



**MATHEUS BUZATTI QUEIROZ**

**DIVERSIDADE E ESTRUTURA GENÉTICA EM  
POPULAÇÃO DE MELHORAMENTO DE *Solanum tuberosum*  
L.**

**LAVRAS – MG  
2024**

**MATHEUS BUZATTI QUEIROZ**

**DIVERSIDADE E ESTRUTURA GENÉTICA EM POPULAÇÃO DE  
MELHORAMENTO DE *Solanum tuberosum* L.**

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

Prof. Dr. Evandro Novaes  
Orientador

**LAVRAS – MG  
2024**

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

Queiroz, Matheus Buzatti.

Diversidade E Estrutura Genética Em População De  
Melhoramento De *Solanum Tuberosum* L. / Matheus Buzatti  
Queiroz. - 2024.

56 p. : il.

Orientador(a): Evandro Novaes.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de  
Lavras, 2024.

Bibliografia.

1. Batata. 2. Marcadores moleculares. 3. População de  
melhoramento. I. Novaes, Evandro. II. Título.

**MATHEUS BUZATTI QUEIROZ**

**DIVERSIDADE E ESTRUTURA GENÉTICA EM POPULAÇÃO DE  
MELHORAMENTO DE *Solanum tuberosum* L.**

**GENETIC DIVERSITY AND STRUCTURE IN A BREEDING POPULATION OF  
*Solanum tuberosum* L.**

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

APROVADO em 06 de agosto de 2024  
Dr. Mário Henrique Murad Leite Andrade - UMaine  
Dr<sup>a</sup>. Lucimara Cruz De Souza - UFLA  
Dr. Tiago De Souza Marcal - UFLA

Prof. Dr. Evandro Novaes  
Orientador

**LAVRAS – MG  
2024**

## AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço a Deus, a Ele toda honra e toda glória. Este trabalho é resultado de uma jornada intensa de aprendizado, e várias pessoas e instituições foram fundamentais para a sua realização.

Agradeço à Universidade Federal de Lavras (UFLA) e ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, por proporcionar um ambiente acadêmico de excelência e por oferecer todo o suporte necessário ao desenvolvimento desta dissertação.

Expresso minha profunda gratidão à Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG), pelo apoio financeiro que tornou possível a dedicação integral a este projeto. Sem esse incentivo, a concretização deste trabalho teria sido muito mais difícil.

Agradeço aos meus professores e ao meu orientador, que me guiaram com sabedoria, paciência e incentivo ao longo de toda a trajetória acadêmica. Suas orientações foram essenciais para o amadurecimento das ideias e resultados aqui apresentados, bem como para o meu crescimento pessoal e profissional.

Minha gratidão vai também à minha família, pelo amor, apoio incondicional e por acreditarem em mim em todos os momentos. Sem o suporte de vocês, este sonho não teria se tornado realidade.

Não poderia deixar de mencionar meus amigos e colegas de curso, que estiveram ao meu lado compartilhando desafios e conquistas. O apoio mútuo e a troca de conhecimentos foram fundamentais para o sucesso de cada etapa desta caminhada.

A todos, o meu mais sincero e profundo agradecimento.

## RESUMO

A batata (*Solanum tuberosum* L.) é uma das culturas de maior importância econômica no Brasil. A bataticultura brasileira ainda depende principalmente de cultivares desenvolvidas em outros países. Essas cultivares de clima temperado podem apresentar baixa adaptação às condições edafoclimáticas brasileiras. Diante disso, há a necessidade de cultivares mais adaptadas e modernas, capazes de atender às condições edafoclimáticas tropicais e tecnológicas do Brasil. A ampla diversidade genética dos vegetais pode servir como fonte de alelos desejáveis, propiciando não somente a possibilidade de ganhos com a seleção como também de adaptação a mudanças ambientais. O conhecimento sobre o nível de diversidade e estruturação genética pode racionalizar as estratégias de melhoramento. Com base nesse cenário, o estudo teve como objetivo caracterizar a diversidade e estruturação genética nos clones de batata provenientes do Programa de Melhoramento Genético da UFLA. Foram utilizados cinco marcadores SSR para diferenciar 111 clones de *Solanum tuberosum*. Os primers resultaram em 15 alelos polimórficos, com uma média de 3 alelos por locus. O complemento da matriz de distâncias de Jaccard foi representado por um dendrograma via agrupamento UPGMA. Além disso, as distâncias entre os clones de batata também foram visualizadas em um gráfico de dispersão com os dois primeiros componentes principais. A heterozigosidade esperada ( $H_e$ ) e o conteúdo de informação polimórfica (PIC) foi de 0,346. Os resultados sugerem uma diversidade genética relativamente baixa entre os clones de batata analisados e indicam que o germoplasma não está estruturado em grupos distintos. Apesar dessa menor diversidade em comparação com outros trabalhos, ainda há diversidade suficiente para vários ciclos de melhoramento. Sugere-se ampliar a base genética ao longo dos anos, introduzindo novos recursos genéticos, como o intercâmbio de germoplasma com outras instituições e programas de melhoramento, para evitar possíveis limitações no melhoramento genético e assegurar a sustentabilidade e produtividade futura das culturas de batata.

Palavras-Chave: melhoramento de batata; marcadores moleculares; microssatélites; SSR; clones.

## ABSTRACT

The potato (*Solanum tuberosum* L.) is one of the most economically important crops in Brazil. Brazilian potato farming still relies mainly on cultivars developed in other countries. These temperate climate cultivars may show poor adaptation to Brazilian edaphoclimatic conditions. Therefore, there is a need for more adapted and modern cultivars that can meet Brazil's tropical edaphoclimatic and technological conditions. The broad genetic diversity of plants can serve as a source of desirable alleles, providing not only the possibility of gains with selection but also adaptation to environmental changes. Knowledge about the level of diversity and genetic structuring can rationalize breeding strategies. Based on this scenario, the study aimed to characterize the diversity and genetic structuring in potato clones from the UFLA Breeding Program. Five SSR markers were used to differentiate 111 *Solanum tuberosum* clones. The primers resulted in 15 polymorphic alleles, with an average of 3 alleles per locus. The complement of the Jaccard distance matrix was represented by a dendrogram via UPGMA clustering. Additionally, the distances between the potato clones were also visualized in a scatter plot with the first two principal components. The expected heterozygosity ( $H_e$ ) and the polymorphic information content (PIC) were 0.346. The results suggest a relatively low genetic diversity among the analyzed potato clones and indicate that the germplasm is not structured into distinct groups. Despite this lower diversity compared to other studies, there is still sufficient diversity for several breeding cycles. It is suggested to expand the genetic base over the years by introducing new genetic resources, such as the exchange of germplasm with other institutions and breeding programs, to avoid possible limitations in genetic improvement and ensure the future sustainability and productivity of potato crops.

Keywords: potato breeding; molecular markers; microsatellites; SSR; clones.

## **IMPACTOS SOCIAIS, TECNOLÓGICOS, ECONÔMICOS E CULTURAIS**

O projeto desenvolvido tem o potencial de otimizar as ações e estratégias do programa de melhoramento genético da UFLA, resultando em impactos indiretos positivos em diversas áreas. No âmbito social, o desenvolvimento de novas cultivares de batata mais adaptadas e produtivas pode contribuir para a segurança alimentar, especialmente em regiões onde a batata é um alimento essencial. Além disso, a criação de variedades mais resistentes pode reduzir a necessidade de insumos agrícolas, como fertilizantes e pesticidas, gerando benefícios econômicos para os agricultores e diminuindo o impacto ambiental. Esses avanços também podem impulsionar o desenvolvimento econômico em áreas rurais, promovendo a geração de empregos e oportunidades de renda, o que caracteriza um impacto social e econômico significativo. Em termos ambientais, o uso de variedades adaptadas às condições locais favorece a eficiência no uso de recursos naturais, como água e nutrientes, mitigando o desperdício e a degradação ambiental. No campo tecnológico, a aplicação de marcadores moleculares microssatélites no melhoramento genético de batatas permite um avanço considerável na identificação de características desejáveis, acelerando a seleção de cultivares com maior precisão e eficiência. Este trabalho, alinhado aos objetivos de desenvolvimento sustentável da ONU, especialmente no que tange à fome zero e à agricultura sustentável, demonstra um potencial de impacto concreto e em potencial em várias áreas temáticas da Política Nacional de Extensão, como comunicação, tecnologia e produção, e meio ambiente, beneficiando diretamente e indiretamente a sociedade e contribuindo para o desenvolvimento sustentável do território impactado.

## **SOCIAL, TECHNOLOGICAL, ECONOMIC AND CULTURAL IMPACTS**

The project developed has the potential to significantly optimize the actions and strategies of the UFLA's genetic improvement program, resulting in positive impacts in various areas. Socially, the development of new, more adapted, and productive potato cultivars can contribute to food security, especially in regions where potatoes are an essential food source. Additionally, the creation of more resilient varieties can reduce the need for agricultural inputs, such as fertilizers and pesticides, generating economic benefits for farmers and reducing environmental impact. These advancements can also boost economic development in rural areas, promoting job creation and income opportunities, which constitutes a significant social and economic impact. Environmentally, the use of varieties adapted to local conditions promotes the efficient

use of natural resources, such as water and nutrients, minimizing waste and environmental degradation. In the technological field, the application of microsatellite molecular markers in potato breeding allows for significant progress in identifying desirable traits, accelerating the selection of cultivars with greater precision and efficiency. This work, aligned with the United Nations' sustainable development goals, particularly regarding zero hunger and sustainable agriculture, demonstrates concrete and potential impacts across various thematic areas of the National Extension Policy, such as communication, technology and production, and the environment, directly benefiting society and contributing to the sustainable development of the impacted territory.

## SUMÁRIO

1.	<b>INTRODUÇÃO</b>	11
2.	<b>REFERENCIAL TEÓRICO</b>	14
2.1.	<i>Classificação Taxonômica da batata</i>	14
2.2.	<i>Histórico e expansão do cultivo da batata</i>	14
2.3.	<i>Características nutricionais e produção da batata.</i>	16
2.4.	<i>Melhoramento da batata</i>	18
2.5.	<b>Diversidade Genética</b>	20
2.6.	<b>Marcadores Moleculares</b>	21
3.	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b>	25
3.1.	<i>Material Genético</i>	25
3.2.	<i>Extração do DNA</i>	27
3.3.	<i>Primers</i>	28
3.4.	<i>PCR</i>	29
3.5.	<i>Genotipagem e caracterização da variabilidade genética</i>	29
4.	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	31
5.	<b>CONCLUSÃO</b>	43
	<b>REFERÊNCIAS</b>	44

## 1 INTRODUÇÃO

No período de 1973 a 2021, a produção de batata (*Solanum tuberosum* L.) triplicou, de 1,32 milhão de toneladas para 3,85 milhões de toneladas. A batata foi a 14<sup>o</sup> *commoditie* mais produzida no Brasil em 2022 (FAOSTAT, 2022). A área colhida com a cultura em 2023 foi de 117.803 hectares, sendo que o maior produtor foi o estado de Minas Gerais (IBGE, 2022). A evolução da cultura da batata no Brasil é notável, com um aumento significativo da produção e produtividade nas últimas cinco décadas. Nesse período, a produtividade da cultura aumentou quase cinco vezes no país, passando de 6,98 t/ha para 33,10 t/ha (EMBRAPA, 2023; HF BRASIL, 2022).

A batata é uma excelente fonte de energia devido ao seu alto teor de carboidratos e por possuir uma maior quantidade de proteínas entre as hortícolas de raízes e tubérculos. Atualmente, no Brasil, há uma alta demanda por novas cultivares de batata devido ao crescimento do setor industrial, o qual requer cada vez mais batatas com melhor qualidade. As cultivares mais utilizadas no Brasil são de origem estrangeira, como as europeias Asterix e Markies que são amplamente utilizadas na produção de batatas palito. As cultivares Atlantic e Agata são de origem americana e holandesa, respectivamente, sendo que a primeira é utilizada para a produção de chips. Já as cultivares Agata e Asterix atendem grande parte do mercado fresco. No entanto, essas cultivares apresentam baixa adaptação a clima tropical, limitando suas regiões de plantio. Além disso, elas exigem muitos insumos, como fertilizantes, fungicidas e inseticidas para sua produção. Além de elevar os custos de produção, a utilização de insumos em excesso pode prejudicar a qualidade das batatas para as indústrias, além de poder causar riscos a saúde dos consumidores e ao meio-ambiente. As cultivares Agata e Asterix, por exemplo, foram obtidas nos anos de 1976 e 1977, respectivamente, mostrando a necessidade de cultivares mais atuais, adaptadas às condições modernas de cultivo (LUTALADIO; PRAKASH, 2010; RAGASSI, 2022; SILVA et al., 2020).

Entre as medidas de manejo de pragas e doenças existentes, a resistência genética é a estratégia mais desejável, tanto do ponto de vista econômico como ambiental. Porém, poucas cultivares com boa resistência estão disponíveis no mercado. Além disso, devido à ampliação geográfica da cultura, é imprescindível o desenvolvimento de variedades adaptadas aos diversos climas presentes no país. Portanto, é fundamental investir na criação de variedades mais adequadas às condições ecológicas e tecnológicas do cultivo no país, visando facilitar o manejo e reduzir os custos de produção. Isso também estimula a adoção de novas tecnologias

que contribuem para um manejo mais eficiente e sustentável (CASA-COILA et al., 2019; PEREIRA, 2011; SILVA et al., 2014, 2019).

A ampla diversidade genética dos vegetais pode servir como fonte de alelos desejáveis, propiciando ganhos de seleção em programas de melhoramento, bem como uma notável capacidade das plantas se adaptarem a mudanças ambientais (RAZA et al., 2019). Nas últimas décadas, houve uma crescente ênfase na avaliação da diversidade genética de culturas, impulsionada pelo avanço de tecnologias como os marcadores moleculares (FU, 2015). Essas avaliações oferecem informações valiosas sobre a magnitude e estruturação da diversidade genética presente nos germoplasmas de plantas. Essas informações são fundamentais para orientar estratégias de conservação do material genético e otimizar sua utilização no contexto do melhoramento (RAUF et al., 2010).

Existem diversas técnicas de marcadores moleculares disponíveis, sendo que algumas delas já foram utilizadas na identificação do germoplasma de batata e na avaliação da sua diversidade genética (SHARMA; NANDINENI, 2014; GHISLAIN, 2004). No entanto, é crucial selecionar os marcadores moleculares adequados antes de empregá-los efetivamente. Os marcadores SSR (*Simple Sequence Repeats*), também conhecidos como microssatélites, têm sido amplamente adotados devido às suas características favoráveis, como a ampla distribuição no genoma, multialelismo e alto nível de polimorfismo, facilidade de utilização, clareza e reprodutibilidade dos resultados, baixo custo operacional e possibilidade de automação. Além disso, como os locos microssatélites são amplificados por PCR, sua genotipagem pode ser realizada mesmo com DNA de baixa qualidade, desde que a região contendo o microssatélite de interesse esteja preservada. Porém, cabe destacar que a genotipagem de microssatélites em espécies poliploides, como a batata, apresenta complicação adicional devido à dificuldade de se realizar a dosagem dos alelos (HONIG et al, 2016). Apesar disso, a impressão digital molecular baseada em marcadores SSR tem sido utilizada para distinguir cultivares de batata em nível genético, bem como para separar a população de melhoramento em possíveis grupos, caso haja estruturação genética. A genotipagem baseada em marcadores de DNA em batatas pode desempenhar um papel importante em programas de melhoramento, protegendo os direitos de propriedade intelectual sobre cultivares protegidas (BALI et al, 2017; BRAUN; WENZEL, 2005; DUAN et al., 2019; JIANG, 2013; WANG, 2019).

Este estudo tem como objetivo estimar o nível de diversidade e a estruturação genética existente nos clones de batata provenientes do Programa de Melhoramento Genético de Batata da Universidade Federal de Lavras (UFLA), bem como estabelecer uma impressão digital molecular para fins de proteção do germoplasma e avaliar a distância genética entre os clones

de batata, utilizando marcadores microssatélites. O conhecimento sobre o nível de diversidade, estruturação e distância genética entre os clones pode racionalizar as futuras estratégias do programa de melhoramento de batata.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Classificação Taxonômica da batata

A batateira cultivada está classificada dentro do reino das plantas angiospermas, que são plantas com flores e frutos. A batata pertence ao reino Plantae, à divisão Magnoliophyta, à classe Magnoliopsida, à subclasse Asteridae, à ordem Solanales, à família *Solanaceae*, ao gênero *Solanum* e à espécie *Solanum tuberosum*. A família *Solanaceae* é composta por 3.000 a 4.000 espécies distribuídas em cerca de 100 gêneros. A batata, tomate, berinjela, pimenta são as culturas mais conhecidas e cultivadas na família *Solanaceae*, várias espécies são cultivadas localmente por seus frutos comestíveis, tubérculos ou folhas, bem como para fins hortícolas (MACHIDA-HIRANO, 2015; OLMSTEAD, 2013). O gênero *Solanum* é um dos maiores gêneros de angiospermas, com cerca de 2.000 espécies, está entre os 10 gêneros de Angiospermas com maior número de espécies do mundo (BRADEEN et al., 2011; DAVENPORT, 2004; FRODIN, 2004). Espécies de *Solanum* estão presentes em todos os continentes, em regiões tropicais e temperadas, exibindo uma ampla variedade de formas de crescimento, desde ervas até arbustos, árvores ou lianas (KNAPP, 2008). O gênero *Solanum* é dividido em dois subgêneros: *Pachystemonum* e *Leptostemonum*. O subgênero *Pachystemonum* foi dividido em cinco seções, sendo que a seção Petota contém a maioria das espécies que produzem tubérculos. A seção Petota foi dividida em duas subseções, Estolonifera e Potatoe. Todas as espécies cultivadas estão agrupadas na série Tuberosa da subseção Potatoe. Cerca de 72% das espécies são diploides ( $2n = 2x = 24$  cromossomos), cerca de 12% são tetraploides ( $2n = 4x = 48$ ) e as demais são triploides ( $2n = 3x = 36$ ), pentaploides ( $2n = 5x = 60$ ) e hexaploides ( $2n = 6x = 72$ ). A batata amplamente cultivada corresponde à espécie *Solanum tuberosum* L., que é tetraploide (BRADEEN et al., 2011; BRADSHAW, 2022; SILVA, 2015; FORTES; PEREIRA, 2003; REDDY, 2018; THAMBURAJ; NARENDRA, 2016). Cerca de 4800 cultivares de batata de 102 países em todo o mundo foram catalogadas (BONIERBALE et al., 2020). No Brasil, existem 283 espécies de *Solanum* catalogadas, das quais 138 são endêmicas (FILARDI, 2018).

### 2.2 Histórico e expansão do cultivo da batata

A história da batata tem início com seus parentes selvagens, com algumas espécies morfológicamente muito semelhantes à batata consumida atualmente. Não foi determinado o

momento exato em que ocorreu sua domesticação, no entanto, há relatos de que a batata foi domesticada há mais de 7 mil anos nos Andes, mais especificamente no Peru e na Bolívia (EMBRAPA, 2023). Amostras antigas de batata, datadas do período Neolítico, foram descobertas em cavernas no Cânion de Chilca, na região centro-sul da costa do Peru (HIJMANS; SPOONER, 2001; UGENT; PETERSON, 1988). Nas montanhas dos Andes, onde a batata era um cultivo antigo, registros de práticas de cultivos foram encontradas algumas décadas depois que Colombo encontrou as Índias Ocidentais. No ano de 1537, uma expedição de espanhóis adentrou o planalto central da atual Colômbia, habitado pelos indígenas muíscas e ali já foram observados plantios de batata (CANCINO, 2016; HAWKES; FRANCISCO-ORTEGA, 1993). O primeiro registro de batata fora da América do Sul ocorreu nas Ilhas Canárias, arquipélago espanhol, em 1567 (RÍOS et al., 2007). Os espanhóis levaram tubérculos da América do Sul para a Europa e o cultivo da batata se espalhou pelo mundo (EMBRAPA, 2023). No ano de 1691, as colônias da América do Norte tiveram seu primeiro contato com a batata, que foi introduzida a partir das Ilhas Bermudas, uma colônia britânica na época, sendo que esta batata em particular havia sido trazida da Inglaterra em 1613.

Durante o século XVII, missionários britânicos levaram a batata para a Índia e para a China e, nesse mesmo período, ocorreu sua introdução no Japão e em partes da África. Na Nova Zelândia, a batata apareceu em 1769 e começou a ser cultivada pelo povo indígena local por volta de 1840 (SPOONER, 1990). Houve um aumento da área de cultivo de batatas de 1560 até a Segunda Guerra Mundial. Em cada guerra que passava o cultivo aumentava cada vez mais, devido à sua capacidade de crescer em solos pobres e seu alto potencial de rendimento. Nas regiões da Europa com clima severo, onde os cultivos tradicionais tinham dificuldades, as batatas foram essenciais para o crescimento populacional. A cultura foi utilizada também na China para combater a fome desde a Dinastia Qing, entre os anos de 1644 e 1912. Sua introdução na agricultura trouxe prosperidade e melhorias significativas na produção de alimentos, já que a batata é uma fonte energética importante para as pessoas sobreviverem à fome e aos desastres (DONGYU, 2022; MONTALDO, 1984).

No Brasil, a batata foi introduzida pelos imigrantes alemães, em 1824, em São Leopoldo, RS, mas teve seu crescimento significativo com a introdução que ocorreu em 1858, em São Lourenço do Sul, RS, onde se tornou um alimento essencial para os colonos (EMBRAPA, 2023).

### 2.3 Características nutricionais e produção da batata

O tubérculo da batata é composto principalmente de água, representando cerca de 80% de sua composição. O segundo maior componente é dado pelos carboidratos, que correspondem a aproximadamente 16% do tubérculo, principalmente na forma de amido, além de uma pequena quantidade de açúcares simples, como glicose, frutose e sacarose, que representam entre 0,1% a 0,7% da sua composição. Esses carboidratos são convertidos em glicose pelo organismo após a hidrólise enzimática. As fibras constituem cerca de 1% a 2% do tubérculo e se concentram na pele ou casca. As proteínas representam aproximadamente 2% da composição da batata, sendo o maior teor de proteína entre as famílias de raízes e tubérculos. Além disso, as proteínas da batata possuem boa biodisponibilidade (SILVA, 2015; LUTALADIO; PRAKASH, 2010).

No Brasil, dependendo da região, podem ser realizadas três safras diferentes: safra das águas (de agosto a novembro), safra da seca (de janeiro a março) e safra de inverno (de maio a julho). A safra das águas é caracterizada pela presença de chuvas e pelo alto custo de produção devido à maior incidência de doenças. Já na safra de inverno, as produtividades são mais elevadas, embora seja necessário investir em irrigação. Recomenda-se realizar o plantio da batata preferencialmente durante o período de inverno ou em regiões de alta altitude, para compensar os efeitos negativos causados por altas temperaturas. Durante a safra de inverno, ocorre a concentração da maior parte da produção de batatas destinada à indústria, já que é nesse período que se obtêm as melhores produtividades e qualidade do produto. Muitos produtores dedicam-se exclusivamente a atender à demanda da indústria somente durante essa época. A área total da safra de inverno 2022 teve um aumento de 12% em comparação com o ano anterior. Esse crescimento foi impulsionado principalmente pelo aumento na área destinada à indústria de pré-fritas, que teve um incremento de 42%. Por outro lado, a área destinada ao mercado de mesa diminuiu 7% (CARDOSO; LUZ; LANA, 2015; HF BRASIL, 2022).

A batata é cultivada principalmente por meio do plantio de tubérculos-semente, que são pequenas batatas ou pedaços de batata que possuem as gemas (ou olhos) brotadas. O uso de tubérculos-semente para propagação aumenta o risco de disseminação de doenças. A qualidade e o vigor do tubérculo-semente são de grande importância para o sucesso do plantio. Tubérculos pequenos, livres de doenças, cultivados *in vitro* também podem ser utilizados, eliminando o risco de transmissão de doenças a partir dos tubérculos-semente. Os produtores têm enfrentado um aumento na incidência da doença, o que pode estar relacionado à utilização de batatas-semente contaminadas (SILVA, 2015).

A produção de batata-semente está em constante evolução, impulsionada pelo investimento em novas tecnologias. Esses avanços têm resultado em variedades mais produtivas e resistentes a doenças para o produtor (DESTEFANO et al., 2022; DIAS, 2006; ELZEBROEK; WIND, 2008). A propagação vegetativa contínua pode levar à degeneração do material de plantio devido ao acúmulo de patógenos ao longo das gerações. Com isso, é necessário renovar as sementes após cerca de duas ou três gerações, adquirindo batata-semente certificada, que passou por processos de limpeza e que atenda aos padrões de sanidade estabelecidos pelo Ministério da Agricultura e Pecuária (Mapa). De acordo com o CEPEA (2020), o custo do tubérculo-semente representa de 15% a 20% dos custos totais de produção, e a degeneração da batata-semente é considerada a principal causa de baixa produtividade, especialmente em países que utilizam sistemas de produção menos tecnológicos (CROMME et al., 2010; GILDEMACHER et al., 2009).

Por suas características nutricionais e versatilidade no modo de preparo, a batata tornou-se uma das principais hortaliças cultivadas no Brasil. Impulsionada pela globalização dos mercados e mudança nos hábitos alimentares da população, a cultura expandiu-se geograficamente. A procura por produtos processados de batata está em crescimento no país, devido, entre outros fatores, às transformações nos padrões alimentares e a necessidade de adquirir refeições instantâneas (FREITAS et al., 2006; PEREIRA, 2011). De acordo com características específicas, a cultivar é classificada como adequada para o mercado fresco ou processamento. A destinação depende de fatores como o teor de matéria seca, a coloração após a fritura e o formato do tubérculo.

Existe uma demanda no Brasil por novas variedades de batata que sejam adequadas para o processamento industrial na forma de batata frita, graças ao crescimento do setor industrial, que necessita de variedades que ofereçam melhor qualidade ao produto final e que sejam produtivas e adaptadas às condições de cultivo do país. As variedades mais utilizadas para esse mercado são de origem estrangeira, como Asterix e Markies para produção de palitos e Atlantic, de origem americana, para produção de *chips*. Essas variedades têm baixa adaptação e exigem muitos insumos e por vezes não proporcionando a qualidade adequada de matéria-prima para as indústrias (SHIMOYAMA, 2023; SILVA et al., 2020).

O maior teor de massa seca está associado à menor absorção de gordura durante a fritura, além de afetar a textura, o sabor e o rendimento de fritura das cultivares. Uma batata de qualidade para a indústria deve ter pelo menos 20% de teor de massa seca, mas valores superiores a 24% não são desejáveis. O teor de matéria seca é medido pelo peso específico dos tubérculos. Além disso, a qualidade da batata frita depende de tubérculos com baixa ocorrência

de defeitos fisiológicos e de uma coloração clara após a fritura. Os teores de glicose também devem ganhar atenção durante a seleção, já que são responsáveis pela coloração e pelo aroma da batata frita, onde o baixo teor de açúcar evita o escurecimento durante a fritura, que compromete a aparência e sabor (FENNEMA'S FOOD CHEMISTRY, 2017; OLIVEIRA et al., 2006; SILVA et al., 2020). Já no mercado de batata *in natura*, grande importância é dada, pelos consumidores, à aparência dos tubérculos, sendo necessária atenção a vários aspectos durante a seleção da batata (SOUZA et al., 2011; SILVA et al., 2019).

## 2.4 Melhoramento da batata

No processo de domesticação da batata, foram selecionadas plantas com estolões mais curtos, tubérculos maiores, frequentemente coloridos e com várias formas. Com relação à parte aérea das plantas, as espécies cultivadas e silvestres são bastante similares, evidenciando pouca seleção para estes caracteres. Entretanto, os tipos cultivados exibem maior vigor e uma grande segregação nos caracteres de flor e folhagem (SPOONER et al., 2005).

A bataticultura brasileira depende em grande parte de cultivares desenvolvidas em outros países, o que resulta em rendimentos menores devido a restrições de adaptação às condições edafoclimáticas do Brasil. Essas limitações incluem pouca adaptação ao fotoperíodo curto, solos ácidos, estresse hídrico, altas temperaturas, além de vulnerabilidade a pragas e doenças. Para alcançar altos níveis de produtividade, é necessário o uso intensivo de insumos, como fertilizantes, fungicidas e inseticidas. Em condições de menor fotoperíodo, as plantas de batata tendem a diminuir tanto o tamanho das plantas quanto o número de folhas, e como resultado a partição de fotoassimilados aos tubérculos. A massa das folhas da batata é um indicativo da área foliar e da capacidade fotossintética da planta e está positivamente relacionada com o peso dos tubérculos, que é o fator mais importante na avaliação da capacidade produtiva. Dessa forma, a obtenção de cultivares nacionais adaptadas às condições de cultivo nas diversas regiões produtoras brasileiras com resistência às principais enfermidades é a alternativa mais viável para tornar a cultura mais produtiva e rentável ao agricultor e estratégico para impulsionar o setor de cultivo de batatas (SILVA et al., 2018, 2019; VASCONCELLOS et al., 2019).

Comparado à Europa, que é o continente onde a maioria das cultivares que dominam o mercado provém, no Brasil as temperaturas são mais altas e a frequência de doenças vegetais é maior (PINTO; TEIXEIRA e NEDER, 2010). De acordo com Silva e Lopes (2015), a cultura da batata se adapta melhor em regiões com temperaturas em torno de 15 a 20 °C.

Temperaturas elevadas podem reduzir o rendimento e a matéria seca dos tubérculos, além de prejudicar o crescimento das raízes, que são fundamentais para a absorção de nutrientes. Os programas de melhoramento genético de batata no Brasil têm como um dos seus objetivos a obtenção de cultivares tolerantes às altas temperaturas (EMYGDIO et al., 2020; MCGUIRE 2015).

Devido à natureza tetraploide da cultura, um dos maiores desafios do melhoramento da batata é a avaliação de um grande número de progênies, derivadas de cruzamentos entre genitores superiores, nas etapas iniciais do programa. Essa avaliação inicial é realizada principalmente levando em consideração os caracteres que podem ser mais facilmente selecionados com base no fenótipo. Em razão do grande número de genótipos nos quais se pretende realizar a seleção, as avaliações, tanto em campo quanto em laboratório, exigem muito tempo e mão de obra para garantir uma seleção eficaz. Nas fases iniciais de seleção, ou seja, nas gerações um e dois, muitos clones são eliminados com base em características qualitativas, enquanto em estágios mais avançados, como nas gerações três e quatro, além das características qualitativas, uma série de características quantitativas também é avaliada em testes multi-locais e repetidos (SILVA et al., 2023; SILVA; PEREIRA, 2011).

Graças aos programas de melhoramento, dentre outros fatores, houve uma evolução da cultura da batata no Brasil, com um aumento da produção e produtividade nas últimas cinco décadas, acompanhado por uma redução da área plantada. No período de 1973 a 2021, a produção triplicou, enquanto a área cultivada diminuiu, passando de 188 mil hectares para 116 mil hectares. Isso ocorre porque a produtividade aumentou quase cinco vezes, passando de 6,98 t/ha para 33,10 t/ha. Para o ano de 2023, estimou-se um aumento na área cultivada (EMBRAPA, 2023; SHIMOYAMA, 2022).

Os programas de melhoramento desempenharam um papel importante na agricultura familiar e na segurança alimentar. Com programas de melhoramento mais robustos e colaborativos, foram criadas variedades mais competitivas, algumas das quais já se destacam no país, como a variedade Camila. Esses programas geraram melhorias no germoplasma nacional para enfrentar desafios bióticos e abióticos nas condições tropicais. No entanto, o aumento na produção global de batatas requer um constante desenvolvimento de novas variedades para satisfazer as demandas dos consumidores e dos produtores (BORTOLETTO; PEREIRA; SILVA, 2022; EMBRAPA, 2023; GOVINDARAJ; VETRIVENTHAN; SRINIVASAN, 2015).

## 2.5 Diversidade Genética

Variabilidade genética é a variação nos alelos dos genes ou variação nas sequências de DNA/RNA no conjunto gênico (*pool* gênico) de uma espécie ou população. Isso se expressa em formas alternativas do fenótipo (BHANDARI, 2017). Diversidade genética é a quantidade de variabilidade genética presente entre indivíduos de uma variedade ou população dentro de uma espécie, sendo o produto da recombinação do material genético durante o processo de herança, fluxo gênico, mutações e deriva genética (NEVO et al, 1984).

A diversidade genética é a principal força motriz para a seleção e evolução das espécies, sendo necessária para a manutenção de uma população, pois contribui para conservar diferentes genes que podem estar associados, por exemplo, à resistência a pragas, doenças e as mudanças ambientais, permitindo que os indivíduos se adaptem a variados estresses bióticos e abióticos (SALGOTRA, 2023).

Desde o início do melhoramento de plantas, a riqueza da variabilidade natural e das diferenças entre culturas no processo de melhoramento de espécies cultivadas tem sido reconhecida e aproveitada. A presença de diversidade genética dentro e entre espécies de plantas cultivadas permite aos produtores selecionarem genótipos superiores para serem usados diretamente como novas variedades ou para serem usados como progenitores na formação de híbridos (BHANDARI, 2017). Os melhoristas utilizam a diversidade genética vegetal para desenvolver novas cultivares, enfrentando desafios que afetam a segurança alimentar, a sustentabilidade e a adaptação destas plantas às mudanças climáticas (SWARUP, 2021). A progressão das plantas cultivadas, seja por meios naturais ou pela influência humana, é essencialmente fundamentada na ampla diversidade genética presente na população. Além disso, a domesticação ou seleção artificial favorece alguns alelos em detrimento de outros, resultando no aumento da frequência dos alelos selecionados. Conseqüentemente, a domesticação reduz a diversidade genética quando comparada com a diversidade encontrada na natureza (BHANDARI, 2017; REDDY, 2018).

A diversidade genética pode ser avaliada examinando as diferenças na sequência de DNA em uma população de indivíduos, através dos marcadores moleculares (SWARUP, 2021).

## 2.6 Marcadores Moleculares

Marcadores são características que podem ser identificadas e usadas para comparar diferentes genótipos. Em termos de caracterização, existem dois tipos de marcadores genéticos: o morfológico e o molecular. Em um primeiro momento, a caracterização e identificação tradicionais de variedades foram baseadas no uso de caracteres morfológicos. No entanto, o ambiente e a interação entre genes podem dificultar a avaliação desses marcadores, principalmente quando estão relacionados a características de plantas adultas. Muitos alelos exibem variação contínua e plasticidade fenotípica, o que torna a análise dos marcadores morfológicos mais desafiadora. A baixa quantidade de marcadores morfológicos também diminui a probabilidade de encontrar associações significativas entre esses marcadores e genes de importância (AZOFEIFA-DELGADO, 2006; BRAMMER, 2000; ZUCCHI, 2003).

Um marcador molecular é uma proteína, RNA ou seção da molécula de DNA que serve para monitorar a presença de polimorfismos (variação genética) usando técnicas laboratoriais, como a eletroforese ou cromatografia. Marcadores de DNA são baseados principalmente na análise de variações em pequenas sequências de DNA entre indivíduos. As técnicas utilizadas para isso são muito diversas e podem gerar marcadores dominantes ou codominantes, dependendo da possibilidade de distinguir ou não o genótipo heterozigoto dos homozigotos (AZOFEIFA-DELGADO, 2006; RODRÍGUEZ et al., 2019). A maioria dos cultivares de batata tem sido identificada por meio de características morfológicas, mas o ambiente pode alterar essas características significativamente. Por outro lado, os marcadores moleculares não são influenciados pelo ambiente (D'HOOP et al., 2014; TORABI-GIGLOU et al., 2015, 2020).

A escolha do tipo de marcador molecular depende de vários fatores, como o número de marcas requeridas no estudo, os recursos e infraestrutura disponíveis e as características do marcador, como ser ou não codominante, abundância e distribuição no genoma, transferabilidade entre laboratórios e espécies, etc. Porém, de forma geral, os marcadores moleculares possuem vantagens em relação aos marcadores morfológicos, como a capacidade de obter um grande número de polimorfismos genéticos, identificação direta do genótipo sem interferência do ambiente, possibilidade de detecção em diferentes estágios de desenvolvimento da planta ou em culturas de células ou tecidos, e a capacidade de fornecer uma maior quantidade de informações genéticas por loco. Esses marcadores podem ser utilizados em estudos com diversas finalidades, como para estimar a diversidade genética, grau de parentesco entre indivíduos e para identificação de variantes associados com fenótipos de herança simples em programas de melhoramento (FALEIRO, 2007; PARITA et al., 2018).

No início, a genotipagem de DNA era complexa e demorada, utilizando análise de fragmentos de restrição combinada com hibridização *Southern*. No final dos anos 80, a técnica de *Polymerase Chain Reaction* (PCR) revolucionou a genotipagem de DNA. Por meio da amplificação *in vitro* de sequências específicas do genoma, a genotipagem baseada em PCR permitiu a avaliação de polimorfismos por meio da separação eletroforética, tornando o processo mais rápido e acessível (NYBOM; WEISING; ROTTER, 2014).

A análise por PCR é um procedimento de replicação *in vitro* de sequências específicas de DNA. Essa replicação também é chamada de amplificação, já que milhões a bilhões de cópias da região alvo serão sintetizadas após 30-40 ciclos de PCR. Esta tecnologia utiliza sequências oligonucleotídicas, conhecidos também como *primers*, que iniciam a síntese de fragmentos de DNA de comprimentos distintos variando de aproximadamente 100 até 6 Kb. Essa análise utiliza geralmente dois iniciadores (*primers*), geralmente entre 10 e 30 pares de bases, complementares à sequência nucleotídica das extremidades do DNA alvo da amplificação. O método envolve a execução de uma série de ciclos térmicos, envolvendo a desnaturação do DNA à ~94 °C, a ligação do iniciador à cadeia desnaturada, normalmente à 45-65 °C, e a síntese de uma cadeia dupla através da ação de uma enzima DNA polimerase. A PCR utiliza a DNA polimerase extraída da bactéria *Thermus aquaticus*, que é capaz de polimerizar o DNA em altas temperaturas, sem desnaturar, tornando possível a amplificação do DNA em laboratório (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998; MÓSTIGA et al., 2019).

Os métodos baseados em PCR são amplamente procurados devido à sua simplicidade, confiabilidade e eficiência em termos de custo. Grande parte dos marcadores moleculares de DNA utilizados é baseada na técnica de PCR, como os RAPDs, SSRs, ISSRs, AFLPs (Polimorfismo de Comprimento de Fragmento Amplificado), SCARs (Região Amplificada Caracterizada por Sequência), SAMPLs (Loci Polimórficos de Microssatélites Amplificados Únicos), RAF (Amplificação Aleatória de Marcadores Fluorescentes) e DAMD (Amplificação Digital de Marcadores de DNA Aleatórios).

Hoje em dia, os marcadores mais amplamente utilizados para genotipagem incluem os SSRs e Polimorfismos de Nucleotídeo Único (SNPs) (BALI et al, 2017; PARITA et al., 2018; RAMAGE et al., 2004; SANGEETA et al., 2005). Os SSRs ou microssatélites são mais utilizados em aplicações que requerem poucos marcadores (dezenas a centenas). Já os SNPs são preferíveis em aplicações que requerem milhares a milhões de marcadores, uma vez que existem técnicas que permitem a genotipagem de grande quantidade de SNPs em paralelo e com alta eficiência. A detecção do polimorfismo em SSR é realizada por PCR e têm sido usada com sucesso inclusive em espécies poliploides como batata-doce e batata. Por serem

multialélicos e altamente polimórficos, os SSRs fornecem mais informações para estimar a diversidade genética do que outros marcadores moleculares (BOZ et al., 2011; DEVEY, 2005; TORABI-GIGLOU et al., 2020; WANG, 2019).

Os microssatélites são pequenas regiões altamente variáveis constituídas de um a seis pares de nucleotídeos repetidos muitas vezes em tandem. Essas regiões foram inicialmente estudadas no genoma humano (HAMADA; PETRINO; KAKUNAGA, 1982). Os microssatélites possuem características como herança co-dominante, natureza multialélica, abundância relativamente alta nos genomas eucariotos, hiper variabilidade, reprodutibilidade e boa cobertura genômica. Eles estão localizados em posições cromossômicas específicas e permitem fácil automação e genotipagem em sistemas multiplex com três até dez locos simultaneamente (JONES et al., 2009; OLIVEIRA V. et al., 2006; WALUNJKAR et al., 2013).

Os locos microssatélites estão distribuídos aleatoriamente por todo o DNA, podem estar presentes em várias partes do genoma e são altamente variáveis nos genomas de fungos, plantas e animais. Eles representam uma parte significativa dos genomas de eucariotos superiores e podem servir como marcadores genéticos altamente informativos por meio da amplificação por PCR seguida de eletroforese para a detecção de polimorfismos de comprimento. Devido à sua alta variabilidade, essas regiões são frequentemente utilizadas para medir o polimorfismo entre espécies ou variedades estreitamente relacionadas (MÓSTIGA et al., 2019; POWELL; MACHRAY; PROVAN, 1996). Para revelar os polimorfismos de comprimento por PCR são utilizados dois *primers* únicos compostos por pequenas sequências de nucleotídeos que flanqueiam o locus do microssatélite. Segundo Karaagac et al. (2014), as sequências dos *primers* geralmente são bem conservadas dentro e entre espécies relacionadas. Com isso, os primers microssatélites identificados em uma espécie também podem servir para a genotipagem do locus em espécies filogeneticamente próximas. Os produtos de amplificação obtidos de diferentes indivíduos podem ser separados em géis de alta resolução, como de poliacrilamida, ou capilares com solução polimérica viscosa para revelar os polimorfismos. As variações detectadas pelos SSRs são o resultado de alterações no número de unidades repetidas (DEVEY, 2005; POWELL; MACHRAY; PROVAN, 1996).

Marcadores SSR têm altas taxas de mutação, devido ao escorregamento da DNA polimerase durante a replicação do DNA, bem como a recombinações não homólogas na região microssatélite (ELLEGRÉN, 2004). Estes marcadores fornecem um alto número de alelos por marcador e, como são codominantes, a PCR das sequências SSR produz uma mistura de fragmentos de DNA de cada amostra sendo comparada. Como resultado da eletroforese em uma matriz de gel, os fragmentos são separados por tamanho, resultando em um padrão

característico, também chamado de impressão digital (fingerprint) molecular, composto pelas bandas (ou alelos) de cada amostra. Se os padrões de fingerprint de duas plantas diferem, as plantas não são cultivares idênticas ou seus clones não são autênticos, revelando a diversidade genética existente entre as amostras (BALI et al, 2017; MCGREGOR; GREYLING; WARNICH, 2000).

Uma grande vantagem do fingerprinting de DNA, em relação a uma caracterização com marcadores morfológicos, é que este pode ser realizado em estágios muito precoces de desenvolvimento, como folhas jovens, mini-tubérculo ou até folhas de material *in vitro*. A técnica de fingerprinting de SSR é um método amplamente utilizado por pesquisadores de batata para identificar cultivares. Os SSRs são transferíveis e reprodutíveis entre laboratórios e são os marcadores de escolha para espécies tetraploides devido à sua natureza codominante. As informações que os marcadores fornecem podem ser utilizadas em programas subsequentes de seleção e melhoramento (BALI et al, 2017; WANG; CHEE, 2010). Os marcadores SSR têm sido preferidos também devido à sua distribuição aleatória no genoma, alto nível de polimorfismo, simplicidade de uso, alta clareza e reprodutibilidade, baixo custo operacional, hiper-variabilidade, facilidade de automação, facilidade de multiplexação, a possibilidade do uso de DNA de baixa qualidade e os resultados podem ser armazenados e analisados facilmente (GHISLAIN et al., 2004; PRYSIAZHNIUK et al., 2022; REID et al., 2011; WANG, 2019). Estudos também mostram que os SSRs reduzem o número de marcadores necessários para diferenciar dois clones de batata (SALIMI et al, 2016; TILLAULT; YEVTUSHENKO, 2019; TIWARI et al, 2018). Mesmo no melhoramento tradicional, os marcadores moleculares podem ser ferramentas úteis para classificação do germoplasma e identificação de clones ou cultivares (YE et al., 2019).

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Material Genético

Foram utilizados 111 clones (Tabela 1) representativos do banco de germoplasma do programa de melhoramento de batata da Universidade Federal de Lavras (UFLA), o PROBATATA. Esses clones foram desenvolvidos ao longo dos anos pelo programa e são anualmente multiplicados, no campo, para conservação do germoplasma. Os clones foram plantados no Centro de Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Agropecuária da UFLA (CDCT) – Fazenda Muquém na cidade de Lavras - MG no início da safra de inverno de 2023.

Tabela 1 – Genótipos utilizados no estudo, com identificação dos seus respectivos genitores  
(Continua)

GENÓTIPOS UTILIZADOS	PARENTAL 1	PARENTAL 2
GMR03-54	VOYAGER	SR221-02
CMA385	OAS03-30	JUG02-20
GRO10-25	SR105-08	SR105-04
TSB08-12	CMA413	ANA
SIFRA	0	0
IRF12-34	SR257-02	SR250-02
BSS15-05	GMR03-58	GRM13-48
CTB16-24	CBM16-16	ESL02-18
SR304-30	CBM24-06	SR250-02
KCR10-02	VNS02-05	NES08-74
BSS17-02	SR319-24	SR332-09
BSS17-03	SR319-24	SR332-09
PRM309	CHIQUITA	SERRANA
CCF18-02	DGN21-03	ATLANTIC
OAS02-103	XY2	XY14
MOF06-04	0	0
GMR22-35	CAESAR	CBM04-48
GMR02-53	VOYAGER	CBM07-78
IRF09-18	SR257-02	SR250-04
CTB32-11	MONALISA	SR111-03
SR107-08	CBM16-16	ATLANTIC
GMR01-21	MONALISA	CBM07-78
MOF02-03	0	0
MOF03-18	0	0
CBM24-06	DTO28	LT9
CBM02-03	LT7	ARACY
VNS02-03	NES01-08	FONTANE
GRO01-03	SR104-01	SR104-19
GMR13-48	MARKIES	CBM07-78
IND07-53	ATLANTIC	DESIREE
GRO14-14	CBM07-12	GOVERNSTEIN

Tabela 1 – Genótipos utilizados no estudo, com identificação dos seus respectivos genitores  
(Continuação)

GENÓTIPOS UTILIZADOS	PARENTAL 1	PARENTAL 2
CCF11-02	GRO18-09	DGN21-03
CCF05-12	DGN40-02	SR104-06
SR230-03	SR235-06	CBM07-78
GMR12-02	MARKIES	CBM22-19
GMR14-14	MARKIES	CBM4-48
OGC06-52	LOP868(CIP702853)	CMA57
IRF10-44	SR250-02	CBM22-19
CCF13-16	RVS11-03	DGN21-03
GMR24-15	CUPIDO	SR250-02
BSS16-02	SR319-34	SR319-28
KCR02-03	NES08-74	GRO02-06
VNS01-09	NES01-08	SINORA
IRF31-05	CBM24-06	SR235-05
CBM07-78	LT7	EPAMIG76-0580
CBM19-11	LT8	BARAKA
CCF04-03	DGN40-02	SR107-40
TSB02-07	CMA314	ANA
BSS13-01	GMR17-40	SR332-09
IRF14-31	SR250-02	SR235-05
CCF32-07	DGN40-02	BACONCHIEPIER
GMR17-40	VIVALDI	SR235-02
MOF05-22	0	0
CTB27-38	ASTERIX	CBM22-19
IND01-03	RVS10-09	RVS10-06
SR250-04	CBM16-16	ESL02-18
CBM19-39	LT8	BARAKA
SR332-04	CBM24-06	CBM22-19
CCF31-05	DGN21-03	BACONCHIEPIER
IND08-32	OAS02-103	RVS20-06
MLG03-03	CMA370	MONALISA
CTB33-03	MONALISA	SR104-19
VNS01-17	NES01-08	SINORA
MOF13-31	0	0
IRF06-46	SR107-40	SR235-06
MOF07-26	0	0
GRO02-06	SR104-01	SR105-08
FEIRA_DO_DIVINO	0	0
TSB11-18	CBM09-10	ANA
SR106-14	CBM04-16	CBM11-03
DSM24-06	PRM530	CLAUSTAR
CMA370	OAS03-30	JUG02-20
MOF01-18	0	0
JUG02-20	XY9	XY13
GMR03-15	VOYAGER	SR221-02
KCR02-01	GRO02-06	VNS01-17
MLG04-44	CMA37	MONALISA
NES08-74	MONALISA	IBITU
IRF02-12	SR250-02	CBM07-78
GSI05-33	PRM466	CBM26-22
E._FELIZ	0	0
CTB32-26	MONALISA	SR111-03

Tabela 1 – Genótipos utilizados no estudo, com identificação dos seus respectivos genitores  
(Conclusão)

GENÓTIPOS UTILIZADOS	PARENTAL 1	PARENTAL 2
GMR12-10	MARKIES	CBM22-19
TSB11-04	CBM09-10	ANA
MLG09-26	CMA346	CAESAR
CTB11-26	MARKIES	SR104-19
KCR09-13	VNS01-16	GRO02-06
CCF22-02	DGN21-03	FL18-67
CCF31-09	DGN21-03	BACONCHIEPIER
CCF04-16	DGN40-02	SR107-40
CCF01-04	GRO18-09	DGN40-02
CCF01-20	GRO18-09	DGN40-02
CCF12-11	SR107-40	DGN21-03
CCF22-10	DGN21-03	FL18-67
CCF32-04	DGN40-02	BACONCHIEPIER
CCF18-04	DGN21-0	ATLANTIC
CCF23-01	DGN40-02	HARLEYBACKWELL
CCF02-05	DGN40-02	DGN21-03
CCF02-18	DGN40-02	DGN21-03
CCF24-13	DGN21-03	HARLEYBACKWELL
CCF20-04	FL18-67	SR104-06
CCF25-03	FL20-27	DGN40-02
CCF25-06	FL20-27	DGN40-02
CCF25-08	FL20-27	DGN40-02
CCF21-15	ATLANTIC	DGN40-02
CCF21-03	ATLANTIC	DGN40-02
CCF02-19	DGN40-02	DGN21-03
CCF03-09	DGN40-02	SR257-02
ASTERIX	0	0
AGATA	0	0
ATLANTIC	0	0

Fonte: Do autor.

### 3.2 Extração do DNA

A extração de DNA foi realizada a partir de folhas jovens de batata, com o protocolo descrito por Doyle e Doyle (1987), contendo as seguintes modificações: a) As concentrações de polivinilpirrolidona (PVP) e de brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB) foram de 1% e 2%, respectivamente; b) Foram realizadas três etapas de desproteinização com a adição de clorofórmio e álcool isoamílico (CIA) na proporção 24:1; c) Eliminação da etapa de precipitação overnight, adicionando-se 1 volume de álcool isopropílico gelado e 1/3 do volume de acetato de amônio (7,5M).

As amostras foram quantificadas em Espectrofotômetro NanoDrop (Thermo Fisher) e a integridade do DNA foi determinada em gel de agarose, corado com brometo de etídio, com as imagens capturadas sob luz ultravioleta.

### 3.3 Primers

Os 22 primers escolhidos (Tabela 2) já foram utilizados com sucesso em outros trabalhos com batata (GHISLAIN, 2004; SHARMA; NANDINENI, 2014). Estes locos foram selecionados como sendo os mais informativos por meio do valor de PIC (*polymorphic information content*) estimados nestes estudos prévios.

Tabela 2 – Primers microssatélites a serem utilizados para genotipagem dos clones de batata

SSR Loci	Forward Sequence (5'-3')	Reverse Sequence (5'-3')	T. A.
STG0001 <sup>a</sup>	CGATCTCTGCTTGCAGGTA	G TTCATCACTACCGCCGACT	55
STG0016 <sup>a</sup>	AGCTGCTCAGCATCAAGAGA	ACCACCTCAGGCACTTCATC	59
StI014 <sup>a</sup>	AGAAACTGAGTTGTGTTGGGA	TCAACAGTCTCAGAAAACCCTCT	55
StI004 <sup>a</sup>	GCTGCTAAACACTCAAGCAGAA	CAACTACAAGATTCCATCCACAG	59
StI012 <sup>a</sup>	GAAGCGACTTCCAAAATCAGA	AAAGGGAGGAATAGAAACCAAAA	58
StI032 <sup>a</sup>	TGGGAAGAATCCTGAAATGG	TGCTCTACCAATTAACGGCA	55
StI033 <sup>a</sup>	TGAGGGTTTTTCAGAAAGGGA	CATCCTTGCAACAACCTCCT	58
STM0030 <sup>a</sup>	AGAGATCGATGTAAAACACGT	GTGGCATT TTTGATGGATTR	59
STM0037 <sup>a</sup>	AATTTAACTTAGAAGATTAGTCTC	ATTGGTTGGGTATGATA	59
STM1105 <sup>a</sup>	AAACCTGCTACAAATAAGGC	CAGAAATAATTGGAGGAGATG	58
STM1106 <sup>a</sup>	TCCAGCTGATTGGTTAGGTTG	ATGCGAATCTACTCGTCATGG	58
		ATGGCGTAATTTGATTTAATACGTA	
STM1052 <sup>a</sup>	CAATTCGTTTTTTCATGTGACAC	A	58
STM1055 <sup>a</sup>	CACAACCAACAAGGTAAATG	TGTGTTAGACACCTTATTACTACG	58
STM1064 <sup>a</sup>	GTTCTTTTGGTGGTTTTCT	TTATTTCTCTGTTGTTGCTG	56
STM3012 <sup>a</sup>	CAACTCAAACCAGAAGGCAAA	GAGAAATGGGCACAAAAACA	58
STM5127 <sup>a</sup>	TTCAAGAATAGGCAAAACCA	CTTTTCTGACTGAGTTGCCTC	58
STWAX-2 <sup>a</sup>	CCCATAATACTGTGATGAGCA	GAATGTAGGGAAACATGCATGA	58
STM1104 <sup>b</sup>	TGATTCTCTTGCTACTGTAATCG	CAAAGTGGTGTGAAGCTGTGA	57
STM0019 <sup>b</sup>	AATAGGTGACTGACTCTCAATG	TTGAAGTAAAAGTCCTAGTATGTG	47
STM1049 <sup>b</sup>	CTACCAGTTTGTGATTGTGGTG	AGGGACTTTAATTGTTGGACG	57
STM1016 <sup>b</sup>	TTCTGATTTTCATGCATGTTTCC	ATGCTTGCCATGTGATGTGT	53
STGBSS <sup>b</sup>	AATCGGTGATAAATGTGAATGC	ATGCTTGCCATGTGATGTGT	53

T.A.: temperatura de anelamento; <sup>a</sup> Microssatélites desenvolvidos por GHISLAIN (2004); <sup>b</sup> Microssatélites desenvolvidos por SHARMA e NANDINENI (2014)

Fonte: Do autor.

Esses 22 locos microssatélites foram amplificados, via PCR, em um screening inicial com três amostras de DNA de batata. Os resultados dessa PCR para screening foram visualizados inicialmente em gel de agarose 1%, a 100 V e 60 min, corado com brometo de etídio. Os marcadores microssatélites que amplificaram com sucesso, foram utilizados posteriormente em gel de poliacrilamida.

A amplificação e o número de bandas polimórficas foram avaliados em gel de poliacrilamida 10%, corados com azul de bromofenol. Os seis primers que demonstraram mais

bandas polimórficas visíveis foram: STG0016, STL014, STM0030, STM1064, STM3012, STM5127. Embora o primer STM0030 tenha demonstrado amplificação de bandas polimórficas, ele parou de funcionar após algum tempo de uso, possivelmente devido a algum tipo de degradação. Então foram utilizados os cinco primers restantes (STG0016, STL014, STM1064, STM3012, STM5127) para a genotipagem de todos os 111 clones de batata.

### 3.4 PCR

Foi utilizada a enzima HOT FirePol DNA Polymerase, utilizando o protocolo padrão do kit. As condições de PCR para os loci foram: uma desnaturação inicial a 95 °C por 7 min, seguida de 32 ciclos contendo as seguintes etapas: 94 °C por 30 s, anelamento dos primers com temperaturas variando de 45 a 55 °C (dependendo do primer, conforme tabela 1) por 55 s, e extensão a 72 °C por 45 s. Em seguida, foram realizados mais oito ciclos com os seguintes passos: 94 °C por 30 s, 53 °C por 45 s e 72 °C por 45 s. Após esses 40 ciclos, foi realizado uma extensão final a 72 °C por 15 min (SHARMA; NANDINENI, 2014).

### 3.5 Genotipagem e caracterização da variabilidade genética

Devido à pequena diferença de tamanho entre os alelos, foi necessário utilizar géis de poliacrilamida, pois estes possuem resolução de 1pb, maior do que o gel de agarose (ALBERTS, 2017). Os fragmentos foram separados em gel de poliacrilamida 10%, corados com azul de bromofenol, com eletroforese a 200 V em tampão TBE, por um período de 4 horas.

Como a batata é um tetraploide e a genotipagem via eletroforese não permite a dosagem alélica, cada alelo microssatélite foi genotipado quanto a sua presença ou ausência como um marcador dominante, conforme realizado na literatura (FAVORETTO, 2009; GHEBRESLASSIE et al., 2016). Sendo assim, utilizando o gel de poliacrilamida e o fotodocumentador para discriminar as bandas, os alelos em qualquer locus foram classificados como presença (1) ou ausência (0) e os dados genotípicos foram inseridos em uma tabela binária.

Com base nos resultados, a matriz de similaridade de Jaccard foi obtida e transformada em distância pelo seu complemento. Essas análises foram realizadas no programa R (R CORE TEAM, 2013), pelo pacote ade4 (DRAY e DUFOUR, 2007). A distância foi utilizada para gerar um dendrograma com o método de agrupamento UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean*). Além disso, as distâncias entre os clones de batata também foram

visualizadas em um gráfico de dispersão com os dois primeiros componentes principais, obtidos pelo pacote ape (PARADIS e SCHLIEP, 2019) também no programa R.

A diversidade genética presente na população avaliada foi estimada com base na heterozigosidade esperada ( $H_e$ ). Além disso, também foi estimado o PIC, que demonstra efetivamente o poder dos marcadores SSR para avaliação da variação genética entre cultivares de batata (GHEBRESLASSIE et al., 2016). Quanto maior o PIC, mais informativo é o locus marcador (XIAOYAN et al., 2016; XU et al., 2008).

Para marcadores dominantes em indivíduos poliplóides, o valor do PIC indica a probabilidade de encontrar o mesmo marcador em dois estados diferentes (presente/ausente) em dois indivíduos selecionados aleatoriamente de uma população. Em marcadores monomórficos seu valor é 0, já em marcadores com presença e ausência em 50% dos indivíduos o PIC é igual a 0,5. Em marcadores dominantes, com apenas dois alelos possíveis conforme genotipado neste trabalho, a definição do PIC é igual à heterozigosidade, sendo calculada por:

$$PIC = 1 - (p^2 + q^2)$$

Onde  $p$  e  $q$  são a frequência da presença e ausência da banda, respectivamente (SERROTE et al., 2020).

A análise da estruturação genética foi realizada com o auxílio do programa Structure, que utiliza uma abordagem bayesiana para analisar a composição genética das populações admitindo a possibilidade de miscigenação (via fluxo gênico ou hibridação) entre populações distintas (PRITCHARD et al., 2000). Por meio da análise dos resultados do programa Structure é possível estabelecer qual é o número ideal de subpopulações ( $K$ ) que melhor explica eventuais diferenças entre as subpopulações de clones de batata (BHARDWAJ et al., 2023). O programa Structure Selector foi utilizado para selecionar e visualizar o número ideal de populações geneticamente distintas (clusters  $K$ ) usando múltiplos métodos (LI e LIU, 2018).

#### 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente estudo, visando medir a diversidade genética e estruturação de populações de melhoramento de batata, utilizamos cinco primers. O número de marcadores utilizados em estudos pode ser variável, de acordo com o objetivo do mesmo. Por exemplo, Tiwari et al. (2020) utilizaram dois marcadores microssatélites visando desenvolver impressões digitais de DNA de progênies de batata. Eles detectaram que, com apenas dois primers, foi possível distinguir de forma clara os 81 genótipos analisados. Rahman et al. (2022) desenvolveram uma impressão digital de DNA de 12 cultivares de batata cultivadas em Punjab, Paquistão, usando 214 marcadores microssatélites. É possível sugerir que o aumento do número de primers pode ser benéfico para aumentar a probabilidade de obtenção de resultados mais confiáveis.

Nesse estudo, os cinco marcadores microssatélites utilizados resultaram em 15 alelos (ou bandas) polimórficos, com uma média de 3 alelos por locus. Essa média de alelos por locus é inferior aos valores encontrados em outros trabalhos utilizando microssatélites em batata. Favoretto et al. (2009) encontraram cinco alelos por locus ao trabalhar com 108 acessos de batata provenientes de diversas regiões do Brasil, pertencentes a três grupos distintos: cultivares comerciais, clones em fase de desenvolvimento e clones de cultivo orgânico. Por se tratar de três grupos distintos, é esperado que as características de cada um desses grupos sejam diferentes. Consequentemente, os alelos identificados em cada grupo tendem a divergir, aumentando as chances de polimorfismo e o número de alelos amostrados.

Wang Ying et al. (2019) encontraram 5,8 alelos por locus utilizando 30 marcadores em uma população contendo 292 genótipos (incluindo linhas estrangeiras elite, variedades tradicionais locais e cultivares). Novamente é possível observar que a diversidade de material utilizado é maior do que a de uma população de melhoramento, como a desse estudo. Salimi et al. (2016) também encontraram maior diversidade, com 6,22 alelos por locus microssatélite, avaliando as relações genéticas entre genótipos de batata originários de diferentes regiões geográficas.

Rocha et al. (2010) encontraram uma média de 6,8 alelos por locus utilizando 21 marcadores microssatélites, em uma amostra de apenas 16 cultivares de batata cedidas pela empresa Multiplanta Tecnologia Vegetal Ltda. Este valor é maior do que o encontrado nos outros estudos apontados, apesar de se tratar de uma população comercial, demonstrando uma divergência em relação aos resultados anteriores.

Liao e Guo (2014) identificaram 12 alelos por microssatélite ao genotipar 85 cultivares de batata do Instituto de Pesquisa de Tubérculos e Raízes da Universidade Agrícola de Yunnan,

em Kunming, China. Este estudo envolveu uma população de melhoramento oriunda de uma universidade, destacando-se como a de maior média de alelos por locus entre os trabalhos revisados.

A partir das 15 bandas, foi elaborada uma tabela binária (Tabela 3) que funciona como uma impressão digital para cada clone, nos locais correspondentes aos marcadores. Essa impressão digital é uma ferramenta eficaz para discriminar entre diferentes clones de batata, permitindo a identificação precisa e confiável. Ela é útil para monitorar a pureza dos clones e garantir a autenticidade de variedades específicas. Além disso, pode servir para proteger a propriedade intelectual de novas variedades desenvolvidas.

Tabela 3 – Tabela binária com os 111 clones de batata em cada uma das 15 bandas, representadas pelas letras de A até O

(Continua)

Clones	Bandas														
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O
GMR03-54	0	0	1	1	1	0	1	1	0	0	1	0	0	1	1
CMA385	0	0	1	0	1	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0
GRO10-25	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1
TSB08-2	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	1	1
SIFRA	0	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	1
IRF12-34	0	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	-	-	-	-
BSS15-05	0	0	1	1	1	0	1	1	0	1	1	0	0	1	1
CTB16-24	0	0	1	1	0	1	1	1	0	1	1	0	0	1	1
SR304-30	1	1	1	0	0	0	1	-	-	-	1	0	0	1	1
KCR10-02	1	0	1	1	1	0	1	-	-	-	1	0	0	1	1
BSS17-02	0	0	1	1	1	0	1	1	1	0	0	1	1	0	1
BSS17-03	0	1	1	0	1	0	1	1	1	0	0	1	1	1	1
PRM309	1	1	1	0	0	0	1	0	0	1	1	-	-	-	-
CCF18-02	0	0	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1
OAS02-03	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1
MOF06-04	0	0	1	1	1	1	1	-	-	-	0	0	0	1	1
GMR22-35	1	0	1	1	1	0	1	1	0	1	0	0	0	1	1
GMR02-53	1	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1
IRF09-8	1	0	1	0	1	0	1	1	0	1	1	-	-	-	-
CTB32-1	0	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	-	-	-	-
SR107-08	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	-	-	-	-
GMR01-21	1	0	1	1	1	1	1	0	1	0	0	1	0	1	0
MOF02-03	0	0	1	1	1	0	1	-	-	-	0	1	0	1	1
CBM02-03	0	1	1	1	-	-	-	0	0	1	1	1	1	1	1
CBM24-06	0	1	1	0	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1
VNS02-03	1	0	1	0	-	-	-	0	0	1	1	0	0	1	1
GRO01-03	0	0	1	1	-	-	-	0	0	0	1	1	0	1	1
MOF03-8	0	1	1	1	1	1	0	-	-	-	0	1	0	1	1

Tabela 3 – Tabela binária com os 111 clones de batata em cada uma das 15 bandas, representadas pelas letras de A até O

(Continuação)

Clones	Bandas														
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O
CBM24-06	0	1	1	0	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1
VNS02-03	1	0	1	0	-	-	-	0	0	1	1	0	0	1	1
GRO01-03	0	0	1	1	-	-	-	0	0	0	1	1	0	1	1
GMR13-48	0	0	1	1	-	-	-	0	0	1	1	1	0	1	1
IND07-53	0	1	1	0	0	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1
GRO14-4	0	0	1	0	1	0	1	0	0	1	1	1	0	1	1
CCF11-02	1	0	1	1	1	0	1	1	0	0	1	1	0	1	0
CCF05-2	0	0	1	1	0	1	1	-	-	-	1	1	0	1	0
SR230-03	1	0	1	1	0	0	1	-	-	-	0	1	1	1	1
GMR12-02	0	1	1	0	1	0	1	-	-	-	1	1	1	1	1
GMR14-4	0	1	1	0	-	-	-	0	0	0	1	1	0	1	0
OGC06-52	0	1	1	1	-	-	-	1	1	0	0	0	0	1	1
IRF10-44	0	1	1	1	-	-	-	0	0	1	0	1	1	1	1
CCF13-6	0	1	1	0	-	-	-	0	0	0	1	0	0	0	1
GMR24-5	0	1	1	0	1	0	1	0	0	1	1	1	1	1	1
BSS16-02	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1
KCR02-03	1	0	1	0	0	1	1	1	0	0	0	1	0	1	1
VNS01-09	0	1	1	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	1	1
IRF31-05	0	1	1	0	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	1
CBM07-78	0	0	1	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0
CBM19-1	1	1	1	0	-	-	-	1	0	0	0	1	0	1	0
CCF04-03	1	1	1	1	-	-	-	0	0	0	1	0	0	1	1
TSB02-07	0	0	1	0	1	0	1	1	1	0	1	-	-	-	-
BSS13-01	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	1	1
IRF14-31	1	1	1	0	0	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1
CCF32-07	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1
GMR17-40	1	1	1	0	1	1	1	0	0	0	0	1	1	1	1
MOF05-22	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	0	0	1	1
CTB27-38	1	0	1	1	-	-	-	0	0	0	1	1	1	1	1
IND01-03	1	0	1	1	-	-	-	1	1	0	0	0	0	1	1
SR250-04	0	1	1	0	-	-	-	1	1	0	1	1	1	1	1
CBM19-39	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	1	0	1	1
SR332-04	1	0	1	1	1	1	1	0	0	1	0	1	1	1	1
CCF31-05	1	1	1	0	1	0	1	1	1	0	1	-	-	-	-
IND08-32	0	1	1	1	1	1	1	0	0	1	0	1	0	1	1
MLG03-03	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1
CTB33-03	-	-	-	-	1	1	1	0	0	1	0	-	-	-	-
VNS01-7	1	0	1	1	0	1	1	0	0	0	1	1	0	1	1
MOF13-31	1	1	1	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	1	1
IRF06-46	1	1	1	1	1	0	1	0	1	1	1	-	-	-	-
MOF07-26	1	0	1	1	1	0	1	1	0	1	1	-	-	-	-
GRO02-06	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	1	1
FEIRA	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	0	1	1
TSB11-8	1	0	0	1	1	0	1	0	0	0	1	0	0	1	1
SR106-4	1	1	1	0	1	0	1	0	1	0	1	-	-	-	-
DSM24-06	1	1	1	0	1	1	1	0	1	0	1	0	0	1	0
CMA370	1	0	1	1	1	1	1	0	1	0	1	-	-	-	-
MOF01-8	0	1	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	1	1
JUG02-20	0	1	1	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0	1

Tabela 3 – Tabela binária com os 111 clones de batata em cada uma das 15 bandas, representadas pelas letras de A até O

(Conclusão)

Clones	Bandas														
GMR03-5	1	0	1	1	1	0	1	1	0	0	1	0	0	1	1
KCR02-01	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	1	1
MLG04-44	1	1	1	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	1
NES08-74	1	0	1	1	1	0	1	1	0	0	0	1	0	1	1
IRF02-2	0	0	1	1	1	0	1	1	0	0	1	1	0	1	1
GSI05-33	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1	1
E_FELIZ	0	1	1	1	1	0	1	0	1	1	0	-	-	-	-
CTB32-26	0	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0	-	-	-	-
GMR12-0	1	1	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1
TSB11-04	1	1	1	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	1	1
MLG09-26	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	0	0	0	1	1
CTB11-26	0	1	1	0	-	-	-	1	0	1	0	0	0	1	0
KCR09-3	1	1	1	0	1	0	1	1	0	1	1	0	0	0	1
CCF22-02	0	0	1	1	1	1	1	0	0	1	1	0	0	1	1
CCF31-09	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	1	0	0	1	1
CCF04-6	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	-	-	-	-
CCF01-04	1	1	1	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0
CCF01-20	0	1	1	1	0	1	0	1	0	1	1	0	0	1	1
CCF12-1	0	1	1	0	1	1	1	1	0	1	1	0	0	1	0
CCF22-0	0	0	1	1	-	-	-	0	0	0	0	0	0	1	1
CCF32-04	0	0	1	1	-	-	-	1	1	0	1	1	0	1	1
CCF18-04	0	1	1	0	0	1	1	0	0	0	1	1	0	1	1
CCF23-01	-	-	-	-	1	1	1	0	0	1	1	1	0	1	1
CCF02-05	-	-	-	-	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1
CCF02-8	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	1	0	0	1	0
CCF24-3	0	0	1	1	-	-	-	0	0	0	1	1	0	1	1
CCF20-04	0	1	1	1	-	-	-	1	1	1	1	1	0	1	1
CCF25-03	1	0	1	1	-	-	-	1	0	1	1	1	0	1	1
CCF25-06	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	1	1
CCF25-08	1	0	1	1	0	1	1	0	0	0	1	1	0	1	1
CCF21-5	1	0	1	0	1	1	1	0	0	0	1	0	0	1	1
CCF21-03	0	1	1	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0	1	1
CCF02-9	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	1	1
CCF03-09	-	-	-	-	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
ASTERIX	1	0	1	1	1	1	1	0	0	0	1	1	0	1	1
AGATA	0	1	1	1	1	0	1	0	0	1	1	1	0	1	1
ATLANTIC	1	1	1	1	1	0	1	1	0	0	1	0	0	1	1

As bandas A, B, C e D foram amplificadas com o primer STG0016 e possuem 160 pb, 150 pb, 148 pb e 146 pb, respectivamente. As bandas E, F e G vieram do primer STM5127 e possuem 291 pb, 270 pb e 248 pb. O primer STM1064 produziu as bandas H, I e J com 233 pb, 221 pb e 209 pb. A banda K veio do primer STM3012 e possui 250 pb. As bandas L, M, N e O vieram do primer STI014 e possuem 157 pb, 143 pb, 129 pb e 127 pb. O símbolo '-' representa os dados faltantes.

Fonte: Do autor.

A heterozigosidade esperada no presente trabalho foi de 0,346. A  $H_e$  mede a probabilidade de um indivíduo ser heterozigoto com base nas frequências alélicas da população (SERROTE et al., 2020), com 0,5 sendo o valor máximo da  $H_e$ , nós consideramos que o valor

obtido no trabalho demonstra uma probabilidade alta dos indivíduos serem heterozigotos no local do marcador. Ghebresslassie et al. (2016) obtiveram um valor médio da heterozigosidade esperada de 0,21 em um estudo com 63 clones de batata (51 de agricultores e 12 variedades) da Eritreia, 18 variedades do Quênia e 12 de Ruanda, caracterizados com 12 marcadores de microssatélites. Mesmo com o valor de heterozigosidade mais baixo, que no presente estudo, os autores conseguiram demonstrar que as amostras da Eritreia tinham uma maior diversidade que as demais.

Berdugo-Cely et al. (2017), em um estudo com dois grupos, encontraram uma  $H_e$  de 0,267 para o grupo Phureja (diploide) e de 0,319 para o grupo Andigena (tetraploide). Eles utilizaram a Coleção Central Colombiana, uma das mais importantes coleções de germoplasma de batata do mundo. O estudo demonstrou que essa coleção possui uma alta diversidade genética e fenotípica, sendo útil para identificar genes relacionados a características de interesse e para auxiliar futuros programas de melhoramento genético da batata. Mesmo não utilizando SSR (multialélicos), mas SNPs (bialélicos), o estudo evidenciou uma alta diversidade genética.

Considerando esses dois trabalhos, onde a  $H_e$  foi mais baixa do que no presente estudo, e ainda assim eles conseguiram encontrar diversidade genética suficiente para atender seus objetivos, podemos considerar que a  $H_e$  de 0,346 não é baixa.

No presente estudo, os valores de  $H_e$  são iguais aos de PIC, já que os alelos dos SSRs foram genotipados separadamente, quanto sua presença ou ausência. Portanto, neste estudo  $PIC = 0.346$ . Salimi et al. (2016), utilizando 25 SSRs e 47 genótipos de batata da América, Europa e do Irã, obtiveram um valor médio do PIC de 0,42, os autores indicaram que os marcadores SSR utilizados tem poder discriminatório.

Alguns autores expressaram o valor de PIC como uma porcentagem em relação ao máximo possível com dois alelos ( $H_e = PIC = 0,5$ ). A título de comparação, o PIC de 0,346 do nosso trabalho corresponde a 69,2% dos 0,5 possível com os dois estados (presença/ausência). Xiaoyan et al. (2016) utilizaram 192 cultivares diplóides de batata e obtiveram uma média de PIC de 74,77%. Cinquenta e cinco primers iniciais foram testados, e, entre eles, 12 marcadores SSR com alto polimorfismo foram escolhidos para avaliar a diversidade genética das 192 cultivares de batata diploide. Pode-se sugerir que a seleção dos melhores primers, após testar um grande número deles, contribuiu para o aumento do valor do PIC. No entanto, é importante notar que o valor obtido por Xiaoyan et al. não é muito diferente do nosso trabalho.

Liao e Guo (2014), com 24 SSR genotipados em 85 cultivares, obtiveram um PIC de 86,47%. Segundo os autores, esse alto polimorfismo indica que todos os marcadores selecionados foram bons indicadores da diversidade genética dos acessos.

Por meio dessas comparações, nota-se que o valor médio do PIC do nosso trabalho é, relativamente, menor. Mesmo testando 23 primers inicialmente, foram poucos os primers polimórficos para nosso material genético, refletido no valor do PIC. A maior parte dos marcadores SSR testados apresentaram muitas bandas monomórficas e foram descartados.

As distâncias genéticas (complemento do índice de similaridade de Jaccard) foram representados por um dendrograma circular (Figura 1). Por uma inspeção visual não se detectou a formação de grupos claramente distintos. Sendo assim consideramos que todos os indivíduos pertencem a uma única população. Ao contrário do nosso resultado, Tiwari et al. (2020), com 2 primers microssatélites visando desenvolver impressões digitais de DNA de progênies de batata, mostrou uma distinção clara entre os genótipos com base no coeficiente de dissimilaridade de Jaccard, com a formação de sete grupos distintos.

Salimi et al. (2016), utilizando 25 SSRs e 47 genótipos de batata da America, Europa e do Iran obteve com o dendrograma UPGMA, construído com base no coeficiente de similaridade de Jaccard, que as batatas americanas e europeias foram agrupadas de acordo com sua distribuição geográfica. O genótipo iraniano, juntou-se a um grupo com um genótipo americano.

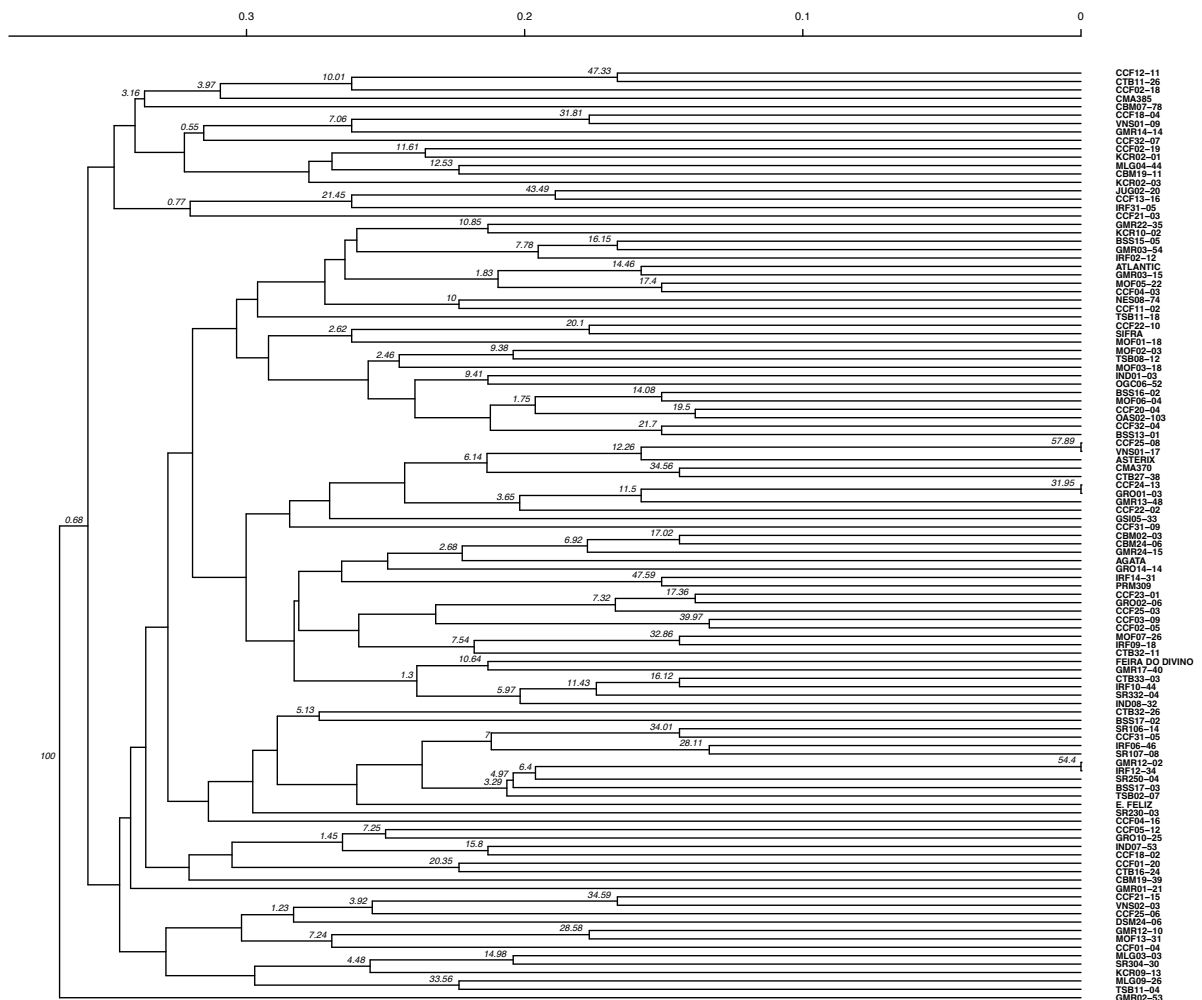
Castro et al. (2008), genotiparam 12 loci SSR em 18 cultivares de batata, sendo 14 de origem brasileira, desenvolvidas por programas de melhoramento genético do Sul do Brasil, três europeias e uma americana. Com base no coeficiente de Jaccard, os genótipos foram agrupados pelo método UPGMA e formaram, segundo os autores, seis grandes grupos. Os autores conseguiram discriminar e caracterizar cultivares de batata que apresentam genitores em comum na sua origem.



(CHUNG et al., 2019). Valores altos de bootstrap sugerem clusters consistentes, ou seja, que independem dos marcadores reamostrados (BINHIMD et al., 2022).

A partir do dendrograma (Figura 2), podemos observar, pelos valores de bootstrap, que somente dois grupos apresentaram consistência nas reamostragens: um composto apenas pelo clone GMR02-53 e outro com os demais clones. Esse resultado indica que a população não se apresenta geneticamente estruturada, já que todos os clones, com exceção do GMR02-53, foram agrupados juntos. Dentro desse grande grupo, todos os nós apresentam valores de bootstrap baixos, indicando uma baixa confiabilidade na formação de grupos distintos.

Figura 2 – Dendrograma indicando as distâncias genéticas entre os 111 clones de batata e os valores de consistência dos nós, obtidos por 10.000 bootstraps, para os diferentes grupos gerados pelo método UPGMA. O dendrograma possui correlação cofenética de 0,62, significativa ( $p < 0,001$ ) pelo teste de Mantel.



Fonte: Do autor.

Não foram encontrados indícios que distinguíssem o clone GMR02-53 dos demais, como demonstrado na Tabela 1, o clone GMR02-53 tem como parental 1 o clone VOYAGER

e como parental 2 o clone CBM07-78. VOYAGER aparece como parental de outros três clones (GMR03-54, GMR02-53, GMR03-15), enquanto CBM07-78 aparece como parental de outros quatro clones (GMR01-21, GMR13-48, SR230-03, IRF02-12). Apesar da paternidade compartilhada, esses clones meios-irmãos não foram agrupados juntos. Embora não seja obrigatório que sejam agrupados, pode ser necessário usar mais locos para demonstrar os agrupamentos com maior robustez.

Na Figura 2, em determinadas bifurcações não aparecem os valores do bootstrap, pois há dados faltantes. Os dados faltantes foram preenchidos através da média gerada pelo pacote zoo (ZEILEIS e GROTHENDIECK, 2005), do programa R. A média de dados perdidos foi de 9.43%. Os dados faltantes se devem a não amplificação de nenhuma banda durante os resultados da eletroforese. Isso pode ocorrer por diversos motivos, como a degradação da alíquota de DNA ou do primer utilizado, a degradação do tampão, a evaporação das amostras no termociclador, erros de pipetagem, entre outros fatores no laboratório.

O agrupamento Bayesiano dos clones de batata utilizando o programa Structure não demonstrou nenhuma estruturação genética na população de melhoramento estudada. A partir do Structure Selector, o número de clusters foi inferido pela estatística  $\Delta K$  desenvolvida por Evanno et al. (2005), sendo um dos métodos mais comumente usados para estimar o número de clusters (PUECHMAILLE, 2016). Após os cálculos o próprio Structure Selector utiliza um método chamado Clumpak (Cluster Markov Packager Across K), que automatiza o pós-processamento de resultados de análises de estrutura populacional. O programa identifica conjuntos de execuções altamente semelhantes, separando grupos distintos de execuções que representam modos distintos no espaço de soluções possíveis. Também identifica um alinhamento ideal de clusters inferidos em diferentes valores de K (KOPELMAN et al., 2015). A partir dos resultados obtidos, a Figura 3 mostra a falta de estrutura genética. Com dois grupos ( $K=2$ ) a figura mostra várias barras verticais iguais e cada barra representa um indivíduo, sendo assim todos os indivíduos são iguais, ou seja, não existem duas populações (como  $K=2$  indicaria), mas sim uma única população. O mesmo acontece em  $K=3$  (Figura 3) e nos demais valores de K.

Figura 3 – Representação da população dividida em dois grupos (K=2) e dividida em três grupos (K=3).

K=2



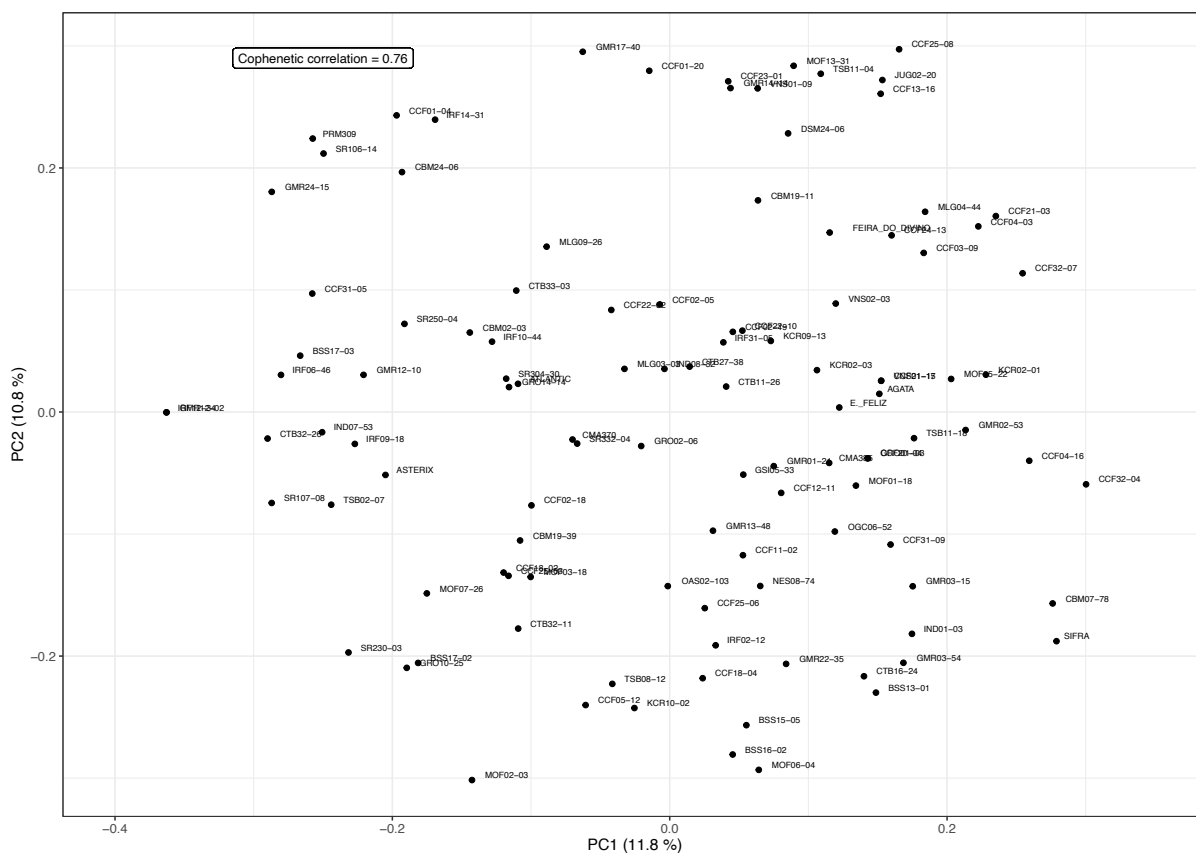
K=3



Fonte: Do autor.

Os dados genotípicos também foram submetidos a uma análise de componentes principais (PCA), que reduz a dimensão de um conjunto de dados multivariado, mantendo o máximo possível da variação presente nos primeiros componentes principais, que são ortogonais (independentes) (JOLLIFFE, 2002). Pela PCA, que pode ser observado na Figura 4, podemos reforçar que a população não possui estruturação genética. É esperado que os resultados do Structure e do PCA tenham consistência, assim como observado por Jian et al. (2017). Esses autores, que trabalharam com 288 acessos de batata, mostraram que os subgrupos produzidos por Structure também foram encontrados nos *clusters* obtidos pelo gráfico de dispersão com os dois primeiros componentes principais. Esses autores apontaram, ainda, que o germoplasma apresentou alta diversidade genética e foi dividido em três a oito grupos genéticos principais com base na estrutura populacional, análise de agrupamento, e análise de componentes principais.

Figura 4 - Gráfico dos componentes principais (PCA) indicando as distâncias genéticas entre os 111 clones de batata



Fonte: Do autor.

Ao contrário de Mondal et al. (2007), onde a PCA formou 5 grupos distintos e indicou um alto grau de diversidade genética entre os 31 genótipos de batata, pela Figura 4 não é possível observar grupos claros distintos.

Pela Figura 4 também é possível observar que todos os clones são diferentes, já que apresentam-se geneticamente distantes uns dos outros, observados pela dispersão dos pontos no gráfico. Ou seja, há diversidade genética, apesar de todos os genótipos formarem um único grupo. Os dois componentes principais explicam apenas 22,6% da variação total. Salimi et al. (2016), também trabalhando com a cultura da batata, obteve com os 3 primeiros componentes principais 30,14% da variação molecular total, o que também é uma porcentagem considerada baixa.

Considerando os resultados obtidos (com a técnica utilizada e com o material disposto) e a concordância entre os diferentes tipos de análises utilizadas é possível apontar que não há estruturação genética na população utilizada nesse trabalho. Um trabalho muito parecido foi realizado por Rohr (2012), que utilizou 131 genótipos da coleção do programa de melhoramento genético de batata da Embrapa com 7 loci SSR, gerando um total de 28 alelos. Apesar de ter identificado 8 grupos com o coeficiente de similaridade de Jaccard e pela análise de

coordenadas principais as duas primeiras coordenadas explicarem 17,03% da variação total, a autora não encontrou estruturação genética. A conclusão foi de que há uma tendência de estreitamento da base genética que vem sendo efetivamente utilizada pelo programa de melhoramento genético da Embrapa.

Duan YanFeng et al. (2019) obteve resultados semelhantes aos do nosso trabalho, em que a análise da diversidade genética de 217 cultivares de batata com 11 marcadores SSR indicaram uma base genética estreita nestas cultivares. Eles concluíram que, a fim de melhorar ainda mais o rendimento e a qualidade das cultivares de batata chinesas, é necessário aumentar a base genética através da introdução e utilização de novos recursos genéticos. O mesmo pode ser considerado a respeito do germoplasma estudado nesse trabalho. Apesar de ainda haver variabilidade suficiente para diversos ciclos de melhoramento, pode ser prudente introduzir, ao longo dos anos, novos materiais genéticos. Porém, idealmente, deve-se priorizar a introdução de material genético também com algum grau de melhoramento, evitando-se uma queda na produtividade média da população.

Liao e Guo (2014), também sugeriram que o número de cultivares de batata do programa de melhoramento de Iunã (província da China) precisa ser aumentado, aproveitando variedades locais e recursos selvagens. Esses autores observaram uma diversidade genética relativamente baixa entre 85 cultivares de batata de Iunã estudadas. Segundo eles, a razão subjacente para isto pode ser que os melhoristas geralmente utilizam diversas variedades elite para atender às demandas da indústria da batata.

Em um trabalho de diversidade com 214 microssatélites, Rahman et al. (2022) apontaram com auxílio do dendrograma e da análise da estrutura genética pelo Structure, uma composição genética também estreita dos genótipos de batata explorados. Os autores atribuíram a razão da alta similaridade entre genótipos a paternidade compartilhada. Na Tabela 1 podemos observar os parentais dos clones utilizados nesse trabalho. Assim como Rahman et al. (2022), os parentais da população desse estudo também são compartilhados, como o clone DGN40-02 que aparece como parental em 14 clones diferentes (8% dos cruzamentos), demonstrando uma alta endogamia. A paternidade compartilhada pode ter contribuído para falta de estruturação.

Em um estudo com batatas diploides, Xiaoyan et al. (2016) obtiveram resultados parecidos com os nossos, mostrando uma diversidade genética relativamente baixa entre 192 cultivares. Foi sugerido que as áreas de coleta de germoplasma de batata devem ser ampliadas.

## CONCLUSÃO

Com os resultados obtidos em uma amostragem representativa do germoplasma do programa de melhoramento de batata da UFLA (PROBATATA), e ao compará-los com outros trabalhos presentes na literatura, é possível sugerir uma diversidade genética relativamente baixa. Além disso, os resultados indicam que o germoplasma do programa PROBATATA não se encontra estruturado em diferentes grupos.

Apesar da diversidade estar, aparentemente, um pouco baixa, ainda há diversidade suficiente para vários ciclos de melhoramento. É razoável propor que há uma necessidade de se atentar para a ampliação da base genética ao longo dos anos, através da introdução de novos recursos genéticos, como o intercâmbio de germoplasma com outras instituições e programas de melhoramento. Isso poderia ajudar a evitar, possíveis futuras, limitações no melhoramento genético e assegurar a sustentabilidade e produtividade futura das cultivares de batata.

## REFERÊNCIAS

- ALBERTS, Bruce et al. **Biologia molecular da célula**. Artmed Editora, p. 465-466, 2017.
- AZOFEIFA-DELGADO A. Uso de marcadores moleculares en plantas; aplicaciones en frutales del trópico. **Agronomía mesoamericana**, p. 221-242, 2006.
- BALI, S. et al. Genetic fingerprinting of potato varieties from the northwest potato variety development program. **American Journal of Potato Research**, v. 94, p. 54-63, 2017.
- BERDUGO-CELY, Jhon et al. Genetic diversity and association mapping in the Colombian Central Collection of *Solanum tuberosum* L. Andigenum group using SNPs markers. **PloS one**, v. 12, n. 3, p. e0173039, 2017.
- BHANDARI, H. R. et al. Assessment of genetic diversity in crop plants-an overview. **Adv. Plants Agric. Res**, v. 7, n. 3, p. 279-286, 2017.
- BHARDWAJ, Vinay et al. Analysis of Genetic Diversity, Population Structure and Association Mapping for Late Blight Resistance in Potato (*Solanum tuberosum* L.) Accessions Using SSR Markers. **Agronomy**, v. 13, n. 2, p. 294, 2023.
- BINHIMD, Sulafah M. Saleh; KALANTAN, Zakiah I. Bootstrap approach for clustering method with applications. **International Journal of Advanced And Applied Sciences**, p. 189-195, 2022.
- BONIERBALE, M. W. et al. Potato breeding. **The potato crop: Its agricultural, nutritional and social contribution to humankind**, p. 163-217, 2020.
- BORTOLETTO, A. C.; PEREIRA, A. S. da.; SILVA, G. O. da. Crescente demanda por sementes atesta a aceitação da cultivar BRS Camila pela cadeia produtiva de Batata. **Revista Batata Show**, Ano XXII, n. 62, p. 34-38, mar. 2022. Disponível em: <https://www.abbabatatabrasileira.com.br/revista/edicao-62/>. Acesso em: 2 jun. 2023.
- BOZ, Y. et al. Genetic characterization of grape (*Vitis vinifera* L.) germplasm from Southeast Anatolia by SSR markers. **Vitis**, v. 50, n. 3, p. 99-106, 2011.
- BRADEEN, J. M.; HAYNES, K. G.; KOLE, C. Introduction to potato. **Genetics, genomics and breeding of potato**, p. 1-19, 2011.
- BRADSHAW, J.E. A brief history of the impact of potato genetics on the breeding of tetraploid potato cultivars for tuber propagation. **Potato Research**, v. 65, n. 3, p. 461-501, 2022.
- BRAMMER, S. P. Marcadores moleculares: princípios básicos e uso em programas de melhoramento genético vegetal. **Embrapa Trigo**, dez. 2000. Disponível em: [http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/p\\_do03.pdf](http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/p_do03.pdf). Acesso em: 12 fev. 2023.
- BRAUN A.; WENZEL G. Molecular analysis of genetic variation in potato (*Solanum tuberosum* L.). German cultivars and advanced clones. **Potato Research: Journal of the European Association for Potato Research**. v.47, p. 81-92, 2005.

CANCINO J. D. F. Conquista-dores e coronistas: **As Primeiras Narrativas Sobre o Novo Reino De Granada**. Brasília, 2016.

CARDOSO, A. F.; LUZ, J. M. Q.; LANA, R. M. Q. Produtividade e qualidade de tubérculos de batata em função do fertilizante organo-mineral e safras de plantio. **Revista Caatinga**, Mossoró, v.28, n.4, p.80-89, 2015.

CASA-COILA, V. H. et al. Reaction of potato cultivars and clones to *Phytophthora infestans*. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 32, n. 2, 2019.

CASTRO, C. M. et al. Marcadores SSR em batata: importante técnica para auxiliar no registro e proteção de cultivares. **EMBRAPA Clima Temperado**, 2008.

**Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada (CEPEA)**. Revista Hortifruti, CEPEA-Esalq/USP, n. 205, p. 12-28, out. 2020. ISSN: 1981-1837. Disponível em: <https://www.hfbrasil.org.br/br/revista/acessar/completo/bataticultura-se-capitaliza-em-plena-pandemia.aspx>. Acesso em: 12 nov. 2022.

CHUNG, Neo Christopher et al. Jaccard/Tanimoto similarity test and estimation methods for biological presence-absence data. **BMC bioinformatics**, v. 20, n. Suppl 15, p. 644, 2019.

CROMME, N. et al. **Strengthening potato value chains: technical and policy options for developing countries**. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), 2010.

D'HOOP, B. B. et al. Identification of agronomically important QTL in tetraploid potato cultivars using a marker-trait association analysis. **Theoretical and applied genetics**, v. 127, p. 731-748, 2014.

DAVENPORT, L. J. Genera Solanacearum: The genera of Solanaceae illustrated, arranged according to a new system by Armando T. Hunziker. **Systematic Botany**, v. 29, n. 1, p. 221-222, 2004.

DESTEFANO, S. A. L. et al. Efeito do pH do solo e regime de irrigação no manejo da Sarna da Batata. **Revista Batata Show**, Ano XXII, n. 62, p. 26, mar. 2022. Disponível em: <https://www.abbabatatabrasileira.com.br/revista/edicao-62/>. Acesso em: 5 jul. 2023.

DEVEY, Dion. Ecological genetics: design, analysis and application. Lowe A, Harris S, Ashton P. 2004. Oxford: Blackwell Publishing. **Annals of Botany**, v. 95, n. 4, p. 705-705, 2005.

DIAS, J. A. C. S. **Produção de mini-tubérculos de batata-semente**. 2006. Disponível em: [http://www.infobibos.com/artigos/2006\\_3/mini-tuberculos/index.htm](http://www.infobibos.com/artigos/2006_3/mini-tuberculos/index.htm). Acesso em: 12 fev. 2023.

DONGYU, Q.; DIRECTOR-GENERAL, F. A. O. **Role and potential of potato in global food security**. 2022. Disponível em: <https://www.fao.org/3/cc0330en/cc0330en.pdf>. Acesso em: 5 jun. 2023.

DOYLE, Jeff J.; DOYLE, Jane L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. **Phytochemical bulletin**, 1987.

DRAY, Stéphane; DUFOUR, Anne-Béatrice. The ade4 package: implementing the duality diagram for ecologists. **Journal of statistical software**, v. 22, p. 1-20, 2007.

DUAN, S. et al. Genome-wide identification and abiotic stress-responsive pattern of heat shock transcription factor family in *Triticum aestivum* L. **BMC Genomics**, v. 20, n. 257, 2019.

ELLEGREN, Hans. Microsatellites: simple sequences with complex evolution. **Nature reviews genetics**, v. 5, n. 6, p. 435-445, 2004.

ELZEBROEK, T.; WIND, K. Spices and flavourings. In: **Guide to cultivated plants**. Wallingford UK: CABI, 2008. p. 263-315.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). Brasília, DF, 2023. Brasil em 50 alimentos. Batata, p. 67-70. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1153294/brasil-em-50-alimentos>. Acesso em: 5 jun. 2023

EMYGDIO, B. M. et al. Programa de melhoramento genético de batata da Embrapa. **Revista Batata Show**, p. 50–56, Oct. 2020. Disponível em: <https://www.abbabatatabrasileira.com.br/revista/edicao-57/>. Acesso em: 9 jun. 2023.

EVANNO, Guillaume; REGNAUT, Sebastien; GOUDET, Jérôme. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. **Molecular ecology**, v. 14, n. 8, p. 2611-2620, 2005.

FALEIRO, F. G. Marcadores genético-moleculares aplicados a programas de conservação e uso de recursos genéticos. Planaltina, DF: **EMBRAPA Cerrados**, 2007. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/570287/marcadores-genetico-moleculares-aplicados-a-programas-de-conservacao-e-uso-de-recursos-geneticos>. Acesso em: 12 jun. 2023.

FANG, Yixin; WANG, Junhui. Selection of the number of clusters via the bootstrap method. **Computational Statistics & Data Analysis**, v. 56, n. 3, p. 468-477, 2012.

FAOSTAT. Food and Agriculture Organization of the United Nations, **FAOSTAT 2022**. Disponível em: [https://www.fao.org/faostat/en/#rankings/commodities\\_by\\_country](https://www.fao.org/faostat/en/#rankings/commodities_by_country). Acesso em: 20 maio 2024.

FAVORETTO, Patrícia. **Caracterização molecular de germoplasma de batata (*Solanum tuberosum* L.) por microssatélites**. 2009. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

FENNEMA'S FOOD CHEMISTRY. 5th. ed, ed. Boca Ronta, 2017. p. 1-1125. Disponível em: <http://repository.universitاسbumigora.ac.id/862/735/219%20Food%20Chemistry.pdf>. Acesso em: 9 fev. 2023.

- FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética. Brasília, DF: **EMBRAPA-CENARGEN**, n. 20, 1998. Disponível em: <http://livimagens.sct.embrapa.br/amostras/00063810.pdf>. Acesso em: 14 jun. 2023.
- FILARDI, F. L. et al. Brazilian Flora 2020: innovation and collaboration to meet Target 1 of the Global Strategy for Plant Conservation (GSPC). **Rodriguésia**, v. 69, p. 1513-1527, 2018.
- FORTES, G. R. L.; PEREIRA, J. E. S. **Classificação e descrição botânica**. 2003. Disponível em: <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/502639>. Acesso em: 2 jun. 2023.
- FREITAS, S. T. et al. Qualidade para processamento de clones de batata cultivados durante a primavera e outono no Rio Grande do Sul. **Ciência Rural**, v. 36, p. 80-85, 2006.
- FRODIN, D. G. History and concepts of big plant genera. **Taxon**, v. 53, n. 3, p. 753-776, 2004.
- FU, Yong-Bi. Understanding crop genetic diversity under modern plant breeding. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 128, p. 2131-2142, 2015.
- GHEBRESLASSIE, Biniam Mesfin et al. Genetic diversity assessment of farmers' and improved potato (*Solanum tuberosum*) cultivars from Eritrea using simple sequence repeat (SSR) markers. **African Journal of Biotechnology**, v. 15, n. 35, p. 1883-1891, 2016.
- GHISLAIN, M. et al. Selection of highly informative and user-friendly microsatellites (SSRs) for genotyping of cultivated potato. **Theoretical and applied Genetics**, v. 108, p. 881-890, 2004.
- GILDEMACHER, P. R. et al. A description of seed potato systems in Kenya, Uganda and Ethiopia. **American journal of potato research**, v. 86, p. 373-382, 2009.
- GOVINDARAJ, M.; VETRIVENTHAN, M.; SRINIVASAN, M. Importance of genetic diversity assessment in crop plants and its recent advances: An overview of its analytical perspectives. **Genetics Research International**, v. 2015, p. 1-14, 2015.
- HAMADA, H.; PETRINO, M. G.; KAKUNAGA, T. A novel repeated element with Z-DNA-forming potential is widely found in evolutionarily diverse eukaryotic genomes. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 79, n. 21, p. 6465-6469, 1982.
- HAWKES, J.G., FRANCISCO-ORTEGA, J. The early history of the potato in Europe. **Euphytica**, v. 70, p. 1-7, 1993.
- HF BRASIL. Custo de Produção da Batata à Indústria de Pré-Frita (Palito). **Revista Hortifrutí Brasil**, CEPEA-ESALQ/USP, ano 21, n. 227, p. 12, out. 2022. Disponível em: <https://www.hfbrasil.org.br/br/revista/acessar/completo/especial-batata-2022-custos-explodem-em-dois-anos.aspx>. Acesso em: 7 fev. 2023.
- HIJMANS, R. J.; SPOONER, D. M. Geographic distribution of wild potato species. **American journal of Botany**, v. 88, n. 11, p. 2101-2112, 2001.

HONIG, Josh A. et al. Classification of bentgrass (*Agrostis*) cultivars and accessions based on microsatellite (SSR) markers. **Genetic resources and crop evolution**, v. 63, p. 1139-1160, 2016.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Produção de Batata**. 2022. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/batata/br>. Acesso em: 17 jul. 2024.

JIANG, G. L. Molecular markers and marker-assisted breeding. **Plant breeding from laboratories to fields**, maio 2013. Disponível em: <https://www.intechopen.com/chapters/40178>. Acesso em: 2 jun 2023.

JIAN, Wang. et al. Genetic diversity and population structure of 288 potato (*Solanum tuberosum* L.) germplasms revealed by SSR and AFLP markers. **Journal of integrative agriculture**, v. 16, n. 11, p. 2434-2443, 2017.

JOLLIFFE, Ian T. **Principal component analysis for special types of data**. Springer New York, 2002.

JONES, N. et al. Markers and mapping revisited: finding your gene. **New phytologist**, v. 183, n. 4, p. 935-966, 2009.

KARAAGAC, E. et al. Molecular Analysis of Potatoes from the Pacific Northwest Tri-State Variety Development Program and Selection of Markers for Practical DNA Fingerprinting Applications. **The American Journal of Potato Research (AJPR)**, v. 91, p. 195-203, 2014.

KOPELMAN, Naama M. et al. Clumpak: a program for identifying clustering modes and packaging population structure inferences across K. **Molecular ecology resources**, v. 15, n. 5, p. 1179-1191, 2015.

KNAPP, S. A revision of the *Solanum havanense* species group and new taxonomic additions to the Geminata clade (*Solanum*, Solanaceae). **Annals of the Missouri Botanical Garden**, p. 405-458, 2008.

LI, Yu-Long; LIU, Jin-Xian. StructureSelector: A web-based software to select and visualize the optimal number of clusters using multiple methods. **Molecular ecology resources**, v. 18, n. 1, p. 176-177, 2018.

LIAO, Hong; GUO, Huachun. Using SSR to evaluate the genetic diversity of potato cultivars from Yunnan province (SW China). **Acta Biologica Cracoviensia s. Botanica**, 2014.

LUTALADIO, N.; PRAKASH, A. La pomme de terre : histoire et développement économique. **Cahiers de nutrition et Diététique**. v. 45, p. 5-16, 2010.

MACHIDA-HIRANO, R. Diversity of potato genetic resources. **Breeding Science**, v. 65, p. 26-40, 2015.

MCGREGOR C.E.; GREYLING M.M.; WARNICH L. The use of simple sequence repeats (SSRs) to identify commercially important potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivars in South Africa. **South African Journal of Plant and Soil**, v. 17, n. 4, p. 177-180, 2000.

MCGUIRE S. The State of Food Insecurity in the World 2015: Meeting the 2015 International Hunger Targets: Taking Stock of Uneven Progress. Rome: FAO, 2015. **Advances in Nutrition**, v. 6, p. 623-624, 2015.

MONDAL, M. A. A. et al. Genetic diversity in potato (*Solanum tuberosum* L.). **Bangladesh Journal of Botany**, v. 36, n. 2, p. 121-125, 2007.

MONTALDO, A. Cultivo y mejoramiento de la papa. **Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura**, San José, Costa Rica, n 54., p. 7-31, 1984. ISBN: 90-9039-045-X. Disponível em: <http://repositorio.iica.int/handle/11324/6793>. Acesso em: 02 jul. 2023.

MÓSTIGA, R. et al. Análisis morfológico y molecular de especies de bambú del género *Guadua* procedentes de las regiones San Martín y Cajamarca, Perú. **Revista de Investigación en Agroproducción Sustentable**, v. 3, n. 1, p. 83-91, 2019.

NEVO, Eviatar; BEILES, Avigdor; BEN-SHLOMO, Rachel. The evolutionary significance of genetic diversity: ecological, demographic and life history correlates. In: **Evolutionary Dynamics of Genetic Diversity: Proceedings of a Symposium held in Manchester, England, March 29–30, 1983**. Springer Berlin Heidelberg, 1984. p. 13-213.

NYBOM, H.; WEISING, K.; ROTTER, B. DNA fingerprinting in botany: past, present, future. **Investigative genetics**, v. 5, n. 1, p. 1-35, 2014.

OLIVEIRA, E. J. et al. Origin, evolution and genome distribution of microsatellites. **Genetics and Molecular Biology**, v. 29, p. 294-307, 2006.

OLIVEIRA, V. R. et al. Qualidade de processamento de tubérculos de batata produzidos sob diferentes disponibilidades de nitrogênio. **Ciência Rural**, v. 36, p. 660-663, 2006.

OLMSTEAD, R. G. Phylogeny and biogeography in Solanaceae, Verbenaceae and Bignoniaceae: a comparison of continental and intercontinental diversification patterns. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 171, n. 1, p. 80-102, 2013.

PARADIS, Emmanuel; SCHLIEP, Klaus. ape 5.0: an environment for modern phylogenetics and evolutionary analyses in R. **Bioinformatics**, v. 35, n. 3, p. 526-528, 2019.

PARITA, B., et al. Elucidation of genetic diversity among ashwagandha [*Withania somnifera* (L.) Dunal] genotypes using EST-SSR markers. **Res J Biotechnol**, v. 13, n. 10, p. 52-59, 2018.

PEREIRA, A. S. da. Congresso Brasileiro De Olericultura 51, 2011, Viçosa, MG. **Horticultura Brasileira** 29. Sociedade de Olericultura do Brasil, v. 29, n. 2, jul. 2011. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/62091/1/Digitalizar0018.pdf>. Acesso em: 2 jul. 2023.

PINTO, C. A.; TEIXEIRA, A. L.; NEDER, D. G. Potencial de clones elite de batata como novas cultivares para Minas Gerais. **Horticultura Brasileira**, v. 28, p. 399-405, 2010.

Disponível em:

<https://www.scielo.br/j/hb/a/Kfy74LNTSC3ZwdfwYtjMsQM/?lang=pt&format=pdf>. Acesso em: 9 fev. 2023.

POWELL, W.; MACHRAY G.C.; PROVAN, Jim. Polymorphism revealed by simple sequence repeats. **Trends in plant science**, v. 1, n. 7, p. 215-222, 1996.

PRITCHARD, J. K.; STEPHENS, M.; DONNELLY, P. Inference of population structure using multilocus genotype data. **Genetics**, v. 155, n. 2, p. 945-959, 2000.

PRYSIAZHNIUK, L. et al. The Genetic diversity assessment of new potato varieties of different maturity groups by SSR markers. **Review on Agriculture and Rural Development**, v. 11, n. 1-2, p. 98-104, 2022.

PUECHMAILLE, Sebastien J. The program structure does not reliably recover the correct population structure when sampling is uneven: subsampling and new estimators alleviate the problem. **Molecular ecology resources**, v. 16, n. 3, p. 608-627, 2016.

R CORE TEAM, R. et al. R: A language and environment for statistical computing. 2013.

RAGASSI, C. F. et al, 2022. O Programa de Melhoramento Genético da Batata na Esalq/USP. **Revista Batata Show**, Ano XXII, n. 64, p. 58, nov. 2022. Disponível em: <https://www.abbabatatabrasileira.com.br/revista/edicao-64/>. Acesso em: 2 jun. 2023

RAHMAN, S. U. et al. **Genetic diversity and DNA fingerprinting of potato varieties using simple sequence repeat (SSR) markers**, 2022.

RAMAGE, C. M. et al. Genetic diversity revealed in the apomictic fruit species *Garcinia mangostana* L.(mangosteen). **Euphytica**, v. 136, p. 1-10, 2004.

RAUF, Saeed et al. Consequences of plant breeding on genetic diversity. **Int. J. Plant Breed**, v. 4, n. 1, p. 1-21, 2010.

RAZA, Ali et al. Impact of climate change on crops adaptation and strategies to tackle its outcome: A review. **Plants**, v. 8, n. 2, p. 34, 2019.

REDDY, B. J. et al. A review on potato (*Solanum tuberosum* L.) and its genetic diversity. **International Journal of Genetics**, p. 360-364, 2018. Disponível em: [https://bioinfopublication.org/files/articles/10\\_2\\_7\\_IJG.pdf](https://bioinfopublication.org/files/articles/10_2_7_IJG.pdf). Acesso em: 3 jul. 2023.

REID, A. et al. Construction of an integrated microsatellite and key morphological characteristic database of potato varieties on the EU common catalogue. **Euphytica**, v. 182, p. 239-249, 2011.

RÍOS, D.; GHISLAIN, M.; RODRÍGUEZ, F.; SPOONER, D. M.. What is the origin of the European potato? Evidence from Canary Island landraces. **Crop Science**, Madison, v. 47, n. 3, p. 1271-1280, 2007.

ROCHA, Elizângela Almeida et al. Caracterização molecular e diversidade genética de cultivares de batata utilizando marcadores SSR e RAPD. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 10, p. 204-210, 2010.

RODRÍGUEZ et al. Análisis morfológico y molecular de especies de bambú del género *Guadua* procedentes de las regiones San Martín y Cajamarca, Perú. **Revista de Investigación en Agroproducción Sustentable**, v. 3, n. 1, p. 83-91, 2019.

ROHR, Angela. **Variabilidade genética e tolerância ao déficit hídrico em genótipos de batata (*Solanum tuberosum* L.)**. 2012. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pelotas.

SALGOTRA, Romesh Kumar; CHAUHAN, Bhagirath Singh. Genetic diversity, conservation, and utilization of plant genetic resources. **Genes**, v. 14, n. 1, p. 174, 2023.

SALIMI, H. et al. Assessment of the genetic diversity among potato cultivars from different geographical areas using the genomic and EST microsatellites. **Iranian journal of biotechnology**, v. 14, n. 4, p. 270, 2016.

SANGEETA, S. et al. Analysis of genetic diversity among papaya cultivars using Single Primer Amplification Reaction (SPAR) methods. **The Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v. 80, n. 3, p. 291-296, 2005.

SERROTE, Caetano Miguel Lemos et al. Determining the polymorphism information content of a molecular marker. **Gene**, v. 726, p. 144175, 2020.

SHARMA, V.; NANDINENI, M. R. Assessment of genetic diversity among Indian potato (*Solanum tuberosum* L.) collection using microsatellite and retrotransposon based marker systems. **Molecular phylogenetics and evolution**, v. 73, p. 10-17, 2014.

SHIMOYAMA, N. Batata - Previsões 2022. **Revista Batata Show**, Ano XXII. n. 64, p. 26, nov. 2022. Disponível em: <https://www.abbabatatabrasileira.com.br/revista/edicao-64/>. Acesso em: 2 jun. 2023.

SHIMOYAMA, N. Situação das Variedades no Brasil. **Revista Batata Show**, Ano XXII. n. 65, p. 76, mar. 2023. Disponível em: <https://www.abbabatatabrasileira.com.br/revista/edicao-65/#>. Acesso em: 2 jun. 2023.

SILVA, G. O. da. Empresa Brasileira De Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA). Sistema de Produção da Batata. Versão Eletrônica. 2ª edição, p. 3 de 252, nov/2015. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/132923/1/Sistema-de-Producao-da-Batata.pdf>. Acessado em: 6 jun. 2023.

SILVA, G. O. da. et al. Seleção de clones chilenos de batata para rendimento de tubérculos, qualidade de fritura, vigor e ciclo vegetativo. **Horticultura Brasileira**, v. 38, p. 217-223, 2020.

SILVA, G. O. da. et al. B. Selection of Canadian potato clones for agronomic and frying quality traits. **Horticultura Brasileira**, v. 37, n. 4, Oct./Dec. 2019.

SILVA, G. O. da. et al. Desempenho de cultivares nacionais de batata para produtividade de tubérculos. **Revista Ceres**, v. 61, n. 5, p. 752-752, 2014.

SILVA, G. O. da. et al. Selection of potato clones for tuber yield, vine maturity and frying quality. **Horticultura Brasileira**, v. 36, p. 276-281, 2018.

SILVA, G. O. da; LOPES, C. A. Empresa Brasileira De Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA). Sistema de Produção da Batata. Versão Eletrônica. 2ª edição, p. 174 de 252, nov/2015. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/132923/1/Sistema-de-Producao-da-Batata.pdf>. Acessado em: 6 jun. 2023.

SILVA, G. O. da.; PEREIRA, A.S. Seleção em gerações iniciais para caracteres agrônômicos em batata. **Horticultura Brasileira**, v. 29, p. 449-455, 2011.

SILVA, G. R. da. et al, 2023. Programa de melhoramento da Batata na ESALQ/USP. Revista **Batata Show**, Ano XXIII, n. 65, p. 44-48, mar. 2023. Disponível em: <https://www.abbabatatabrasileira.com.br/revista/edicao-65/#>. Acesso em: 5 jul. 2023.

SOUZA, Z. S. da. et al. Seleção de clones de batata para processamento industrial em condições de clima subtropical e temperado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, p. 1503-1512, 2011.

SPOONER, D. M. et al. A single domestication for potato based on multilocus amplified fragment length polymorphism genotyping. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 102, n. 41, p. 14694-14699, 2005.

SPOONER, D. M. The potato: Evolution, biodiversity and genetic resources. J.G. Hawkes. **American Potato Journal**, n. 67, p. 733-735, 1990.

SWARUP, Shilpa et al. Genetic diversity is indispensable for plant breeding to improve crops. **Crop Science**, v. 61, n. 2, p. 839-852, 2021.

THAMBURAJ, S.; NARENDRA, S. Text book of vegetables, tubers and spices. **Indian Council of Agriculture Research, New Delhi**, p. 320-341, 2016.

TILLAULT, A. S.; YEVTYSHENKO, D. P. Simple sequence repeat analysis of new potato varieties developed in Alberta, Canada. **Plant Direct**, v. 3, jun. 2019.

TIWARI J. K. et al. Development of microsatellite markers set for identification of Indian potato varieties. **Scientia Horticulturae**, v. 231, p. 22-30, 2018.

TIWARI, Jagesh Kumar. Development of SSR fingerprints of interspecific potato somatic hybrids. **Potato Journal**, v. 47, n. 1, 2020.

TORABI-GIGLOU, M. et al.. Machine Learning for Detecting Potato Populations Using SSR Markers. **Iranian Journal of Science and Technology, Transactions A: Science**, v. 44, p. 911-918, 2020.

TORABI-GIGLOU, Mousa et al. DNA and morphological diversity and relationship analysis of selected cultivated, wild potatoes and some promising hybrids. **Journal of Biodiversity and Environmental Sciences (JBES)**, v. 6, n. 2, p. 175-186, 2015.

UGENT, D.; PETERSON, L. W. Archaeological remains of potato and sweet potato in Peru. **CIP circular**, 1988. Disponível em: <http://cipotato.org/wp-content/uploads/2014/09/AN28852.pdf>. Acesso em: 5 jun. 2023.

VASCONCELLOS, M. L. et al. **Correlações entre características da parte aérea, sistema radicular e produção de tubérculos em batata**. V SEMANA INTEGRADA UFPEL 2019, Pelotas. 2019. Disponível em: [https://cti.ufpel.edu.br/siepe/arquivos/2019/CA\\_04922.pdf](https://cti.ufpel.edu.br/siepe/arquivos/2019/CA_04922.pdf). Acesso em: 9 jun. 2023.

WALUNJKAR, B. et al. Genetic analysis of wild and cultivated germplasm of pigeonpea using random amplified polymorphic DNA (RAPD) and simple sequence repeats (SSR) markers. **African Journal of Biotechnology**, v. 12, n. 40, 2013.

WANG, B.; CHEE P.W. Application of advanced backcross quantitative trait locus (QTL) analysis in crop improvement. **Journal of plant Breeding and crop Science**, v. 2, n. 8, p. 221-232, 2010. Disponível em: <https://academicjournals.org/journal/JPBCS/article-full-text-pdf/DF73D743803>. Acesso em 3 jul. 2023.

WANG YING, Wang Ying et al. Collection and evaluation of genetic diversity and population structure of potato landraces and varieties in China. **Frontiers in plant science**, v. 10, p. 139, 2019.

XIAOYAN, Song XiaoYan et al. SONG, Xiaoyan et al. SSR analysis of genetic diversity among 192 diploid potato cultivars. **Horticultural Plant Journal**, v. 2, n. 3, p. 163-171, 2016.

XU KUN, Xu Kun et al. SSR analysis of new winter rapeseed cultivars in the national field tests. 2008.

YANFENG, Duan YanFeng et al. DNA fingerprinting and genetic diversity analysis with simple sequence repeat markers of 217 potato cultivars (*Solanum tuberosum* L.) in China. 2019.

YE, Y. et al. Characterization, validation, and cross-species transferability of newly developed EST-SSR markers and their application for genetic evaluation in crape myrtle (*Lagerstroemia* spp). **Molecular Breeding**, v. 39, p. 1-6, 2019.

ZEILEIS, Achim; GROTHENDIECK, Gabor. zoo: an S3 class and methods for indexed totally ordered observations. **Institut für Statistik und Mathematik**, WU Vienna University of Economics and Business. Research Report Series / Department of Statistics and Mathematics, 2005.

ZUCCHI, M. I. et al. Genetic structure and gene flow in *Eugenia dysenterica* DC in the Brazilian Cerrado utilizing SSR markers. **Genetics and Molecular Biology**, v. 26, p. 449-457, 2003.