas de raízes e ramos. A análise estatística foi realizada por meio de modelos lineares mistos, obtendo-se os valores genotípicos preditos, e também por meio da análise dialélica, utilizando-se o modelo aleatório do método II, proposto por Griffing em 1956. Vários genótipos foram classificados como promissores. Os genótipos que mais se destacaram para a capacidade geral de combinação foram Brazlândia Roxa, Ligeirinha, UFLA-464, Uruguaiana, com valores positivos para todas as características. O cruzamento específico entre Amélia X UFLA-1257 promoveu maior produtividade de raízes totais, maior porcentagem de raízes comerciais, maior teor de matéria seca de raízes, e maior produtividade de ramos. O segundo estudo foi conduzido nos Estados Unidos na *Louisiana State University*, onde foram comparados os padrões de metilação do DNA de dois genótipos de batata-doce Covington e Murasaki. Estes genótipos foram conduzidos sob condições de cultivo em casa de vegetação e em cultura de tecidos. A análise MSAP foi realizada para investigar o nível de variação epigenética. Foram identificados os perfis de metilação de 36 acessos das cultivares, totalizando 1096 locos analisados. Os resultados indicaram que os perfis de metilação foram afetados tanto pela cultura de tecidos quanto por casa de vegetação. Contudo, ficou evidente que a cultura de tecidos desencadeou um padrão específico e consistente de alterações na metilação, sendo mais estáveis. Já sob condições de casa de vegetação, houve maior variabilidade nos padrões de metilação entre plantas. Em conjunto, os resultados verificados denotam a importância do uso de cruzamentos dialélicos e da qualidade do material propagativo no processo de melhoramento da batata-doce. Portanto, os resultados obtidos nos presentes estudos, colaboram no sucesso do programa de melhoramento de batata-doce.

Palavras-chave: *Ipomoea batatas* L. Dialelos. Melhoramento genético. Epigenética.

ABSTRACT

Sweetpotato breeding programs need to constantly increase variability in the population and understand genetic processes to be successful. The use of diallels in sweetpotatoes makes it possible to expand genetic variability and select superior genotypes for different abilities, while epigenetic studies, such as DNA methylation patterns, allow information on gene regulation and epigenetic inheritance to be obtained. These actions contribute to the success of a genetic improvement program. Thus, the objective of this research was to i) Estimate the ability to combine crosses between sweetpotato clones and identify the best hybridizations for agronomic characteristics of interest; ii) Compare the DNA methylation patterns of two sweetpotato cultivars maintained in greenhouse and tissue culture using methylation-sensitive amplification polymorphism analysis (MSAP). The study was divided into two chapters. In the first experiment, 378 full-sib genotypes of sweetpotato were evaluated, coming from a partial diallel composed of 12 parents, including seven commercial cultivars and five pre-evaluated elite genotypes, which were also included as controls. The experimental design used was incomplete blocks, with two replications of the IC genotypes and twelve replications of each control. At 145 days after planting, data on branch productivity, productivity of total and commercial roots, unit weight of total and commercial roots, percentage of commercial roots, as well as the dry masses of roots and branches were collected. Statistical analysis was performed using linear mixed models, obtaining the predicted genotypic values, and also through diallel analysis, using the random method II model proposed by Griffing in 1956. Several genotypes were classified as promising. The genotypes that stood out most for general combining capacity were Brazlândia Roxa, Ligeirinha, UFLA-464, Uruguaiana with positive values for all characteristics. The specific cross between Amélia The second study was conducted in the United States at the Louisiana State University, where the DNA methylation patterns of two sweetpotato genotypes, Covington and Murasaki, were compared. These genotypes were grown under greenhouse and tissue culture conditions. MSAP analysis was performed to investigate the level of epigenetic variation. The methylation profiles of 36 cultivar accessions were identified, totaling 1096 loci analyzed. The results indicated that the methylation profiles were affected by both tissue culture and greenhouse. However, it was evident that tissue culture triggered a specific and consistent pattern of changes in methylation, which were more stable. Under greenhouse conditions, there was greater variability in methylation patterns between plants. Taken together, the verified results denote the importance of using diallel crosses and the quality of the propagative material in the sweetpotato improvement process. Therefore, the results obtained in the present studies contribute to the success of the sweetpotato breeding program.

Keywords: *Ipomoea potatoes*. Diallels. Genetic improvement. Epigenetics.

SUMÁRIO

| | |
|-----------------------|---|
| PRIMEIRA PARTE | |
| 1 | INTRODUÇÃO..... 13 |
| 2.1 | Características morfoagronômicas 16 |
| 2.2 | Importância econômica 16 |
| 2.3 | Potenciais usos da batata-doce 17 |
| 2.3.1 | Batata-doce na alimentação humana 17 |
| 2.3.2 | Batata-doce para produção agroindustrial 19 |
| 2.3.3 | Batata-doce para alimentação animal 20 |
| 2.4 | Melhoramento genético de batata-doce 22 |
| 2.5 | Estratégias para ampliar a variabilidade 23 |
| 2.6 | Propagação <i>in vitro</i> e limpeza clonal de vírus em batata-doce 25 |
| 2.7 | Estudo da epigenética 26 |
| 2.8 | Estudos epigenéticos em batata-doce 27 |
| | REFERÊNCIAS..... 29 |
| | SEGUNDA PARTE – ARTIGOS* 37 |
| | ARTIGO 1 ESTIMATIVA DOS EFEITOS DE CAPACIDADE DE COMBINAÇÃO ENTRE CRUZAMENTOS DIALÉLICOS DE BATATA-DOCE PARA CARACTERES MORFOAGRONÔMICOS..... 38 |
| 1 | INTRODUÇÃO..... 39 |
| 2 | MATERIAL E MÉTODOS 41 |
| 2.1 | Genitores utilizados 41 |
| 2.2 | Cruzamentos dialélicos..... 42 |
| 2.3 | Produção de mudas e seleção <i>inseedling</i> 43 |
| 2.4 | Instalação do ensaio de campo e avaliação das progênies..... 44 |
| 2.5 | Parâmetros avaliados 45 |
| 2.6 | Análises estatísticas..... 46 |
| 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO..... 47 |
| 4 | CONCLUSÃO 61 |
| | ARTIGO 2 COMPARISONS OF METHYLATION PROFILE OF SWEETPOTATO GENOTYPES MAINTAINED IN TISSUE CULTURE AND GREENHOUSE INDICATE DIVERGENT PATTERNS OF EPIGENETIC VARIATION..... 66 |
| 1 | INTRODUCTION 67 |
| 2 | MATERIAL AND METHODS 69 |

| | | |
|------------|--|-----------|
| 2.1 | Experiment installation | 69 |
| 2.2 | Collection of leaf samples and DNA extraction | 69 |
| 2.3 | PCR conditions..... | 70 |
| 2.4 | Methylation sensitive amplification polymorphism profiling..... | 70 |
| 2.5 | Profiling scoring gel..... | 71 |
| 2.6 | Statistical analysis | 72 |
| 3 | RESULTS AND DISCUSSION | 73 |
| 3.1 | Analysis of variance | 73 |
| 3.2 | Methylation sensitive amplification polymorphism | 76 |
| 4 | CONCLUSIONS | 82 |
| | REFERENCES | 83 |

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO

O cultivo da batata-doce (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) é uma atividade expressiva em todo o mundo, sendo uma das produções alimentares mais intensas em 2020 (FAO, 2023). Além de sua importância para o consumo humano, também apresenta elevada aptidão para outros usos, como alimentação animal, produção de etanol e ornamentação (ANDRADE JÚNIOR *et al.*, 2020; DONATO *et al.*, 2020; SOUZA *et al.*, 2022). Ademais, a planta apresenta potencial como alimento funcional, dada a presença de compostos bioativos como os carotenoides e antocianinas (LAURIE *et al.*, 2022). Compostos bioativos são fitoquímicos sem função nutricional, mas apresentam atividade antioxidante, o que auxilia no combate de espécies reativas de oxigênio no organismo (CARVALHO, 2006).

A cultura é altamente valorizada por sua boa adaptação à diferentes condições de cultivo, fácil manejo, alto valor nutricional, baixo custo de produção e tolerância à seca (ANDRADE JÚNIOR *et al.*, 2012; VIANA *et al.*, 2017). Por estes motivos, a espécie é amplamente distribuída no território brasileiro, cultivada principalmente em pequenas propriedades (MAIA *et al.*, 2022). No entanto, a cultura ainda apresenta baixa produtividade no país (<15 t ha⁻¹) (EMBRAPA, 2021). Isto é consequência da falta de investimentos em tecnologia nos cultivos e de cultivares comerciais com potencial produtivo elevado para as diferentes regiões produtoras (BRITO *et al.*, 2021; SILVA *et al.*, 2022). Com isso, é essencial que sejam investidos esforços substanciais no desenvolvimento de cultivares de alto desempenho.

A busca por genótipos superiores, frequentemente envolve sucessivas seleções e recombinações de genótipos promissores, buscando-se a identificação de descendentes superiores aos seus genitores (SILVA *et al.*, 2022). Para que um programa de melhoramento genético seja bem-sucedido é crucial garantir que os bancos de germoplasma possuam ampla variabilidade genética, a qual deve ser constantemente expandida. A elevada variabilidade é essencial para o progresso genético nas populações, visto que permite a seleção de características de interesse em um conjunto diverso de indivíduos.

Algumas técnicas de melhoramento podem ser empregadas para a ampliação e manutenção da variabilidade genética na batata-doce, como os campos de policruzamentos e os cruzamentos controlados (dialelos) (NGAILO *et al.*, 2019; RUKUNDO *et al.*, 2019; MUGISA *et al.*, 2022; SILVA *et al.*, 2022). Estas técnicas de cruzamento têm sido utilizadas com sucesso no melhoramento da batata-doce, contribuindo para o desenvolvimento de genótipos com maior

adaptabilidade, qualidade e produtividade (SHUMBUSHA *et al.*, 2019; MUGISA *et al.*, 2022; SILVA *et al.*, 2022).

Os policruzamentos geram progênies de meios-irmãos, ou seja, os doadores de pólen são desconhecidos. Assim, não é possível identificar ambos os parentais, o que é uma grande desvantagem do método. Por outro lado, ao se utilizar cruzamentos dialélicos é possível identificar os genitores com maior frequência de alelos favoráveis (ZHANG *et al.*, 2015). Assim, cruzamentos dialélicos permitem a obtenção de progênies de irmãos-completos, enquanto os policruzamento originam apenas meios-irmãos (RAMALHO *et al.*, 2012), o que é uma vantagem dos cruzamentos controlados, visto que a identificação de ambos os genitores melhora a predição dos dados genotípicos (NUNES *et al.*, 2008; PIEPHO *et al.*, 2009). Além disso, a obtenção de genótipos elite pode ser facilitada e com redução de tempo, sendo uma estratégia interessante para a inserção de característica de interesse nos genótipos em curto prazo (MUGISA *et al.*, 2022).

Por outro lado, é importante destacar que tanto os cruzamentos dialélicos quanto os policruzamentos são métodos muito úteis para o melhoramento genético da batata-doce. Associados à fácil propagação vegetativa característica da espécie, estes métodos permitem que, logo nos primeiros ciclos de recombinação, seja possível identificar genótipos promissores e garantir sua manutenção por clonagem.

Apesar das desvantagens relacionadas aos problemas fitossanitários, a propagação vegetativa permite a manutenção das características genéticas da planta-mãe, rápida multiplicação de clones e preservação das características de interesse (HASNAIN *et al.*, 2022). Entretanto, o processo de clonagem carrega consigo algumas variações epigenéticas nos indivíduos através das gerações propagadas (CORONEL *et al.*, 2018; AKOMEAH *et al.*, 2019; ORŁOWSKA; BEDNAREK, *et al.*, 2020). As modificações epigenéticas referem-se a alterações químicas que ocorrem em nucleotídeos do DNA ou nas histonas (proteínas que se associam ao DNA), sem que a ordem dos pares de bases seja afetada (ALLIS *et al.*, 2007). Essas modificações podem afetar a expressão gênica, resultando em fenótipos diferentes dos observados na planta-matriz (GHOSH; IGAMBERDIEV; DEBNATH, 2021), o que não é de interesse para a produção de mudas visando cultivos comerciais ou mesmo nos programas de melhoramento genético.

Estudos têm demonstrado que a propagação vegetativa da batata-doce pode induzir alterações epigenéticas, as quais podem estar relacionadas às mudanças na produtividade, teor de compostos bioativos e tolerância a estresses ambientais (MERCÉ *et al.*, 2020; LEE *et al.*,

2021; GHOSH; IGAMBERDIEV; DEBNATH, 2021; WANG *et al.*, 2022). Diante disto, compreender essas variações epigenéticas é importante tanto para o desenvolvimento de estratégias de melhoramento genético mais eficientes, quanto para a exploração do potencial adaptativo da batata-doce.

Assim, objetivou-se com esta pesquisa: i) determinar os efeitos da capacidade de combinação de cruzamentos entre clones de batata-doce, visando identificar as melhores hibridações para características agronômicas de interesse e; ii) comparar os padrões de metilação do DNA de plantas de duas genótipos de batata-doce mantidas em diferentes ambientes de cultivo.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Características morfoagronômicas

A batata-doce é uma planta dicotiledônea, pertencente à família Convolvulaceae e que possui comportamento alógamo. A espécie é hexaploide ($2n = 6x = 90$) e autoincompatível, o que resulta em alta variabilidade genética e fenotípica (COSTA *et al.*, 2022; ZEIST *et al.*, 2022).

As folhas da planta são largas, com cor e formato variável, além de apresentarem o pecíolo longo. Suas flores são hermafroditas, mas com polinização cruzada, devido a sua autoincompatibilidade do tipo esporofítica, com inflorescência disposta do tipo cimeira, com 1 a 22 botões florais (MWANGA *et al.*, 2017). Devido a autoincompatibilidade, logo, impossibilidade de autofecundação, novas populações são necessariamente heterozigotas. Portanto, é plausível presumir alto grau de heterozigosidade em populações segregantes (SILVA *et al.*, 2022). O botão floral apresenta uma cor característica para cada genótipo, podendo variar entre a cor branca ao roxo (MWANGA *et al.*, 2017). Já os frutos são do tipo cápsula deiscente, com 1 a 4 sementes por flor, de aproximadamente 6 mm de diâmetro e cor castanho-claro (MWANGA *et al.*, 2017).

As raízes tuberosas são revestidas por uma pequena camada de células, de aproximadamente 2 mm, denominada de periderme, enquanto a parte central, denominada de polpa, apresenta diferentes colorações e formatos, a depender do genótipo (HUAMAN 1992; SILVA *et al.*, 2008). As raízes são fontes de vitaminas e minerais, sendo que a batata-doce de polpa alaranjada possui altos teores de beta-caroteno e as de polpa roxa são ricas em antocianinas (MUGISA *et al.*, 2022).

2.2 Importância econômica

A batata-doce é uma cultura expressiva em todo o mundo, sendo a 17ª cultura alimentar mais produzida mundialmente em 2020 (FAO, 2023). No ano de 2021 foram produzidas 89,5 milhões de toneladas em 7,4 milhões de hectares, com valor da produção estimado em 60 milhões de dólares (FAO, 2023). No Brasil, a cultura apresenta grande importância socioeconômica, sendo amplamente cultivada e difundida, especialmente por pequenos agricultores para fins de subsistência (COSTA *et al.*, 2022). Apesar da importância da cultura

para o Brasil, o país configura-se apenas como o 15º maior produtor mundial de batata-doce (FAO, 2023).

A área de batata-doce cultivada no Brasil aumentou 33,8% entre os anos de 2009 e 2020, saindo de 42.282 ha para 56.587 ha, respectivamente (IBGE, 2023). Isto elevou a quantidade produzida em 72,7%, com produção de 477.472 t em 2009 e 824.680 t em 2021. Outro destaque do período foi o aumento do valor da produção (4,52 vezes), que passou de R\$ 270,3 milhões para R\$ 1.222 milhões (IBGE, 2023). O principal estado produtor de batata-doce do Brasil é São Paulo, com 182 mil toneladas produzidas em 2020 (IBGE, 2023). Já o estado de Minas Gerais é o quarto maior produtor, com produção estimada em 68.142 toneladas no ano de 2020, em 3.825 ha e com rendimento médio de 17,82 t ha⁻¹ (IBGE, 2023).

Todavia, no Brasil, o incremento em produtividade no período de 2009 a 2021 foi de apenas de 30%, saindo de 11,30 t ha⁻¹ em 2009 para 14,68 t ha⁻¹ em 2021. Alguns fatores, como a adoção de sistemas de plantio inadequados, o uso incorreto de ramas no plantio, o cultivo em solos de baixa fertilidade e a falta de conhecimento técnico adequado, reduzem o potencial produtivo dos cultivares (CARMONA *et al.*, 2015). Além disso, a baixa produtividade nacional da batata-doce também pode ser atribuída ao uso de cultivares obsoletas (VARGAS *et al.*, 2020).

Devido à grande discrepância na produtividade e qualidade regional da cultura, pesquisas de melhoramento genético visando a seleção de genótipos superiores são necessárias para aumentar a produtividade e melhorar o padrão comercial das raízes (COSTA *et al.*, 2022; SILVA *et al.*, 2022; SOUZA *et al.*, 2022). Isto pode contribuir para a expansão da cultura no país, elevando os patamares de produção e a geração de renda para os produtores rurais.

2.3 Potenciais usos da batata-doce

2.3.1 Batata-doce na alimentação humana

A batata-doce é um alimento de elevado valor nutricional, rica em minerais, carboidratos, vitamina C, B1, B2 (riboflavina), B3 (niacina), B6, E, biotina, e ácido pantotênico (ŠLOSÁR *et al.*, 2019). Além de contribuir com micronutrientes essenciais, a batata-doce ainda possui compostos sem função nutricional, porém, com atividade antioxidante, denominados compostos bioativos (CARVALHO, 2006). Atualmente, a população busca inserir na dieta não apenas alimentos nutritivos, como também aqueles que são capazes de gerar benefícios à saúde

humana, como no caso dos alimentos ricos em antioxidantes (VERA-SANTANDER *et al.*, 2023).

Os antioxidantes têm a função de combater a ação danosa de radicais livres, como espécies reativas de oxigênio (TAIZ *et al.*, 2017). Os radicais livres são moléculas formadas naturalmente durante a respiração e a digestão de alimentos, e podem causar danos às macromoléculas das células, potencializando o surgimento de algumas doenças crônicas (ZHANG *et al.*, 2015). Em função disto, cresce o consumo de alimentos ricos em compostos bioativos com atividade antioxidante (HARBONNE; WILLIANS, 2000; BASLAM *et al.*, 2013; TEIXEIRA *et al.*, 2016; VERA-SANTANDER, *et al.*, 2023).

Estes compostos são fitoquímicos oriundos do metabolismo secundário das plantas, com a função principal de proteger as células contra a radiação ultravioleta (TAIZ *et al.*, 2017). Contudo, quando presentes na dieta humana, estes compostos atuam no combate aos radicais livres, e a na maioria se enquadram as espécies reativas de oxigênio (ZHANG *et al.*, 2015). Quando ingeridos, estes compostos trazem benefícios à saúde, pois previnem o surgimento de doenças crônicas tais como doenças cardiovasculares, diabetes, catarata, alguns tipos de câncer, hipertensão, doenças do sistema imune, entre outras (KRUGER *et al.*, 2014; ZHANG *et al.*, 2015; KIM *et al.*, 2016). Dentre os compostos bioativos, destacam-se os carotenoides, os compostos fenólicos, os ácidos orgânicos, vitamina C, flavonoides e antocianinas (KIM *et al.*, 2016).

Os genótipos de batata-doce com coloração da polpa roxa são ricos em antioxidantes, principalmente antocianinas, já os de coloração alaranjada, possuem altos teores de carotenoides (KAAYA *et al.*, 2022). Os carotenoides, além de sua atividade antioxidante, são pro-vitamínicos, os quais, biologicamente, podem ser convertidos em vitamina A. Dessa forma, a batata-doce de polpa alaranjada auxilia também no combate à deficiência dessa vitamina, cuja falta está ligada a problemas de visão (NEELA; FANTA, 2019).

Diante desses benefícios, surge a demanda para programas de melhoramento genético o desenvolvimento de cultivares biofortificadas, com altos teores de carotenoides (polpa alaranjada) e antocianinas (polpa roxa), aliados à alta produtividade. Com isto, os programas de melhoramento genético voltados para a alimentação humana têm como objetivo principal a busca por cultivares cada vez mais produtivas e de melhor qualidade de raízes. Todavia, vale ressaltar também, a importância da seleção, visando resistências ou tolerâncias às principais pragas e doenças (ANDRADE JÚNIOR *et al.*, 2009; GONÇALVES NETO *et al.*, 2011)

De acordo com Pereira *et al.* (2019), ao avaliarem o desempenho de genótipos biofortificados com altos teores de carotenoides, a produtividade média de raízes variou entre 32,74 a 52,21 t ha⁻¹. Isto demonstra o potencial de desenvolvimento de cultivares produtivas e biofortificadas. Assim, é facilitado o desenvolvimento de cultivares devido às antocianinas e os carotenoides serem pigmentos ligados à coloração da polpa, ou seja, a seleção de cores mais intensas está diretamente ligada às maiores concentrações destes compostos.

2.3.2 Batata-doce para produção agroindustrial

A batata-doce é uma raiz tuberosa com múltiplos fins agroindustriais, tais como extração de amido, produção de xarope, produção de farinha, produção de etanol (AKOETHEY *et al.*, 2017). Assim, o processamento de batata-doce resulta em uma variedade de produtos e subprodutos, de acordo com a finalidade industrial (AKOETHEY *et al.*, 2017).

De acordo Rizzolo *et al.* (2014), a batata-doce é boa matéria-prima, pois contém alto teor de carboidratos na forma de amido. O amido da batata-doce, depois de hidrolisado à glicose, juntamente com outros açúcares redutores presentes na planta em quantidades menores, pode ser fermentado para a produção de etanol (ALMEIDA *et al.*, 2017).

Diversos trabalhos têm demonstrado o alto rendimento para a produção de etanol derivado de batata-doce. Ao avaliarem genótipos de batata-doce Schweinberger *et al.* (2016) identificaram rendimento médio de 160,03 L t⁻¹ de raízes. Já Oliveira *et al.* (2017), ao avaliarem o potencial de genótipos para a produção de etanol, verificaram que os rendimentos de etanol obtidos variaram entre 121,25 a 176,26 L t⁻¹ de raízes processadas. Viana *et al.* (2017), ao avaliarem o desempenho de genótipos de batata-doce, quanto a produtividade de raízes, obtiveram produção entre 43,5 a 31,7 t ha⁻¹ de raízes tuberosas e rendimento efetivo de etanol entre 1.100 a 4.940 L ha⁻¹, com ciclo de 180 dias. Diante disso, quanto maior o rendimento de raízes e de amido por hectare, maior será o retorno econômico ao produtor. Quanto à batata-doce para uso industrial, deve-se compreender sobre a qualidade e o teor de açúcar das raízes, visto que eles dependem do genótipo, dos fatores endógenos às plantas, da atividade da amilase e das condições ambientais (SULISTIANI *et al.*, 2018)

Outros métodos de processamento industrial incluem a fabricação de batata *chips* e farinha de batata-doce, sendo que esta pode ser utilizada junto com outros produtos alimentares (AKOETHEY *et al.*, 2017). A farinha de batata-doce, por exemplo, pode substituir parcialmente

a farinha de trigo na confecção de bolos, pães, biscoitos, tortas e outros produtos utilizados na alimentação escolar (RODRIGUES-AMAYA *et al.*, 2011).

Diante disso, surge a oportunidade para programas voltados para a agroindústria. Quando o foco da pesquisa é a indústria, o formato da raiz tem pouca relevância, principalmente para a produção de bioetanol. Isto ocorre, pois, o mais importante é a elevada produção de raízes com elevado teor de amido, independente do formato ou coloração da polpa.

2.3.3 Batata-doce para alimentação animal

O cultivo da batata-doce entre os agricultores visa, na maioria das vezes, a utilização comercial apenas das raízes, sem aproveitar as ramas e as raízes fora do padrão comercial. As ramas, que normalmente são perdidas durante a colheita das raízes, têm potencial para utilização na alimentação animal (FIGUEIREDO *et al.*, 2012; KINGLER *et al.*, 2018).

Contudo, diversas pesquisas têm demonstrado o potencial das ramas de batata-doce na alimentação animal, na forma de feno, silagem ou frescas (VIANA *et al.*, 2011, ANDRADE JUNIOR *et al.*, 2014). Em países como China e Vietnã, as ramas são empregadas para a alimentação de suínos ou em associação às raízes, seja na forma fresca ou conservada como silagem (MONTEIRO *et al.*, 2007). De acordo com a pesquisa de Ly *et al.* (2010), ao avaliarem o desempenho de suínos submetidos à dieta com a substituição de 70% por silagem de batata doce, verificaram que não houve diferença significativa no ganho de peso ao realizar tal substituição. Enquanto Regnier *et al.* (2012), concluíram que as ramas de batata doce são uma alternativa à suplementação proteica de suínos, diminuindo a utilização de farelo de soja nas rações, o que reduz os custos da alimentação. Dessa forma, a cultura demonstra potencial para ser uma forma alternativa de alimentação nos sistemas de produção de suínos de pequenos produtores.

Além disso, as ramas de batata-doce também podem ser adotadas na cunicultura, Kingler *et al.* (2018), ao avaliarem o desempenho no ganho de peso de coelhos com dieta de feno de alfafa e silagem de batata-doce. Os autores substituíram a dieta dos animais em 50 e 100% por silagem de ramas de batata-doce. Estatisticamente não houve diferença significativa no ganho de peso dos coelhos entre as três dietas. Portanto, as ramas de batata doce demonstraram potencial para serem utilizadas para alimentação de coelhos, resultando em menor custo.

Já para a bovinocultura os resultados também são promissores. Ruiloba *et al.* (2021) encontraram indicadores de que as raízes de batata-doce são uma alternativa competitiva e economicamente viável como fonte de energia para substituir 100% do grão de milho em dietas para bovinos de engorda. Galla *et al.* (2020) também verificaram que a suplementação alimentar de bovinos de leite com silagem de batata-doce aumentou a produção leiteira. Isso indica que a silagem de batata-doce é uma valiosa fonte de alimentação que pode melhorar o desempenho dos animais e aumentar os rendimentos nas fazendas. O estudo de Ollé *et al.* (2020) indicou que a substituição de farelo de milho por batata-doce seca e granulada (SPF) não afeta o desempenho, comportamento alimentar e metabolismo em vacas leiteiras. No entanto, eles recomendam que os agricultores precisam ser conscientizados sobre formas mais baratas de produzir SPF para aumentar os lucros resultantes de sua incorporação nas dietas dos animais.

Viana *et al.* (2011), ao estudarem a matéria seca e o perfil fermentativo de clones de batata-doce, concluíram que as silagens das ramas de batata-doce apresentaram altos teores proteicos e energéticos, além de adequado perfil fermentativo. De acordo com Andrade Júnior *et al.* (2014), genótipos de batata-doce com potencial para uso como silagens de ramas apresentam aproximadamente 12% de proteína bruta, 49% de fibra em detergente neutro, 46 % de fibra em detergente ácido, 12% de lignina e 21% de matéria seca.

As ramas de batata-doce, por possuírem alto teor de proteína bruta e boa digestibilidade, podem ser usadas, principalmente na alimentação de gado leiteiro, tanto na forma fresca como silagem (MONTEIRO, 2007; OLLÉ *et al.*, 2020). No Brasil, no entanto, a utilização de ramas de batata-doce na alimentação animal é feita em escala bastante limitada e a maior parte das ramas é simplesmente descartada como resíduo inaproveitável (ANDRADE JUNIOR *et al.*, 2012).

Assim, cabe aos programas de melhoramento selecionar genótipos com múltiplas aptidões. Todavia, é importante que, além das colorações intensas de polpa, estes genótipos combinem alta produtividade e qualidade de raízes, além de resistência às principais pragas e doenças (ANDRADE JÚNIOR *et al.*, 2018; COSTA *et al.*, 2022; SILVA *et al.*, 2022). A seleção combinada deste conjunto de vantagens permite ainda a recomendação dos genótipos para diferentes aptidões agronômicas, inclusive biofortificando-os geneticamente (SILVA *et al.*, 2022; LAURIE *et al.*, 2022; COSTA *et al.*, 2022; ZEIST *et al.*, 2022).

2.4 Melhoramento genético de batata-doce

A autoincompatibilidade permite grande variabilidade genética na batata-doce, e devido à polinização cruzada, realizada naturalmente por insetos, resulta em alto grau de heterozigose (RAMALHO *et al.*, 2012). Dessa forma, as sementes botânicas da cultura constituem grande fonte de recombinações genéticas. Assim, cada semente botânica pode potencialmente tornar-se um novo clone comercial, o que pode ser explorado de forma favorável no melhoramento genético da espécie. A presença de variabilidade genética permite a seleção de genótipos superiores em um programa de melhoramento (BORÉM *et al.*, 2017).

Vale ressaltar que a variabilidade existente em uma população não é apenas de origem genética, mas também de origem ambiental, pois o fenótipo é oriundo da interação entre variância genética e a ambiental. Dessa forma, estudos genéticos são importantes para estimar as variações de cunho genético e ambiental, em relação aos caracteres de interesse. As estimativas das variâncias genéticas e ambientais permitem identificar a herdabilidade de um dado caráter (RAMALHO *et al.*, 2012), visto que a estimativa da herdabilidade auxilia na definição de estratégias de seleção, na predição de ganhos genéticos e na seleção de genótipos (CRUZ, 2012). Logo, as estimativas de herdabilidade auxiliam na determinação das estratégias mais eficientes para o melhoramento de determinada população e na seleção dos indivíduos.

Para plantas com propagação vegetativa, como a batata-doce, o estudo da herdabilidade no sentido amplo é relevante devido aos efeitos da variância de dominância serem mantidos por meio de clonagens (GONÇALVES NETO *et al.*, 2012). A herdabilidade é obtida pela razão entre a variância genotípica e a fenotípica, assim, uma população com alta diversidade genética pode promover altos ganhos na próxima geração. Quanto maior for a herdabilidade estimada no sentido amplo, maior será a proporção do diferencial de seleção efetivamente herdável pelos descendentes (RAMALHO *et al.*, 2012). A herdabilidade permite aos programas de melhoramento genético prever o ganho com a seleção na geração seguinte (RAMALHO *et al.*, 2012).

Grande divergência genética na cultura da batata-doce tem sido demonstrada por diversos trabalhos (AZEVEDO *et al.*, 2014; CARMONA *et al.*, 2015; SILVA *et al.*, 2022). Esta ampla diversidade na cultura resulta em diversas aptidões de interesse para os programas de melhoramento. Dentre elas, pode-se citar estudos com melhoramento para resistência às pragas e doenças (AZEVEDO *et al.*, 2002; MARCHESE *et al.*, 2010); à biofortificação (ANDRADE JÚNIOR *et al.*, 2012; AZEVEDO *et al.*, 2014; NEELA; FANTA, 2019); ao aumento da

densidade de raízes e produção de etanol (GONÇALVES NETO *et al.*, 2011, AZEVEDO *et al.*, 2014; MUSSOLINE *et al.*, 2016; ALMEIDA *et al.*, 2017); ao aumento na produção, qualidade e uso de ramas para alimentação animal (VIANA *et al.*, 2011; ANDRADE JÚNIOR *et al.*, 2012, AZEVEDO *et al.*, 2014).

2.5 Estratégias para ampliar a variabilidade

A existência de variabilidade genética em uma população de plantas é a base para todo e qualquer programa de melhoramento genético. Algumas estratégias podem ser adotadas para ampliar essa variabilidade, como a recombinação dos genótipos existentes ou com a introgressão de cultivares (BORÉM *et al.*, 2017). Para ampliar a variabilidade, programas de melhoramento genético de batata-doce utilizam técnicas como policruzamento e ou cruzamentos controlados (SSALI *et al.*, 2019; SILVA *et al.*, 2022).

O policruzamento é uma prática amplamente adotada na cultura da batata-doce, pois ajuda a evitar a consanguinidade e preservar a diversidade genética das plantas (BRITO *et al.*, 2021; SILVA *et al.*, 2022). Esta abordagem é mais simples de ser efetuada, uma vez que o cruzamento é realizado por meio de insetos polinizadores. Entretanto, trabalhos anteriores relatam que progênies provenientes de policruzamentos, mesmo originadas de genótipos superiores, podem resultar em genótipos com baixa produção ou, até mesmo, ausência de raízes tuberosas (SILVA *et al.*, 2022; COSTA *et al.*, 2022).

Além do mais, no policruzamento é conhecido apenas o parental feminino, originando as progênies meios-irmãos (RAMALHO *et al.*, 2012). Contudo, o conhecimento de ambos os parentais, melhora a predição dos valores genéticos, devido ao uso da matriz de parentesco (NUNES *et al.*, 2008). Assim, a seleção e predição dos genótipos é mais acurada e aumenta confiança na seleção dos genótipos (ZHAO *et al.*, 2012; PIEPHO *et al.*, 2008; RINCENT, *et al.*, 2018). O que não é possível com genótipos de meios-irmãos obtidos via campos de policruzamento. Desta forma, o uso de cruzamentos dialélicos é uma alternativa para atenuar estes empecilhos na predição dos valores genéticos.

O dialelo é um método de cruzamento controlado amplamente empregado no melhoramento de plantas para a seleção de genitores e de suas combinações, pois permite identificar os melhores parentais. O cruzamento par a par permite corrigir características de interesse a curto prazo em genótipos, como suscetibilidade a doença (MUWANGA *et al.*, 2002; NGAILO *et al.*, 2019). Contudo, é importante destacar que os cruzamentos dialélicos são

realizados manualmente, o que gera custos mais elevados para produção de sementes. Logo, é importante que o melhorista conheça os genótipos superiores do seu banco de germoplasma que apresentem maior capacidade de recombinação. Assim, pode reduzir o tempo e os custos na obtenção de genótipos mais promissores.

Zhang *et al.* (2015) destacam que, por meio de combinações, é possível identificar os genitores com maior frequência de alelos favoráveis e complementares. Esse planejamento de acasalamento facilita a estimativa de parâmetros genéticos relevantes para a seleção genética. Isto ocorre, pois os cruzamentos dialélicos oferecem inferências sobre a capacidade combinatória geral e específica de genitores e cruzamentos (GRIFFING, 1956).

As metodologias de análise dialélica têm como finalidade analisar o delineamento genético, fornecendo estimativas de parâmetros úteis na seleção de progenitores para hibridação, além de compreender os efeitos genéticos envolvidos na determinação dos caracteres (RUKUNDO *et al.*, 2017). O dialelo tem sido utilizado no melhoramento de diversas plantas agrícolas como sorgo, (MAKANDA *et al.*, 2010), milho (AKINWALE *et al.*, 2014), algodão (ZENG; PETTIGREW 2015), cana-de-açúcar (SANTANA *et al.*, 2016) e a própria batata-doce (RUKUNDO *et al.*, 2017; NGAILO *et al.*, 2019; MOURTALA *et al.*, 2023).

Essa metodologia permite identificar os genótipos que apresentam as melhores combinações em relação à produtividade e outras características de interesse. Desta forma, há a possibilidade de se obter clones mais promissores em um menor intervalo de tempo, visto que os cruzamentos realizados levam em conta caracteres complementares e de interesse (alta produção x boa qualidade de raiz, por exemplo). No entanto, a efetividade destes cruzamentos depende da compatibilidade genética entre os genitores e que possa originar bons descendentes. Logo, a escolha de um parental com elevada capacidade de recombinação é fundamental para o sucesso dos cruzamentos.

Em resumo, o dialelo permite que os melhoristas selecionem os melhores parentais para produzir progênies do tipo irmãos-completos com as características desejáveis, aumentando-se a probabilidade de se identificar o ideótipo com as características de interesse. Esta vantagem é fortalecida devido à batata-doce ser propagada vegetativamente, o que permite que logo no primeiro ciclo de avaliação encontrar genótipos de interesse e que possam ser imediatamente clonados.

2.6 Propagação *in vitro* e limpeza clonal de vírus em batata-doce

A propagação vegetativa (clonagem) é uma técnica utilizada para reproduzir uma planta geneticamente igual à planta-mãe. Isto ocorre, pois, plantas oriundas de clonagem carregam toda a parte da variância genética aditiva, de dominância e/ou de epistasia (RAMALHO *et al.*, 2012). Na batata-doce, a clonagem é comumente realizada através do uso de partes vegetativas, como ramos e raízes. No entanto, é importante mencionar que a propagação vegetativa de batata-doce pode acumular vírus, especialmente quando não são adotadas medidas adequadas de sanidade vegetal. Uma das estratégias para reduzir a propagação de vírus na batata-doce é a utilização de material de propagação livre de vírus, como mudas provenientes de cultura de tecidos ou de viveiros certificados (TEGEN; MOHAMMED, 2016).

A limpeza clonal de vírus em batata-doce é um procedimento essencial para garantir a produção de mudas livres de doenças virais (ORŁOWSKA; BEDNAREK 2020). Nessa técnica, seleciona-se plantas-matrizes saudáveis que apresentam poucos sinais de infecção viral. Durante a multiplicação *in vitro*, são utilizadas técnicas para eliminar ou reduzir a carga viral nas mudas. Entre elas, pode ser empregada a cultura de meristemas apicais, que é uma região de crescimento ativo das plantas e tem uma menor probabilidade de estar infectada por vírus (SHI *et al.*, 2019). Portanto, o isolamento e a cultura desses meristemas em meio de cultura estéril permitem obter mudas livres de infecção viral.

Todavia, durante a cultura *in vitro* podem ocorrer variações somaclonais e variações epigenéticas (AKOMEAH *et al.*, 2019). As variações somaclonais referem-se às mudanças genéticas que ocorrem nas células somáticas das plantas (ORŁOWSKA; BEDNAREK 2020). Essas mutações genéticas podem resultar em variações morfológicas, mudanças na ploidia (número de conjuntos de cromossomos) e alterações na expressão gênica (RODRIGUEZ LÓPEZ *et al.*, 2010; ADU-GYAMFI; WETTEN; LÓPEZ, 2016). Já as variações epigenéticas referem-se às mudanças nas marcas químicas que modificam o DNA em nível de alterações em bases nitrogenadas específicas, sem alterar sua ordem, bem como as histonas (ALLIS *et al.*, 2007).

2.7 Estudo da epigenética

A epigenética refere-se a mudanças hereditárias na expressão gênica que não estão diretamente relacionadas a alterações na sequência de DNA (THIEBAUT *et al.*, 2019). Essas mudanças envolvem modificações químicas nas moléculas de DNA e nas proteínas associadas a elas, afetando a estrutura da cromatina e a acessibilidade dos genes para a maquinaria de transcrição (GHOSH; IGAMBERDIEV; DEBNATH, 2021). A epigenética desempenha um papel fundamental na regulação dos processos biológicos, controlando quais genes são ativados ou desativados em diferentes células e momentos do desenvolvimento (MERCÉ *et al.*, 2020).

Uma das principais modificações epigenéticas é a metilação do DNA (ALLIS *et al.*, 2007). Nesse processo, grupos metil (CH₃) são adicionados às bases nitrogenadas do DNA, geralmente na posição do carbono 5 da citosina (KLUPCZYŃSKA; RATAJCZAK, 2021). A metilação do DNA pode ocorrer em regiões específicas do genoma, como promotores ou regiões regulatórias, e afeta a estrutura da cromatina, a acessibilidade dos genes e a ligação de fatores de transcrição, influenciando assim, a expressão gênica (ALLIS *et al.*, 2007). Quando o DNA está fortemente metilado em uma região promotora, por exemplo, isso geralmente resulta no silenciamento ou na diminuição da expressão do gene associado.

Por outro lado, a ausência de metilação ou a reduzida presença de metilações em regiões regulatórias específicas pode facilitar a ligação dos fatores de transcrição, promovendo a ativação do gene (ALLIS *et al.*, 2007). Isso ocorre porque a desmetilação pode tornar o DNA mais acessível aos complexos de transcrição e permitir a interação adequada entre os fatores de transcrição e o DNA.

Essas modificações podem afetar a estrutura da cromatina e influenciar a expressão gênica (ALLIS *et al.*, 2007). Além disso, as modificações das histonas, como acetilação, metilação e fosforilação, também podem desempenhar papel importante na regulação da expressão gênica e no fenótipo das plantas (DEANS; MAGGERT, 2015).

Devido as possíveis alterações nas metilações do DNA em batata-doce, mudanças em potenciais no fenótipo podem ocorrer (LÓPEZ *et al.*, 2015). Genes importantes para o crescimento, desenvolvimento, resposta a estresses e metabolismo da planta podem ser afetados por modificações epigenéticas (AKHTER *et al.*, 2021). No entanto, é importante ressaltar que as relações entre a metilação do DNA, a expressão gênica e as características fenotípicas são complexas e podem variar dependendo do gene, do contexto epigenético e dos estímulos ambientais (ALLIS *et al.*, 2007).

Diversos estudos têm demonstrado que a propagação por clonagem pode ter efeitos na estabilidade epigenética das plantas, incluindo a batata-doce (ORŁOWSKA *et al.*, 2016; AKOMEAH *et al.*, 2019; ORŁOWSKA; BEDNAREK, 2020). Assim, é importante compreender as variações epigenéticas durante a cultura *in vitro*, a fim de maximizar os benefícios da limpeza clonal e minimizar os efeitos indesejáveis desta prática.

2.8 Estudos epigenéticos em batata-doce

A variação na metilação do DNA e nas modificações epigenéticas podem ter implicações importantes para a resposta das plantas a estresses ambientais, interações com patógenos, dentre outros (DEANS; MAGGERT, 2015; KLUPCZYŃSKA; RATAJCZAK, 2021). No entanto, é importante destacar que os mecanismos exatos pelos quais a clonagem afeta a epigenética na batata-doce ainda não são totalmente compreendidos.

Há evidências de que a clonagem da batata-doce pode levar a alterações nos padrões de metilação do DNA (DELGADO-PAREDES *et al.*, 2017; AKOMEAH *et al.*, 2019; JIA *et al.*, 2022). Segundo Akomeah *et al.* (2019), a clonagem via cultura de tecidos leva a alterações nos padrões de metilação do DNA em várias regiões do genoma da batata-doce. Essas alterações epigenéticas afetaram a expressão de genes envolvidos em processos metabólicos e acúmulo de nutrientes.

Visto que os padrões de metilação do DNA estão intimamente ligados à ativação ou silenciamento dos genes, a metilação em regiões promotoras geralmente está associada ao silenciamento gênico, impedindo a ligação dos fatores de transcrição e a transcrição adequada do gene (ALLIS *et al.*, 2007; DEANS; MAGGERT, 2015; WANG *et al.*, 2022). Por outro lado, a desmetilação ou a metilação reduzida podem permitir a ativação dos genes, ao facilitar a ligação dos fatores de transcrição e promovendo a expressão gênica (DEANS; MAGGERT, 2015).

Logo, mais pesquisas são necessárias para elucidar os mecanismos moleculares envolvidos e entender melhor as implicações funcionais dessas mudanças epigenéticas na clonagem da batata-doce. Entender os padrões de metilação do DNA é de extrema importância na batata-doce e em outras plantas, pois essas marcações epigenéticas desempenham um papel fundamental na regulação da expressão gênica e no fenótipo das plantas.

Assim, entender os padrões de metilação do DNA é crucial para desvendar os mecanismos moleculares que regulam a expressão gênica, as respostas aos estresses e a

plasticidade fenotípica na batata-doce. Isso oferece oportunidades de aplicação no melhoramento genético, conservação do germoplasma e compreensão mais profunda das respostas adaptativas das plantas ao ambiente.

REFERÊNCIAS

- ADU-GYAMFI, R.; WETTEN, A.; LÓPEZ, C. M. R. Effect of Cryopreservation and Post-Cryopreservation Somatic Embryogenesis on the Epigenetic Fidelity of Cocoa (*Theobroma cacao* L.). **PLoS One**, v. 11, n. 7, 2016.
- AKINWALE, R. O.; BADU-APRAKU, B.; FAKOREDE, M. A. B.; VROH-BI, I. Heterotic grouping of tropical early-maturing maize inbred lines based on combining ability in Striga-infested and Striga-free environments and the use of SSR markers for genotyping. **Field Crops Research**, v. 156, p. 48-62, 2014.
- AKOETHEY, W.; BRITAIN, M. M.; MORAWICKI, R. O. Potential use of byproducts from cultivation and processing of sweet potatoes. **Ciência Rural**, v. 47, n. 5, p. 1-8, 2017.
- AKOMEAH, B.; QUAIN, M. D.; RAMESH, S. A.; ANAND, L.; LÓPEZ, C. M. R. Common garden experiment reveals altered nutritional values and DNA methylation profiles in micropropagated three elite Ghanaian sweet potato genotypes. **PloS One**, v. 14, n.4, 2019.
- AKHTER, Z.; BI, Z.; ALI, K.; SUN, C.; FIAZ, S.; HAIDER, F. U.; BAI, J. In response to abiotic stress, DNA methylation confers epigenetic changes in plants. **Plants**, v.10, n. 6, 2021.
- ALLIS, D.; CAPARROS, M. L.; JENUWEIN, T.; REINBERG, D. **Epigenetics**. [S.l.]: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2007. 502 p.
- ALMEIDA, J. D.; JIACOMELL, V. G.; MACHADO, I. S.; FREITAS, G. B. L. Quantificação e Caracterização de Amido e Proteínas de Diferentes Cultivares de Batata Doce *Ipomoea batatas*. **Ensaio e Ciência: C. Biológicas, Agrárias e da Saúde**. v. 21, p. 156, 2018.
- AMAGLOH, F. C.; KAAYA, A. N.; YADA, B.; CHELANGAT, D. M.; KATUNGISA, A.; AMAGLOH, F. K.; TUMUHIMBISE, G. A. Bioactive compounds and antioxidant activities in peeled and unpeeled sweetpotato roots of different varieties and clones in Uganda. **Future Foods**, v. 6, 2022.
- ANDRADE JÚNIOR, V. C.; DONATO, L. M. S.; AZEVEDO, A. M.; GUIMARÃES, A. G.; BRITO, O. G.; OLIVEIRA, D. M.; MEDINA, A. J.; SILVA, L. R. Association between agronomic characters and hay quality of sweet potato branches. **Horticultura Brasileira**, v.38, n. 1, 2020.
- ANDRADE JÚNIOR, V. C.; VIANA, D. J. S.; FERNANDES, J. S. C.; FIGUEIREDO, J. A.; NUNES, U. R.; NEIVA, I. P. Selection of sweet potato clones for the region Alto Vale do Jequitinhonha. **Horticultura Brasileira**, v. 27, n. 3, 2009.
- ANDRADE JÚNIOR, V. C.; VIANA, D. J. S.; PINTO, N. A. V. D.; RIBEIRO, K. G.; PEREIRA, R. C.; NEIVA, I. P.; AZEVEDO, A. M.; ANDRADE, P. C. R. Características produtivas e qualitativas de ramas e raízes de batata-doce. **Horticultura brasileira**, v. 30, n. 4, 2012.

ANDRADE JÚNIOR, V. C.; PEREIRA, R. C.; DORNAS, M. F. S.; RIBEIRO, K. G.; VALADARES, N. R.; SANTOS, A. A.; CASTRO, B. M. C. Produção de silagem, composição bromatológica e capacidade fermentativa de ramas de batata-doce emurchecidas. **Horticultura Brasileira**, v. 32, n. 1, p. 91-97, 2014.

ANDRADE JUNIOR, V. C. ELSAYED, A. Y. A. M, AZEVEDO, A. M.; SANTOS; E. A. S.; FERREIRA, M. A. M. Potencial quantitativo e qualitativo de genótipos batata-doce. **Scientia Agraria**, Paraná, v. 19, n. 1, 2018.

AZEVEDO, A. M.; ANDRADE JÚNIOR, V. C.; FERNANDES, J. S. C.; PEDROSA, C. E.; OLIVEIRA, C. M. Influence of harvest time and cultivation sites on the productivity and quality of sweet potato. **Horticultura Brasileira**, v. 32, p. 21-27, 2014.

AZEVEDO, S. M.; MALUF, W. R.; SILVEIRA, M. A.; FREITAS, J. A. Reação de clones de batata-doce aos insetos de solo. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 26, p. 545-549, 2002.

BASLAM, M.; MORALES, F.; GARMENDIA, I.; GOICOECHEA, N. Nutritional quality of outer and inner leaves of green and red pigmented lettuces (*Lactuca sativa* L.) consumed as salads. **Scientia Horticulturae**, v. 151, p. 103-111, 2013.

BORÉM, A.; MIRANDA, G. V.; FRITSCHÉ-NETO, R. **Melhoramento de plantas**. 7th end, Viçosa: UFV, 2017. 543 p.

BRITO, O. G.; ANDRADE JÚNIOR, V. C.; LOPES, T. K.; SILVA, J. C. O; FIRME, T. D.; SILVA, E. A.; AZEVEDO, S. M. Flowering capacity and botanical seed production of sweet potato genotypes. **Horticultura Brasileira**, v. 39, 2021.

CARMONA, P. A.; PEIXOTO, J. R.; AMARO, G. B. MENDONÇA, M. A. Divergência genética entre acessos de batata-doce utilizando descritores morfoagronômicos das raízes. **Horticultura Brasileira**, v. 33, p. 241-250, 2015.

CARVALHO, P. G. B.; MACHADO C. M. M.; MORETTI, C. L.; FONSECA, M. E. N. Hortaliças como alimentos funcionais. **Horticultura Brasileira** v. 24, p. 397-404, 2006.

CORONEL, C. J.; GONZÁLEZ, A. I.; RUIZ, M. L.; POLANCO, C. Analysis of somaclonal variation in transgenic and regenerated plants of *Arabidopsis thaliana* using methylation related metAFLP and TMD markers. **Plant Cell Reports**, v. 37, p. 137-152, 2018.

COSTA, A. L.; ANDRADE JÚNIOR, V. C.; GAMA, A.; DA SILVA, E. A.; BRITO, O. G.; OLIVERIA, J. C.; BUENO FILHO, J. S. S. Selection of superior sweet potato genotypes for human consumption via mixed models. **Bragantia**. v. 81, 2022.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 4. ed. Viçosa: UFV, 2012.

DEANS, C.; MAGGERT, K. A. What do you mean, "epigenetic"? **Genetics**, v. 199, n. 4, p. 887-96, 2015.

DELGADO-PAREDES, G. E.; ROJAS-IDROGO, C.; CHANAMÉ-CÉSPEDES, J.; FLOH, E. I.; HANDRO, W. Development and agronomic evaluation of in vitro somaclonal variation in sweet potato regenerated plants from direct organogenesis of roots. **Asian Journal of Plant Science Research**, v. 7, n. 1, p. 39-48, 2017.

DONATO, L. M. S.; ANDRADE, V. C.; BRITO, O. G.; FIALHO, C. M. T.; SILVA, A. J. M. D.; AZEVEDO, A. M. Use of sweet potato stalks for hay production. (Uso de ramas de batata-doce para produção de feno). **Ciência Animal Brasileira**, v. 21, 2020.

FAO, Food and Agriculture Organization of The United Nations. **Crops and livestock products**. Roma: FAOSTAT, 2023. Disponível em: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>. Acesso em: 29 jun. 2023.

FIGUEIREDO, J. A.; ANDRADE JUNIOR, V. C.; PEREIRA, R. C.; RIBEIRO, K. G.; VIANA, D. J. S.; NEIVA, I. P. Avaliação de silagens de ramas de batata-doce. **Horticultura Brasileira**, v. 30, n. 4, p. 708-712, 2012.

GALLA, N. A.; NAMPIJA, Z.; LUTWAMA, V.; MAYANJA, S.; GRANT, F.; KYALO, G.; NAMBI-KASOZI, J. Effects of inclusion levels of sweet potato vine silage on feed intake, milk production and profitability of lactating crossbred dairy cows. **Open Journal of Animal Sciences**, v. 10, n. 03, p. 608, 2020.

GHOSH, A.; IGAMBERDIEV, A.U. DEBNATH, S.C. Tissue culture-induced DNA methylation in crop plants: a review. **Molecular Biology Report**, v. 48, p. 823–841, 2021.

GONÇALVES NETO, A. C.; MALUF, W. R.; GOMES, L. A. A.; GONÇALVES, R. J. S.; SILVA, V. F.; LASMAR, A. Aptidões de genótipos de batata-doce para consumo humano, produção de etanol e alimentação animal. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, n. 1, p. 1513-1520, 2011.

GRIFFING, B. Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems. **Australian Journal of Biological Sciences**, v. 9, n. 4, p. 463-493, 1956.

HASNAIN, A.; NAQVI, S. A. H.; AYESHA, S. I.; KHALID, F.; ELLAHI, M.; IQBAL, S.; ABDELHAMID, M. Plants in vitro propagation with its applications in food, pharmaceuticals and cosmetic industries; current scenario and future approaches. **Frontiers in Plant Science**, v. 13, 2022.

HARBONE, J. B.; WILLIAMS, C. A. Advances in flavonoid research since 1992. **Phytochem**, Oxford, v. 55, p. 481-504, 2000.

HUAMAN, Z. **Systematic botany and morphology of the sweetpotato plant**. Technical information bulletin 25. International Potato Center (CIP), Lima, Peru. 1992, 22 p.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção agrícola**. 2023.

Disponível em:

<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pesquisa/14/0?tipo=grafico&indicador=10236>. Acesso em: 21 jun. 2023.

JIA, L.; YANG, Y.; ZHAI, H.; HE, S.; XIN, G.; ZHAO, N.; ZHANG, H.; GAO, S. LIU, Q. Production and characterization of a novel interspecific somatic hybrid combining drought tolerance and high quality of sweet potato and *Ipomoea triloba* L. **Plant Cell Report**, v. 41, p. 2159–2171, 2022.

KIM, M. J.; MOON, Y.; KOPSELL, D. A.; PARK, S.; TOU, J. C.; WATERLAND, N. L. Nutritional value of crisphead ‘Iceberg’ and romaine lettuces (*Lactuca sativa* L.). **Journal of Agricultural Science**, v. 8, n. 11, 2016.

KRUGER, M. J.; DAVIES, N.; MYBURGH, K. H.; LECOUR, S. Proanthocyanidins, anthocyanins and cardiovascular diseases. **Food Research. International**, v. 59, p. 41–52, 2014.

KLINGER, A. C. K.; DA SILVA, L. P.; DE TOLEDO, G. S. P.; GALARRETA, B.; GOULART, F. Effect of sweet potato vines on performance parameters and some carcass characteristics of rabbits. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 102, n. 1, p. 152-156, 2018.

KLUPCZYŃSKA, E. A.; RATAJCZAK, E. Can forest trees cope with climate change? - Effects of DNA methylation on gene expression and adaptation to environmental change. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 24, 2021.

LAURIE, S.M.; BAIRU, M.W.; LAURIE, R. N. Analysis of the Nutritional Composition and Drought Tolerance Traits of Sweet Potato: Selection Criteria for Breeding Lines. **Plants**, v. 11, n. 14, 2022.

LEE, H. M.; PARK, J. S.; SHIN, Y. H.; PARK, Y. D. Alterations in DNA methylation patterns in regenerated Chinese cabbage (*Brassica rapa ssp. pekinensis*) plants derived from tissue culture. **Horticulture Environment and Biotechnology**, v. 62, p. 605–618, 2021.

LÓPEZ, C. M.; WILKINSON, M. J. Epi-fingerprinting and epi-interventions for improved crop production and food quality. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, 2015.

LY, N. T.; NGOAN, L. D.; VERSTEGEN, M. W.; HENDRIKS, W. H. Ensiled and dry cassava leaves, and sweet potato vines as a protein source in diets for growing Vietnamese Large White× Mong Cai pigs. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 23, n. 9, p. 1205-1212, 2010.

MAIA, A. H.; OLIVEIRA, T. G. S. Evaluation of the sweet potato cultivars, in Nova Xavantina-Mato Grosso, Brazil, **Brazilian Journal of Development**, v. 8, n. 7, 2022.

MARCHESE, A.; MALUF, W. R.; GONÇALVES NETO, A. C.; GONÇALVES, R. J. S.; GOMES, L. A. A. Seleção de clones de batata-doce resistentes a *Meloidogyne incognita* raça 1. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 45, n. 9, p. 997-1004, 2010.

MAKANDA, I.; TONGOONA, P.; DERERA, J.; SIBIYA, J.; FATO, P. Combining ability and cultivar superiority of sorghum germplasm for grain yield across tropical low- and mid-altitude environments. **Field crops research**, v. 116, n. 1-2, p. 75-85, 2010.

MERCÉ, C.; BAYER, P. E.; TAY FERNANDEZ, C.; BATLEY, J.; EDWARDS, D. Induced methylation in plants as a crop improvement tool: progress and perspectives. **Agronomy**, v. 10, n. 10, 2020.

MONTEIRO, A. B.; MASSAROTO, J. A.; GASPARINO, C. F.; SILVA, R. R.; GOMES, L. A. A.; MALUF, W. R.; FILHO, J. C. S. Silagens de cultivares e clones de batata doce para alimentação animal visando sustentabilidade da produção agrícola familiar. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 2, n. 2, 2007.

MOURTALA, I. Z. M.; OSELEBE, H. O.; BAINA, D. J.; NWANKWO INNOCENT, I. M.; HOUDEGBE, A. C.; OUMAROU, S.; MOUSSA, B. Selection of new sweetpotato hybrids for West Africa using accelerated breeding scheme and genotype× environment interaction under drought stress. **Scientific Reports**, v. 13, n. 1, 2023.

MUGISA, I.; KARUNGI, J.; MUSANA, P.; ODAMA, R.; ALAJO, A.; CHELANGAT, D. M.; YADA, B. Combining ability and heritability analysis of sweetpotato weevil resistance, root yield, and dry matter content in sweetpotato. **Frontiers in Plant Science**, v. 13, 2022.

MUSSOLINE, W. A.; BOHAC J. R.; BOMAN, B. J.; TRUPIA, S.; WILKIE, A. C. Agronomic productivity, bioethanol potential and postharvest storability of an industrial sweetpotato cultivar. **Industrial Crops and Products**. v. 95, p. 96-103, 2017.

MWANGA, R. O.; YENCHO, G. C.; MOYER, J. W. Diallel analysis of sweetpotatoes for resistance to sweetpotato virus disease. **Euphytica**, v. 128, p. 237-248, 2002

MWANGA, R. O. M.; ANDRADE, M. I.; CAREY, E. E.; LOW, J. W.; YENCHO, G. C.; GRÜNEBERG, W. J. **Sweetpotato (*Ipomoea batatas* L.)**. In: Genetic Improvement of Tropical Crops. Springer, Cham. 2017.

NEELA, S.; FANTA, S. W. Review on nutritional composition of orange-fleshed sweet potato and its role in management of vitamin A deficiency. **Food Science Nutrition**, v. 7, n. 6, p. 1920-1945, 2019.

NGAILO, S.; SHIMELIS, H.; SIBIYA, J.; MTUNDA, K.; MASHILO, J. Combining ability and heterosis of selected sweetpotato (*Ipomoea batatas* L.) clones for storage root yield, yield-related traits and resistance to sweetpotato virus disease. **Euphytica**, v. 215, 2019.

NUNES, J. A. R.; RAMALHO, M. A. P.; FERREIRA, D. F. Inclusion of genetic relationship information in the pedigree selection method using mixed models. **Genetics and Molecular Biology**, v. 31, p. 73-78, 2008.

OLLÉ, M. A.; DEMARCO, C. F.; OLIVEIRA, L.; CARDOSO, J. B.; BARBOSA, A. A.; FEIJÓ, J. O.; DEL PINO, F. A. B. Effects of substituting sweet potato flour for ground corn on performance, feeding behavior, and metabolism of dairy cows. **Tropical Animal Health Production**, v. 53, 2021.

ORŁOWSKA, R.; MACHCZYŃSKA, J.; OLESZCZUK, S.; ZIMNY, J.; BEDNAREK, P. T. DNA methylation changes and TE activity induced in tissue cultures of barley (*Hordeum vulgare* L.). **Journal of Biological Research-Thessaloniki**, v. 23, p. 1-12, 2016

ORŁOWSKA, R.; BEDNAREK, P. T. Precise evaluation of tissue culture-induced variation during optimisation of *in vitro* regeneration regime in barley. **Plant Molecular Biology**, v. 103, p. 33-50, 2020.

PIEPHO, H. P.; MÖHRING, J.; MELCHINGER, A. E.; BÜCHSE, A. BLUP for phenotypic selection in plant breeding and variety testing. **Euphytica**, v. 161, n. 1-2, p. 209-228, 2008.

PEREIRA, A. I.; FREITAS, L. B.; CANTUÁRIO, F. S.; CURVÊLO, C. R.; AMARO, G. B.; LUZ, J. M. Field adaptation of sweet potato genotypes enriched of β -carotene, in the state of Goiás. **Bioscience Journal**, v. 35, n. 3, 2019.

RAMALHO, M. A. P.; ABREU, A. F. B.; SANTOS, J. D.; NUNES, J. A. R. **Aplicações da genética quantitativa no melhoramento de plantas autógamas**. Lavras: UFLA, 2012.

RÉGNIER, C.; JAGUELIN, Y.; NOBLET, J.; RENAUDEAU, D. Ileal digestibility of amino acids of cassava, sweet potato, cocoyam and erythrina foliages fed to growing pigs. **Animal**, v. 6, n. 4, p. 586-593, 2012.

RIZZOLO, J. A. **Estudo para o aproveitamento biotecnológico de variedades de batata-doce [*Ipomoea batatas* (L.) Lam] na fermentação alcoólica para a produção de etanol combustível e aguardente**. 2014. 122 p. Tese (Doutorado Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2014.

RODRÍGUEZ LÓPEZ, C. M.; BRAVO, H. S.; WETTEN, A. C.; WILKINSON, M. J. Detection of somaclonal variation during cocoa somatic embryogenesis characterised using cleaved amplified polymorphic sequence and the new freeware Artbio. **Molecular Breeding**, v. 25, p. 501–516, 2010.

RUILOBA, M. H.; MAURE, J.; SOLÍS, C. Evaluation of the productive response of male cattle to the substitution of corn grain by different levels of fresh sweet potato tuber (*Ipomoea batatas* L.) in a fattening diet. **Cuban Journal of Agricultural Science**, v. 55, n. 4, p. 381-389, 2021.

RUKUNDO, P.; SHIMELIS, H.; LAING, M.; GAHAKWA, D. Combining ability, maternal effects, and heritability of drought tolerance, yield and yield components in sweetpotato. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, 2017.

RINCENT, R.; CHARPENTIER, J. P.; FAIVRE-RAMPANT, P.; PAUX, E.; LE GOUIS, J.; BASTIEN, C.; SEGURA, V. Phenomic selection is a low-cost and high-throughput method based on indirect predictions: proof of concept on wheat and poplar. G3: **Genes, Genomes, Genetics**, v. 8, n. 12, p. 3961-3972, 2018

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; NUTTI, M. R.; CARVALHO, J. L. V. Carotenoids of sweet potato, cassava, and maize and their use in bread and flour fortification. *In*: PREEDY, R. R.; WATSON, R. R.; PATEL, V. B. **Flour and breads and their fortification in health and disease prevention**. London; Burlington; San Diego: Elsevier, 2011. cap. 28, p. 301-311.

SANTANA, P. N. D.; REIS, A. J. D. S.; CHAVES, L. J. Combining ability of sugarcane genotypes based on the selection rates of single cross families. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 17, p. 47-53, 2017.

SCHWEINBERGER, C.; PUTTI, T.; SUSIN, G.; TRIERWEILER, J.; TRIERWEILER, L. Ethanol production from sweet potato: The effect of ripening, comparison of two heating methods, and cost analysis. **The Canadian Journal of Chemical Engineering**, v. 94, 2016.

SHUMBUSHA, D.; SHIMELIS, H.; LAING, M.; RUKUNDO, P. Gene action and heritability of yield components of dual-purpose sweetpotato clones. **Euphytica**, v. 215, n. 122, 2019.

SILVA, J. B. C.; LOPES, C. A.; MAGALHÃES, J. S. **Cultura da batata-doce**. Brasília: Embrapa Hortaliças. Versão Eletrônica, 2008.

SILVA, J. C. O.; ANDRADE JÚNIOR, V. C.; BUENO FILHO, J. S. S.; BRITO, O. G.; LOPES, T. C.; PEREIRA, A. G.; ZAQUEU, A. S.; TAULA, A. J. V.; FIRME, T. D. Mixed model-based indices for selection of sweet potato genotypes for different agronomic aptitudes. **Euphytica**, v. 218, n. 86, 2022.

ŠLOSÁR, M.; HEGEDŮSOVÁ, A.; HEGEDŮS, O.; MEZEYOVÁ, I.; FARKAŠ, J.; GOLIAN, M. The evaluation of selected qualitative parameters of sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) in dependence on its cultivar. **Potravinárstvo Slovak Journal of Food Sciences**, v. 13, n. 1, p. 131-137, 2019.

SOUZA, M. C.; SILVA, J. C. O.; SILVA, E. A.; ANDRADE JÚNIOR, V. C.; REIS, M. V. Characterization of sweet potato genotypes with landscaping potential. **Euphytica**, v. 218, n. 156, 2022.

SSALI, R. T.; SSERUWU, G.; YADA, B.; SSEMAKULA, G.; WASONGA, C.; GRÜNEBERG, W. J.; EYZAGUIRRE, R.; LOW, J. W.; MWANGA, R. O. Efficiency of the polycross and controlled hybridization methods in sweetpotato breeding in Uganda. **Journal of Agricultural Science**, v. 11, n. 17, 2019.

SULISTIANI, R.; ROSMAYATI, S.; LAM, H. F. **Differences in morphology and sugar content of purple sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) with potassium treatment at several altitudes**. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 2018.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MØLLER, I. M.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

TEGEN, H.; MOHAMMED, W. The role of plant tissue culture to supply disease free planting materials of major horticultural crops in Ethiopia. **Journal of Biology, Agriculture and Healthcare**, v. 6, n. 1, p. 122-129, 2016.

TEIXEIRA, M. G.; MILL, J. G.; PEREIRA, A. C.; MOLINA MDEL, C. Dietary intake of antioxidant in ELSA-Brasil population: baseline results. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 19, n. 1, p. 149-159, 2016.

THIEBAUT, F.; HEMERLY, A. S.; FERREIRA, P. C. G. A role for epigenetic regulation in the adaptation and stress responses of non-model plants. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, n. 246, 2019.

VARGAS, P. F.; OTOBONI, M. E. F.; LOPES, B. G.; PAVAN, B. E. Prediction of genetic gains through selection of sweet potato accessions. **Horticultura Brasileira**, v. 38, n. 4, 2020.

VIANA, D. J. S.; ANDRADE JÚNIOR, V. C.; RIBEIRO, K. G.; PINTO, N. A. V. D.; NEIVA, I. P.; FIGUEIREDO, J. A.; LEMOS, V. T.; PEDROSA, C. E.; AZEVEDO, A. M. Potencial de silagens de ramas de batata-doce para alimentação animal. **Ciência Rural**, v. 41, n. 8, p. 1466-1471, 2011.

VIANA, D. J. S.; PINTO, N. A. V. D.; DIAS, K. P. F.; NELSON, D. L.; PANTOJA, L. A.; PINTO, N. A. V. D.; ANDRADE JUNIOR, V. C.; SANTOS, A. S. Evaluation of productivity of sweet potato genotypes for first and second generation bioethanol production. **African Journal of Biotechnology**, v. 16, n. 49, p. 2289-2298, 2017.

VERA-SANTANDER, V. E.; HERNÁNDEZ-FIGUEROA, R. H.; JIMÉNEZ-MUNGUÍA, M. T.; MANI-LÓPEZ, E.; LÓPEZ-MALO, A. Health benefits of consuming foods with bacterial probiotics, postbiotics, and their metabolites: a review. **Molecules**, v. 28, n. 3, 2023.

ZEIST, A. R.; LEAL, M. H. S.; RESENDE, J. T. V.; RECH, C.; SILVA JÚNIOR, A. D.; TOROCO, B. R.; OLIVEIRA, J. N. M.; OLIVEIRA, G. J. A. Selecting orange-fleshed sweet potato genotypes using selection indices. **Horticultura Brasileira**, v. 40, p. 231-237, 2022.

ZENG, L.; PETTIGREW, W. T. Combining ability, heritability, and genotypic correlations for lint yield and fiber quality of upland cotton in delayed planting. **Field Crops Research**, v. 171, p. 176-183, 2015.

ZHANG, X.; LV, L.; LV, C.; GUO, B.; XU, R. Combining ability of different agronomic traits and yield components in hybrid barley. **PloS One**, v. 10, n. 6, 2015.

ZHAO, Y.; GOWDA, M.; LIU, W.; WÜRSCHUM, T.; MAURER, H. P.; LONGIN, F. H.; REIF, J. C. Accuracy of genomic selection in European maize elite breeding populations. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 124, p. 769-776, 2012.

WANG, N.; YU, Y.; ZHANG, D.; ZHANG, Z.; WANG, Z.; XUN, H.; ... ZHANG, J. (2022). Modification of Gene Expression, DNA Methylation and Small RNAs Expression in Rice Plants under In Vitro Culture. **Agronomy**, v. 12, n. 7, 2022.

SEGUNDA PARTE – ARTIGOS*

ARTIGO 1 ESTIMATIVA DOS EFEITOS DE CAPACIDADE DE COMBINAÇÃO ENTRE CRUZAMENTOS DIALÉLICOS DE BATATA-DOCE PARA CARACTERES MORFOAGRONÔMICOS

RESUMO

A utilização de cruzamentos dialélicos associados à propagação vegetativa na batata-doce pode reduzir o tempo necessário para a obtenção de genótipos superiores, acelerando assim, o processo de melhoramento. No entanto, não há publicações que relatam a utilização desta técnica em programas de melhoramento genético de batata-doce no Brasil. Dessa forma, o objetivo deste estudo foi determinar os efeitos da capacidade de combinação de cruzamentos entre clones de batata-doce, visando identificar as melhores hibridações para características agronômicas de interesse. O experimento foi desenvolvido no Centro de Desenvolvimento e Transferência de Tecnologia da Universidade Federal de Lavras (CDTT/UFLA), no período de março a agosto de 2021. Foram avaliados 378 genótipos irmãos-completos (IC) de batata-doce, oriundos de um dialelo parcial composto por 12 parentais (sete cultivares comerciais e sete genótipos elites pré-avaliados). O delineamento experimental utilizado foi em blocos incompletos, com duas repetições dos genótipos IC e doze repetições de cada testemunha (genitores). Aos 145 dias após o plantio avaliou-se a produtividade de ramos, produtividade de raízes totais, porcentagem de raízes comerciais, peso unitário de raízes totais e comerciais, e porcentagem de raízes comerciais. Também foram determinadas as massas secas de raízes e de parte aérea (raízes e ramos). Procedeu-se a análise estatística via modelos lineares mistos, obtenção dos valores genéticos preditos empíricos e a análise dialélica utilizando o modelo aleatório do método II proposto por Griffing (1956). Ao avaliar a razão entre a capacidade geral (GCA) e a capacidade específica (SCA) de combinação para a produtividade de raízes totais, peso unitário de raízes totais, massa seca de raízes totais e produtividade de ramos, observou-se valores com variação entre 0,467 e 0,672. Os valores de herdabilidade no sentido restrito para produtividade de ramos, produtividade de raízes tuberosas e porcentagem de raízes comercial, peso unitário de raízes totais e teor de matéria seca de raízes variaram entre 0,383 e 0,618, respectivamente. Os genótipos Brazlândia Roxa, Ligeirinha, UFLA-464, Uruguaiana, foram os que mais se destacaram em relação a GCA. Ao considerar a SCA, o cruzamento Amélia X UFLA-1257 promoveu maior teor de matéria seca, maior produtividade de raízes totais, maior produtividade de ramos e maior porcentagem de raízes comerciais.

Palavras-chave: *Ipomoea batatas* L. Hibridação. Melhoramento. Análise dialélica.

ABSTRACT

The use of diallel crosses associated with vegetative propagation in sweetpotato can shorten the time required to obtain superior genotypes, thus accelerating the improvement process. However, there are no reports of the use of this technique in sweetpotato plant breeding programs in Brazil. Thus, the objective of this study was to determine the effects of the combining ability of crosses between sweet potato clones, aiming to identify the best hybridizations for agronomic traits of interest. The experiment was carried out at the Center for Development and Technology Transfer at the Federal University of Lavras (CDTT/UFLA), from March to August 2021. 378 full-sib genotypes (IC) of sweetpotato were evaluated, from a partial diallel composed of 12 parents (seven commercial cultivars and seven pre-evaluated

elite genotypes). The experimental design used was incomplete blocks design, with two repetitions of the IC genotypes and twelve repetitions of each control (parents). At 145 days after planting, the productivity of vines, productivity of total roots, percentage of marketable roots, unitary weight of total and marketable roots, and percentage of marketable roots were evaluated. Dry matter content of roots and canopy (stems and vines) were also determined. The statistical analysis was carried out via linear mixed models, obtaining empirical predicted values and diallel analysis using the random model of method II proposed by Griffing 1956. When evaluating the ratio between general capacity ability (GCA) and specific capacity ability (SCA) for the productivity of total roots, unitary weight of total roots, dry mass of total roots and productivity of branches, values with variation between 0.467 and 0.672 were observed. The narrow sense heritability values for stem yield, tuberous root yield and percentage of marketable roots, unit weight of total roots and dry matter content varied between 0.383 and 0.618, respectively. The Brazlândia Roxa, Ligeirinha, UFLA-464, Uruguaiana genotypes were the ones that most stood out in relation to GCA. When considering the SCA, the crossing Amélia X UFLA-1257 promoted the highest dry matter content, the highest tuberous root yield, the highest vine yield and the highest percentage of marketable roots.

Keyword: *Ipomoea batatas* L. Hybridization. Improvement. Diallel analysis.

1 INTRODUÇÃO

O cultivo de batata-doce é uma atividade muito relevante em diversos países, uma vez que essa espécie vegetal é fonte de carboidratos, vitaminas e minerais (COSTA *et al.*, 2022). Além disso, a batata-doce é importante para a segurança alimentar nas áreas rurais, especialmente onde outras culturas podem não ser viáveis (ANDRADE JUNIOR *et al.*, 2018; BRITO *et al.*, 2021). Apesar disso, a cultura apresenta diversas limitações produtivas, destacando-se a falta de cultivares de alto desempenho agrônômica adaptadas aos diferentes ambientes de cultivo (ANDRADE JUNIOR *et al.*, 2018; SILVA *et al.*, 2022). Neste sentido, o melhoramento genético da cultura é uma estratégia importante para aumentar a resistência a doenças (NGAILO *et al.*, 2019), produtividade e qualidade de raízes (SILVA *et al.*, 2022), resistência às pragas (MUGISA *et al.*, 2022), dentre outras características de interesse.

A batata-doce é uma espécie que apresenta autoincompatibilidade (BRITO *et al.*, 2021), logo, para a produção de sementes viáveis é necessário o cruzamento entre diferentes genótipos compatíveis. Assim, é possível ampliar a variabilidade genética em programas de melhoramento de plantas, como no caso da batata-doce, com o uso de estratégias como introgressão de alelos (genótipos), campos de policruzamento ou estabelecer cruzamentos controlados (RAMALHO *et al.*, 2012; BORÉM *et al.*, 2017).

O policruzamento é uma prática comum na cultura, uma vez que a autoincompatibilidade entre as plantas impede a consanguinidade e mantém a diversidade genética das plantas obtidas (BRITO *et al.*, 2021; SILVA *et al.*, 2022). Desta forma, os campos de policruzamentos permitem a obtenção de progênies meios-irmãos de forma facilitada. Contudo, essa estratégia permite a identificação apenas do parental feminino, o que pode ser uma limitação para este método de recombinação. A utilização da informação de ambos os parentais, permite uma predição mais acurada dos valores genotípicos (PIEPHO *et al.*, 2008; ROBERTSEN *et al.*, 2019; RESENDE *et al.*, 2021).

Trabalhos publicados têm mostrado que progênies oriundas de policruzamentos entre genótipos superiores também podem produzir genótipos com baixa produtividade de raízes tuberosas (SILVA *et al.*, 2022; COSTA *et al.*, 2022). Provavelmente isso se deve à batata-doce ser hexaploide ($2n=6x$), ou seja, pode expressar até seis diferentes alelos. Neste sentido, a adoção de cruzamentos dialélicos pode mitigar estes efeitos e aumentar a probabilidade de obtenção de ideótipos nos primeiros ciclos de recombinação (SANTANA *et al.*, 2017). Neste tipo de cruzamento priorizam-se genótipos que apresentem alelos mais promissores em relação à produtividade, resistência a doenças e adaptação a diferentes condições ambientais (RUKUNDO *et al.*, 2017; NGAILO *et al.*, 2019).

A capacidade de combinação tem sido utilizada para avaliar a ação gênica dos pais para características quantitativas (FASAHAT *et al.*, 2016). Isto permite estimar os genótipos que apresentem alelos mais favoráveis aos cruzamentos. Essa abordagem é amplamente aplicada no melhoramento de diversas culturas como sorgo, (MAKANDA *et al.*, 2010), milho (AKINWALE *et al.* 2014), algodão (ZENG; PETTIGREW 2015), cana-de-açúcar (SANTANA *et al.*, 2016), e, inclusive, batata-doce (RUKUNDO *et al.*, 2017; NGAILO *et al.*, 2019; MOURTALA *et al.*, 2023). A capacidade de combinação é uma ferramenta útil para identificar parentais com mérito genético superior a partir do desempenho de seus descendentes (MUGISA *et al.*, 2022). Portanto, a criação e desenvolvimento de cultivares podem ser alavancados por meio de cruzamentos direcionados, adotando-se genótipos complementares e com atributos adequados. Dessa forma, o esquema de cruzamento dialélico é comumente utilizado na análise genética para investigar a herança de características agrônômicas de importantes culturas agrícolas, incluindo-se a batata-doce (GRIFFING, 1956; MWANGA *et al.*, 2002; HALLAUER *et al.*, 2010; RUKUNDO *et al.*, 2017).

Esta abordagem permite estimar os efeitos da capacidade de combinação geral (GCA) e da capacidade de combinação específica (SCA) entre dois genitores. A GCA refere-se ao

desempenho geral de um genótipo na produção de progênes com características desejáveis quando recombinadas com diversos genótipos (OLIVEIRA *et al.*, 2016). Já a SCA refere-se à interação entre dois genótipos específicos. Essa técnica permite identificar os genótipos que apresentam as melhores combinações em relação à produtividade e outras características de interesse. Na seleção de genótipos superiores é essencial que os parentais apresentem elevada GCA e os cruzamentos alta SCA para as características de interesse.

Em resumo, a SCA e a GCA são estratégias importantes para o melhoramento genético da batata-doce. Apesar de já serem reportados na literatura, estudos com cruzamentos dialélicos com a cultura da batata-doce (RUKUNDO *et al.*, 2017; NGAILO *et al.*, 2019; SHUMBUSHA *et al.*, 2019; MOURTALA *et al.*, 2023), é importante destacar que não há publicações que relatam o uso deste método em programas de melhoramento genético de batata-doce no Brasil. Além disso, cada programa de melhoramento possui suas particularidades, o que demanda estudos minuciosos para a identificação das melhores combinações genéticas.

Portanto, a utilização dessa metodologia pode acelerar o programa de melhoramento de plantas ao reduzir o tempo de obtenção de genótipos superiores (MWANGA *et al.*, 2002; MUGISA, *et al.*, 2022). Desta forma, é fundamental realizar pesquisas específicas para cada programa de melhoramento. Esses estudos detalhados contribuirão para a identificação das melhores combinações genéticas, potencializando os ganhos genéticos na batata-doce e impulsionando a obtenção de genótipos superiores em tempo mais curto. Diante disto, o objetivo deste estudo foi determinar os efeitos da capacidade de combinação de cruzamentos entre genótipos de batata-doce, visando identificar as melhores hibridações para as características agronômicas de interesse.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Genitores utilizados

Quatorze genótipos de batata-doce foram usados para gerar novas combinações genéticas. Os genitores utilizados são clones experimentais, cultivares comerciais e introgressões mantidas no banco ativo de germoplasma de batata-doce da Universidade Federal de Lavras (UFLA). Estes genótipos foram selecionados a partir do elevado potencial produtivo e alta qualidade de raízes tuberosas destes acessos, previamente testados (SILVA *et al.*, 2022;

COSTA *et al.*, 2022), além de outros de interesse. As características destes genótipos são descritas na Tabela 1.

Tabela 1 - Descrição dos genótipos de batata-doce utilizados nos cruzamentos. Lavras, Minas Gérias, UFLA, 2023.

| Parentais | Cor de casca | Cor de polpa | Atributos específicos | Origem |
|-----------------|------------------|-------------------|-------------------------|----------------------------|
| Amélia | Rosa | Alaranjada | Alta produção de raízes | Embrapa ^{1/} |
| Ligeirinha | Vermelho purpura | Creme | Alta produção de raízes | Desconhecida ^{3/} |
| Uruguaiana | Vermelho purpura | Creme | Alta produção de raízes | Desconhecida ^{3/} |
| Melhorada | Vermelho purpura | Creme | Alta produção de raízes | Lavras ^{3/} |
| 7L-2020-1 | Vermelho purpura | Creme | Alta produção de raízes | Sete Lagoas ^{3/} |
| Brazlândia Roxa | Vermelho purpura | Creme | Alta produção de ramos | Embrapa ^{1/} |
| UFLA-869 | Vermelho purpura | Creme | Alta produção de raízes | UFLA ^{2/} |
| UFLA-464 | Vermelho purpura | Creme/roxa | Alta produção de ramos | UFLA ^{2/} |
| Beauregard | Bronze | Alaranjada | Cor intensa de raízes | EUA ^{1/} |
| UFLA-2019-1 | Alaranjada | Alaranjada | Cor intensa de raízes | Lavras ^{2/} |
| UFLA-1257 | Alaranjada | Alaranjada /creme | Cor intensa de raízes | UFLA ^{2/} |
| UFLA-1432 | Roxa | Roxa | Cor intensa de raízes | UFLA ^{2/} |
| UFVJM-57 | Roxa | Roxa | Cor intensa de raízes | UFVJM ^{2/} |
| VR-13 | Roxa | Roxa | Cor intensa de raízes | UNESP ^{2/} |

^{1/}Cultivar comercial registrada; ^{2/}Genótipo experimental; ^{3/}introgressão.

Fonte: Do autor (2023).

2.2 Cruzamentos dialélicos

Os quatorze genitores foram cruzados adotando-se delineamento dialélico completo, em ensaio conduzido no setor de olericultura da UFLA. As plantas foram mantidas em vasos de dez litros, os quais foram adubados e irrigados por gotejamento. O plantio dos parentais foi realizado em 20 de março de 2020, e conduzidos até agosto do mesmo ano. Para cada parental foram cultivados em cinco vasos, sendo que em cada vaso foram mantidas quatro plantas. Os vasos foram mantidos em casa-de-vegetação completamente isolada com tela antiafídeo, de forma a evitar a entrada de insetos polinizadores.

Os cruzamentos diários ocorreram durante todo o florescimento das plantas, que ocorreu de 28 de maio a 25 de agosto de 2020. As flores polinizadas foram previamente isoladas com sacos de papel antes da antese. No dia da abertura floral, as flores foram polinizadas manualmente entre 7:00 h e 12:00 h. A identificação dos cruzamentos foi realizada com fios de algodão de diferentes colorações. Os cruzamentos não foram pré-definidos e foi assumido a ordem de abertura das flores, ou seja, foram cruzados primeiramente os genótipos que coincidiram a abertura floral. O cruzamento ocorreu por meio da retirada das anteras da flor doadora de pólen, a qual foi esfregada sobre a ponta do estigma de uma flor adotada como genitor feminino. Além disso, não houve definição dos genitores feminino e masculino, foi tomado como ordem apenas a disponibilidade de flores. Plantas com mais flores abertas no dia foram consideradas genitores femininos e plantas com poucas flores abertas como genitor masculino, situação variável de acordo com a de floração. Essa estratégia foi adotada considerando que uma flor possui seis anteras que pode polinizar até seis genótipos/flores. Posteriormente, quando secas, as cápsulas com sementes dos cruzamentos foram regularmente colhidas, identificadas e mantidas em envelopes de papel em temperatura ambiente. Logo após, as cápsulas foram abertas e foi contabilizado o número de sementes de cada cruzamento.

2.3 Produção de mudas e seleção *inseedling*

Devido à limitação na produção de flores em alguns genótipos durante a realização dos cruzamentos, observou-se aumento no aborto de botões florais em plantas onde as hibridações foram eficazes, o que impediu a obtenção de um dialelo completo. Assim, foram obtidas 716 sementes a partir do dialelo parcial.

Dessa forma, as sementes coletadas foram mergulhadas em ácido sulfúrico concentrado (98% H_2SO_4) por 20 minutos. O ácido foi descartado e as sementes lavadas com água corrente durante 15 minutos. As sementes foram colocadas em bandejas de poliestireno expandido de 72 células com substrato comercial e mantidas em viveiro de mudas com irrigação duas vezes ao dia. A taxa de germinação foi contabilizada com contagem aos 15 dias para avaliar o número efetivo de plantas que germinaram (EQUAÇÃO 1). Assim, a taxa de germinação foi obtida da razão do número de plântulas aos quinze dias dividido número total de sementes por cruzamento. Quando as plântulas atingiram uma altura de 15 cm, o que ocorreu aos 35 dias após o sementeio, estas foram transplantadas para canteiros de multiplicação.

$$\text{Germinação (\%)} = \frac{\text{Número de Plantas aos 15 dias}}{\text{Número de sementes}} \times 100 \quad (1)$$

Aos 100 dias após o plantio nos canteiros foi realizado a avaliação denominada seleção *inseedling*. Esse método teve como objetivo avaliar precocemente as progênies, o qual consistiu na mensuração do tamanho das ramas e a produção de raízes tuberosas. O processo de avaliação consistiu na retirada de solo ao redor das raízes para visualizar a ocorrência ou não de tuberização. A avaliação das ramas foi por meio da mensuração das ramas com uma escala graduada de um metro para contabilizar no mínimo 90 centímetros de ramas (em haste única ou múltiplas hastes). A partir disso, plantas que não tuberizaram, ou que apresentaram raízes de diâmetro menor que três centímetros, e/ou com ramas insuficientes para três estacas de trinta centímetros, foram descartadas. Ao final, 378 genótipos foram classificados como aptos e seguiram para avaliação no Delineamento de Blocos Incompletos (DBI). Para cada cruzamento foi contabilizada a taxa de aproveitamento (remanescentes) na seleção em *inseedling* que consiste na porcentagem de plantas que seguiram para a avaliação no DBI (EQUAÇÃO 2).

$$\text{Seleção } inseedling \text{ (\%)} = \frac{\text{Número de Plantas no DBI}}{\text{Número de Plantas germinadas}} \times 100 \quad (2)$$

2.4 Instalação do ensaio de campo e avaliação das progênies

O experimento foi conduzido de 24 de março a 16 de agosto de 2021 no Centro de Desenvolvimento e Transferência de Tecnologia da Universidade Federal de Lavras (CDTT/UFLA), no município de Ijaci, Minas Gerais, Brasil (21°10'S, 44°55'W, a 832 m). Foram avaliados 378 clones de batata-doce oriundos de dialelo parcial incompleto e 12 testemunhas. O delineamento experimental utilizado foi de blocos incompletos em linhas e colunas (DBI) semelhante a um delineamento de blocos aumentados de *Hoonuiaku design* (FEDERER, 1956) com duas repetições para os genótipos e 12 repetições para as testemunhas. As testemunhas consistiram dos parentais descritos na Tabela 1, com exceção da UFLA-1257 e UFVJM-57, pois não produziram material propagativo suficiente.

O solo foi preparado por meio de aração e gradagem, sendo, posteriormente, levantados camalhões (leiras) de 0,35 m de altura. As unidades experimentais (UE) foram implantadas em leiras, com as dimensões de 0,9 m de comprimento por 1,0 m entre leiras, totalizando 0,9 m². Em cada UE foram plantadas três ramas de 30 a 40 cm (com seis a oito gemas cada), espaçadas

de 30 cm entre si. As parcelas foram verificadas até os 15 dias após o plantio (DAP) e replantadas quando necessário. O manejo nutricional foi baseado na recomendação para batata-doce (RIBEIRO *et al.*, 1999).

Os tratamentos culturais como controle de plantas daninhas, cobertura e manejo fitossanitário foram realizados manualmente e de acordo com as necessidades da cultura (EMBRAPA, 2021). A irrigação foi realizada por aspersão convencional, a partir das necessidades da cultura e do balanço hídrico.

2.5 Parâmetros avaliados

A colheita foi realizada aos 145 DAP e foram avaliadas as seguintes características:

- a) Produtividade de ramas: todo o dossel foi cortado ao nível do solo e, em seguida, pesado em balança, sendo os resultados convertidos para $t\ ha^{-1}$;
- b) Produtividade de raízes totais: obtida via pesagem de todas as raízes tuberosas, e os resultados convertidos para $t\ ha^{-1}$;
- c) Produtividade de raízes comerciais: obtida selecionando as raízes tuberosas que possuíam peso entre 150 e 700 g, livre de danos e com bom aspecto comercial, com resultados convertidos para $t\ ha^{-1}$;
- d) Peso unitário de raízes totais e peso unitário de raízes comerciais: obtidas por meio da razão entre o peso de raízes dividido pelo número total de raízes produzidas;
- e) Porcentagem de raízes comerciais: obtida via razão produtividade de raízes comerciais dividido pela produtividade de raízes totais tuberizadas;
- f) Teor de matéria seca de raízes, e de ramas: foram determinados seguindo os métodos descritos por Carey e Reynoso (1996) e Tairo *et al.* (2008). Resumidamente, duas amostras de 50 a 60 g cada foram coletadas das maiores raízes tuberosas saudáveis de cada clone e mantidas em um saco de papel. As amostras foram levadas à estufa a 70°C por 72 horas. Após a secagem, as amostras foram pesadas em balança analítica e foi calculado o teor de matéria seca (Equação 3), o mesmo processo foi realizado para as ramas.

$$\text{Teor de matéria seca \%} = \frac{\text{Peso final}}{\text{Peso inicial}} \times 100 \quad (3)$$

2.6 Análises estatísticas

Os dados coletados foram analisados por análise de modelos mistos via o método do Melhor Preditor Não Viciado (BLUP), representado pela equação: $Y_{ijkl} = \mu + L_i + C_j + B_{ijk} + \text{Cruzamento} + \varepsilon_{ijkl}$. em que: Y_{ijkl} é o vetor de observações (dado observado), μ é o efeito da média (intercepto) fixo, com $E(\mu) = \mu$. L_i é o efeito da linha i fixo, C_j é o efeito da coluna j fixo, B_{ijk} é o efeito do dado observado ij no bloco k fixo (fixo); Cruzamento é o efeito da combinação entre os parentais (aleatório), e ε_{ijkl} é o erro (desvio) associado à observação Y_{ijkl} , com $E(\varepsilon_{ijkl}) = 0$ e $E(\varepsilon_{ijkl}^2) = \sigma^2\varepsilon$. A significância da análise do modelo misto foi analisada pelo Teste da Razão de Verossimilhança (LRT), recomendado para testar os efeitos aleatórios. Para os efeitos fixos, foi realizado o teste F aproximado.

Os valores de BLUP para cada cruzamento específico ajustado na etapa anterior, somados às médias de cada variável, foram utilizados para análise do dialelo parcial. Na análise dialélica, foi utilizado o modelo aleatório do método II de Griffing (1956), representado pela equação $Y_{ij} = \mu + g_i + g_j + s_{ij}$. Onde, Y_{ij} é o valor BLUP referente ao cruzamento entre os parentais i e j , μ é a média geral, g_i e g_j são os efeitos de capacidade geral de combinação (GCA) dos pais i -ésimo e j -ésimo, respectivamente ($i < j = 2, 3, \dots, 14$), e s_{ij} é o efeito de capacidade específica de combinação (SCA) do cruzamento entre os pais de ordem i e j . As estimativas dos efeitos e suas respectivas somas de quadrados foram obtidas utilizando o método dos mínimos quadrados. As análises foram realizadas utilizando um script específico no ambiente R (R CORE TEAM, 2014).

O coeficiente de determinação genética de sentido restrito (h^2_r), que é um equivalente parental fixo de herdabilidade no sentido restrito (h^2) foi estimado de acordo com Fehr (1991). A importância relativa dos efeitos (GCA/SCA) foi determinada por meio da razão geral prevista (EQUAÇÃO 4)

$$h^2_r = \frac{2\sigma_{gca}^2}{2\sigma_{gca}^2 + \sigma_{sca}^2} \quad (4)$$

Onde:

σ_{gca}^2 = Componente de variância de GCA;

σ_{sca}^2 = Componente de variância de SCA.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram efetivados 81 cruzamentos, os quais resultaram em 716 sementes, com média de 7,5 sementes por cruzamento, e com número máximo de 32 e mínimo de uma semente por cruzamento (TABELA 2). A taxa de germinação média foi de 85,91%, valor superior aos reportados na literatura. Em estudo conduzido Rukundo *et al.* (2017) ao avaliarem 56 cruzamentos identificaram taxa de germinação de 41% de sementes obtidas via cruzamentos controlados em batata-doce. Já Brito *et al.* (2021) ao avaliarem o desempenho genótipos na região de Lavras-MG quanto à produção de sementes obtiveram taxa de germinação de 77,13%. Por outro lado, Silva *et al.* (2023) reportaram apenas 32,20% de germinação de sementes oriundas de policruzamento na região norte do estado de Minas Gerais.

A taxa de aproveitamento na seleção em *inseedling*, que representa o percentual de plantas tuberculizadas aptas para avaliação no ensaio de desempenho agrônômico, variou de 0 a 100% entre os cruzamentos, com média de 49% de aproveitamento (TABELA 2). Assim, a seleção é importante, pois permite identificar clones mais precoces quanto ao potencial de tuberculização (SILVA *et al.*, 2022). Dezenove cruzamentos apresentaram taxa de aproveitamento no *inseedling* maior que 80%. Outros dezesseis cruzamentos apresentaram taxa de aproveitamento menor que 50%. Por outro lado, 24 cruzamentos não apresentaram genótipos classificados durante o *inseedling*. No entanto, verificou-se que os genótipos Ligeirinha e UFVJM-57 foram os genótipos que mais participaram desses piores aproveitamentos.

Tabela 2 - Cruzamentos com seus respectivos números de sementes (NS), taxa de germinação das sementes (GERM) e a taxa de aproveitamento na seleção em *inseedling* (SI). Lavras, Minas Gerias, UFLA, 2023. (continua)

| Feminino | X | Masculino | NS (Unidade) | GERM (%) | SI (%) |
|-----------------|---|-----------------|-----------------|-------------|-----------|
| UFLA-464 | | Uruguiana | 18 | 94,4 | 100 |
| Beauregard | | Ligeirinha | 9 | 66,7 | 100 |
| Brazlândia Roxa | | UFLA-1432 | 5 | 60,0 | 100 |
| UFLA-464 | | 7L-2020-1 | 2 | 100 | 100 |
| Brazlândia Roxa | | UFLA-464 | 2 | 100 | 100 |
| Melhorada | | UFLA-2019-1 | 3 | 66,7 | 100 |
| Ligeirinha | | Brazlândia Roxa | 4 | 50,0 | 100 |
| UFVJM-57 | | 7L-2020-1 | 1 | 100 | 100 |
| Amélia | | Beauregard | 1 | 100 | 100 |
| UFVJM-57 | | Ligeirinha | 1 | 100 | 100 |
| VR-13 | | Melhorada | 1 | 100 | 100 |
| Melhorada | | Uruguiana | 2 | 50 | 100 |
| UFLA-1432 | | Uruguiana | 28 | 85,7 | 95,8 |

Tabela 2 - Cruzamentos com seus respectivos números de sementes (NS), taxa de germinação das sementes (GERM) e a taxa de aproveitamento na seleção em *inseedling* (SI). Lavras, Minas Geras, UFLA, 2023. (continua)

| Feminino | X | Masculino | NS (Unidade) | GERM (%) | SI (%) |
|-----------------|----------|------------------|-------------------------|---------------------|-------------------|
| VR-13 | | Ligeirinha | 18 | 94,4 | 94,1 |
| UFLA-2019-1 | | Beauregard | 25 | 100 | 92,0 |
| Melhorada | | Brazlândia Roxa | 9 | 88,9 | 87,5 |
| Uruguaiana | | UFLA-464 | 22 | 100 | 86,4 |
| Beauregard | | UFLA-2019-1 | 6 | 100 | 83,3 |
| Ligeirinha | | Beauregard | 27 | 85,2 | 82,6 |
| 7L-2020-1 | | Ligeirinha | 5 | 100 | 80,0 |
| Uruguaiana | | Melhorada | 5 | 100 | 80,0 |
| UFLA-1432 | | Melhorada | 6 | 83,3 | 80,0 |
| UFLA-1432 | | VR-13 | 17 | 82,4 | 78,6 |
| Uruguaiana | | Ligeirinha | 19 | 94,7 | 72,2 |
| Melhorada | | UFVJM-57 | 10 | 70,0 | 71,4 |
| UFLA-464 | | UFVJM-57 | 10 | 100 | 70,0 |
| Uruguaiana | | UFLA-1432 | 16 | 81,3 | 69,2 |
| VR-13 | | Uruguaiana | 6 | 100 | 66,7 |
| Amélia | | UFLA-1257 | 3 | 100 | 66,7 |
| Ligeirinha | | Uruguaiana | 15 | 93,3 | 64,3 |
| UFLA-2019-1 | | Ligeirinha | 18 | 88,9 | 62,5 |
| Ligeirinha | | UFLA-869 | 9 | 88,9 | 62,5 |
| VR-13 | | UFLA-464 | 5 | 100 | 60,0 |
| Melhorada | | VR-13 | 5 | 100 | 60,0 |
| UFLA-464 | | Melhorada | 6 | 83,3 | 60,0 |
| VR-13 | | UFLA-1432 | 8 | 87,5 | 57,1 |
| UFLA-464 | | VR-13 | 26 | 96,2 | 56,0 |
| Ligeirinha | | VR-13 | 16 | 100 | 50,0 |
| Uruguaiana | | UFVJM-57 | 12 | 100 | 50,0 |
| Melhorada | | UFLA-464 | 6 | 100 | 50,0 |
| UFLA-869 | | UFLA-464 | 4 | 100 | 50,0 |
| VR-13 | | UFLA-869 | 4 | 100 | 50,0 |
| Melhorada | | UFLA-1432 | 5 | 80,0 | 50,0 |
| UFLA-2019-1 | | UFLA-1257 | 2 | 100 | 50,0 |
| UFLA-869 | | VR-13 | 2 | 100 | 50,0 |
| UFLA-464 | | Brazlândia Roxa | 5 | 100 | 40,0 |
| Ligeirinha | | UFLA-1432 | 13 | 100 | 38,5 |
| UFLA-464 | | UFLA-1432 | 21 | 100 | 38,1 |
| UFLA-1432 | | UFLA-464 | 32 | 93,8 | 36,7 |
| Uruguaiana | | VR-13 | 12 | 91,7 | 36,4 |
| Uruguaiana | | UFLA-869 | 20 | 90,0 | 33,3 |
| Brazlândia Roxa | | Canadense | 8 | 50,0 | 25,0 |
| UFLA-1432 | | UFLA-869 | 16 | 87,5 | 21,4 |
| Brazlândia Roxa | | UFVJM-57 | 5 | 100 | 20,0 |
| UFLA-1432 | | Ligeirinha | 32 | 93,8 | 16,7 |
| UFLA-1432 | | Brazlândia Roxa | 7 | 100 | 14,3 |

Tabela 2 - Cruzamentos com seus respectivos números de sementes (NS), taxa de germinação das sementes (GERM) e a taxa de aproveitamento na seleção em *inseedling* (SI). Lavras, Minas Gérias, UFLA, 2023. (conclusão)

| Feminino | X | Masculino | NS (Unidade) | GERM (%) | SI (%) |
|-----------------|----------|------------------|-------------------------|---------------------|-------------------|
| UFLA-869 | | UFVJM-57 | 11 | 100 | 09,1 |
| Ligeirinha | | UFVJM-57 | 12 | 100 | 0 |
| Uruguaiana | | Brazlândia Roxa | 7 | 100 | 0 |
| Uruguaiana | | 7L-2020-1 | 3 | 100 | 0 |
| UFLA-869 | | Melhorada | 3 | 100 | 0 |
| UFVJM-57 | | VR-13 | 3 | 100 | 0 |
| UFLA-1432 | | UFVJM-57 | 2 | 100 | 0 |
| Uruguaiana | | Canadense | 1 | 100 | 0 |
| UFLA-869 | | Canadense | 1 | 100 | 0 |
| UFLA-464 | | Canadense | 1 | 100 | 0 |
| UFLA-869 | | Ligeirinha | 1 | 100 | 0 |
| Canadense | | UFLA-1432 | 1 | 100 | 0 |
| Amélia | | UFLA-2019-1 | 1 | 100 | 0 |
| 7L-2020-1 | | UFLA-464 | 1 | 100 | 0 |
| UFVJM-57 | | UFLA-869 | 1 | 100 | 0 |
| UFVJM-57 | | Uruguaiana | 1 | 100 | 0 |
| Ligeirinha | | Melhorada | 5 | 80 | 0 |
| VR-13 | | Brazlândia Roxa | 3 | 66,7 | 0 |
| UFLA-464 | | UFLA-869 | 4 | 50,0 | 0 |
| Ligeirinha | | 7L-2020-1 | 2 | 50,0 | 0 |
| Ligeirinha | | UFLA-2019-1 | 3 | 33,3 | 0 |
| UFLA-869 | | UFLA-1432 | 3 | 0 | - |
| Brazlândia Roxa | | Melhorada | 1 | 0 | - |
| VR-13 | | UFVJM-57 | 1 | 0 | - |
| 7L-2020-1 | | UFVJM-57 | 1 | 0 | - |
| Média | | | 8,25 | 85,91 | 48,94 |

Fonte: Do autor (2023).

Entretanto, dentre os 22 cruzamentos com taxa de plantas remanescentes igual ou superior a 80%, destacaram-se os genitores Ligeirinha (6 participações), Melhorada (5 participações) e Uruguaiana (5 participações) (TABELA 2). Apesar disso, o genitor Ligeirinha participou tanto dos melhores, quanto dos piores cruzamentos para tuberação precoce avaliados no *inseedling*. Por ser uma planta hexaploide, a batata-doce pode apresentar uma variedade de alelos, tanto favoráveis quanto desfavoráveis à tuberação precoce. Por esse motivo, o uso do genótipo Ligeirinha como genitor deve ser utilizado com cautela. De acordo com Schaeffer (2019), é possível realizar predições sobre progenitores heterozigóticos a partir do desempenho de suas progênes, e assim estimar os valores genéticos dos parentais. Portanto, um determinado genitor que participe frequentemente dos cruzamentos de melhor desempenho

(Melhorada e Uruguaiana), provavelmente apresenta bons alelos para as características avaliadas.

3.1 Análise de variância

Não houve efeitos significativos para leira, coluna e bloco. Segundo Neath e Cavanaugh (2012), quando dois modelos são comparados e a diferença entre os valores do AIC é menor que 10, pode-se considerar que não há diferença estatística dos modelos, assumindo-se o chamado ‘modelo reduzido’ (sem o efeito do cruzamento). A análise de LRT para efeitos aleatórios não foi capaz de identificar diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os cruzamentos para teor de matéria seca de ramas e peso unitário de raízes comerciais (TABELA 3). Logo, a análise dialélica foi desempenhada para as características significativas.

Tabela 3 - Teste de máxima razão de verossimilhança para identificação da variabilidade genética entre genótipos de batata-doce. Modelo completo (inclui o fator de cruzamento) e Modelo reduzido (ausência do fator de cruzamento).

| Produtividade de raízes totais | | | | | |
|---|-------------|------------|---------------|-----------------|----------------------|
| | npar | AIC | logLik | deviance | Pr(>Chisq) |
| Modelo Completo | 6 | 6325,2 | -3156,6 | 6313,2 | |
| Modelo reduzido | 5 | 6335,8 | -3133,9 | 6267,8 | 0,020 |
| Teor de matéria seca de raízes | | | | | |
| Modelo Completo | 6 | 2030,4 | -1009,18 | 2018,4 | |
| Modelo reduzido | 5 | 2001,6 | -966,78 | 1933,6 | 1,3e ⁻⁰⁷ |
| Porcentagem de raízes comerciais | | | | | |
| Modelo Completo | 6 | 2649,8 | -1318,9 | 2637,8 | |
| Modelo reduzido | 5 | 2667,4 | -1299,7 | 2599,4 | 0,034 |
| Peso unitário de raízes totais | | | | | |
| Modelo Completo | 6 | 3578,5 | -1785,7 | 3571,5 | |
| Modelo reduzido | 5 | 3589,9 | -1761 | 3521,9 | 0,0073 |
| Peso unitário de raízes comerciais | | | | | |
| Modelo Completo | 6 | 3461,2 | -1724,6 | 3449,2 | |
| Modelo reduzido | 5 | 3469,6 | -1705,8 | 3421,6 | 0,1066 |
| Produtividade de parte aérea | | | | | |
| Modelo Completo | 6 | 6387,4 | -3187,7 | 6375,4 | |
| Modelo reduzido | 5 | 6369,0 | -3135,5 | 6301,0 | 0,0001 |
| Teor de matéria seca de ramas | | | | | |
| Modelo Completo | 6 | 1905,0 | -946,49 | 1893,0 | |
| Modelo reduzido | 5 | 1922,9 | -927,47 | 1854,9 | 0,0976 |

npar = Número de parâmetros do modelo; logLik = log-likelihood; AIC = Critério de Informação de Akaike; Pr(>Chisq) = *p*-valor

Fonte: Do autor (2023).

As análises de GCA e SCA revelaram diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os parentais avaliados para todos os caracteres estudados, exceto a porcentagem de raízes comerciais, que não apresentou diferença significativa para SCA (TABELA 4). Altos valores para Sum Sq dos parentais (GCA) indicam que a maior proporção da variação total é resultante do efeito genético, pois foram utilizadas as médias BLUP como dados de entrada. Isto é indicativo de considerável diversidade genética na população estudada. Da mesma forma, estudos publicados também observaram significativa contribuição dos parentais sobre o desempenho dos genótipos descendentes em batata-doce (RUKUNDO *et al.*, 2017; SHUMBUSHA *et al.*, 2019; MUGISA *et al.*, 2022; NGAILO *et al.*, 2019). Portanto, altos

valores significativos para SCA demonstram haver efeito de heterose entres cruzamentos específicos ou mesmo efeitos negativos entre cruzamentos (SHUMBUSHA *et al.*, 2019).

Tabela 4 - Análise de variância para capacidade geral de combinação (GCA) e capacidade específica de combinação (SCA) para produtividade de raízes totais, porcentagem de raízes comerciais, peso unitário de raízes totais, teor de matéria seca de raízes e produtividade de ramas entre 14 genótipos de batata-doce. Lavras, Minas Gerais, UFLA, 2023.

| Produtividade de raízes totais | | | | |
|---|-----------|---------------------|---------------------|----------------------|
| | Df | Sum Sq | Mean Sq | Pr(>F) |
| GCA | 13 | 5,05e ⁰⁹ | 3,88e ⁰⁸ | 2,04e ⁻¹⁷ |
| SCA | 89 | 2,27e ⁰⁹ | 2,55e ⁰⁷ | 4,69e ⁻⁰⁴ |
| Erro | 603 | | 1,55e ⁰⁷ | |
| Porcentagem de raízes comerciais | | | | |
| | Df | Sum Sq | Mean Sq | |
| GCA | 13 | 7681,70 | 590,90 | 1,36e ⁻¹¹ |
| SCA | 89 | 5781,44 | 64,96 | 0,97 |
| Erro | 588 | | 105,46 | |
| Peso unitário de raízes totais | | | | |
| | Df | Sum Sq | Mean Sq | Pr(>F) |
| GCA | 13 | 341083,73 | 26237,21 | 2,34e ⁻¹⁵ |
| SCA | 89 | 181802,97 | 2042,73 | 0,0214 |
| Erro | 600 | | 1501,45 | |
| Teor de matéria seca de raízes | | | | |
| | Df | Sum Sq | Mean Sq | Pr(>F) |
| GCA | 13 | 17027,92 | 1309,84 | 4,71e ⁻¹⁶ |
| SCA | 89 | 8566,25 | 96,25 | 8,00e ⁻⁶⁴ |
| Erro | 587 | | 5,50 | |
| Produtividade de ramas | | | | |
| | Df | Sum Sq | Mean Sq | Pr(>F) |
| GCA | 13 | 9,42e ⁰⁷ | 7,25e ⁰⁸ | 9,11e ⁻⁰⁹ |
| SCA | 89 | 9,62e ⁰⁹ | 1,08e ⁰⁸ | 2,35e ⁻¹¹ |
| Erro | 603 | | 4,22e ⁰⁷ | |

Df= grau de liberdade, SumSq= soma de quadrados; Mean Sq= Quadrado Médio; Pr (> F) = *p*-valor
Fonte: Do autor (2023).

De acordo com os valores de GCA, quatro genótipos, Ligeirinha, Uruguaiana, Melhorada e UFVJM-57, se destacaram em todas as características avaliadas, demonstrando predições positivas para as combinações (TABELA 5). Valores positivos de GCA para um dado parental indicam que a contribuição genética é favorável, ou seja, ocorre a produção de genótipo com desempenho superior (SSERUWU, 2012).

Tabela 5 – Valores das estimativas da Capacidade Geral de Combinação obtidos para cada parental. Lavras, Minas Gerais, UFLA, 2023.

| Parentais | PRT (t ha ⁻¹) | PRC (%) | PURT (Unidade) | RDMC (%) | PPA (t ha ⁻¹) |
|-----------------------|---------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------------|
| Ligeirinha | <u>6,72</u> | <u>10,25</u> | <u>69,94</u> | <u>12,27</u> | <u>6,82</u> |
| Uruguaiana | <u>5,60</u> | <u>6,11</u> | <u>26,84</u> | <u>6,85</u> | <u>0,54</u> |
| UFLA-464 | <u>5,57</u> | <u>6,84</u> | -62,52 | <u>12,92</u> | <u>13,95</u> |
| Melhorada | <u>4,60</u> | <u>7,09</u> | <u>32,05</u> | <u>3,90</u> | <u>0,31</u> |
| UFVJM-57 | <u>3,02</u> | <u>2,63</u> | <u>28,27</u> | <u>8,25</u> | <u>1,75</u> |
| VR-13 | <u>2,77</u> | -0,32 | <u>12,05</u> | <u>4,21</u> | <u>2,58</u> |
| UFLA-1432 | <u>2,63</u> | <u>3,21</u> | -48,37 | <u>6,58</u> | <u>1,43</u> |
| UFLA-869 | -9,64 | <u>0,66</u> | <u>31,69</u> | <u>3,28</u> | <u>2,91</u> |
| UFLA-2019-1 | -1,58 | -2,94 | -21,78 | -8,74 | -3,39 |
| Brazlândia Roxa | -2,26 | -1,75 | -14,10 | <u>0,09</u> | <u>7,99</u> |
| Beauregard | -4,95 | -5,45 | -46,35 | -11,67 | -8,30 |
| 7L-2020-1 | -6,23 | -6,25 | <u>8,61</u> | -10,86 | -9,46 |
| UFLA-1257 | -7,39 | -10,04 | <u>47,68</u> | -13,79 | -8,52 |
| Amelia | -7,60 | -10,04 | -64,03 | -13,29 | -8,62 |
| GCA/SCA | 0,67 | 0,58 | 0,64 | 0,63 | 0,47 |
| <i>h²r</i> | 0,55 | 0,32 | 0,49 | 0,62 | 0,38 |

valores positivos de GCA estão negritos e sublinhados; PRT= produtividade de raízes totais; PRC= porcentagem de raízes comerciais; PURT = peso unitário de raízes totais; RDMC = teor de matéria seca de raízes; PPA = produtividade de ramas. *h²r* = herdabilidade no sentido restrito;

Fonte: Do autor (2023).

A variação nos valores de GCA para produtividade de raízes totais apresentou alta amplitude, variando de -9,64 a 6,72 (TABELA 5). Estes valores foram maiores que os verificados nos estudos de Mugisa *et al.* (2022) e Shumbusha *et al.* (2019), os quais relataram valores entre 9 a 12 t ha⁻¹ e -2,09 a 2,25 t ha⁻¹, respectivamente. A ampla variação observada no presente estudo pode ser atribuída à acentuada variabilidade genética entre os parentais utilizados (14 genitores), o que permitiu uma seleção mais restrita e criteriosa. Shumbusha *et al.* (2019) utilizaram apenas oito parentais, podendo ter sido um dos fatores para a baixa variabilidade observada. Já Mugisa *et al.* (2022), apesar de ter utilizado dezesseis genitores, podem ter utilizado de um grupo formado por genótipos mais similares entre si.

Em relação à porcentagem de raízes comerciais, destacaram-se os genótipos UFLA-464 e as testemunhas Melhorada e Ligeirinha. O destaque de duas cultivares comerciais evidencia uma tendência favorável em cruzar cultivares comerciais com genótipos experimentais, o que pode agregar o rendimento comercial de raízes. Essa prática é comum no melhoramento genético, pois amplia a variabilidade existente por meio da introgressão de características desejáveis. A razão por trás desse sucesso consiste no fato de que as cultivares comerciais

passaram por programas de desenvolvimento, nos quais foram selecionadas e aprimoradas com base em suas características produtivas, qualitativas e adaptabilidade.

Ao cruzar cultivares, há alta probabilidade de que alelos favoráveis, responsáveis pelas características desejadas, sejam combinados nos descendentes (RAMALHO *et al.*, 2012). Isso ocorre porque as cultivares comerciais já passaram por rigorosos processos de seleção, onde foram identificados e fixados os alelos que conferem maior rendimento. Contudo, deve-se atentar que algumas cultivares como Beauregard e Amélia ocasionaram a introgressão de alelos desfavoráveis na população avaliada. Isto indica que é necessário o conhecimento profundo dos parentais, mesmo as cultivares comerciais, pois estas podem resultar em descendentes de menor desempenho.

Para peso unitário de raízes totais, os genótipos Ligeirinha e UFLA-1257 se destacaram entre as maiores GCA, enquanto a Amélia e a UFLA-464 como os piores em GCA. Esta característica é um indicativo do tamanho de raízes. Assim, o cruzamento entre estes genótipos favorece raízes maiores. Ao evitar raízes de menor peso, são favorecidas aptidões como potencial agroindustrial, que na maioria dos casos não prioriza o formato das raízes, mas sim, o tamanho, pois raízes muito pequenas são descartadas.

Quanto ao teor de matéria seca de raízes, destacaram-se os genótipos UFLA-464, Ligeirinha e UFVJM-57. Genótipos com maior teor de matéria seca estão associados a maiores teores de amido nas raízes (COSTA, 2020). Alta concentração de amido está associada a polpa “enxuta” que é melhor aceita pelo mercado consumidor brasileiro (SILVA *et al.*, 2022). Além disso, altos teores de amido estão correlacionados com maior rendimento na produção de etanol de batata-doce (VIANA *et al.*, 2017). Por outro lado, os genótipos Beauregard, Amélia e UFLA-1257 apresentaram pior desempenho em relação ao teor de matéria seca de raízes. É importante destacar que genótipos de polpa alaranjada, comumente apresentam baixos teores de matéria seca, tornando a polpa mais úmida, o que não é de interesse para o mercado brasileiro. Esses resultados estão alinhados com os verificados por Costa (2022), os quais notaram que o genótipo Beauregard apresentou o pior desempenho para o teor de matéria seca de raízes dentre cem genótipos avaliados.

Conforme os resultados verificados para produção de ramas, o genótipo UFLA-464 proporcionou incremento de 13,95 t ha⁻¹ na produtividade de parte aérea dos seus descendentes, seguido do genótipo Brazlândia Roxa, que proporcionou incremento de 7,99 t ha⁻¹. Com isso, o cruzamento de maior potencial produtivo de ramas é indicado entre UFLA-464 e Brazlândia Roxa, quando se objetiva famílias com elevada produção de ramas. Vale ressaltar que, apesar

do genótipo Brazlândia Roxa ter apresentado alto valor de GCA para produtividade de ramas, ela contribui com valores negativos para as demais características. Já o genótipo UFLA-464 destacou-se com o dobro do valor verificado na segunda colocada (Brazlândia Roxa). É importante salientar que o genótipo UFLA-464 tem se destacado em pesquisas anteriores por sua ótima aptidão para produtividade de ramas (COSTA *et al.*, 2022; SILVA *et al.*, 2022). Além disso, esse genótipo demonstrou boa GCA para a produtividade de raízes totais, seguido da Uruguaiana e Ligeirinha (TABELA 5).

Ao avaliar a razão GCA/SCA para as características avaliadas, os valores observados variaram entre 0,467 e 0,672, para produtividade de ramas e de raízes totais, respectivamente (TABELA 5). Quando a proporção da razão GCA/SCA é elevada, sugere-se que a ação gênica aditiva desempenha papel mais significativo em comparação com a ação gênica não aditiva (BAKER 1978). Em contrapartida, ao observar razão GCA/SCA menor que 0,5, implica-se que o desempenho da progênie não pode ser predito a partir do desempenho dos parentais (SHUMBUSHA *et al.*, 2019).

Esses resultados corroboram com Shumbusha *et al.* (2019), os quais encontraram valor da razão GCA/SCA abaixo de 0,5 para a produtividade de ramas (0,09), porém com valores superiores para a produtividade total de raízes (0,88). Já Rukundo *et al.* (2017) encontraram valores aproximados aos verificados neste estudo para produtividade de raízes (0,56) e teor de matéria seca de raízes (0,58), porém inferiores para a produtividade de ramas (0,31). Dessa forma, os resultados encontrados sugerem que o componente não aditivo da variância genética, seja de dominância, epistasia ou ambos, tem uma contribuição maior para a variância genética total dessas características. Além disso, a partir dos dados observados, há indicativos de que alta produtividade de ramas das progênies está fortemente associada ao comportamento produtivo dos genitores, enquanto para as demais características há indicativos de controle da herança quantitativa de genes.

Compreender a herança de caracteres é importante para os programas de melhoramento, pois os valores de herdabilidade auxiliam nas tomadas de decisão. Os valores de herdabilidade no sentido restrito (h^2r) para produtividade de raízes totais, porcentagem de raízes comerciais, peso unitário de raízes totais, teor de matéria seca de raízes e produtividade de ramas foram 0,55, 0,32, 0,49, 0,62 e 0,38, respectivamente. Altos valores indicam que maior parte da herança é de origem genética herdável, quanto baixos valores demonstram que o ambiente tem forte influência na variação dos dados. Os valores observados neste estudo foram similares aos reportados por Shumbusha *et al.* (2019), os quais verificaram h^2r de 0,44, 0,09 e 0,49 para

produtividade de raízes totais, produtividade de ramas e teor de matéria seca de raízes, respectivamente. Outros estudos também relataram valores de h^2r de 0,70 para produtividade de raízes totais (MWIJE *et al.*, 2014) e 0,82 para teor de matéria seca de raízes (GRUNEBERG *et al.*, 2009). A estimativa da herdabilidade fornece uma indicação de até que ponto a combinação de dois genitores com alta GCA resultará em resposta favorável à seleção e aos ganhos genéticos (FREEMAN, 2009). Assim, características com alta herdabilidade indicam o quanto da variância genética é atribuído a fatores herdáveis, já que a herdabilidade no sentido restrito relaciona-se especificamente a variância genética aditiva.

De acordo com a estimativa dos cruzamentos preditivos e efetivos, 78 cruzamentos específicos apresentaram efeitos negativos e 13 foram positivos para produtividade de raízes totais (TABELA 6). O cruzamento entre Amélia X UFLA-1257 proporcionou o maior valor para SCA (16,05), seguido de Amélia X Beauregard (13,31) e Beauregard X UFLA-2019-1 (11,49) para produtividade de raízes. Ressalta-se que o cruzamento entre UFLA-464 e Ligeirinha, apresentou valor de SCA negativos (-26,72), apesar de apresentarem alto GCA positivo para produtividade de raízes totais. Vale destacar que a Ligeirinha também participou de cruzamentos com piores aproveitamentos na seleção *inseedling*, assim o uso do genótipo Ligeirinha deve ser considerada com cautela para cruzamentos futuros.

Em relação ao teor de matéria seca de raízes, 80 cruzamentos específicos apresentaram efeito negativo, enquanto apenas 11 proporcionaram efeito positivo (TABELA 6). O cruzamento entre Amélia X UFLA-1257 (34,02) obteve o maior valor para SCA, seguido de Beauregard X Amélia (29,96) e UFLA-1257 X UFLA-2019-1 (17,13). O resultado observado para o cruzamento Amélia X UFLA-1257 contraria o verificado para a GCA da matéria seca de raízes (TABELA 5), visto que ambos são de polpa alaranjada. De acordo com a literatura, genótipos com esta coloração tendem a apresentar polpas com menor teor de matéria seca de raízes (COSTA *et al.*, 2022).

Ao cruzar genótipos de diferentes grupos heteróticos ocorre maior heterose e, assim, tendem a produzir híbridos de alto desempenho em comparação com cruzamentos dentro dos grupos (MACKAY *et al.*, 2021). O genótipo Beauregard foi desenvolvido a partir do germoplasma americano, enquanto o genótipo Amélia origina-se a partir de germoplasma brasileiro. Devido a esse contraste é especulado que isso foi um dos fatores que favoreceram a complementariedade entre esses dois genitores. Assim, favorecendo a produção de genótipos de polpa alaranjada com maior teor de matéria seca de raízes.

Tabela 6 - Valores de capacidade específica de combinação (SCA) para produtividade de raízes totais (t ha⁻¹) (diagonal superior) e teor de matéria seca (diagonal inferior). UFLA. Lavras, Minas Gerais. 2023.

| GEN | UFLA-1257 | UFLA-1432 | UFLA-464 | 7L-2020-1 | UFLA-869 | Beauregard | Braz Roxa | Amélia | Ligeirinha | Melhorada | UFLA-2019-1 | UFVJM-57 | Uruguaiana | VR-13 |
|---------------|--------------|-----------|-------------|-------------|----------|--------------|-------------|--------------|-------------|-------------|--------------|-------------|-------------|-------------|
| GEN-1 | | -9,68 | -12,62 | -0,82 | -6,08 | -2,10 | -4,78 | 16,05 | -13,77 | -11,73 | 11,10 | -10,06 | -12,65 | -9,82 |
| GEN-2 | -20,95 | | -6,36 | -10,84 | -3,45 | -12,12 | 2,66 | -9,47 | -7,73 | -10,34 | -15,48 | -20,09 | 2,74 | -2,82 |
| GEN-3 | -27,29 | -14,15 | | 2,33 | -2,40 | -15,06 | -1,08 | -12,40 | -26,73 | -9,32 | -18,42 | -7,11 | -3,08 | 0,09 |
| GEN-4 | -3,51 | -23,88 | 2,69 | | -7,24 | -3,26 | -5,94 | -0,61 | -3,47 | -12,89 | -6,62 | 4,73 | -13,81 | -10,97 |
| GEN-5 | -17,65 | -8,34 | -9,01 | -20,57 | | -8,53 | -11,21 | -5,87 | -7,75 | -18,16 | -11,89 | -1,86 | -3,12 | -1,47 |
| GEN-6 | -2,70 | -23,07 | -29,41 | -5,63 | -19,77 | | -7,23 | 13,32 | 1,75 | -14,17 | 11,49 | -12,51 | -15,09 | -12,23 |
| GEN-7 | -14,46 | -0,44 | -5,73 | -17,39 | -31,52 | -16,58 | | -4,58 | -6,19 | 0,28 | -10,60 | -0,87 | -17,78 | -14,94 |
| GEN-8 | 34,02 | -21,45 | -27,79 | -4,01 | -18,15 | 29,96 | -14,96 | | -13,56 | -11,52 | -5,28 | -9,85 | -12,44 | -9,60 |
| GEN-9 | -26,64 | -17,56 | -53,35 | 0,03 | -12,11 | 1,49 | -7,32 | -27,14 | | -25,84 | 0,55 | -7,19 | -9,56 | -6,35 |
| GEN-10 | -18,27 | -3,95 | -13,92 | -21,20 | -35,33 | -20,39 | 2,65 | -18,77 | -44,33 | | 2,67 | -3,34 | -7,34 | -3,90 |
| GEN-11 | 27,32 | -25,99 | -32,33 | -8,56 | -22,69 | 20,84 | -19,51 | -6,13 | -6,44 | 4,16 | | -15,87 | -18,46 | -15,64 |
| GEN-12 | -22,62 | -42,99 | -10,77 | 5,77 | -6,96 | -24,74 | 1,13 | -23,12 | -14,78 | -11,6 | -27,67 | | -4,12 | -20,22 |
| GEN-13 | -21,22 | -9,73 | -17,00 | -24,15 | -2,13 | -23,34 | -35,1 | -21,72 | -15,82 | -8,37 | -26,27 | -6,82 | | -5,98 |
| GEN-14 | -18,59 | -3,19 | -6,14 | -21,51 | -1,42 | -20,7 | -32,46 | -19,08 | -9,19 | -6,12 | -23,63 | -40,62 | -1,74 | |

GEN-1 = UFLA-1257; GEN-2 = UFLA-1432; GEN-3 = UFLA-464; GEN-4 = 7L-2020-1; GEN-5 = UFLA-869; GEN-6 = Beauregard; GEN-7 = Brazlândia Roxa; GEN-8 = Amélia; GEN-9 = Ligeirinha; GEN-10 = Melhorada; GEN-11 = UFLA-2019-1; GEN-12 = UFVJM-57; GEN-13 = Uruguaiana; GEN-14 = VR-13. valores sublinhados e em negrito são efeitos positivos

Fonte: Do autor (2023).

Para a produtividade de ramas, 76 cruzamentos específicos apresentaram efeitos negativos e 15 foram positivos (TABELA 7). O cruzamento entre Amélia X UFLA-1257 novamente proporcionou o maior valor para SCA (21,09), seguido de Beauregard X Amélia (19,71) e UFLA-2019-1 X UFLA-1257 (16,22). Portanto, se a intenção for aumentar a produtividade de ramas, os resultados sugerem que esses genitores, em particular os cruzamentos mencionados, seriam escolhas recomendadas. Novamente, parentais de polpa alaranjada predominaram entre os maiores valores para capacidade específicas de combinação.

Em relação ao peso unitário de raízes totais, 58 cruzamentos específicos apresentaram efeito negativo e 33 foram positivos (TABELA 7). O cruzamento entre Beauregard X UFLA-2019-1 proporcionou o maior valor para SCA (133,02), seguido de Beauregard X Ligeirinha (83,68) e Amélia X UFLA-1257 (93,07). Os piores cruzamentos foram realizados entre UFLA-464 X Ligeirinha (-126,75) e Ligeirinha X Melhorada (-109,83). O aumento do peso unitário desempenha um papel crucial na minimização do desperdício de raízes de menor tamanho. Isso ocorre porque as plantas alocam recursos para iniciar o processo de tuberização. No entanto, ao longo do ciclo produtivo das plantas, essas raízes muitas vezes não atingem o tamanho comercialmente viável. Dessa forma, é evidente que os cruzamentos que promovem o aumento no peso individual das raízes otimizam a eficiência metabólica das plantas, o que contribui para a produção de raízes que atendem aos padrões comerciais desejados.

Os dados apresentados indicam que a heterose não é exclusivamente resultado de cruzamentos entre genitores de alta GCA positiva, mas também pode ocorrer através de combinações que envolvem genitores com efeitos de GCA negativos. Este fato também foi relatado por outros autores em pesquisas com batata-doce, como: Chiona (2009) ao analisarem o teor de β -caroteno, Shumbusha *et al.* (2014) ao avaliarem o teor de matéria seca das raízes tuberosas, Kivuva *et al.* (2015) ao investigarem a produtividade de raízes totais em condições de seca, e Gurmu *et al.* (2018) ao avaliarem a produtividade de raízes totais e o teor de matéria seca de raízes

Esses estudos coletivos reforçam a ideia de que a heterose não está restrita a cruzamentos entre genitores com GCA positivo, podendo surgir de maneiras complexas e envolvendo diferentes interações genéticas. Dessa forma, a escolha de genitores e combinações genéticas adequadas, levando em consideração uma variedade de fatores, é fundamental para a obtenção de progênies superiores em termos de características desejáveis na batata-doce.

A interpretação completa desses resultados exige consideração cuidadosa dos genitores usados nos cruzamentos, das condições de cultivo, do ambiente experimental e dos objetivos

de melhoramento genético. Embora os valores de SCA sejam indicativos da influência da combinação genética nas características avaliadas, eles não fornecem informações sobre a complexidade genética subjacente.

Tabela 7 - Valores de capacidade específica de combinação para produtividade de ramas (superior) e peso unitário de raízes totais (inferior), valores sublinhados e em negrito. UFLA. Lavras, Minas Gerais. 2023.

| GEN | UFLA-1257 | UFLA-1432 | UFLA-464 | 7L-2020-1 | UFLA-869 | Beauregard | Brazlândia Roxa | Amélia | Ligeirinha | Melhorada | UFLA-2019-1 | UFVJM-57 | Uruguaiana | VR-13 |
|---------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|----------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|--------------------|---------------------|---------------------|
| <u>GEN-1</u> | | -10.61 | -23.13 | <u>0.28</u> | -12.11 | -0.87 | -17.17 | <u>21.09</u> | -16.00 | -9.49 | <u>16.22</u> | -10.93 | -9.71 | -11.75 |
| <u>GEN-2</u> | -52.96 | | -5.78 | -9.67 | -5.07 | -10.83 | -11.76 | -10.50 | -12.90 | -10.71 | -15.73 | -20.89 | -4.81 | -2.64 |
| <u>GEN-3</u> | -57.18 | <u>12.84</u> | | -3.79 | -8.58 | -23.35 | -14.92 | -23.02 | -38.47 | -14.60 | -28.25 | -17.55 | -12.64 | <u>10.17</u> |
| <u>GEN-4</u> | <u>6.40</u> | -63.66 | <u>78.56</u> | | -11.17 | <u>0.06</u> | -16.23 | <u>0.39</u> | -4.55 | -8.55 | -4.84 | <u>7.42</u> | -8.78 | -10.82 |
| <u>GEN-5</u> | -11.89 | -12.75 | -12.33 | -22.59 | | -12.33 | -28.62 | -12 | -12.38 | -20.94 | -17.23 | <u>4.06</u> | <u>0.01</u> | -8.00 |
| <u>GEN-6</u> | -0.49 | -70.55 | -74.76 | -11.19 | -29.48 | | -17.39 | <u>19.71</u> | <u>1.61</u> | -9.71 | <u>12.2</u> | -11.15 | -9.93 | -11.97 |
| <u>GEN-7</u> | -10.88 | <u>63.87</u> | <u>61.75</u> | -21.58 | -39.87 | -28.47 | | -17.07 | -11.41 | <u>1.66</u> | -22.30 | -9.69 | -26.23 | -28.27 |
| <u>GEN-8</u> | <u>93.07</u> | -52.47 | -56.69 | <u>6.89</u> | -11.41 | <u>74.53</u> | -10.39 | | -15.90 | -9.38 | -5.67 | -10.83 | -9.61 | -11.65 |
| <u>GEN-9</u> | -52.48 | <u>25.76</u> | -126.75 | <u>4.18</u> | -3.12 | <u>83.68</u> | -5.53 | -51.99 | | -24.84 | <u>6.31</u> | -9.92 | -3.27 | -4.90 |
| <u>GEN-10</u> | -40.26 | <u>28.65</u> | <u>42.01</u> | -50.96 | -69.25 | -57.85 | -6.77 | -39.77 | -109.83 | | <u>2.42</u> | -7.57 | -4.66 | -5.90 |
| <u>GEN-11</u> | <u>77.95</u> | -72.85 | -77.07 | -13.49 | -31.78 | <u>133.02</u> | -30.77 | -2.30 | <u>11.35</u> | <u>18.88</u> | | -16.06 | -14.84 | -16.88 |
| <u>GEN-12</u> | -12.45 | -82.51 | -14.04 | <u>50.55</u> | <u>35.20</u> | -30.04 | <u>31.06</u> | -11.96 | -5.35 | <u>14.2</u> | -32.34 | | -2.65 | -22.03 |
| <u>GEN-13</u> | -42.82 | <u>47.65</u> | <u>27.56</u> | -53.52 | <u>7.50</u> | -60.41 | -70.79 | -42.33 | <u>35.06</u> | <u>49.18</u> | -62.71 | <u>0.45</u> | | -8.68 |
| <u>GEN-14</u> | -45.63 | <u>39.56</u> | <u>46.62</u> | -56.33 | <u>67.62</u> | -63.22 | -73.61 | -45.14 | <u>34.59</u> | <u>49.13</u> | -65.52 | -75.18 | <u>40.44</u> | |

GEN-1 = UFLA-1257; GEN-2 = UFLA-1432; GEN-3 = UFLA-464; GEN-4 = 7L-2020-1; GEN-5 = UFLA-869; GEN-6 = Beauregard; GEN-7 = Brazlândia Roxa; GEN-8 = Amélia; GEN-9 = Ligeirinha; GEN-10 = Melhorada; GEN-11 = UFLA-2019-1; GEN-12 = UFVJM-57; GEN-13 = Uruguaiana; GEN-14 = VR-13; valores sublinhados e em negrito são efeitos positivos.

Fonte: Do autor (2023).

4 CONCLUSÃO

De acordo com os valores de GCA, os genótipos Uruguaiana e Ligeirinha são os melhores parentais para obtenção de maiores produtividades de raízes totais. Já Ligeirinha e Melhorada são os melhores parentais para porcentagem de raízes comerciais. Para produtividade de ramas, os parentais Brazlândia Roxa e UFLA464 são os mais promissores. Já para o peso unitário das raízes totais, Ligeirinha e UFLA-1257 são os melhores parentais. Enquanto os genótipos UFLA-464 e Ligeirinha são os melhores genitores para o teor de matéria seca

Ao considerar a SCA, o cruzamento mais indicado para obter resultados positivos em todas as características consideradas é entre Amélia com UFLA-1257. Para produtividade de raízes totais, Amélia X UFLA-1257 e Amélia X Beauregard mostraram desempenho promissor. Em relação ao teor de matéria seca de raízes, os cruzamentos entre Amélia X UFLA-1257 e Beauregard X Amélia tiveram bom desempenho. No que diz respeito à produtividade de ramas, Amélia X UFLA-1257 e Beauregard X Amélia também se destacaram. As progênies selecionadas são recursos genéticos úteis para o desenvolvimento de cultivares melhoradas de batata-doce. Por fim, ao considerar o peso unitário de raízes Beauregard X UFLA-2019-1 e de Beauregard X Ligeirinha são os melhores cruzamentos.

Com base nas observações, nota-se que o desempenho dos descendentes de batata-doce nem sempre reflete a qualidade dos genitores selecionados. Portanto, é aconselhável adotar uma abordagem cautelosa ao escolher os parentais para garantir resultados desejáveis.

REFERÊNCIAS

- AKINWALE, R. O.; BADU-APRAKU, B.; FAKOREDE, M. A. B.; VROH-BI, I. Heterotic grouping of tropical early-maturing maize inbred lines based on combining ability in Striga-infested and Striga-free environments and the use of SSR markers for genotyping. **Field Crops Research**, v. 156, p. 48-62, 2014.
- ANDRADE JUNIOR, V. C.; ELSAYED, A. Y. A. M.; AZEVEDO, A. M.; SANTOS, E. A. S.; FERREIRA, M. A. M. Potencial quantitativo e qualitativo de genótipos batata-doce. **Scientia Agraria**, v. 19, n. 1, 2018.
- BAKER, R. J. Issues in diallel analysis. **Crop Science**, v. 18, n. 4, p. 533-536, 1978.
- BORÉM, A.; MIRANDA, G. V.; FRITSCHÉ-NETO, R. **Melhoramento de plantas**. 7. Ed. Viçosa: UFV, 2017. 543 p.
- BRITO, O. G.; ANDRADE JÚNIOR, V. C.; LOPES, T. K.; SILVA, J. C. D. O.; FIRME, T. D.; SILVA, E. A.; AZEVEDO, S. M. D. Flowering capacity and botanical seed production of sweet potato genotypes. **Horticultura Brasileira**, v. 39, p. 369-375, 2021.
- CAREY, E. E.; REYNOSO, D. **Procedures for the Evaluation of Pathogen Tested Sweetpotato Clones**: Sweetpotato Germplasm Management Training Manual. Lima, Peru: CIP, 1996.
- CHIONA, M. **Towards enhancement of b-carotene content of high dry mass sweetpotato genotypes in Zambia**. PhD Doctor of Philosophy in Plant Breeding, University of KwaZulu-Natal, Pietermaritzburg, South Africa, 2009.
- COSTA, A. L.; ANDRADE JÚNIOR, V. C.; GAMA, A.; SILVA, E. A.; BRITO, O. G.; OLIVERIA, J. C.; BUENO FILHO, J. S. S. Selection of superior sweet potato genotypes for human consumption via mixed models. **Bragantia**. v. 81, 2022.
- COSTA, A. L.; ANDRADE JÚNIOR, V. C.; GAMA, A.; DA SILVA, E. A.; BRITO, O. G.; OLIVERIA, J. C.; BUENO FILHO, J. S. S. Selection of superior sweet potato genotypes for human consumption via mixed models. **Bragantia**. v. 81, 2022.
- EMBRAPA HORTALIÇAS. **Como plantar batata-doce**. Brasília, 2021. EMBRAPA, Disponível em: <https://www.embrapa.br/en/hortalicas/como-plantar-batata-doce>. Acesso em 01 ago. 2023.
- FASAHAT, P.; RAJABI, A.; RAD, J. M.; DERERA, J. J. B. B. I. J. Principles and utilization of combining ability in plant breeding. **Biometrics & Biostatistics International Journal**, v. 4, n. 1, p. 1-24, 2016.
- FEDERER, W. T. **Augmented (or hoonuiaku) Designs**. Biometrics Unit. Cornell Univ. Mimeo. BU-74-M, 1956.
- FEHR, W. R. **Principles of Cultivar Development**: Theory and Technique. Macmillian Publishing Company, London, 1991. 550 p.

FREEMAN W. H. **DNA: The Chemical Nature of The Gene**. 3 ed. New York: Macmillan, 2009.

GRÜNEBERG, W. J.; DIAZ, F.; EYZAGUIRRE, J. R.; ESPINOZA, G.; FELDE, T. B. Z.; ANDRADE, M.; MWANGA, R. Heritability estimates for an Accelerated Breeding Scheme (ABS) in clonally propagated crops—using sweetpotato as a model. Paper presented at the 15th **Triennial Symposium of the International Society for Tropical Root Crops (ISTRC)**, 2009, Lima, Peru.

GURMU, F.; HUSSEIN, S.; LAING, M. Combining ability, heterosis, and heritability of storage root dry matter, beta-carotene, and yield-related traits in sweetpotato. **HortScience**, v. 53, n. 2, p. 167-175, 2018.

GRIFFING, B. Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems. **Australian Journal of Biology and Science**, v. 9, p. 463-493, 1956.

HALLAUER, A. R.; CARENA, M. J.; MIRANDA FILHO, J. D. **Quantitative Genetics in Maize Breeding**. [S.l.], Springer, 2010. 500 p.

KIVUVA, B. M.; STEPHEN, M. G.; CRAIG, Y.; J. SYBIA. Combining ability and heterosis for yield and drought tolerance traits under managed drought stress in sweetpotato. **Euphytica**, v. 201, n. 3, p. 423-440, 2015.

MAKANDA, I.; TONGOONA, P.; DERERA, J.; SIBIYA, J.; FATO, P. Combining ability and cultivar superiority of sorghum germplasm for grain yield across tropical low-and mid-altitude environments. **Field Crops Research**, v. 116, n. 1-2, p. 75-85, 2010.

MACKAY, I. J.; COCKRAM, J.; HOWELL, P.; POWELL, W. Understanding the classics: the unifying concepts of transgressive segregation, inbreeding depression and heterosis and their central relevance for crop breeding. **Plant Biotechnology Journal**, v. 19, n. 1, p. 26-34, 2021.

MOURTALA, I. Z. M.; OSELEBE, H. O.; BAINA, D. J.; INNOCENT, I. M.N.; HOUDEGBE, A. C.; OUMAROU, S.; MOUSSA, B. Selection of new sweetpotato hybrids for West Africa using accelerated breeding scheme and genotype× environment interaction under drought stress. **Scientific Reports**, v. 13, n. 1, 2023.

MUGISA, I.; KARUNGI, J.; MUSANA, P.; ODAMA, R.; ALAJO, A.; CHELANGAT, D. M.; YADA, B. Combining ability and heritability analysis of sweetpotato weevil resistance, root yield, and dry matter content in sweetpotato. **Frontiers in Plant Science**, v. 13, 2022.

MWANGA, R. O. M.; YENCHO, G. C.; MOYER, J. W. Diallel analysis of sweetpotatoes for resistance to sweetpotato virus disease. **Euphytica**, v. 128, p. 237-248, 2002.

MWIJE, A.; MUKASA, S.; GIBSON, P.; KYAMANYWA, S. Heritability analysis of putative drought adaptation traits in sweetpotato. **African Crop Science Journal**, v. 22, p. 79-87, 2014.

- NEATH, A. A.; CAVANAUGH, J. E. The Bayesian information criterion: background derivation and applications. **Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Statistics**, v. 4, n. 2, p. 199-203, 2012.
- NGAILO, S.; SHIMELIS, H.; SIBIYA, J.; MTUNDA, K.; MASHILO, J. Combining ability and heterosis of selected sweetpotato (*Ipomoea batatas* L.) clones for storage root yield, yield-related traits and resistance to sweetpotato virus disease. **Euphytica**, v. 215, n. 87, 2019.
- OLIVEIRA, G. H.; BUZINARO, R.; REVOLTI, L.; GIORGENON, C. H.; CHARNAI, K.; RESENDE, D.; MORO, G. V. An accurate prediction of maize crosses using diallel analysis and best linear unbiased predictor (BLUP). **Chilean Journal of Agricultural Research**, v. 76, n. 3, p. 294-299, 2016.
- PIEPHO, H. P.; MÖHRING, J.; MELCHINGER, A. E.; BÜCHSE, A. BLUP for phenotypic selection in plant breeding and variety testing. **Euphytica**, v. 161, n. 1-2, p. 209-228, 2008.
- ROBERTSEN, C. D.; HJORTSHØJ, R. L.; JANSS, L. L. Genomic selection in cereal breeding. **Agronomy**, v. 9, n. 2, 2019.
- RAMALHO, M. A. P.; ABREU, A. F. B.; SANTOS, J. D.; NUNES, J. A. R. **Aplicações da genética quantitativa no melhoramento de plantas autógamas**. Lavras: UFLA, 2012.
- RESENDE, R. T.; PIEPHO, H. P.; ROSA, G. J.; SILVA-JUNIOR, O. B.; e SILVA, F. F.; de RESENDE, M. D. V.; GRATTAPAGLIA, D. Enviromics in breeding: applications and perspectives on envirotypic-assisted selection. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 134, p. 95-112, 2021.
- R CORE TEAM**. R: A language and environment for statistical computing. 2002. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing. Disponível em: <https://www.R-project.org/>. Acesso em: 07 jun. 2023.
- RIBEIRO, A. C.; GUIMARÃES, P. T. G. ALVAREZ V.; V. H. **Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais 5ª Aproximação**. Viçosa: Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais, 1999.
- RUKUNDO, P.; SHIMELIS, H.; LAING, M.; GAHAKWA, D. Combining ability, maternal effects, and heritability of drought tolerance, yield and yield components in sweetpotato. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, n. 1981, 2017.
- SANTANA, P. N. D.; REIS, A. J. D. S.; CHAVES, L. J. Combining ability of sugarcane genotypes based on the selection rates of single cross families. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 17, p. 47-53, 2017.
- SCHAEFFER, L. R. **Animal models**. [S.l.]: Volumes Direct. 2019, 381 p.
- SHUMBUSHA, D.; SHIMELIS, H.; LAING, M. RUKUNDO, P. Gene action and heritability of yield components of dual-purpose sweetpotato clones. **Euphytica**, v. 215, n. 122, 2019.

SHUMBUSHA, D.; TUSIIME, G.; EDEMA, R.; GIBSON, P.; ADIPALA, E.; MWANGA, R. O. M. Inheritance of root dry matter content in sweetpotato. **African Crop Science Journal**, v. 22, n. 1, 69-78, 2014.

SILVA, J. C. O.; ANDRADE JÚNIOR, V. C.; BUENO FILHO, J. S. S.; BRITO, O. G.; LOPES, T. C.; PEREIRA, A. G.; ZAQUEU, A. S.; TAULA, A. J. V.; FIRME, T. D. Mixed model-based indices for selection of sweet potato genotypes for different agronomic aptitudes. **Euphytica**, v. 218, n. 86, 2022.

SILVA, J. R.; FERNANDES, A. C. G.; VALADARES, N. R.; ALVES, R. A.; FARIA, S. E. S.; RODRIGUES, C. H.; AZEVEDO, A. M. Flowering, production and seed quality in sweet potato clones cultivated under staking. **Horticultura Brasileira**, v. 41, 2023.

SSERUWU, G. **Breeding of sweetpotato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) for storage root yield and resistance to *Alternaria* leaf petiole and Stem blight (*Alternaria spp.*) in Uganda**. 215 p. Thesis (Doctor of Philosophy) - University of KwaZulu-Natal, África, 2012.

TAIRO, F.; MNENEY, E.; KULLAYA, A. Morphological and agronomical characterization of sweetpotato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) germplasm collection from Tanzania. **African Journal of Plant Science**, v. 2, p. 77-85, 2008.

ZENG, L.; PETTIGREW, W. T. Combining ability, heritability, and genotypic correlations for lint yield and fiber quality of upland cotton in delayed planting. **Field Crops Research**, v. 171, p. 176-183, 2015.

ARTIGO 2 COMPARISONS OF METHYLATION PROFILE OF SWEETPOTATO GENOTYPES MAINTAINED IN TISSUE CULTURE AND GREENHOUSE INDICATE DIVERGENT PATTERNS OF EPIGENETIC VARIATION

ABSTRACT

Sweetpotato cultivation is an important agricultural activity. Commercial planting is carried out exclusively by vegetative parts of the plant, such as the vines. Virus-free sweetpotato seedlings can be obtained by tissue culture. However, micropropagation through meristem culture may lead to the accumulation of undesired somaclonal variation. Studies have shown that tissue culture can induce changes in DNA methylation patterns, affecting gene expression and phenotypic traits. The aim of this study was to compare the DNA methylation patterns of plants of two sweetpotato varieties maintained in the greenhouse versus those maintained in tissue culture using methylation-sensitive amplification polymorphism (MSAP) analysis. The experiment was carried out at the Louisiana State University Agricultural Center, USA. A total of thirty-six accessions of two varieties, Covington and Murasaki, maintained *in vivo* and *in vitro* were evaluated. The MSAP was performed to investigate the level of epigenetic variation. Then Analysis of Molecular Variance was computed between the greenhouse-maintained and tissue culture plants. The research findings revealed that the methylation profiles of sweetpotato plants can be influenced by both tissue culture and greenhouse conditions, and also it can be influenced by the genotype. However, the notable distinction was that tissue culture consistently demonstrated a specific pattern of methylation changes, whereas greenhouse conditions led to more variability in the methylation patterns among the plants.

Keywords: MSAP. DNA methylation. *MspI*. *HpaII*. Hemimethylated site.

RESUMO

O cultivo de batata-doce é uma importante atividade agrícola. O plantio comercial é realizado exclusivamente pelas partes vegetativas da planta, como as ramas. Mudanças de batata-doce livres de vírus podem ser obtidas por cultura de tecidos. No entanto, a micropropagação através da cultura de meristema pode levar ao acúmulo de variação somaclonal indesejada. Estudos têm demonstrado que a cultura de tecidos pode induzir alterações nos padrões de metilação do DNA, afetando a expressão gênica e as características fenotípicas. O objetivo deste estudo foi comparar os padrões de metilação do DNA de plantas de duas cultivares de batata-doce mantidas em casa de vegetação, comparadas com cultura de tecidos usando análise de polimorfismo de amplificação sensível à metilação (MSAP). O experimento foi realizado no *Louisiana State University Agricultural Center*, EUA. Foram avaliadas um total de trinta e seis acessos de duas cultivares, Covington e Murasaki, mantidas *in vivo* e *in vitro*. A MSAP foi realizada para investigar o nível de variação epigenética. Em seguida, a Análise de Variância Molecular foi calculada entre as plantas mantidas em casa de vegetação e as plantas de cultura de tecidos. Os resultados da pesquisa revelaram que os perfis de metilação das plantas de batata-doce podem ser influenciados tanto pela cultura de tecidos quanto pelas condições de casa de vegetação, e também podem ser influenciados pelo genótipo. No entanto, a distinção notável foi que a cultura de tecidos demonstrou consistentemente um padrão específico de mudanças

de metilação, enquanto as condições de casa de vegetação levaram a uma maior variabilidade nos padrões de metilação entre as plantas.

Palavras-chave: MSAP. metilação do DNA. *MspI*, *HpaII*. Sítio hemimetilado.

1 INTRODUCTION

Sweetpotato (*Ipomoea batatas* L.) is an important food crop that is widely cultivated in many parts of the world. It is an excellent source of carbohydrates, vitamins, and minerals, and it can be grown in a range of environments, making it a valuable crop for smallholder farmers in developing countries (COSTA *et al.*, 2022). Furthermore, leaves also have high nutritional value and can be used for human consumption (KHIDI, 2016).

The plant can be propagated sexually, by true seeds, or asexually, by vines or tuber roots. Sexual propagation, in general, would be advantageous because it facilitates planting and reduces the probability of the occurrence of pests and diseases. However, the use of seeds in the cultivation of sweetpotato has some disadvantages, such as high genetic variability, physical dormancy and low seed production by plants, which limit their use only for breeding programs (BRITO *et al.*, 2021).

Commercial planting is carried out exclusively by vegetative parts of the plant, with emphasis on the vines. However, some precautions must be taken, because it can allow the spreading of pathogens when healthy vines or roots are not used (DONATI *et al.*, 2020). Among the main pathogens propagated by vegetative parts are viruses. Based on the observation that the tip of the sweetpotato vine often has little or no virus (CLARK *et al.*, 2012; WANG *et al.*, 2018; SHI *et al.*, 2019), virus-free sweetpotato seedlings can be obtained by tissue culture and multiplied in greenhouses. Furthermore, the use of tissue culture can contribute to the maintenance of high-performance genotypes, especially those with little propagating material available and germplasm conservation (NEELAKANDAN; WANG, 2012; BUTT *et al.*, 2015).

Clonal cleaning is necessary sporadically to avoid significant drops in productivity resulting from viral infections. Consequently, the successful cultivation of sweetpotatoes relies on an *in vitro* stage, as this process frequently encounters somaclonal variations. While meristem micropropagation can guarantee the generation of virus-free propagules, it may also lead to the accumulation of somaclonal variation, which can generate unwanted aberrant phenotypes (AKOMEAH *et al.*, 2019). These variations are related to changes that can be

induced during *in vitro* tissue culture and have been reported from many studies (ADUGYAMFI; WETTEN; LÓPEZ, 2016; CORONEL *et al.*, 2018; AKOMEAH *et al.*, 2019; ORŁOWSKA; BEDNAREK 2020). Such changes can be genetic and/or epigenetic in nature. Epigenetic modifications such as DNA methylation can affect the expression of genes and potentially alter the phenotype of plants (LÓPEZ; WILKINSON, 2015).

Studies have shown that tissue culture can lead to changes in DNA methylation patterns in plants, which can result in altered gene expression and phenotypic changes (MERCE *et al.*, 2020; LEE *et al.*, 2021; GHOSH; IGAMBERDIEV; DEBNATH, 2021; WANG *et al.*, 2022). Research conducted by Jaligot *et al.* (2011) with on oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.), found that tissue culture led to changes in the methylation pattern of genes involved in fatty acid metabolism, resulting in altered oil quality and quantity. In another study, tissue culture-induced DNA methylation changes in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) were found to be associated with a *colorless non-ripening* variant of tomato (MANNING *et al.*, 2006). Akomeah *et al.* (2019) evaluating the methylation pattern between sweetpotato maintained in the field and tissue culture identified that the plants did not present observable morphological abnormalities between them but showed variation in nutritional compounds. Nonetheless, a detailed analysis utilizing methylation-sensitive amplification polymorphism (MSAP) indicated substantial molecular differences between the two-cultivation system.

In this context, epigenetic modifications such as DNA methylation can affect the expression of genes and potentially alter the phenotype of plants (LÓPEZ; WILKINSON, 2015). Epigenetics refers to the study of heritable changes in gene expression that do not involve changes to the underlying DNA sequence (ASHE *et al.*, 2021). Thus, the methylation-sensitive amplification polymorphism (MSAP) is a technique that uses methylation-sensitive restriction enzymes to differentiate between methylated and unmethylated DNA regions (FULNECEK; KOVARIK, 2014). The evaluation of the methylation profile of sweetpotato plants can provide valuable information about the epigenetic modifications that potentially occur under different environmental conditions.

Thus, comparing the methylation profiles of plants produced and maintained in tissue culture, and then transferred and kept in greenhouses can help researchers understand the impact of the environment on the epigenome of sweetpotato plants. Therefore, the objective of the present study was to compare the DNA methylation patterns of two sweetpotato varieties maintained in the greenhouse with those maintained in tissue culture using MSAP analysis.

2 MATERIAL AND METHODS

2.1 Experiment installation

The experiment was carried out at Louisiana State University Agricultural Center (LSU AgCenter), LA, USA. Two contrasting varieties regarding flesh color, Covington and Murasaki, maintained *in vivo* and *in vitro* were tested, of which six access were evaluated: COV-05M, had been maintained *in vitro* since 2003, and in August 2021 it was transferred to 4.54 liters pots in the greenhouse; The COV-0492 has been maintained *in vitro* and subsequently maintained *in vivo*; Murasaki-0454, Murasaki-0486 and Murasaki-0491 have been maintained in tissue culture and greenhouse simultaneously. Since Murasaki-0486 had identified the abnormal phenotype in California sweetpotato field, it has been maintained on tissue culture. Murasaki-CA has been kept in the greenhouse as the mother plant. The tissue culture plants were kept in boxes (65x65x105mm) with 60 ml of Murashige and Skoog (MS) medium as the basal medium without plant growth regulators (MURASHIGE; SKOOG, 1962) and 12h of photoperiod. The tissue culture plant were renewed every six months. In greenhouse, the plants were kept in 4.54 liters pots prepared with 2:1:1, of soil, sand and potting mix (Miracle-Gro), and renewed every six months. The greenhouse was set up at 25°C, with periodic irrigation whenever necessary.

Covington, a North Carolina-developed variety, exhibit the rosy hue skin and the flesh a vibrant orange shade. Murasaki, originating in Louisiana exhibit the purple skin and creamy white flesh. Notably, Murasaki possess an exceptionally starchy texture, accompanied by a notably higher dry matter content.

2.2 Collection of leaf samples and DNA extraction

Leaf tissues were collected from 36 independent plants (13 micropropagated, 23 greenhouse-maintained) and kept in an ice box until stored in a -80 °C freezer. Total genomic DNA was extracted from 100 mg of the frozen leaves using the CTAB standard protocol (KHAN *et al.*, 2013). The DNA quality was checked by electrophoresis on 1 % agarose gel and DNA quantification was performed using a NanoDrop® ND-1000 spectrophotometer. The DNA was calibrated to a concentration of 300 ng μL^{-1} and stored at -20 °C until further use.

2.3 PCR conditions

The PCR (Polymerase Chain Reaction) protocol described in detail is as follows: Initial Denaturation at 72°C (5 minutes); Thermal Cycling Cycles (32 times): Denaturation at 94°C (1 minute); Annealing at 56°C (1.5 minutes); Extension at 72°C (1.5 minutes). Final Extension at 72°C (5 minutes). Finally, the reaction is held at a temperature of 60°C for a duration of 15 minutes, or alternatively, at 4°C. This "hold" step enables the completion of DNA amplification and also serves to prevent any undesired reactions that might occur with an increase in temperature.

2.4 Methylation sensitive amplification polymorphism profiling

DNA from each genotype was used to conduct the comparative analysis of methylation patterns by MSAP analysis. The DNA samples were subjected to an enzymatic double cut (37 °C for 4 h) involving methylation-insensitive *MspI/HpaII* capable of recognizing exclusively the CpG, CHH, and CHG regions in combination with a methylation-sensitive enzyme (*EcoRI*). Restricted DNA was ligated to the adapters followed by PCR reactions using specific primer combinations (TABLE 1) as described earlier (BAISAKH; SUBUDHI; PARAMI, 2006). Then, 6% polyacrylamide gels (PAGE) were used to resolve the PCR products.

Table 1 - MSAP primers and adapters used in this study.

| Primers/Adapters | | Sequence (5`-3`) |
|--|-------------|---|
| <i>EcoR1</i> adapter | | CTCGTAGACTGCGTAC C AATTGGTACGCGTC |
| Primer E (<i>EcoR1</i> Primer) | | GACTGCGTACCAATTC |
| Primer E +3 (<i>EcoR1</i> Selective primers) | Primer E1 | Primer E-AAG |
| | Primer E2 | Primer E-ACC |
| | Primer E3 | Primer E-AGA |
| | Primer E4 | Primer E-AGG |
| | Primer E5 | Primer E-CCC |
| <i>HpaII/MspI</i> adapter | | GACGATGAGTCTCGAT CGATCGAGACTCAT |
| Primer HM (<i>HpaII/MspI</i> primer) | | ATGAGTCTCGATCGG |
| Primer HM +3 (<i>HpaII/MspI</i> selective primer) | Primer HM1 | Primer HM-AAA |
| | Primer HM2 | Primer HM-AAC |
| | Primer HM3 | Primer HM-AAC |
| | Primer HM4 | Primer HM-AAG |
| | Primer HM5 | Primer HM-AAT |
| | Primer HM6 | Primer HM-ACA |
| | Primer HM7 | Primer HM-ACT |
| | Primer HM8 | Primer HM-AGA |
| | Primer HM9 | Primer HM-AGC |
| | Primer HM10 | Primer HM-AGG |
| | Primer HM11 | Primer HM-AGT |
| | Primer HM12 | Primer HM-ATA |
| | Primer HM13 | Primer HM-ATC |
| | Primer HM14 | Primer HM-ATT |
| | Primer HM15 | Primer HM-CAA |
| | Primer HM16 | Primer HM-CAC |

Source: From author (2023).

2.5 Profiling scoring gel

The scoring of the gels was done by viewing the photos of the gels in an Excel spreadsheet and thus an incidence matrix was created. DNA bands representing amplifications from different samples were scored as present (1) and absent (0) and a binary character matrix was created to indicate the presence of each locus for MSAP analysis. The DNA bands were analyzed for both *EcoR I/Hpa II* and *EcoR I/Msp I*. Bands that appeared for both enzymes were considered non-methylated (Type I), whereas bands that appeared only in the *EcoR I/ Hpa II*

combination were considered methylated (Type II), and bands that appeared only in the EcoR I/ Msp I combination were also considered methylated (Type III). Bands that were absent in both lanes were classified as Type IV (fully methylated). The absence of bands in both the Msp I and Hpa II rows can be due to hyper-methylation. Then, the percentage of methylation was calculated (EQUATION 1).

$$\text{methylation (\%)} = \frac{\text{Number of methylated bands}}{\text{Number of total bands analyzed}} \times 100 \quad (1)$$

2.6 Statistical analysis

The programs GenAIEx v6.5 (PEAKALL; SMOUSE, 2012) and the R package msap v.3.3.1 (PEREZ-FIGUEROA, 2013) were used to investigate the level of epigenetic variation by analyzing both types of variability between greenhouse-maintained and tissue culture plants for each of the 36 test plants. The Principal Coordinate Analysis (PCoA) was performed in GenAIEx v.6.5 to visualize the molecular diversity captured by MSAP profiles generated from each primer (E and I) and enzyme combination (HpaII/EcoRI and MspI/EcoRI) individually. Then, Analysis of Molecular Variance (AMOVA) was computed on GenAIEx v.6.5 to estimate pairwise molecular distances (PhiPT) between the greenhouse-maintained and tissue culture plants.

The significance of the observed PhiPT values was determined through random permutation tests (999 permutations). To understand the extent to which changes in MSAP profiles were due to genetic (DNA sequence changes) or epigenetic (DNA methylation pattern changes) factors, the MSAP profiles generated using HpaII/EcoRI and MspI/EcoRI were compared to identify non-methylated loci (NML) and methylation susceptible loci (MSL) using msap v.3.3.1. First, The Shannon diversity index (S) and Wilcoxon rank sum test were used to estimate the statistical significance and contribution of genetic and epigenetic factors. The loci were categorized into four groups: Type I (unmethylated), Type II (inner cytosine methylation), Type III (hemi-methylation of the outer cytosine), and Type IV (fully methylated) using msap v.3.3.1.

Multiple Fisher's exact tests were used to identify loci with significantly different methylation patterns between greenhouse maintained and tissue culture plants of each genotype, and the obtained *p*-values were adjusted using the Benjamini and Hochberg method

(BENJAMINI; HOCHBERG, 1995). Heatmaps were generated for all genotype/primer combinations using four methylation types as color schemes. Only loci with an FDR < 0,05 were included in the analysis. Categorical variables were assessed using pairwise Gower's distances, and hierarchical clustering was performed using the Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean (UPGMA) as described by Akomeah *et al.* (2019). Analysis of variance was performed to compare the numbers of bands among the treatments. Then, the Scott-Knott test was applied to make comparisons between the means of these treatments. All statistical analyses were performed on R software (Version 4.1.0 for Windows).

3 RESULTS AND DISCUSSION

3.1 Analysis of variance

The analysis of variance (ANOVA) was performed on the 1896 MSAP loci to compare the differences in the presence/absence of loci between samples and the environmental conditions. The ANOVA shows that there is a significant difference between the environment for all locus types (TABLE 1). Specifically, the environment had a larger effect on the number of loci observed than the genotype (variants) or the genotype by environment (GxE) interaction. For the loci type I and II, there was a significant difference between genotypes (variants), while for the types III and IV, only the environment had a significant effect.

Table 1 - Analysis of variance of the bands between the conditions and genotypes.

| Factor of Variation | Bands | | | | | | |
|---------------------|----------|---------|-------|----------------|----------|--------|----------------|
| | Type I | | | | Type II | | |
| | df | MSq | Fc | <i>p-value</i> | MSq | Fc | <i>p-value</i> |
| Genotype (G) | 5 | 2284.00 | 2.67 | 0.044 | 2075.80 | 48.25 | 0.0028 |
| Environment (E) | 1 | 9771.00 | 11.42 | 0.002 | 9954.00 | 231.35 | 0.0001 |
| GxE | 2 | 300.50 | 0.35 | 0.707 | 256.00 | 0.60 | 0.5580 |
| Residue | 27 | 855.67 | | | 430.26 | | |
| Total | 35 | | | | | | |
| CV (%) | 22.59 | | | | 17.76 | | |
| | Type III | | | | Type IV | | |
| | df | MSq | Fc | <i>p-value</i> | MSq | Fc | <i>p-value</i> |
| | | | | | | | |
| Genotype (G) | 5 | 241.90 | 0.34 | 0.885 | 6048.20 | 17.20 | 0.1640 |
| Environment (E) | 1 | 3697.00 | 51816 | 0.031 | 67298.00 | 191.59 | 0.0002 |
| GxE | 2 | 134.30 | 0.19 | 0.830 | 532.00 | 0.15 | 0.860 |
| Residue | 27 | 713.49 | | | 3512.48 | | |
| Total | 35 | | | | | | |
| CV (%) | 28.20 | | | | 3.81 | | |

df= degree freedom; MSq=Mean Square; Fc= Fisher test; CV (%) = coefficient of variation.

Source: From author (2023).

The ANOVA showed that only loci of type I and II had differences between the genotypes (variants), so the Scott-Knott test was performed on these two parameters. The accession Murasaki_0486 had the highest mean among all loci types, indicating that it may have a stronger genetic expression for these loci compared to the other accessions (TABLE 2). For loci type I, the COV_05M was found to be in the same group as Murasaki_0486, while for type II, the Murasaki_CA was found to be in the same group as Murasaki_0486, indicating that they may have a similar genetic expression for these loci as well. All the remaining genotypes were grouped together in group “B/b”. It suggests that these genotypes had an equal number of loci amplified on the polyacrylamide gels, and their genetic variation for these loci may be similar.

Despite not being significant loci type III and IV, there was a general trend for differences among the genotypes, which suggests that there may be genetic differences among the genotypes that contribute to variations in the methylation patterns detected by these loci types (FIGURE 1). However, further analysis would be needed to confirm these differences and rule out other confounding factors that may contribute to the observed variation.

Table 2 - Scott-Knott table between the conditions and genotypes for bands of type I and II, treatments followed by the same letter there is no significant difference among them.

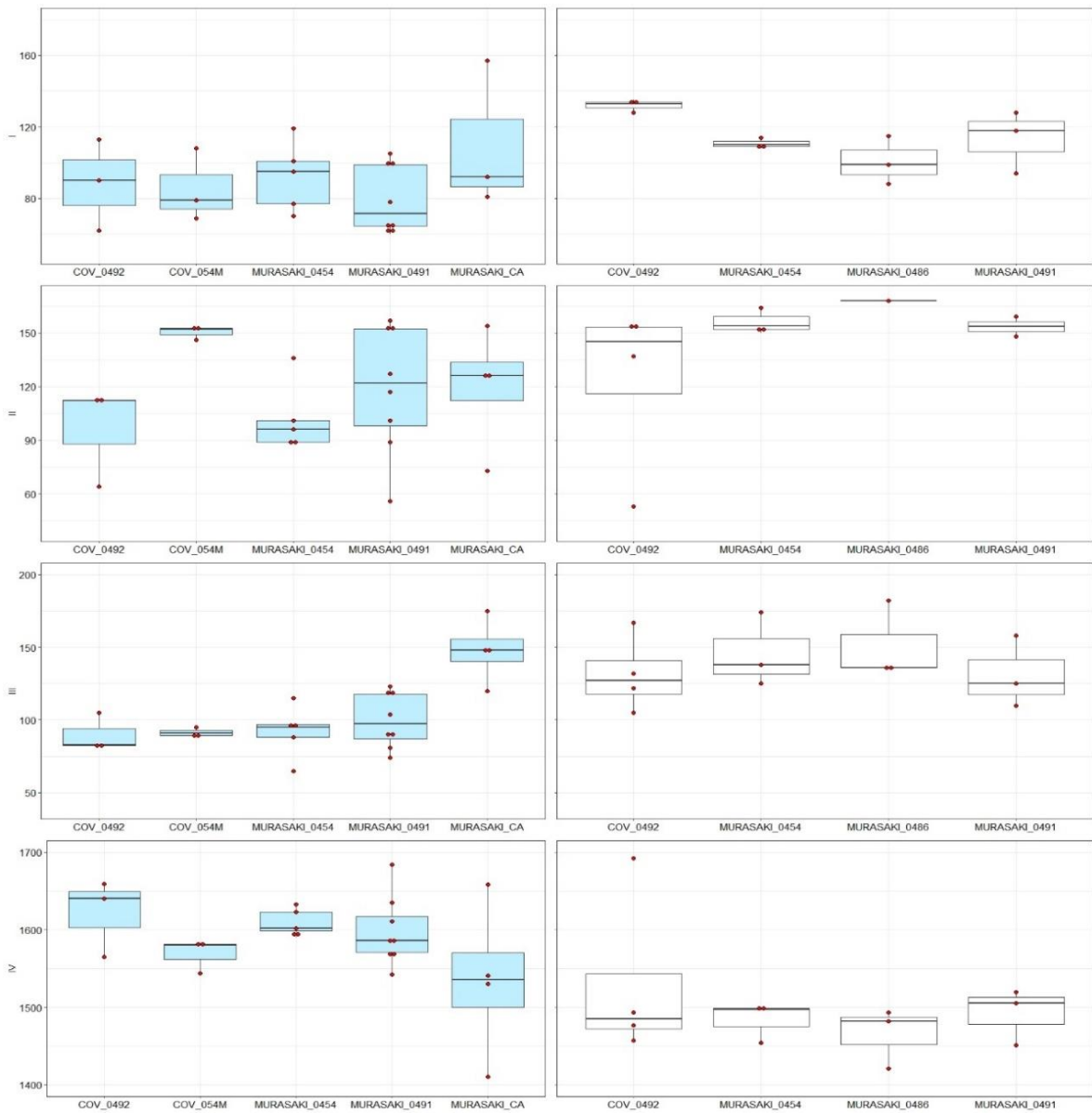
| Type I | | | Type II | | |
|--------|---------------|-------|---------|---------------|-------|
| Group* | Treatment | Mean | Group* | Treatment | Mean |
| B | COV_0492 | 112.3 | b | COV_0492 | 113.7 |
| A | COV_05M | 150.3 | b | COV_05M | 91.3 |
| B | MURASAKI_0454 | 122.4 | b | MURASAKI_0454 | 112.1 |
| A | MURASAKI_0486 | 178.7 | a | MURASAKI_0486 | 151.3 |
| B | MURASAKI_0491 | 130.1 | b | MURASAKI_0491 | 108.4 |
| B | MURASAKI_CA | 119.8 | a | MURASAKI_CA | 147.8 |

*Means followed by equal letters in the columns belong to the same grouping, at 5% probability.

Source: From author (2023).

The Boxplot analysis (FIGURE 1) showed that tissue culture plants have higher values than greenhouse-maintained plants for loci type I, II, and III, but not type IV. However, tissue culture plants were more stable than those in greenhouse. Additionally, Murasaki_CA has a higher range of values for type I, II, and III loci when compared to the other genotypes maintained in the greenhouse. This genotype was obtained from the mother plants kept in greenhouse, which may suggest a higher degree of epigenetic variation leading to instability. Akomeah *et al.* (2019) also identified that different profiles of methylation patterns varied according to the genotypes. So, the conditions under which the plants are maintained can affect the genotypes differently, which means in some genotypes the methylation patterns can be more stable according to the environments.

Figure 1 - Boxplot of data distribution, y-axis represents the type of bands, and the x-axis represents the genotypes, blue boxes are plants from the greenhouse, and blank boxes from tissue culture.

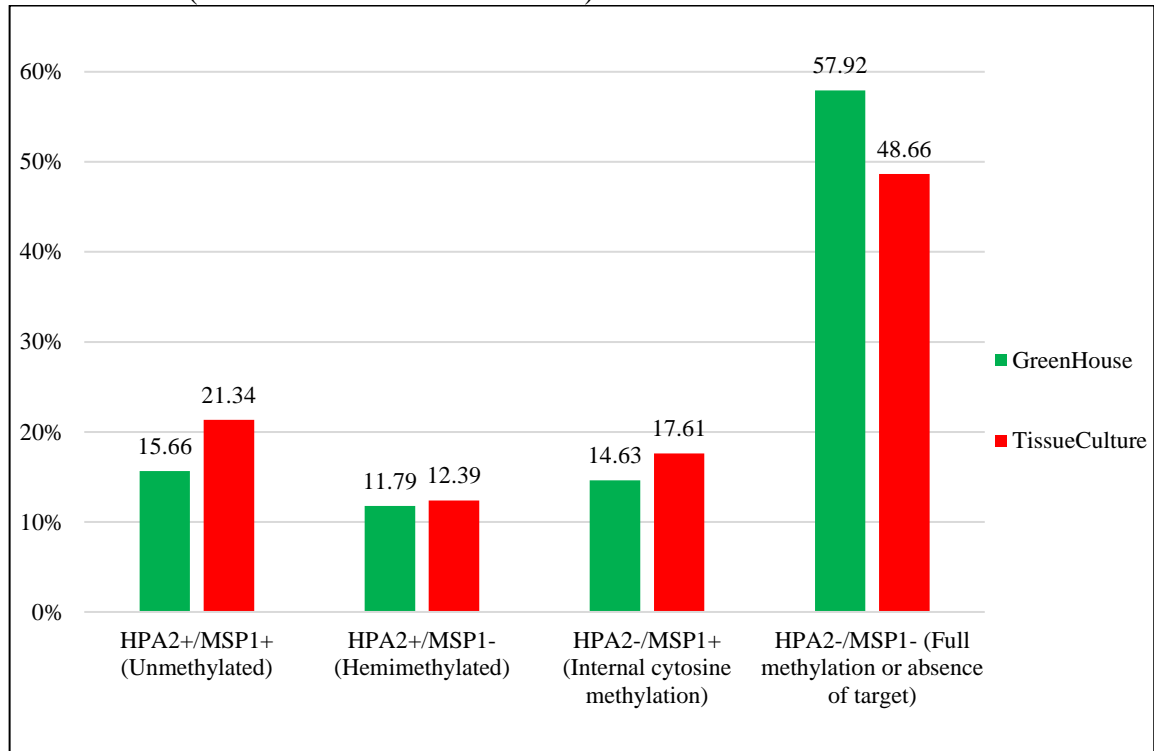


Source: From author (2023).

3.2 Methylation sensitive amplification polymorphism

The fully methylated recognition sites were the most common methylation pattern observed in the samples, with an average frequency of 53.3% (FIGURE 2). The next most frequent methylation pattern was fully unmethylated sites with an average of 18.5%. Hemimethylated sites, where only one DNA strand was methylated at cytosine residues, had an average frequency of 12.1%. The least common methylation pattern observed was the one presenting internal cytosine methylation, which had an average frequency of 16.2%.

Figure 2 - Comparison of methylation levels under different cultivation conditions (GreenHouse X Tissue Culture).



+ = effective use of enzymes; - = no effective use of enzymes

Source: From author (2023).

Similar data and methylation patterns were observed in a sweetpotato study conducted by Akomeah *et al.* (2021), where the majority of the analyzed loci were fully methylated recognition sites, representing 48.2% of the total. Fully unmethylated sites followed as the second most common methylation pattern, with a frequency of 21.5%. Hemimethylated sites were the third most common pattern, making up 19.3% of the loci analyzed, and sites presenting internal cytosine methylation were the least common, accounting for 11.2% of the total.

The observed pairwise Phi_{ST} values demonstrated that there is a significant difference between the two groups, for MSL is 0.07018 and the corresponding *p*-value of 0.0009. The pairwise Phi_{ST} value for NML was 0.02901 with the corresponding *p*-value is less than 0.0001, which also indicated a statistically significant difference between the two populations (TABLE 3).

Table 3 - Analysis of molecular differentiation between greenhouse maintained and tissue culture-derived sweet potato plants.

| Variance | d.f. | MSL | | | NML | | |
|--------------------|------|-------------------------|--------|-------|------------------------|-------|-------|
| | | SSD | MSD | VAR | SSD | MSD | VAR |
| among environments | 1 | 143.40 | 143.40 | 4.80 | 80.96 | 80.96 | 1.67 |
| within environment | 34 | 2164.00 | 63.64 | 63.64 | 1840.00 | 54.11 | 54.11 |
| Total | 35 | 2307.00 | 65.92 | | 1921.00 | 54.87 | |
| Phi_ST | | 0.07018 ($p= 0.0009$) | | | 0.02901 ($p<0.0001$) | | |

*df=degrees of freedom; SSD=sum of squares; MSD=mean square deviation; VAR=variance; non-methylated loci (NML) and methylation susceptible loci (MSL).

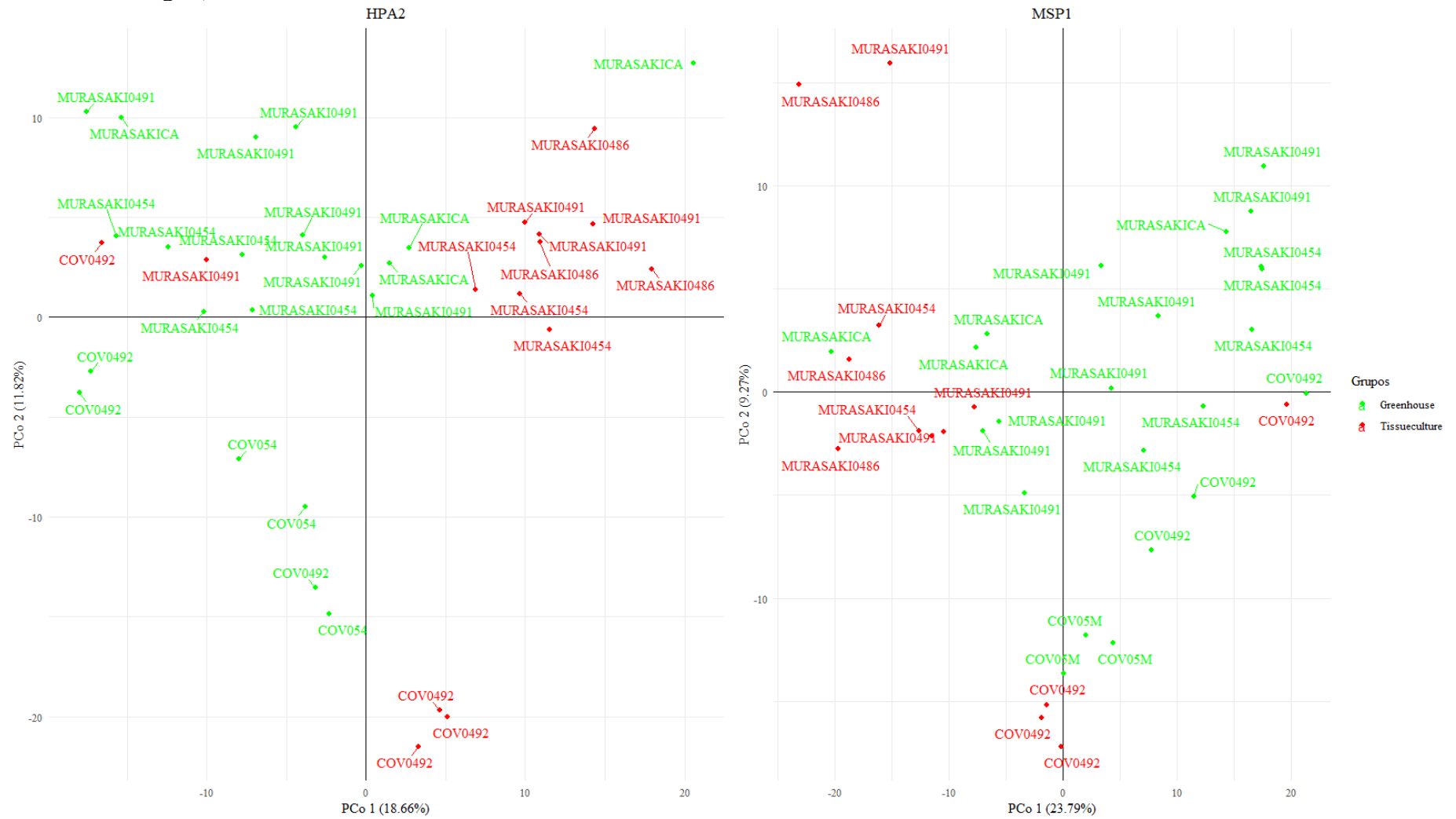
Source: From author (2023).

The observed variance (VAR) for each marker represents the amount of variation attributed to the differences between the greenhouse maintained and tissue culture-derived sweetpotato plants, and the variance attributed to differences within the same environment (TABLE 3). The higher observed variance for the MSL or NML within an environment can be explained by the differences between the two varieties analyzed, while the small variance between environments suggests that there were similarities in the loci or methylation patterns, regardless of genotype. These findings have implications for breeding and conservation efforts of a sweetpotato populations with different genetic traits and adaptations. The methylation patterns based on their maintenance must be taken into consideration when selecting plants for these purposes.

The Shannon diversity Index (S) computed for the MSL was found to be significantly higher (Paired sample t-test $p< 0.0001$) as compared to NML with values of 0.526 and 0.176, respectively (TABLE 3). This significant difference in diversity between the two samples also suggested that the unique factors influencing the genetic variability of each population was the environmental conditions.

The PCoA results obtained using the similarity matrix from the presence/absence of the combined MSAP profiles revealed a clear separation between *in vitro* propagated plants and greenhouse-maintained plants of the cultivars (FIGURE 4).

Figure 4 – Principal coordinator analysis (PCoA) from MSAP profiles between tissue culture (red square) and greenhouse-maintained (green triangles).

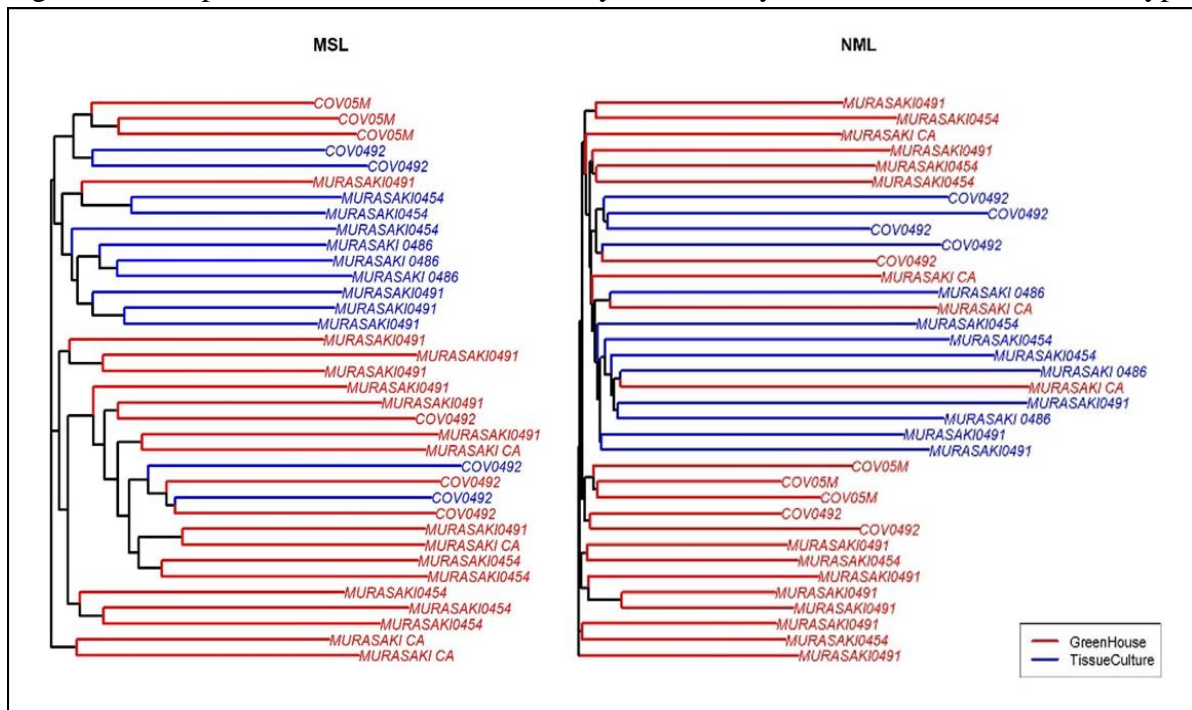


Source: From author (2023).

It also validated that the environmental condition can change the methylation patterns of sweetpotato plants. Previous research on many crops, such as grapevine (BARANEK *et al.*, 2010), tomato (SEYMOUR *et al.*, 2008), triticale (MACHCZYŃSKA; ZIMNY; BEDNAREK, 2015), barley (LI *et al.*, 2007), and sweetpotato (AKOMEAH *et al.*, 2019) have shown that different propagation methods lead to distinct methylation profiles. The PCoA analysis also highlighted a higher degree of variability among the samples where they were not grouped on the same eigenspace. Although only two varieties were analyzed, the differences among the six variants were observed by the methylation patterns. The mirroring observed between the graphs is due to the regions of action of each enzyme.

The cluster analysis showed that samples of Murasaki_CA, which came from repeated cutting of a mother plant had higher variation among themselves. They were grouped into many subgroups, even being from the same clone (FIGURE 5). On the other hand, the plants maintained in tissue culture were more stable and could be grouped on the same branch frequently. Even though the plants from tissue culture had varying degree of methylation profile, they had more epigenetic stability than those maintained in the greenhouse.

Figure 5 - Comparative UPGMA Cluster Analysis of Methylation Patterns in Two Genotypes



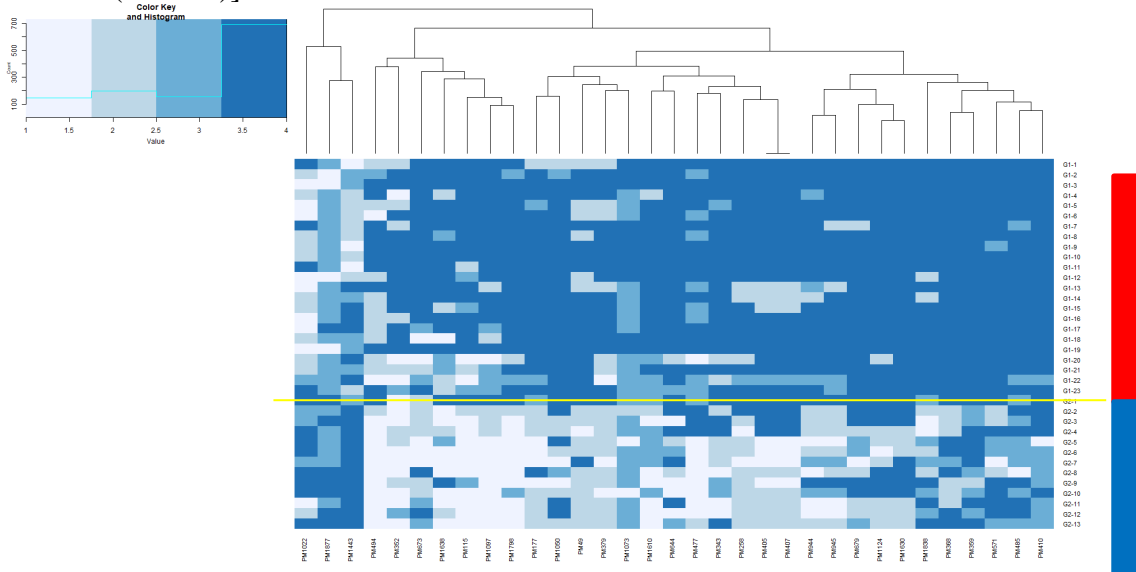
Source: From author (2023).

It has been shown that abiotic stress factors play a crucial role in inducing stress memory in plants through DNA methylation (WIBOWO *et al.*, 2016). The tissue culture system has

been reported to provide stressful condition for plants (LONG *et al.*, 2022). Plants response to stresses are expressed as signal products such as proteins and amino acids (OZTURK *et al.*, 2020). Evidence suggests that alterations in DNA methylation patterns are linked to the response of plants to stress (YONG-VILLALOBOS *et al.*, 2015). The higher level of unmethylated bands under tissue culture can be related to stress-responsive genes, which are higher expressed in tissue culture-induced stress via a stress-signaling process. Sham *et al.* (2015) reported that Arabidopsis plants under tissue culture stress showed an increased expression of genes involved in stress responsive pathways. In a comprehensive study on Arabidopsis, it was observed that many genes related to chromatin regulation were differentially expressed in cell suspension cultures compared to seedling plants (TANURDZIC *et al.*, 2008)

Based on the analysis proposed by Akomeah *et al.* (2020), 33 significant loci were identified as displayed below (FIGURE 6). In the heatmap, the samples from tissue culture plants (blue box) had fewer loci of type IV than from greenhouse plants (red box). Studies have shown that *in vitro* culture-induced stress can also lead to changes in DNA methylation patterns through demethylation, indicating a potential link between tissue culture conditions and stress-induced DNA methylation (MACHCZYŃSKA; ZIMNY; BEDNAREK, 2015; CORONEL *et al.*, 2018; ORŁOWSKA and BEDNAREK, *et al.*, 2020; BEDNAREK, and ORŁOWSKA *et al.*, 2020).

Figure 6 - Heatmap of significant MSAP bands in sweet potato plants under different environmental conditions [tissue culture plants (blue box) and greenhouse plants (red box)].



Source: From author (2023).

The duration of the plants under *in vitro* culture also influences the mediation between DNA demethylation of the CG sites due to the presence of copper and silver ions in the medium (BEDNAREK; ORŁOWSKA, 2020). According to Gonzales Benito *et al.* (2020), demethylation events were most frequently reported after storage. Orłowska *et al.* (2016) found that stressful conditions experienced by plants during regeneration through tissue culture can have negative effects on both the resulting regenerants and their offspring. This stress led to an increase in global DNA methylation in both recombinant (Rs) and parental (Ps) plants, with a higher methylation level in Rs than in Ps. Additionally, the increased methylation level observed in regenerants remained unchanged in their offspring as shown by RP-HPLC data.

4 CONCLUSIONS

The results from the present study demonstrated that both tissue culture and greenhouse conditions can affect the methylation profiles of sweetpotato plants. However, greenhouse conditions resulted in more variation in plants *in situ* while tissue culture showed a consistent pattern of methylation changes. Thus, the study evidently suggested that tissue culture is a more reliable method for maintaining genotypes or producing seedlings in comparison with the plants maintained in greenhouse from either tissue culture or cutting from single mother plant.

REFERENCES

- ADU-GYAMFI, R.; WETTEN, A.; LÓPEZ, C. M. R. Effect of Cryopreservation and Post-Cryopreservation Somatic Embryogenesis on the Epigenetic Fidelity of Cocoa (*Theobroma cacao* L.). **PLoS One**, v.11, n. 7, 2016
- AKOMEAH, B.; QUAIN, M. D.; RAMESH, S. A.; ANAND, L.; LÓPEZ, C. M. R. Common garden experiment reveals altered nutritional values and DNA methylation profiles in micropropagated three elite Ghanaian sweet potato genotypes. **PloS One**, v. 14, n.4, 2019.
- ASHE, A.; COLLOT, V.; OLDROYD, B. P. How does epigenetics influence the course of evolution? **Philosophical transactions of the Royal Society B**, v. 376, n. 1826, p. 20200111, 2021.
- BAISAKH, N.; SUBUDHI, P. K.; PARAMI, N. P. cDNA-AFLP analysis reveals differential gene expression in response to salt stress in a halophyte *Spartina alterniflora* Loisel. **Plant Science**, v. 170, n. 6, p. 1141-1149, 2006.
- BARÁNEK, M.; RADDOVÁ, J.; KRIZAN, B.; PIDRA, M. Genetic changes in grapevine genomes after stress induced by in vitro cultivation, thermotherapy and virus infection, as revealed by AFLP. **Genetics and Molecular Biology**, v. 32, p. 834-839, 2009.
- BEDNAREK, P. T.; ORŁOWSKA, R. Plant tissue culture environment as a switch-key of (epi) genetic changes. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, v. 140, n. 2, 245-257, 2020.
- BENJAMINI, Y.; HOCHBERG, Y. Controlling the False Discovery Rate: A Practical and Powerful Approach to Multiple Testing. **Journal of the Royal Statistical Society**, v. 57, p. 289-300, 1995.
- BRITO, O. G.; ANDRADE JÚNIOR, V. C.; LOPES, T. K.; SILVA, J. C. D. O.; FIRME, T. D.; SILVA, E. A.; AZEVEDO, S. M. D. Flowering capacity and botanical seed production of sweet potato genotypes. **Horticultura Brasileira**, v. 39, p. 369-375, 2021
- BUTT, S. J.; VARIS, S.; NASIR, I. A.; SHERAZ, S.; SHAHID, A. Micro propagation in advanced vegetable production: a review. **Advancements in Life Sciences**, v. 2, n. 2, 48-57. 2015.
- CLARK, C. A.; DAVIS, J. A.; ABAD, J. A.; CUELLAR, W. J.; FUENTES, S.; KREUZE, J. F.; VALKONEN, J. P. Sweetpotato viruses: 15 years of progress on understanding and managing complex diseases. **Plant Disease**, v. 96, n. 2, p. 168-185, 2012
- CORONEL, C. J.; GONZÁLEZ, A. I.; RUIZ, M. L.; & POLANCO, C. Analysis of somaclonal variation in transgenic and regenerated plants of *Arabidopsis thaliana* using methylation related metAFLP and TMD markers. **Plant Cell Reports**, v. 37, p. 137-152, 2018.
- COSTA, A. L. D.; ANDRADE JÚNIOR, V. C. D.; GAMA, A. B. N. D.; SILVA, E. A. D.; BRITO, O. G.; SILVA, J. C. D. O.; BUENO FILHO, J. S. D. S. Selection of superior sweet potato genotypes for human consumption via mixed models. **Bragantia**, v. 81, 2022.

DONATI, I.; CELLINI, A.; SANGIORGIO, D.; CALDERA, E.; SORRENTI, G.; SPINELLI, F. Pathogens associated to kiwifruit vine decline in Italy. **Agriculture**, v. 10, n. 4, 119. 2020

FULNECEK, J.; KOVARIK, A. How to interpret methylation sensitive amplified polymorphism (MSAP) profiles. **BMC Genetics**, v. 15, n. 1, 2014.

GHOSH, A.; IGAMBERDIEV, A. U.; DEBNATH, S. C. Tissue culture-induced DNA methylation in crop plants: a review. **Molecular Biology Reports**, v. 48, n. 1, p. 823-841, 2021.

GONZÁLEZ-BENITO, M. E.; IBÁÑEZ, M. Á.; PIRREDDA, M.; MIRA, S.; & MARTÍN, C. Application of the MSAP technique to evaluate epigenetic changes in plant conservation. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 20, 2020.

JALIGOT, E.; ADLER, S.; DEBLADIS, E.; BEULÉ, T., RICHAUD, F.; ILBERT, P.; RIVAL, A. Epigenetic imbalance and the floral developmental abnormality of the in vitro-regenerated oil palm *Elaeis guineensis*. **Annals of Botany**, v. 108, n. 8, p. 1453-1462, 2011.

KHAN, N.; BEDRE, R.; PARCO, A.; BERNAOLA, L.; HALE, A.; KIMBENG, C.; PONTIF, M.; BAISAKH, N. Identification of cold-responsive genes in energycane for their use in genetic diversity analysis and future functional marker development. **Plant Science**, v. 211, p. 122-131, 2013.

KHIDI. Korea Health Industry Development Institute. **National Food & Nutrition Statistics 2014**: based on 2014 Korea National and Nutrition Examination Survey. Osong, Kore: Korea Health Industry Development Institute, 2016. p. 30.

LEE, H. M.; PARK, J. S.; SHIN, Y. H.; PARK, Y. D. Alterations in DNA methylation patterns in regenerated Chinese cabbage (*Brassica rapa* ssp. *pekinensis*) plants derived from tissue culture. **Horticulture, Environment, and Biotechnology**, p. 1-14, 2021.

LI, X.; YU, X.; WANG, N.; FENG, Q.; DONG, Z.; LIU, L.; LIU, B. Genetic and epigenetic instabilities induced by tissue culture in wild barley (*Hordeum brevisubulatum* (Trin.) Link). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 90, p. 153-168, 2007.

LONG, Y.; YANG, Y.; PAN, G.; SHEN, Y. New insights into tissue culture plant-regeneration mechanisms. **Frontiers in Plant Science**, v. 13, p. 926752, 2022.

MACHCZYŃSKA, J.; ZIMNY, J.; BEDNAREK, P. T. Tissue culture-induced genetic and epigenetic variation in triticale (*Triticosecale* spp. Wittmack ex A. Camus 1927) regenerants. **Plant Molecular Biology**, v. 89, p. 279-292, 2015.

MANNING, K.; TOR, M.; POOLE, M.; HONG, Y.; SEYMOUR, G. B. A naturally occurring epigenetic mutation in a gene encoding an SBP-box transcription factor inhibits tomato fruit ripening. **Nature Genetics**, v. 38, n. 8, p. 948–952, 2006.

MERCÉ, C.; BAYER, P. E.; TAY F. C.; BATLEY, J.; EDWARDS, D. Induced methylation in plants as a crop improvement tool: progress and perspectives. **Agronomy**, v. 10, n. 10, p. 1484, 2020.

MURASHIGE, T.; SKOOG F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. **Physiologia plantarum**, v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.

NEELAKANDAN, A. K.; WANG, K. Recent progress in the understanding of tissue culture-induced genome level changes in plants and potential applications. **Plant Cell Reports**, v. 31, p. 597-620, 2012.

ORŁOWSKA, R.; BEDNAREK, P. T. Precise evaluation of tissue culture-induced variation during optimisation of in vitro regeneration regime in barley. **Plant Molecular Biology**, v. 103, p. 33-50, 2020.

OZTURK, M.; TURKYILMAZ U. B.; GARCÍA-CAPARRÓS, P.; KHURSHEED, A.; GUL, A.; HASANUZZAMAN, M. Osmoregulation and its actions during the drought stress in plants. **Physiologia Plantarum**, v. 172, n. 2, p. 1321-1335, 2021.

ORŁOWSKA, R.; MACHCZYŃSKA, J.; OLESZCZUK, S.; ZIMNY, J.; BEDNAREK, P. T. DNA methylation changes and TE activity induced in tissue cultures of barley (*Hordeum vulgare* L.). **Journal of Biological Research-Thessaloniki**, v. 23, p. 1-12, 2016.

LÓPEZ, C. M. R.; WILKINSON, M. J. Epi-fingerprinting and epi-interventions for improved crop production and food quality. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, p. 397, 2015.

PEAKALL, R.; SMOUSE, P. E. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. **Molecular Ecology Notes**, v. 6, n. 1, p. 288-295, 2006.

PÉREZ-FIGUEROA, A. msap: a tool for the statistical analysis of methylation-sensitive amplified polymorphism data. **Molecular Ecology Resources**, v. 13, n. 3, p. 522-527, 2013.

SHAM, A.; MOUSTAFA, K.; AL-AMERI, S.; AL-AZZAWI, A.; IRATNI, R.; ABUQAMAR, S. Identification of Arabidopsis candidate genes in response to biotic and abiotic stresses using comparative microarrays. **PLoS One**, v. 10, n. 5, 2015.

SEYMOUR, G.; POOLE, M.; MANNING, K.; KING, G. J. Genetics and epigenetics of fruit development and ripening. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 11, n. 1, p. 58-63, 2008.

SHI, J.; ZHAO, L.; YAN, B.; ZHU, Y.; MA, H.; CHEN, W.; RUAN, S. Comparative transcriptome analysis reveals the transcriptional alterations in growth-and development-related genes in sweet potato plants infected and non-infected by SPFMV, SPV2, and SPVG. **International Journal of Molecular Sciences**. v. 20, n. 5, 2019.

TANURDZIC. M.; VAUGHN, M. W.; JIANG, H.; LEE, T. J.; SLOTKIN, R. K.; SOSINSKI, B.; THOMPSON, W. F.; DOERGE, R. W.; MARTIENSSEN, R. A. Epigenomic consequences of immortalized plant cell suspension culture. **PLoS Biology**, v. 6, n. 12, p. e302, 2008.

WANG, M. R.; CUI, Z. H.; LI, J. W.; HAO, X. Y.; ZHAO, L.; WANG, Q. C. In vitro thermotherapy-based methods for plant virus eradication. **Plant Methods**, v. 14, n. 1, p. 1-18, 2018.

WANG, N.; YU, Y.; ZHANG, D.; ZHANG, Z.; WANG, Z.; XUN, H.; ... ZHANG, J. Modification of Gene Expression, DNA Methylation and Small RNAs Expression in Rice Plants under In Vitro Culture. **Agronomy**, v. 12, n. 7, 2022.

WIBOWO, A.; BECKER, C.; MARCONI, G.; DURR, J.; PRICE, J.; HAGMANN, J.; PAPAREDDY, R.; PUTRA, H.; KAGEYAMA, J.; BECKER, J.; WEIGEL, D.; GUTIERREZ-MARCOS, J. Hyperosmotic stress memory in Arabidopsis is mediated by distinct epigenetically labile sites in the genome and is restricted in the male germline by DNA glycosylase activity. **Elife**, v. 7, p. e44302, 2018.

YONG-VILLALOBOS, L.; GONZÁLEZ-MORALES, S. I.; WROBEL, K.; GUTIÉRREZ-ALANIS, D.; CERVANTES-PERÉZ, S. A.; HAYANO-KANASHIRO, C.; ... HERRERA-ESTRELLA, L. Methylome analysis reveals an important role for epigenetic changes in the regulation of the Arabidopsis response to phosphate starvation. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 112, n. 52, p. E7293-E7302, 2015.