

Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”

Tolerância ao calor em batata: do fenótipo ao genótipo

João Vitor Nomura

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor
em Ciências. Área de concentração: Genética e
Melhoramento de Plantas

Piracicaba
2023

João Vitor Nomura
Bacharel em Agronomia

Tolerância ao calor em batata: do fenótipo ao genótipo

Orientador:
Prof. Dr. **FERNANDO ANGELO PIOTTO**

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em Ciências. Área de concentração: Genética e Melhoramento de Plantas

Piracicaba
2023

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA – DIBD/ESALQ/USP**

Nomura, João Vitor

Tolerância ao calor em batata: do fenótipo ao genótipo /João Vitor Nomura - - Piracicaba, 2023.
67 p.

Tese (Doutorado) - - USP / Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

1. *Solanum tuberosum* 2. Estresse abiótico 3. GWAS 4. Estresse térmico 5. Responsividade 6. CDF1 7. Proteína *HeatShock* 70 I. Título

DEDICATÓRIA

Para minha amada família, Kazu, Vitar e Júlio

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer a Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” por ter permitido eu realizar o doutorado. Extendo ao Departamento de Genética, professores e funcionários, por todo o conhecimento, auxílio e amizade, possibilitando toda a minha evolução e conclusão desta etapa;

Ao meu orientador, Professor Fernando Angelo Piotto, por toda a orientação, amizade, paciência, me ensinando a ter novas visões de ciência e mundo, além de todo o apoio durante essa etapa. Sou muito feliz e agradecido em ter sido seu orientado e embarcado nessa jornada do melhoramento de hortaliças, em especial a batata. Em adendo, gostaria de agradecer sua esposa Katherine, por todos os conselhos e palavras de incentivo;

Para o Professor Jeffrey Endelman, da Universidade de Wisconsin-Madison, por toda a disposição, atenção e ensinamentos transmitidos, me auxiliando a ter uma visão nova sobre o melhoramento de plantas. Aos companheiros do Laboratório de Batata, Lin, Peyton, Maria e Sitonik, por todo o carinho, caminhadas no parque, e atenção que me recebi durante o meu período no exterior;

Ao Professor Guilherme Ribeiro, por fazer parte de mais uma banca na minha experiência acadêmica, agradeço por toda ajuda e dicas ao longo desses vários anos, que contribuíram na minha jornada no melhoramento de plantas e agora nos trabalhos de batata;

Ao Dr. Guilherme Olegário, por ter aceito participar da minha banca e contribuir para este trabalho;

Ao do Centro Internacional da Batata por ter permitido trabalhar em conjunto e poder realizar minha tese. Em especial, gostaria de agradecer aos pesquisadores Dra. Elisa Salas e Dr. Moctar Kante por toda atenção, conhecimento, amizade e trabalho durante o período que contribuimos juntos;

Aos meus colegas do Laboratório de Melhoramento de Hortaliças, Fernanda, Fiorita, Givanildo, Gustavo Nandi, Hellen, Jéssica, Mariana e Roberta, por toda ajuda durante os experimentos e avaliações, discussões, companherismo, risadas e cafés. Aos técnicos Gustavo Alexandre Perina, José Antônio Carmezini de Paula, Domingos de Sávio Amaral e Miguel Ribeiro de Camargo Filho pelo suporte nas avaliações e experimentos de campo;

A todos os meus amigos, em especial Carolina, Emanuel, Gabriel, Getúlio, Gleicy, Maiara, Patrícia, Pedro, Tamara, Rafael, Henrique, Willian e Zirlane, pelo companherismo, carinho, risadas e suporte durante esse período. Vocês não imaginam o espaço que vocês ocupam no meu coração;

Aos meus pais, Vitar e Kazu, por sempre me darem suporte para que eu pudesse seguir meus sonhos, pelo amor, carinho e educação. Ao meu irmão Júlio, que sempre esteve ao meu lado, me escutando e dando conselhos. Vocês são as pessoas mais importantes na minha vida;

Por último, gostaria de agradecer o suporte dos órgão de fomento, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

SUMÁRIO

RESUMO	6
ABSTRACT	7
1. INTRODUÇÃO	8
2. PARÂMETROS PARA SELEÇÃO DE CLONES DE BATATA VISANDO MELHORAMENTO PARA TOLERÂNCIA AO CALOR	12
2.1. INTRODUÇÃO	13
2.2. MATERIAL E MÉTODOS	15
2.3. RESULTADOS	19
2.4. DISCUSSÃO	28
3. ESTUDO DE ASSOCIAÇÃO GENÔMICA AMPLA PARA TOLERÂNCIA E RESPONSIVIDADE AO ESTRESSE POR CALOR EM BATATA	35
2.1. INTRODUÇÃO	36
2.2. MATERIAL E MÉTODOS	37
2.3. RESULTADOS	43
2.4. DISCUSSÃO	47

RESUMO

Tolerância a calor em batata: do fenótipo ao genótipo

A batata (*Solanum tuberosum* L.) é uma das principais fontes de alimento para a humanidade. Um dos desafios do cultivo da batata é o estresse ao calor, o qual afeta negativamente o rendimento e a qualidade dos tubérculos. No contexto atual de crescimento populacional e mudanças climáticas, é de extrema importância desenvolver genótipos tolerantes ao estresse por temperaturas elevadas. Procurando desenvolver cultivares mais resilientes ao estresse por calor, o *Centro Internacional de la Papa* iniciou o melhoramento de uma população que recebeu o nome de *Lowland Tropic Virus Resistant*. Esta população foi a base para formação de um painel de acessos, qual utilizamos neste estudo, integrando dados fenotípicos e moleculares, para compreender melhor a resposta, em nível fenotípico e genotípico, da cultura da batata ao estresse por calor. Com base da avaliação das condições de clima ao longo do ciclo em cada experimento, foi possível classificar os ambientes, de modo que os mesmos proporcionaram condições de temperatura ideal para o desenvolvimento da batata (Majes), com estresse no período de tuberização (La Molina), ou com estresse durante todo o ciclo (San Ramón), todos no Peru. O primeiro capítulo um investiga o efeito do estresse térmico em 394 clones de batata, de modo que cada clone foi classificado em responsivo, tolerante e sensível ao estresse por calor, sendo avaliados também o impacto na seleção de clones de cada grupo. Assim, foi demonstrado que havia um número pequeno de clones responsivos e tolerantes ao estresse por calor, sendo a performance geral relativamente baixa quando comparada com os clones sensíveis aos calor, dificultando a identificação de clones de performance elevada em condições de estresse por temperaturas mais elevadas, com provável perda de ganho com a seleção. Foi observada uma relação positiva entre senescência e responsividade para alguns caracteres relacionados à produtividade, demonstrando que essa é uma característica importante quando visamos tolerância ao estresse ao calor. No segundo capítulo, a base genética da tolerância ao estresse térmico foi investigada em um painel de 655 clones de batata. Por meio de análises genômicas, foram identificados múltiplos genes envolvidos na tolerância ao calor, sendo o gene *CDF1* especialmente destacado por melhorar o desempenho sob estresse térmico durante a fase de tuberização. Além disso, foram encontradas regiões genéticas sobrepostas a estudos anteriores de proteínas de choque térmico, sugerindo seu potencial na resposta ao estresse. Apesar desses genes estarem relatados em outros estudos, os efeitos destes quando avaliados em campo são menores, demonstrando a complexidade de utilizar seleção assistida por marcadores. Por fim, a utilização de um grande painel de genótipos combinado com avaliação de campo permitiu um melhor entendimento da resposta ao estresse por calor em batata, e uma nova perspectiva para o melhoramento visando a tolerância ao calor. Essas descobertas devem contribuir para uma compreensão mais aprofundada dos fatores genéticos relacionados à tolerância ao estresse ao calor em batatas, fornecendo informações valiosas para programas de melhoramento genético que visam desenvolver cultivares tolerantes capazes de suportar condições desfavoráveis de temperatura mais elevado do que o ideal para cultura.

Palavras-chave: *Solanum tuberosum* L., Estresse abiótico, Norma de reação, GWAS, Resposta ao calor, CDF1, Proteína HeatShock 70

ABSTRACT

Heat tolerance in potato: from phenotype to genotype

Potato (*Solanum tuberosum* L.) is one of the most important food sources for mankind. One of the challenges of potato breeding is heat stress, which negatively affects tuber yield and quality. In the current context of population growth and climate change, it is of utmost importance to develop genotypes tolerant to high temperature stress. Seeking to develop cultivars more resilient to heat stress, the Centro Internacional de la Papa initiated breeding of a population named Lowland Tropical Virus Resistant. This population was the basis for forming a panel of accessions, which we used in this study, integrating phenotypic and molecular data to better understand the response, at the phenotypic and genotypic level, of the potato crop to heat stress. By evaluating the climate conditions throughout the cycle in each experiment, we were able to classify the environments so that they provided optimal temperature conditions for potato development (Majes), with stress in the tuberization period (La Molina), or with stress throughout the cycle (San Ramón), all in Peru. Chapter one investigates the effect of heat stress on 394 potato clones, so that each clone was classified into responsive, tolerant and sensitive to heat stress, and the impact on the selection of clones in each group was also evaluated. Thus, it was demonstrated that there was a small number of clones responsive and tolerant to heat stress, and the overall performance was relatively low when compared to the heat sensitive clones, making it difficult for the breeder to identify high performance clones under higher temperature stress conditions, with likely loss of gain from selection. On the other hand, a positive relationship between senescence and responsiveness was observed for some traits related to productivity, demonstrating that this is an important trait when targeting tolerance to heat stress. In the second chapter, the genetic basis of heat stress tolerance was investigated in a panel of 655 potato clones. Through genomic analyses, multiple genes involved in heat tolerance were identified, with the CDF1 gene being especially highlighted for improving performance under heat stress during the tuberization phase. In addition, gene regions were found to overlap with previous studies of heat shock proteins, suggesting their potential in heat stress response. Although these genes are reported in other studies, their effects when evaluated in the field are smaller, demonstrating the complexity of using marker assisted selection. Finally, the use of a large panel of genotypes combined with field evaluation allowed a better understanding of the heat stress response in potato, and a new perspective for breeding for heat tolerance. These findings should contribute to a deeper understanding of genetic factors related to heat stress tolerance in potatoes, providing valuable information for breeding programs aiming to develop tolerant cultivars able to withstand unfavorable conditions of higher than optimal temperature for the crop.

Keywords: *Solanum tuberosum* L., Abiotic stress, Reaction norm, GWAS, Heat response, CDF1, HeatShock 70 protein

1. INTRODUÇÃO

A batata (*Solanum tuberosum* L.) é uma das espécie hortícolas mais amplamente cultivadas em todo o mundo, desempenhando um papel crucial na segurança alimentar e na economia agrícola em diversos países (Devaux et al., 2020). É considerada uma cultura versátil, eficiente no uso da água e na produção de carboidratos por hectare. Nos últimos anos, sua produção tem aumentado em regiões que anteriormente não eram tradicionais de cultivo, aumentando os desafios e a necessidade de desenvolver novas cultivares para esses novos ambientes. Além disso, no cenário de mudanças climáticas, o aumento da frequência e da intensidade das ondas de calor devido às mudanças climáticas globais têm levado a um aumento na incidência e na gravidade do estresse por calor (Thiery et al., 2021), afetando regiões tradicionalmente produtoras de batata. A produtividade e a qualidade das colheitas de batata são afetadas negativamente por uma série de fatores abióticos, sendo o estresse por calor um dos mais significativos (Singh et al., 2020). O histórico do melhoramento de batata teve como germoplasma base acessos de regiões com clima mais ameno devido ao ambiente alvo visado (de Haan e Rodriguez, 2016), cuja consequência foi a malhor adaptação à condição de clima mais frio e maior sensibilidade à temperaturas mais altas. Comparando com outras culturas, a batata teve pequenos ganhos genéticos ao longo dos últimos anos, sendo necessários mais estudos e a aplicação novas tecnologias para poder atender a demanda por esse alimento nas próximas décadas (Ortiz et al., 2022).

O estresse por calor afeta adversamente o crescimento, o desenvolvimento e o rendimento da cultura da batata. Altas temperaturas durante o período crítico de tuberização resultam em redução no estabelecimento dos tubérculos, diminuição no número de tubérculos por planta, redução do tamanho dos tubérculos e alterações na composição nutricional (Hancock et al., 2014; Rykaczewska, 2015). Além disso, o estresse por calor também aumenta a suscetibilidade das plantas a doenças e a danos causados por pragas, impactando ainda mais o desempenho da cultura no campo. Diante desses desafios, o melhoramento genético tem desempenhado um papel crucial no desenvolvimento de cultivares de batata tolerantes ao estresse por calor. Estudos com acessos selvagens identificaram espécies relacionadas a batata cultivada com potencial para introgressão de genes para tolerância a temperaturas mais elevadas (Guedes et al., 2019; Smillie et al., 1983). A seleção de genótipos com maior capacidade de sobreviver e produzir em condições de estresse por calor tem sido uma estratégia adotada pelos programas de melhoramento, sendo utilizadas diferentes alternativas para tentar aumentar os ganhos genéticos através dos esquemas tradicionais (Benites e Pinto, 2011; Figueiredo et al., 2015).

Além de técnicas de melhoramento tradicional, os melhoristas têm utilizado técnicas de seleção assistida por marcadores moleculares e genômica funcional para identificar genes e características associadas à tolerância ao estresse por calor. Vários estudos têm sido realizados para elucidar os mecanismos moleculares e fisiológicos subjacentes à tolerância ao estresse térmico na batata. Essas pesquisas têm identificado genes e proteínas envolvidos na resposta ao estresse térmico, como por exemplo proteínas de choque térmico, fatores de transcrição e enzimas antioxidantes (Lal et al., 2022; Tang et al., 2020). A compreensão desses mecanismos têm permitido a identificação de marcadores moleculares e genes candidatos associados à tolerância ao calor, auxiliando na busca de genótipos promissores. Além disso, estudos têm sido realizados para investigar a diversidade genética existente nas populações de batata e identificar fontes de resistência e tolerância por temperaturas elevadas (Sharma e Bryan, 2017; Trapero-Mozos et al., 2018). A caracterização da diversidade genética e a identificação de alelos associados à tolerância ao

estresse térmico pode contribuir para a seleção de parentais adequados para a realização de cruzamentos direcionados visando a obtenção de cultivares mais adaptadas a ambientes com temperaturas mais elevadas.

Neste sentido, o Centro Internacional de la Papa (CIP) tem desempenhado um papel fundamental no estudo e desenvolvimento de cultivares para regiões tropicais ou conhecidas como regiões não tradicionais de cultivo de batata. Diversos estudos foram realizados ao longo dos últimos 60 anos, com o intuito de identificar melhores fontes de tolerância, metodologias de identificação e seleção de genótipos mais tolerantes, relações morfológicas e fisiológicas em resposta à este tipo de estresse (Jansky et al., 2021; Morpurgo e Ortiz, 1988; Muthoni e Kabira, 2015; Nowak e Colborne, 1989). Um dos trabalhos desenvolvidos pelo CIP foi o desenvolvimento da população *Lowland Tropic Virus Resistant (LTVR)*. Os cruzamentos que deram origem à esta população foram iniciados na década de 80, utilizando clones de *Solanum tuberosum* e acessos selvagens, objetivando o desenvolvimento de cultivares tolerantes ao calor e com maior precocidade (Bonierbale et al., 2020). Portanto, o painel originado a partir da população LTVR é altamente relevante para entender a dinâmica das variações fenotípicas e sua relação com variações moleculares, condicionadas pelo estresse por calor na cultura da batata.

Com base nisso, este trabalho teve como objetivo geral aprofundar o conhecimento da relação entre fenótipo e genótipo, com base na resposta ao estresse por calor de um painel de acessos de batata, proporcionando maior entendimento sobre as melhores estratégias para a condução de um programa de melhoramento visando o desenvolvimento de cultivares mais tolerantes à temperaturas elevadas.

Referências

- Benites, F. R. G., e Pinto, C. A. B. P. (2011). Genetic gains for heat tolerance in potato in three cycles of recurrent selection. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 11(2), 133–140. <https://doi.org/10.1590/S1984-70332011000200005>
- Bonierbale, M. W., Amoros, W. R., Salas, E., e de Jong, W. (2020). Potato Breeding. In *The Potato Crop* (pp. 163–217). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-28683-5_6
- de Haan, S., e Rodriguez, F. (2016). Potato Origin and Production. In *Advances in Potato Chemistry and Technology* (pp. 1–32). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800002-1.00001-7>
- Devaux, A., Goffart, J.-P., Petsakos, A., Kromann, P., Gatto, M., Okello, J., Suarez, V., e Hareau, G. (2020). Global Food Security, Contributions from Sustainable Potato Agri-Food Systems. In *The Potato Crop* (pp. 3–35). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-28683-5_1
- Figueiredo, I. C. R. de, Pinto, C. A. B. P., Ribeiro, G. H. M. R., Lino, L. de O., Lyra, D. H., e Moreira, C. M. (2015). Efficiency of selection in early generations of potato families with a view toward heat tolerance. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 15(4), 210–217. <https://doi.org/10.1590/1984-70332015v15n4a37>
- Guedes, M. L., Haynes, K. G., Vinyard, B. T., e Pinto, C. A. B. P. (2019). Heat Tolerance in Diploid Wild Potato Species In Vitro. *American Journal of Potato Research*, 96(3), 294–302. <https://doi.org/10.1007/s12230-019-09716-9>
- Hancock, R. D., Morris, W. L., Ducreux, L. J. M., Morris, J. A., Usman, M., Verall, S. R., Fuller, J., Simpson, C. G., Zhang, R., Hedley, P. E., e Taylor, M. A. (2014). Physiological, biochemical and molecular responses of the potato (*Solanum tuberosum* L.) plant to moderately elevated temperature. *Plant, Cell e Environment*, 37(2), 439–450. <https://doi.org/10.1111/pce.12168>
- Jansky, S. H., De Jong, W. S., Douches, D. S., Haynes, K. G., e Holm, D. G. (2021). *Cultivar Improvement with Exotic Germplasm: An Example from Potato* (pp. 215–230). https://doi.org/10.1007/978-3-030-30343-3_12
- Lal, M. K., Tiwari, R. K., Kumar, A., Dey, A., Kumar, R., Kumar, D., Jaiswal, A., Changan, S. S., Raigond, P., Dutt, S., Luthra, S. K., Mandal, S., Singh, M. P., Paul, V., e Singh, B. (2022). Mechanistic Concept of Physiological, Biochemical, and Molecular Responses of the Potato Crop to Heat and Drought Stress. *Plants*, 11(21), 2857. <https://doi.org/10.3390/plants11212857>
- Morpurgo, R., e Ortiz, R. (1988). Morphological variation of the potato (*Solanum* spp.) under contrasting environments. *Environmental and Experimental Botany*, 28(3), 165–169. [https://doi.org/10.1016/0098-8472\(88\)90025-1](https://doi.org/10.1016/0098-8472(88)90025-1)
- Muthoni, J., e Kabira, J. N. (2015). Potato Production in the Hot Tropical Areas of Africa: Progress Made in Breeding for Heat Tolerance. *Journal of Agricultural Science*, 7(9). <https://doi.org/10.5539/jas.v7n9p220>
- Nowak, J., e Colborne, D. (1989). In vitro tuberization and tuber proteins as indicators of heat stress tolerance in potato. *American Potato Journal*, 66(1), 35–45. <https://doi.org/10.1007/BF02853487>
- Ortiz, R., Reslow, F., Cuevas, J., e Crossa, J. (2022). Genetic gains in potato breeding as measured by field testing of cultivars released during the last 200 years in the Nordic Region of Europe. *The Journal of Agricultural Science*, 160(5), 310–316. <https://doi.org/10.1017/S002185962200034X>
- Rykczevska, K. (2015). The Effect of High Temperature Occurring in Subsequent Stages of Plant Development on Potato Yield and Tuber Physiological Defects. *American Journal of Potato Research*, 92(3), 339–349. <https://doi.org/10.1007/s12230-015-9436-x>
- Sharma, S. K., e Bryan, G. J. (2017). *Genome Sequence-Based Marker Development and Genotyping in Potato* (pp. 307–326). https://doi.org/10.1007/978-3-319-66135-3_17
- Singh, B., Kukreja, S., e Goutam, U. (2020). Impact of heat stress on potato (*Solanum tuberosum* L.): present scenario and future opportunities. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 95(4), 407–424. <https://doi.org/10.1080/14620316.2019.1700173>
- Smillie, R. M., Hetherington, S. E., Ochoa, C., e Malagamba, P. (1983). Tolerances of wild potato species from different altitudes to cold and heat. *Planta*, 159(2), 112–118. <https://doi.org/10.1007/BF00392980>
- Tang, R., Gupta, S. K., Niu, S., Li, X.-Q., Yang, Q., Chen, G., Zhu, W., e Haroon, M. (2020). Transcriptome analysis of heat stress response genes in potato leaves. *Molecular Biology Reports*, 47(6), 4311–4321. <https://doi.org/10.1007/s11033-020-05485-5>
- Thiery, W., Lange, S., Rogelj, J., Schlessner, C.-F., Gudmundsson, L., Seneviratne, S. I., Andrijevic, M., Frieler, K., Emanuel, K., Geiger, T., Bresch, D. N., Zhao, F., Willner, S. N., Büchner, M., Volkholz, J., Bauer, N., Chang, J., Ciais, P., Dury, M., ... Wada, Y. (2021). Intergenerational inequities in exposure to climate extremes. *Science*, 374(6564), 158–160. <https://doi.org/10.1126/science.abi7339>

Trapero-Mozos, A., Morris, W. L., Ducreux, L. J. M., McLean, K., Stephens, J., Torrance, L., Bryan, G. J., Hancock, R. D., e Taylor, M. A. (2018). Engineering heat tolerance in potato by temperature-dependent expression of a specific allele of *HEAT-SHOCK COGNATE 70*. *Plant Biotechnology Journal*, 16(1), 197–207. <https://doi.org/10.1111/pbi.12760>

2. PARÂMETROS PARA SELEÇÃO DE CLONES DE BATATA VISANDO MELHORAMENTO PARA TOLERÂNCIA AO CALOR

Resumo

- A sensibilidade da batata ao aumento da temperatura é um dos principais desafios para o desenvolvimento de novas cultivares com elevada performance produtiva e de qualidade de tubérculos. A literatura apresentada dados onde é estimada uma redução significativa na produção de tubérculos comercializáveis a cada 1 °C de aumento na temperatura ideal para o cultivo da batata. Assim, o objetivo deste trabalho foi investigar o efeito e a resposta do estresse por calor em um grande painel de batata. Para tanto, foram utilizadas 394 progênies do ciclo 7 do painel *Lowland Tropic Virus Resistant* do *Centro Internacional de la Papa*, avaliados para produção por planta, número de tubérculos, percentual de matéria seca, peso médio de tubérculos e senescência. Os genótipos foram avaliados em três ambientes, considerando três locais no Peru, onde Majes foi considerado como ambiente com temperatura ideal ao longo do ciclo para o cultivo da batata; La Molina um ambiente cuja temperatura ao longo do ciclo proporcionou estresse no período de tuberização; e San Ramón, sendo o ambiente em que o estresse por temperaturas mais elevadas ocorreu durante todo o ciclo da cultura. Os resultados mostraram que as temperaturas influenciaram negativamente as características avaliadas, com redução das médias nos ambientes mais quentes. Apesar disso, alguns clones demonstraram melhor desempenho em ambientes com estresse, destacando a importância de identificar e estudar esses clones. A classificação dos clones quanto à sensibilidade ao estresse revelou que clones responsivos e estáveis apresentaram médias maiores em ambientes estressantes, enquanto clones mais sensíveis ao estresse por calor tiveram redução das médias. A senescência também desempenhou um papel na tolerância ao calor em alguns casos. As médias dos clones em diferentes classificações frente ao estresse ao calor destacaram a complexidade do equilíbrio entre responsividade, estabilidade e produtividade para as diferentes características. Apesar de ser possível identificar os clones responsivos e estáveis, os genótipos suscetíveis foram tiveram um desempenho superior, mesmo tendo perda expressiva de seu potencial produtivo. Por fim, foi possível concluir que genótipos selecionados como sendo mais tolerantes ao calor, de maneira geral, apresentam baixo desempenho em condições nas quais o estresse por temperatura seja menor ou inexistente; Há indícios que de a precocidade esteja relacionada com a maior tolerância ao calor, via mecanismo de escape de períodos cuja condição de estresse por calor, principalmente mais ao final do ciclo cultura, seja mais pronunciada; clones que apresentam elevada performance em condições ideais de temperatura, tendem a manter uma média geral elevada em condições de estresse, quando comparados com clones tolerantes de menor performance média; A seleção pode ser mais efetiva se for direcionada para clones de alta performance média ao invés de clones que apresentam maior tolerância ao calor estimada via índices de seleção que utilizam valores relativos de desempenho.

Palavras-chave: Estresse abiótico; *Solanum tuberosum* L.; Tolerância a temperaturas elevadas; Reação fenotípica

ABSTRACT

Selection parameters of potato clones aiming for heat tolerance breeding

The sensitivity of potato to temperature increase is one of the main challenges for the development of new cultivars with high yield performance and tuber quality. Literature presents data estimating a significant reduction in the yield of marketable tubers for every 1 °C increase in optimum potato-growing temperature. Thus, the objective of this work was to investigate the effect and response of heat stress in a large potato panel. To this end, 394 progenies from cycle 7 of the *Lowland Tropic Virus Resistant* panel of the *Centro Internacional de la Papa* were used and evaluated for yield per plant, number of tubers, percent dry matter, average tuber weight, and senescence. The genotypes were evaluated in three environments, considering three locations in Peru. Majes was considered an environment with an optimum temperature throughout the cycle for potato cultivation; La Molina an environment whose temperature throughout the cycle provided stress in the tuberization period; and San Ramón, being the environment where stress by higher temperatures occurred during the entire crop cycle. The results showed that the temperatures negatively influenced the evaluated characteristics, with a reduction of the averages in the hottest environments. Despite this, some clones showed better performance in environments with stress, highlighting the importance of identifying and studying these clones. The classification of clones as to stress sensitivity revealed that responsive and stable clones showed higher averages in stressful environments, while clones more sensitive to heat stress had reduced averages. Senescence also played a role in heat tolerance in some cases. The averages of clones in different classifications in the face of heat stress highlighted the complexity of balancing responsiveness, stability, and productivity for different traits. Although it was possible to identify the responsive and stable clones, the susceptible genotypes performed better, even though they lost a significant amount of their productive potential. Finally, it was possible to conclude that genotypes selected as being more tolerant to heat, in general, present low performance in conditions where temperature stress is lower or non-existent. There are indications that the precocity is related to a greater tolerance to heat, via an escape mechanism from periods in which heat stress, especially towards the end of the crop cycle, is more pronounced; clones that show high performance under ideal temperature conditions tend to maintain a high overall average under stress conditions when compared to tolerant clones of lower average performance; Selection may be more effective by targeting high average performance clones rather than clones that show higher estimated heat tolerance via selection indices that use relative performance values.

Keywords: Abiotic stress; *Solanum tuberosum* L.; Heat tolerance; Phenotypic reaction

2.1. Introdução

A batata cultivada (*Solanum tuberosum* L.) é a terceira cultura mais plantada para o consumo humano em nível mundial, ficando atrás somente do trigo e do arroz. É considerada uma cultura de clima frio, com uma forte concentração de produção em regiões de clima temperado no hemisfério norte (FAO, 2017). Ao longo dos últimos 20 anos têm sido observado um aumento significativo das áreas de plantio de batata em regiões tropicais e subtropicais, principalmente na África, América Latina e na parte leste na Ásia. Com isso, a cultura vem ganhando cada vez mais expressão como peça fundamental para a segurança alimentar tanto em países desenvolvidos quanto em países em desenvolvimento. A segurança alimentar se baseia em quatro pilares: disponibilidade de comida, acesso à comida, uso e qualidade da comida e estabilidade de produção (Devaux et al., 2020). Entre os diversos fatores que podem afetar esses quatro pilares, as mudanças climáticas são um grave risco a segurança alimentar. De acordo com o último relatório realizado pelo Painel Intergovernamental das Mudanças Climáticas de 2022 (IPCC, 2022), as frequências de eventos climáticos extremos aumentaram, havendo uma tendência de se agravarem mais nas próximas décadas. Thiery et al. (2021) alertam com uma projeção, que crianças de seis anos serão expostas ao longo de suas vidas a quatro vezes mais eventos de falha na produção de alimentos, cinco vezes mais secas e 36 vezes mais ondas de calor quando comparada a vida de seus avós, caso a temperatura global aumente 3 °C. Portanto, é importante

desenvolver cultivares mais resilientes a estresses que podem surgir em um cenário próximo, principalmente visando regiões mais vulneráveis.

Entre os estresses abióticos que acometem a batata, o estresse por calor é um dos mais importantes. O intervalo de temperatura considerado ideal para o crescimento vegetativo da cultura é entre 20 e 25 °C, enquanto para o início da tuberização e crescimento de tubérculos esse valor é de 15 a 25 °C (Ku et al., 1977; Muthoni e Kabira, 2015; Struik et al., 1989; Zinta et al., 2022). Os impactos do aumento da temperatura durante o período vegetativo causam um aumento do tempo de duração desse ciclo, diminuição do tamanho das folhas, aumento da respiração e mudanças na distribuição de fotoassimilados entre parte aérea e sistema radicular que são observadas sob condições ideais de plantio (Gawronska et al., 1992; Lafta e Lorenzen, 1995; Winkler, 1971). Se o estresse ocorre durante a tuberização, é observado uma inibição desse processo, um maior tempo necessário para enchimento de tubérculos e, conseqüentemente, uma diminuição da produtividade e do número de tubérculos por planta (Aien et al., 2017; Ewing, 1981). Além dos impactos quantitativos, o estresse também impacta aspectos qualitativos, causando desordens fisiológicas, aumento no teor de glicocalcóides nos tubérculos e maior quantidade de acrilamida, compostos prejudiciais para a saúde (Hiller et al., 1985; Muñoa et al., 2022; Rosen et al., 2018; Yenko et al., 2008). Através de simulações, Hijmans (2003) calculou que a perda potencial de produção devido ao estresse por calor para a cultura da batata nas próximas décadas será entre 18 a 32%. De forma similar, Raymundo et al. (2014) preveem um cenário de aumento de 5% caso cultivares tolerantes sejam utilizadas. Ambos os trabalhos comentam da necessidade de desenvolver cultivares adaptadas e desenvolver experimentos de campo para preparar a cultura para as mudanças climáticas.

Quando trabalhamos com estresses abióticos, podemos citar como desafios a combinação de múltiplas características, diferentes mecanismos fisiológicos, momento e intensidade do evento como principais gargalos para o desenvolvimento de cultivares (Thiele et al., 2017). Apesar dos avanços encontrados na literatura sobre mecanismos moleculares, fisiológicos e fenotipagem de genótipos sob diferentes condições de estresse por calor (Benites e Pinto, 2011; HANCOCK et al., 2014; Lal et al., 2022; Singh et al., 2020; Zhang et al., 2020), esses estudos são restritos a um número pequeno de genótipos avaliados, havendo escassez de trabalhos realizados para entender o seu efeito em diferentes características em nível de população com avaliações em campo, sob diferentes cenários de temperatura. Neste contexto, Centro Internacional de la Papa (CIP) desenvolveu a população *Lowland Tropic Virus Resistant* (LTVR) nos anos 1980, em um esquema de seleção recorrente, visando tanto o melhoramento da cultura como também consolidar um painel de acessos para que estudos de genética, melhoramento e fisiologia relacionados ao estresse por temperaturas mais elevadas, pudessem ser realizados. O background genético desta população é proveniente de cruzamentos entre *Solanum tuberosum* adaptados ao cultivo durante o verão e de ciclo curto, com germoplasma do grupo *Andigenum* cujos acessos possuíam resistência a viroses; e *Neotuberosum* com acessos adaptados para tuberização em dias longos (Bonierbale et al., 2020). Na ocasião da realização deste trabalho, esta população se encontrava no ciclo 7 de seleção recorrente, havendo algumas cultivares tais como “Unica” e “Tacna” selecionadas a partir da mesma, as quais já tem sido cultivadas em diversos países, o que demonstra o potencial desta população para obtenção de novas cultivares aptas ao cultivo em regiões não convencionais de plantio de batata. Portanto, a população LTVR é uma ótima opção para estudar a dinâmica do estresse ao calor por conta da forma como a mesma foi constituída e por conta de sua ampla diversidade genética.

Enfim, com base no exposto acima, o objetivo desse trabalho foi estudar o efeito de diferentes condições de estresse ao calor em um painel de genótipos de batata selecionados a partir da população LTVR, quanto ao

fenótipo dos clones visando estabelecer a relação entre mecanismos de tolerância e resposta ao estresse por temperaturas elevadas.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1. Material vegetal, experimentos de campo e avaliações

Neste trabalho, foram utilizados 395 clones, sendo 394 progênies provenientes do ciclo 7 da população *Lowland Tropic Virus Resistant* (LTVR) desenvolvida pelo CIP e a testemunha cv. “Unica” caracterizada com tolerante ao calor. Neste trabalho cujo foco é um estresse abiótico, foram utilizados três termos: “sensibilidade”, “tolerância” e “responsividade”. Genótipos sensíveis são aqueles que tem uma diminuição da média para uma característica quando submetidos ao ambiente estressante. Clones considerados tolerantes, ou estáveis, mantêm sua média similar ao ambiente ideal de cultivo quando submetidos ao estresse. Por último, indivíduos responsivos são aqueles que tem um incremento na média em ambientes mais quentes, em contraste ao ambiente com temperatura considerada ideal.

Este trabalho utilizou dados gentilmente cedidos pela Dr. Elisa Salas, pesquisadora e melhorista do *Centro Internacional de la Papa* (CIP), com sede na cidade de Lima, no Peru. Assim, foram utilizados dados de três experimentos de campo conduzidos no Peru, cujos clones foram plantados na cidade de Majes (MJ) (-16° 18' 14.4138", -72° 9' 22.9674", 1578 m de altitude) no ano de 2018; em La Molina (LM) (-12° 4' 34.6398", -76° 56' 54.3012", 244 m de altitude) em 2020; e em San Ramón (SR) (-11° 7' 38.9994", -75° 21' 22.9998, 828 m de altitude) em 2021. Pela classificação climática de Köppen-Geiger MJ e LM são classificados como subtropical árido *BWk*, enquanto SR é um clima subtropical úmido *Cwa*. As médias e seus intervalos de temperatura média, temperatura máxima, temperatura mínima e precipitação estão apresentadas na Tabela 1, com detalhes apresentados na seção de resultados.

Tabela 1. Condições ambientais de Majes (MJ), La Molina (LM) e San Ramón (SR), durante a realização dos experimentos

Variáveis Ambientais	MJ	LM	SR
Temp. Média (°C)	18,46 (14,44 - 20,45)	21,67 (18,59 - 25,26)	25,56 (22,16 - 28,92)
Temp. Máx. (°C)	25,49 (21,84 - 28,02)	26,12 (21,15 - 30,34)	31,63 (25,50 - 36,12)
Temp. Mín. (°C)	13,30 (8,34 - 16,67)	18,76 (16,73 - 21,70)	19,05 (15,68 - 22,20)
Precipitação (mm)	0,0 (0,0 - 0,2)	0,0 (0,0 - 0,0)	0,1 (0,0 - 0,3)

Quanto ao design experimental, o experimento em MJ foi instalado em esquema de blocos completos com duas repetições, enquanto LM e SR foram feitos em design linha-coluna com duas repetições. Nos três experimentos foi adotado o espaçamento de 0,30 m entre plantas e 0,90 m entre linhas, sendo a parcela composta por quatro tubérculos em MJ e LM e seis tubérculos em SR. Todos os experimentos foram realizados utilizando o mesmo manejo fitossanitário e a suplementação de necessidade hídrica através de irrigação. Aos 94 dias após o plantio foi realizada a aplicação de dessecante e as parcelas foram colhidas aos 100 dias. As características avaliadas foram senescência (SE, escala de notas), produção de tubérculos por planta (TW, g.planta⁻¹), número de tubérculos por planta (TS, tubérculos.planta⁻¹), percentual de matéria seca (DM, %) e peso médio dos tubérculos (ATW, g.tubérculo⁻¹).

A avaliação de senescência (SE) dos clones foi realizada aos 70 dias, utilizando escala visual de notas descrita a seguir:

- 1 = Muito tardio (as plantas da parcela apresentam folhagem verde e flores);
- 3 = Tardio (a maioria das plantas estão verdes, florescimento terminou e existe o início de formação de frutos);
- 5 = Médio (plantas no início de senescência, diminuição do ângulo foliar e frutos em estágio avançado);
- 7 = Precoce (folhagem senescente, amarelecimento, com a planta ainda ereta e frutos maduras);
- 9 = Muito precoce (plantas completamente senescentes, totalmente amarelecidas e decumbentes).

TW foi calculado a partir da produção em quilogramas produzidos na parcela e dividido pelo número de plantas colhidas, sendo o mesmo procedimento realizado para TS, onde foram contabilizados o número total de tubérculos e feita a correção pelo número de plantas colhidas. ATW foi calculado através das médias ajustadas de TW dividido por TS. Para avaliação de DM, cinco tubérculos são cortados em pequenos cubos de 1 a 2 cm, misturados e duas subamostras de 200 gramas são levadas para secar a 80 °C por 72 horas. Após a estabilização do peso (massa constante), DM é calculada pela média da razão entre o peso seco e o peso fresco, multiplicado por 100.

2.2.2. Médias ajustadas, herdabilidade e acurácia seletiva

As médias ajustadas foram obtidas levando em consideração o design experimental utilizado em cada ambiente. No caso de MJ, o modelo utilizado foi:

$$y_{ir} = \mu + g_i + b_r + e_{ir}$$

onde y_{ir} é a observação do i -genótipo no r -bloco, μ é o intercepto, g_i é o efeito fixo do i -genótipo, b_r é o efeito fixo do r - bloco e e_{ir} é o resíduo. Já LM e SR, por ter sido empregado o mesmo design experimental, foram analisados utilizando o modelo:

$$y_{irkl} = \mu + g_i + r_{k(r)} + c_{l(r)} + b_r + e_{irkl}$$

onde y_{irkl} é a observação do i -genótipo na k -linha em combinação com l -coluna dentro do r -bloco, μ é o intercepto, g_i é o efeito fixo do i -genótipo, $r_{k(r)}$ é o efeito aleatório da k -linha dentro do r -bloco, $c_{l(r)}$ é o efeito aleatório da l -coluna dentro do r -bloco, b_r é o efeito fixo do r - bloco, e e_{ir} é o resíduo.

Para comparação dos experimentos, foram calculados a herdabilidade e acurácia dentro de cada um dos ambientes. O cálculo da herdabilidade (h^2), o efeito de genótipo foi considerado como aleatório. Para MJ, a h^2 foi calculada utilizando a fórmula de Falconer e Mackay (1996):

$$h^2 = \frac{\sigma_g^2}{\sigma_g^2 + \left(\frac{\sigma_e^2}{m}\right)}$$

onde σ_g^2 é a variância genética, σ_e^2 é a variância residual e m é o número de repetições. Devido ao fato de existir outras fontes de variação que envolvem os experimentos em LM e SR, a fórmula anterior não é aplicável, sendo necessário utilizar uma aproximação proposta por Cullis et al. (2006) e Oakey et al. (2006). A acurácia seletiva ($r_{g\hat{g}}$) foi estimada como descrito por Resende (2002):

$$r_{g\hat{g}} = \sqrt{\frac{1}{1 + \left(\frac{\sigma_e^2}{m} \times \frac{1}{\sigma_g^2}\right)}} = \sqrt{h^2}$$

Para a partição dos efeitos na análise conjunta, foi utilizada a abordagem proposta por Legarra (2016), onde a proporção explicada por determinado por um dado componentes é a variância de um efeito dividido pela soma de todos, sendo assim um método não ortogonal, mas aproximado do valor esperado.

2.2.3. Resposta ao estresse e análise de correspondência

Para classificar os clones em relação a resposta ao estresse (responsivo, tolerante ou suscetível), foi utilizada a abordagem proposta por Finlay e Wilkinson (1963), de agora em diante denominado de FW, considerando o modelo:

$$y_{im} = \mu + G_i + \beta_i E_m + e_{im}$$

onde y_{im} é a média ajustada do i -genótipo no m -ambiente, μ é a média geral, G_i é o efeito do i -genótipo, β_i é a sensibilidade associada ao i -genótipo, E_m é o efeito do m -ambiente e e_{im} é o resíduo. Observando as médias da população para cada e as temperaturas nos três ambientes, foi considerado MJ como o ambiente ideal, LM foi um ambiente com estresse moderado e SR um ambiente com elevado estresse. A classificação foi realizada para todas as características e três cenários diferentes: o primeiro considerando MJ e LM; um segundo com MJ e SR; e o último com todos os ambientes.

Com os valores obtidos de sensibilidade para cada um dos genótipos, foi realizada uma análise visual e também comparando com os valores do parâmetro de variância de estabilidade de Shukla (1972) para determinar os limites entre uma classe e outra. Pelas análises, foi estabelecido o limite de 0,5, realizando a classificação seguindo o seguinte critério: $\beta_i > 0,5$ é classificado como responsivo; $-0,5 < \beta_i < 0,5$ é classificado como tolerante; e $\beta_i < -0,5$ é classificado como suscetível.

Para avaliar se existe uma relação entre a resposta diante ao estresse nos diferentes cenários com a nota de senescência, foi realizada uma análise de correspondência simples. A técnica visa exibir associações entre variáveis nominais, através de uma representação bidimensional em um mapa perceptual das distâncias calculadas por χ^2 (Benzecri J.P., 1975). A nota de senescência utilizada varia de acordo com o cenário, sendo MJ combinado com LM foi utilizada a média obtida em LM, MJ com SR foi utilizada a média de SR e para todos os ambientes foi feita a média dos valores obtidos em LM e SR.

2.2.4. Índice de seleção

Foram selecionados três índices de seleção com o intuito de compreender o efeito de cada um sobre a seleção dos materiais. Além da sensibilidade calculada por Finlay-Wilkison, foi utilizado o Stress Tolerance Index, sendo chamado nesse trabalho como Heat Tolerance Index (HTI), e a Superioridade da Cultivar (CS). O HTI foi calculado pela fórmula descrita por Fernandez (1992):

$$HTI_i = \frac{(Ys_i \times Yns_i)}{\overline{Yns}^2}$$

onde Ys é média ajustada do i -genótipo no ambiente com estresse, Yns_i é a média do i -genótipo no ambiente não estressante e \overline{Yns} é a média dos genótipos avaliados no ambiente não estressante. No caso do HTI, dois valores foram calculados para cada uma das características, considerando MJ, o ambiente não estressante, em relação com LM e SR, ambientes estressantes. CS foi calculado utilizando a fórmula proposta por Lin e Binns (1988):

$$CS_i = \sum_{j=1}^n \frac{(Y_{ij} - M_j)^2}{2n}$$

onde Y_{ij} é a média ajustada do i -genótipo no j -ambiente, M_j é a resposta máxima no j -ambiente e n é o número de ambientes. Após os cálculos, foi realizado o ranqueamento para cada uma das características e somado o valor do posto obtido. Com índice de ranqueamento de Mulamba e Mock (1978), foram selecionados 39 clones (equivalente a 10% de intensidade de seleção) para comparar os resultados obtidos por cada um dos métodos. Todas as análises foram realizadas utilizando o software R versão 4.1.3 (R Core Team, 2022).

2.3 RESULTADOS

2.3.1 Efeito de temperaturas elevadas nos clones de batata estudados

As temperaturas médias, máximas e mínimas ao longo do ciclo para cada ambiente apresentaram perfis diferentes (Figura 1). Em MJ, as temperaturas foram amenas, dentro do que é considerado ideal para o desenvolvimento da cultura da batata, enquanto em LM é possível notar um aumento gradativo da temperatura ao longo do ciclo, atingindo temperaturas mais estressantes 50 dias após o plantio. As temperaturas foram altas em SR durante todo o ciclo da cultura. A visualização por tipologia ajuda a entender a diferença entre os ambientes, através das frequências de ocorrência de dias em uma faixa de temperatura ao longo do ciclo por ambiente (Figura 2). Podemos observar que MJ teve poucos dias com temperaturas máximas acima de 27 °C, em contraste com os outros dois ambientes, onde LM teve uma frequência maior de dias mais quentes e SR teve aproximadamente 73% dos dias com temperaturas acima de 30 °C. Seguindo a mesma ideia, podemos notar que as temperaturas mínimas em LM e SR foram altas quando comparadas com MJ, aumentando mais o impacto do estresse na cultura. Por fim, é possível observar que existe um gradiente de estresse, onde MJ seria o ambiente ideal para o cultivo de batata, LM sendo um ambiente medianamente estressante, principalmente ao final do ciclo, e SR um local de extremo estresse durante todo o ciclo.

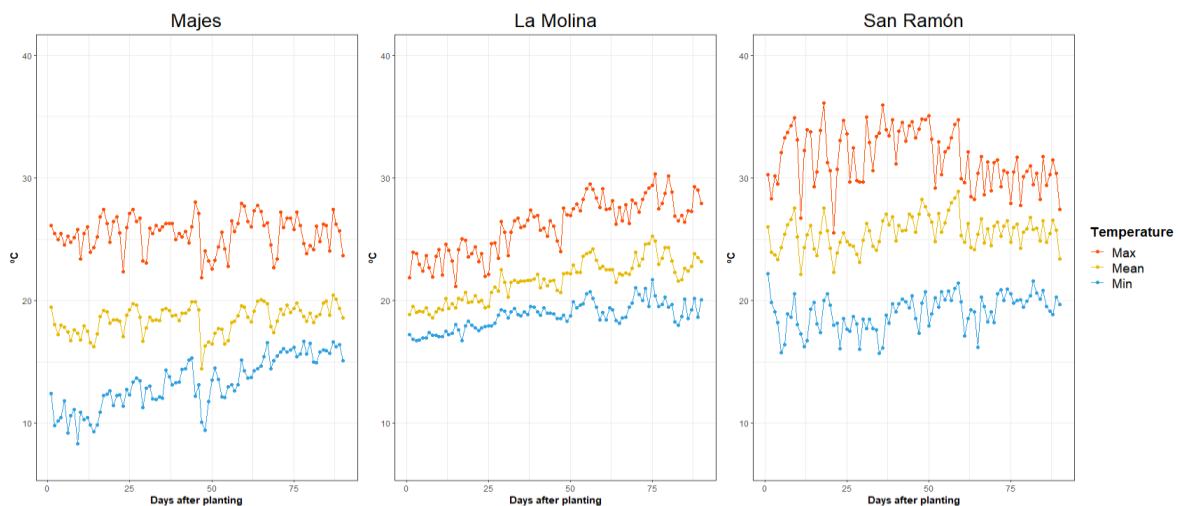


Figura 1. Caracterização das condições de temperatura ao longo do ciclo em MJ, LM e SM

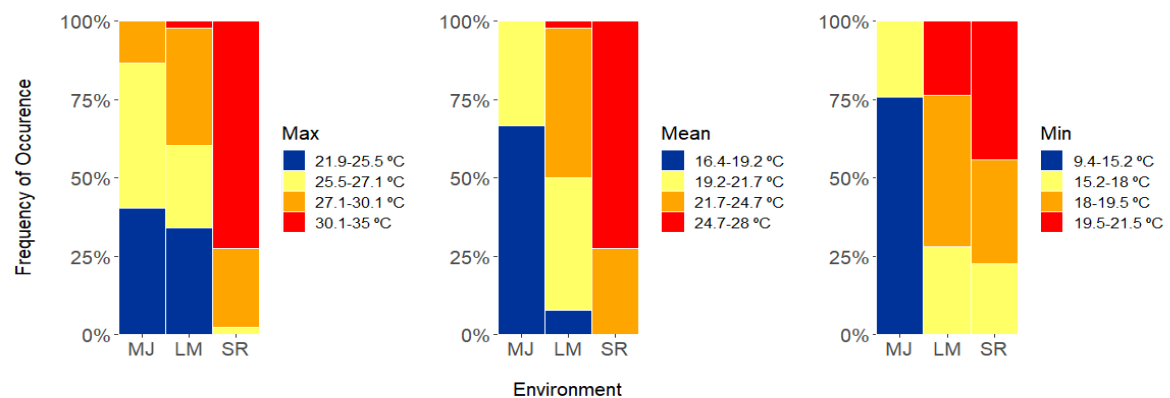


Figura 2. Caracterização por tipologia de temperatura máxima, média e mínima ao longo do ciclo em MJ, LM e SM

O impacto do calor nas características pode ser observado na diminuição das médias gerais de praticamente todas as características dos genótipos do painel (Tabela 2). Comparando MJ com LM, ocorreu uma redução de 39,93% para TW, 28,87% para TS, 3,22% para DM e 18,34% para ATW. As perdas nas médias de MJ comparadas com o ambiente mais quente de SR foram maiores para TW, TS e DM (48,58%, 44,29% e 6,44%, respectivamente) enquanto ATW teve uma redução menor comparado àquela observada entre MJ e LM (7,14%). A testemunha cv. Unica teve um comportamento responsivo ao calor em MJ para LM, onde ocorreu um incremento em TW, TNTP, DM e ATW, na ordem de 46,76%, 71,22%, 15,01% e 24,77%, respectivamente. Apesar das médias da testemunha terem sido reduzidas quando submetidas as altas temperaturas de SR, em comparação com as obtidas em LM, elas ainda foram superiores em relação as de MJ. A interação pode ser observada através das correlações entre as médias em cada ambiente (Figura suplementar 1). TW teve uma baixa correlação entre os ambientes, de aproximadamente 10% na média, corroborando com a partição das variâncias na análise conjunta que nos mostra uma forte interação genótipo por ambiente. O mesmo equivale para TS e ATW, que tiveram correlação média de 0,24 e 0,32 respectivamente. A única exceção foi DM que teve uma correlação média moderada de 0,51 entre os ambientes.

Outro modo de observar o comportamento frente ao estresse para as características é a redução da média em nível individual em porcentagens, considerando MJ como um ambiente ideal e comparando a média dos clones nos ambientes com maiores temperaturas. De MJ para LM, a perda média dos clones em porcentagem para TW foi de 26,41%, variando desde clones que tiveram perdas de 97,48% até indivíduos que quadruplicaram suas médias. Para TS a média de redução foi de 20,68%, com o máximo de perda 88,83% e incremento de 270,63%. Para a característica DM, não houve diminuição em porcentagem entre MJ e LM, mas alguns clones tiveram um incremento ou perda de 30% para mais ou para menos. A redução de ATW em média 10,43%, com uma variação de redução de 66,81% até clones que duplicaram o valor em LM comparado com o obtido em MJ. Fazendo a mesma comparação de MJ com SR para TW, a média foi uma redução 38,83%, variando desde perdas de quase 100% até indivíduos que tiveram um ganho de 300%. A média da redução para TS foi de 39,05%, porém alguns indivíduos dobraram a quantidade de tubérculos de MJ para SR. DM teve uma média de 5,83% e com um intervalo que vai desde indivíduos que ganharam 27,27% e que perderam 36,36%. Para AVTW, a média foi praticamente zero, porém alguns indivíduos chegaram próximo de zero enquanto outros triplicaram o valor obtido em SR. Apesar do estresse ter impactado negativamente as características em nível de população, alguns clones demonstraram um melhor desempenho em ambientes mais quentes, evidenciando a necessidade de identificar e estudar o comportamento dos mesmos. Com relação aos parâmetros genéticos, houve uma tendência de maiores herdabilidades e acurácias em SR, com relação à MJ e LM, com exceção para a característica SE (Tabela 2).

Tabela 2. Condições ambientais de Majes (MJ), La Molina (LM) e San Ramón (SR), durante a realização dos experimentos

Característica	Ambiente	h^2	$r_{g\hat{g}}$	Média clones painel	Média cv. Unica	σ_g^2	σ_{gxe}^2	σ_e^2
TW	MJ	0,6379	0,7987	768,94	340,41			
	LM	0,5942	0,7708	461,88	499,57	4232,91 (8,92%)	22620,26 (47,65%)	20616,09 (43,43%)
	SR	0,8629	0,9289	395,37	461,71			
TS	MJ	0,6401	0,8001	12,09	5,12			
	LM	0,6119	0,7822	8,60	8,76	4,24 (32,07%)	3,64 (27,54%)	5,34 (40,39%)
	SR	0,8321	0,9122	6,74	6,56			
DM	MJ	0,7513	0,8668	18,95	15,28			
	LM	0,6719	0,8197	18,89	17,58	1,91 (50,52%)	0,75 (19,99%)	1,12 (29,49%)
	SR	0,8612	0,928	17,73	14,86			
ATW	MJ	0,7039	0,8389	65,93	44,43			
	LM	0,5987	0,7738	53,84	55,44	132,90 (29,85%)	140,58 (31,58%)	171,69 (38,57%)
	SR	0,7607	0,8722	61,22	71,85			
SE	MJ	0,1122	0,3350	3,37	3,50			
	LM	0,5838	0,7641	4,96	5,48	0,05 (2,63%)	0,27 (14,07%)	1,60 (83,30%)
	SR	0,0563	0,2374	3,44	3,72			

2.3.2 Responsividade, estabilidade e suscetibilidade

O número de clones classificados quanto a reação ao estresse pelo método de FW e as médias nos ambientes são apresentados nas Tabela 3 e 4.

Tabela 3. Resultado da análise de Finlay e Wilkinson para MJ-LM e MJ-SR

Ambiente	Característica	Classificação	Quantidade de clones	Média	χ^2
MJ-LM	TW	Responsivos	28	591,26 (401,25-857,96)	0,04 *
		Estáveis	95	520,34 (196,06-855,27)	
		Sensíveis	272	428,14 (18,01-880,35)	
	TS	Responsivos	37	11,26 (7,87-15,13)	0,80 ^{ns}
		Estáveis	106	9,33 (3,33-16,06)	
		Sensíveis	252	7,90 (1,47-16,03)	
	DM	Responsivos	186	19,71 (13,48-24,20)	0,79 ^{ns}
		Estáveis	3	20,00 (19,12-20,56)	
		Sensíveis	206	18,12 (13,52-22,72)	
	ATW	Responsivos	84	66,04 (25,67-103,81)	0,23 ^{ns}
		Estáveis	75	55,62 (29,69-89,21)	
		Sensíveis	236	48,92 (15,61-91,61)	
MJ-SR	TW	Responsivos	17	519,84 (157,64-751,83)	0,11 ^{ns}
		Estáveis	102	471,26 (49,88-857,96)	
		Sensíveis	276	454,43 (18,01-880,35)	
	TS	Responsivos	13	12,95 (7,08-20,13)	0,02*
		Estáveis	106	8,50 (2,00-20,34)	
		Sensíveis	276	5,77 (0,87-14,13)	
	DM	Responsivos	61	19,63 (12,35-22,30)	0,72 ^{ns}
		Estáveis	88	18,66 (17,21-19,42)	
		Sensíveis	246	17,81 (12,04-22,82)	
	ATW	Responsivos	150	89,39 (26,96-180,00)	0,67 ^{ns}
		Estáveis	31	62,81 (21,39-123,66)	
		Sensíveis	214	50,40 (4,98-119,44)	

^{ns} = não significativo pelo teste de qui-quadrado, * = $p < 0,05$ pelo teste de qui-quadrado. Número dentro dos parênteses representa o intervalo dos valores dos clones alocados em cada grupo

As médias dos clones classificados como responsivos ou estáveis foram maiores do que comparado com as sensíveis para todas as características em ambientes mais quentes. Para TW e TS, observamos que clones responsivos são menos frequentes e a maioria possui sensibilidade ao calor. Além disso, o número de clones classificados como responsivos diminui de LM para SR em ambas as características, demonstrando o impacto do estresse maior neste último ambiente. Diferentemente do observado para TW e TS, as variáveis DM e ATW tiveram um número elevado de indivíduos classificados como responsivos em pelo menos em um ambiente. Investigando o desbalanço ocorrido podemos compreender melhor o impacto do calor em diferentes momentos do desenvolvimento da cultura e a resposta ao estresse. O calor no final do ciclo impactou mais a cultura em relação a sua DM, sendo possível notar isso devido ao aumento do número de clones que tiveram alguma reação de responsividade ou sensibilidade frente ao estresse. Já para ATW, o estresse por calor afeta mais os clones quando este ocorreu durante o ciclo todo, aumentando o número de indivíduos que foram classificados como sensíveis ou responsivos. Ao utilizar a sensibilidade geral, a classificação segue o padrão esperado de um pequeno grupo de clones sendo classificados como responsivos, seguidos por um grupo maior sendo mais estáveis e a maioria sendo sensível ao estresse.

Tabela 4. Resultado da análise de FW considerando os três ambientes simultaneamente

Característica	Classificação	Quantidade Total	Média em LM	Média em SR	χ^2
TW	Responsivos	19	554,59 (196,05-776,89)	605,72 (240,52-1043,40)	0,15 ^{ns}
	Estáveis	97	497,22 (157,63-857,96)	468,71 (31,94-1119,85)	
	Sensíveis	279	443,27 (18,01-880,34)	355,54 (9,23-985,28)	
TS	Responsivos	13	11,78 (8,33-14,4)	12,01 (4,36-20,12)	0,33 ^{ns}
	Estáveis	106	8,76 (1,657-16,02)	8,13 (2,00-20,33)	
	Sensíveis	276	8,38 (1,47-16,05)	5,94 (0,86-17,18)	
DM	Responsivos	58	18,66 (13,52-23,44)	18,73 (15,05-22,81)	0,56 ^{ns}
	Estáveis	85	18,42 (13,89-22,75)	18,18 (14,15-22,18)	
	Sensíveis	252	19,01 (13,48-24,19)	17,34 (12,03-22,53)	
ATW	Responsivos	139	55,82 (19,81-101,67)	75,06 (21,39-180,00)	0,07 ^{ns}
	Estáveis	37	61,55 (34,83-103,81)	62,04 (19,51-99,88)	
	Sensíveis	219	51,26 (15,61-91,61)	52,29 (4,97-123,65)	

ns = não significativo pelo teste de qui-quadrado, * = $p < 0.05$ pelo teste de qui-quadrado. Número dentro dos parênteses representa o intervalo dos valores dos clones alocados em cada grupo

Devido ao estresse ter ocorrido ao final do ciclo em LM, uma análise de correspondência foi realizada entre a classificação frente ao estresse e o grupo de senescência em que foi enquadrado pela avaliação em campo, para investigar se existe uma relação entre a resposta e um mecanismo de escape dos clones. Considerando a classificação quanto a sensibilidade em relação a LM, é possível notar que existe uma tendência maior de clones responsivos terem sido mais precoces (Figura 3), enquanto os estáveis obtiveram notas medianas para senescência e os tardios foram os mais sensíveis, em todas as características. Já em SR não observamos uma relação tão clara quanto aquela

observada em LM, apesar de existir uma leve tendência de clones mais precoces terem sido mais responsivos. Esses resultados demonstram que a senescência teve um papel importante para a tolerância a calor em LM e seu papel diminui quando o estresse se dá ao longo do ciclo da cultura. Em relação à classificação geral da sensibilidade e a senescência, novamente notamos que clones mais responsivos estão mais separados das outras classes e o mais próximo deles são clones mais precoces e, portanto, é possível que exista uma relação entre essas duas variáveis, apesar desta não ser tão explícita.

Quanto à senescência e a classificação em função da sensibilidade geral para TW, clones responsivos, tolerantes e estáveis tiveram nota média de 4,51, 4,39 e 4,18, respectivamente. Para TS, essa diferença foi maior, sendo clones responsivos com nota média 4,73 e estáveis e sensíveis com 4,26 e 4,21. Enquanto para DM, os valores foram de 4,41 para responsivos, 4,25 para estáveis e 4,20 para sensíveis. Diferentemente do observado para as outras características, quando consideramos a classificação pela sensibilidade geral e a nota para senescência, tanto clones responsivos quanto tolerantes tiveram médias de 4,41, enquanto clones sensíveis o valor foi de 4,11. Esse fato reforça o resultado encontrado na análise de correspondência e o mapa perceptual citados anteriormente, onde existe uma relação entre responsividade/tolerância e senescência.

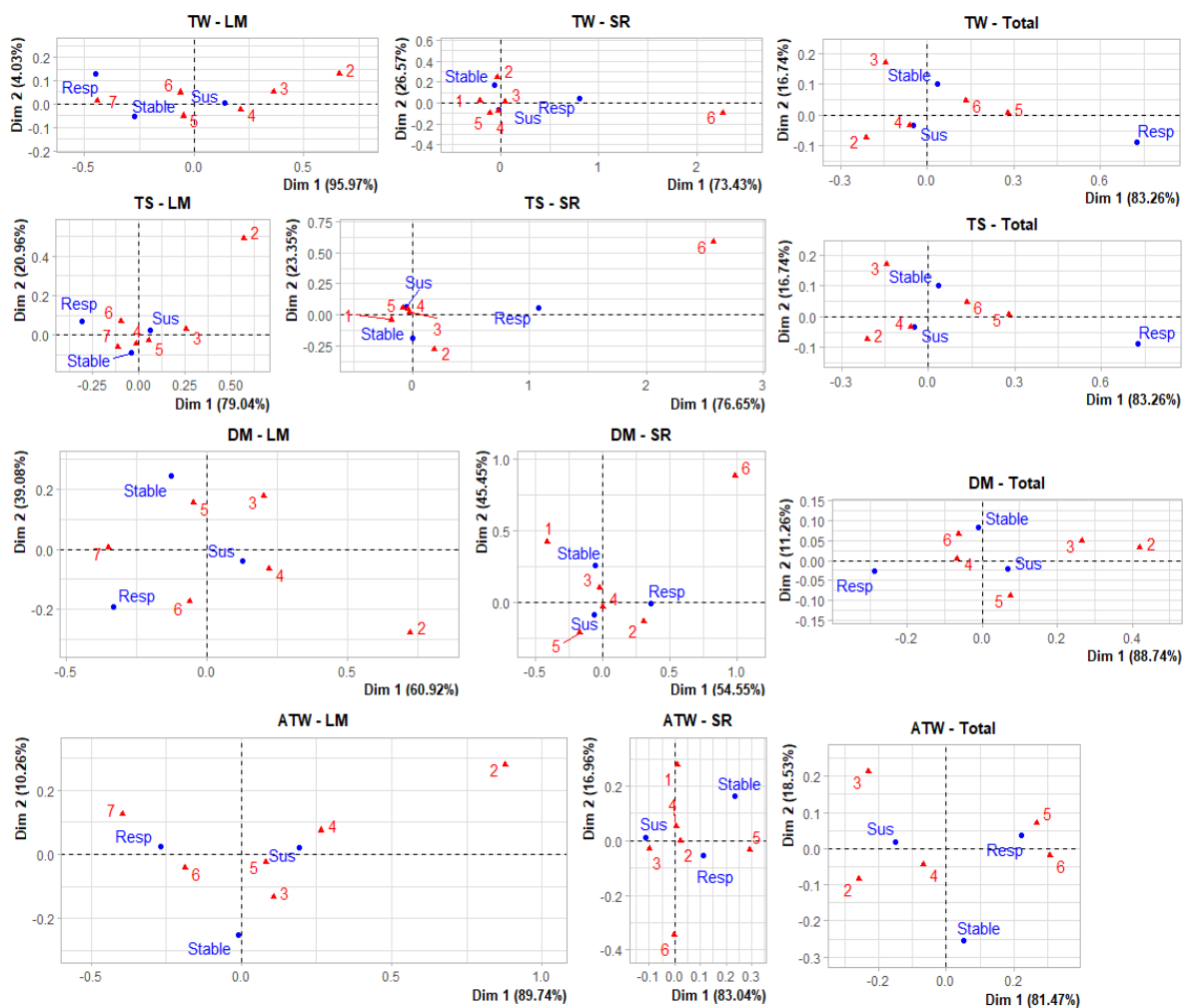


Figura 3. Análise de correspondência entre a classificação quanto ao estresse ao calor e a nota de SE

Na Figura 4 temos as médias dos indivíduos separados em ambientes nas diferentes classificações de acordo com a sensibilidade geral. Indivíduos responsivos possuem médias baixas em MJ, sendo mais evidente suas melhores performances quando caminhamos para ambientes mais estressantes. Clones que foram classificados como estáveis mantiveram suas médias ao longo dos ambientes, com pouca variação observada. Já para a classe de indivíduos classificados como sensíveis, é possível notar a redução na média de MJ para LM e por último em SR. Por outro lado, existem indivíduos classificados como sensíveis que possuem médias maiores quando comparados com tolerantes e responsivos. Aqui entramos em uma antítese, onde por um lado temos indivíduos que possuem uma alta responsividade ao calor e do outro temos clones que apesar de reduzirem suas médias, são ainda mais produtivos que os responsivos e os estáveis. Para uma estratégia visando a seleção de clones produtivos e estáveis, se faz necessário a utilização de outros métodos para balancear esse problema.

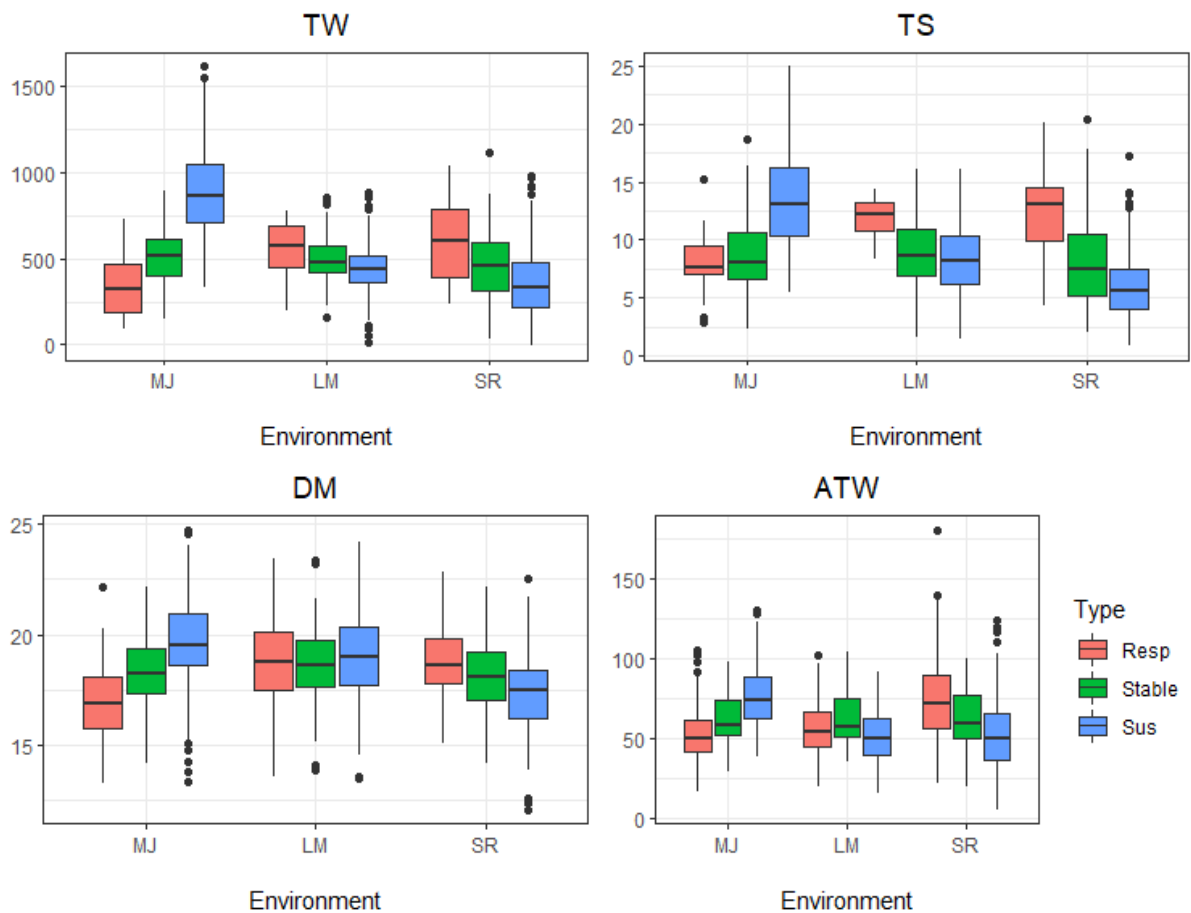


Figura 4. Dispersão das médias dos clones nos ambientes, agrupados de acordo com a classificação geral

2.3.3 Relação entre responsividade e médias

Na Tabela 5 estão apresentados os valores das médias dos 10% de clones selecionados pela soma do ranqueamento proposto por Mulamba e Mock (1978), considerando a norma de reação por FW, HTI e a superioridade do genótipo. A seleção a partir de FW foi a que obteve a menor média para as diferentes características mostrando que, apesar do aumento da média quando a avaliação é realizada em um ambiente sob estresse por temperatura, no conjunto se tem genótipos com baixo potencial para se utilizar como cultivares tolerantes ao calor, devido à sua baixa performance geral. Utilizando HTI e CS, com exceção do TS em SR, a média dos selecionados utilizando os outros dois métodos foram similares ou superiores em todos os ambientes. Os resultados para HTI e CS foram semelhantes, com algumas ressalvas. Dos 39 clones selecionados, 24 são coincidentes entre os dois índices, ou seja, cerca de 40% dos genótipos têm diferença em seus comportamentos frente ao estresse e no conjunto das características avaliadas. Em relação ao TW, a utilização do HTI selecionou genótipos com as médias maiores em MJ e LM, enquanto a superioridade favoreceu uma maior produção em SR em contraponto aos outros dois ambientes. TS e DM tiveram diferenças ínfimas entre as médias dos genótipos selecionados utilizando os dois índices. Para ATW ocorreu a mesma diferença observada em relação ao TW, onde HTI favoreceu MJ e LM e CS o ambiente SR.

Além da média, é importante observar a redução em porcentagem da média dos selecionados em MJ em relação aos ambientes estressantes. Para TW, a redução observada entre MJ e LM para os dois métodos foi similar, de aproximadamente 42%, enquanto a redução dos clones de MJ para SR foi de 46,66% utilizando o HTI e de 37,74% com CS. Já para AVTW, a diferença foi de uma redução de 3,17% de MJ para SR considerando o HTI, enquanto a redução é maior quando se usa CS, de 17,29%. Com exceção desses dois casos, os valores de redução entre MJ e os outros dois ambientes foram semelhantes. Diferentemente do observado para o HTI e CS, a utilização da sensibilidade selecionou indivíduos que tiveram incremento na sua média nos ambientes estressantes, com ganhos em LM de 56,17% para TW, 14,02% para TS, 7,98% para DM e 41,18% para ATW. Em SR, os ganhos médios foram na ordem de 44,92%, 6,16%, 6,66% e 49,57%, respectivamente. É importante frisar que dos 39 clones selecionados por HTI e CS, aproximadamente 77% deles foram classificados como sensíveis para todas as características, com exceção de ATW, enquanto a sensibilidade teve a mesma porcentagem, porém de clones classificados como responsivos ou estáveis. Esses resultados sugerem que, apesar do desempenho de clones responsivos ser melhores nos ambientes estressantes, suas médias são muito baixas comparadas a clones sensíveis ao calor que mantém uma média alta mesmo com redução por conta do calor, pois no conjunto os clones mais tolerantes apresentam menor potencial.

Em relação à nota de senescência dos selecionados a partir de cada método também existem diferenças. Pelo ranqueamento pela sensibilidade, a nota média de senescência dos clones selecionados em LM foi de 5,5 e em SR 3,2, com uma média geral de 4,5. Já para HTI e CS a média foi semelhante em LM e SR, de aproximadamente 4,6 e 3,4 respectivamente. Para o grupo de senescência geral, a média dos métodos também foi semelhante, com clones tendo nota média de 4,0. Esse fato vai de encontro com os resultados observados da análise de correspondência, onde existe uma tendência de clones mais precoces terem um desempenho melhor em ambientes com maior temperatura (maior estresse por calor). Como foi observado anteriormente pela média dos clones selecionados por meio de cada método, apesar de terem notas médias semelhantes para senescência, dentro de cada grupo existe uma variação de resposta frente ao estresse por calor.

Tabela 5. Média dos clones selecionados por meio dos índices de seleção HTI, CS FW e a variação da média em relação a MJ

Ambiente	Característica	HTI	Variação (%)	CS	Variação (%)	Finlay-Wilkinson	Variação (%)
MJ		1027,58 (641,24- 1557,54)		1017,97 (621,24-1557,54)		379,99 (132,90-616,24)	
LM	TW	571,78 (324,65-855,27)	-41,21	562,05 (324,65-840,58)	-41,93	496,29 (196,05-776,89)	+12,27
SR		511,45 (176,44-1119,85)	-46,66	603,02 (269,81-1119,85)	-37,74	501,1017 (123,60-903,24)	+14,58
MJ		14,80 (8,43-23,89)		15,06 (9,560-23,89)		8,73 (2,39-19,56)	
LM	TS	10,54 (6,05-15,13)	-24,06	10,23 (6,055-14,70)	-29,35	9,053966 (1,98-14,73)	+10,88
SR		7,66397 (2,55-15,11)	-45,52	8,27 (2,93-16,03)	-43,45	9,06 (2,00-20,12)	+16,32
MJ		20,50652 (18,23-24,53)		20,39 (16,53-24,53)		16,86 (13,28-19,78)	
LM	DM	20,08 (16,30-23,44)	-15,58	19,94 (16,30-23,44)	-15,88	18,10 (13,48-23,21)	+3,01
SR		18,86 (16,37-21,73)	-7,70	18,77 (16,37-21,73)	-7,56	17,91 (12,57-22,30)	+2,10
MJ		71,95 (44,63-122,79)		69,41 (44,63-122,79)		43,65 (19,23-85,30)	
LM	ATW	55,74 (30,95-103,81)	-18,69	54,28 (30,16-96,15)	-18,81	56,72 (25,66-101,67)	+22,61
SR		69,48 (32,49-139,24)	-3,17	77,98 (35,56-139,23)	-17,28	61,36 (21,39-180,00)	+32,63

Número dentro dos parênteses representa o intervalo dos clones selecionados

2.4. DISCUSSÃO

A redução da média para várias características importantes demonstra a sensibilidade da cultura batata frente ao aumento de temperatura e a necessidade de grande esforço por parte dos melhoristas para selecionar genótipos com maior performance perante ao estresse ao calor. Kim et al. (2017) utilizando a cultivar “Superior”, observaram uma redução de 11% na produção de tubérculos comercializáveis a cada 1 °C de elevação da temperatura ideal de cultivo. Já Tang et al. (2018) avaliaram 55 cultivares comerciais de batata no Canadá submetidas a temperaturas diurnas de 35 °C e noturnas de 28 °C, observando uma redução média de 93% na massa dos tubérculos. Esses fatos demonstram que as cultivares disponíveis no mercado não estão adaptadas a possíveis mudanças nas condições ideais de desenvolvimento da cultura, colocando em risco a segurança alimentar principalmente em países em desenvolvimento ou onde a cultura é a base alimentar de seus habitantes (Devaux et al., 2014).

Por esses motivos, a população LTVR tem sido melhorada para regiões consideradas não ideais para o cultivo de batata, resultando em uma variação na resposta de adaptabilidade frente aos ambientes de maior temperatura e uma menor redução da média populacional quando comparada aos estudos apresentados anteriormente. Mesmo sendo uma população desenvolvida com o objetivo de selecionar genótipos com melhor desempenho em ambientes estressantes sob temperaturas mais elevadas, o potencial produtivo da mesma em ambientes estressantes é menor quando comparado com seu cultivo em ambiente ideal, com um maior impacto quando o estresse ocorre desde o início do ciclo da cultura. O mesmo efeito é encontrado com os resultados obtidos por Rykaczewska (2015), onde que quanto mais cedo o estresse ocorre, maior impacto negativo é observado no desenvolvimento das plantas.

Apesar de ser uma população desenvolvida em esquema de seleção recorrente para tolerância ao calor, podemos notar pelos resultados, que clones com um comportamento responsivo tendem a ser mais uma exceção do que uma regra, assim como encontrado por Al Mahmud et al. (2021). Diversos estudos na literatura que visam compreender o controle genético do estresse por calor na cultura da batata têm sido realizados, sendo possível levantar algumas hipóteses para esse comportamento responsivo ser uma exceção. A batata cultivada é conhecida por sua sensibilidade ao aumento da temperatura, mas é de conhecimento que algumas espécies do gênero *Solanum* possuem genes relacionados à tolerância ou responsividade ao calor (Bashir et al., 2022; Davis, 1941). Devido a LTVR ter em seu histórico cruzamentos com espécies selvagens, é possível que genes relacionados tenham sido introgrididos e expliquem o desempenho superior de alguns clones em ambientes mais quentes. Levy et al. (1991) e Manuel et al. (2019) relatam que progênies tolerantes podem ser identificadas em famílias oriundas de parentais sensíveis ao calor, o que pode ser um indicativo de efeitos heteróticos para a resposta ao estresse para produção. Menezes et al. (2001) também encontraram que efeitos não-aditivos são importantes para produção no estresse, porém para outras características os efeitos aditivos tiveram uma maior importância, demonstrando a complexidade no contexto de seleção de parentais para diferentes características envolvendo a seleção para tolerância ao calor. Além disso, assim como observado em outras culturas, a ocorrência de *trade off* entre produção, adaptabilidade e/ou estabilidade frente a estresses abióticos dificulta a identificação e seleção de genótipos superiores (Du et al., 2020; Lundgren e Des Marais, 2020; Simmonds, 1991). Considerando a arquitetura genética complexa da tolerância ao estresse para diferentes características, ficam claras as dificuldades que os melhoristas enfrentam para encontrar o melhor esquema de melhoramento e como selecionar clones e parentais que otimizem o ganho de seleção.

Além do controle genético, a variação no momento e na intensidade em que o estresse acontece são desafios no melhoramento visando tolerância a estresses abióticos (Araújo et al., 2015). Nossos resultados demonstram essa variação na resposta ao estresse e a dificuldade de interpretar corretamente os resultados. Por exemplo, é sabido por estudos prévios que o estresse por calor resulta em uma diminuição na DM dos clones estudados (George et al., 2017a; Singh et al., 2020). Em nível populacional, nosso estudo está alinhado aos encontrados na literatura, onde MJ teve a maior média seguida por LM e SR. Porém, em nível de indivíduo, DM em LM teve um grande número de clones que foram classificados como responsivos quando comparados com SR.

Bethke et al. (2009) estudou os efeitos do estresse por calor e seca na cultura da batata, observando que a resistência ao movimento da água entre o tubérculo e caule é baixa onde, sob condições estressantes, o potencial da água é menor na raiz causando um movimento para a parte aérea. Isso explica o motivo pelo qual alguns clones tiveram um aumento de DM, pois aumentaram sua transpiração devido ao aumento da temperatura, ocasionando uma perda de água nos tubérculos e tendo um ganho falso de DM. Em outras palavras, clones responsivos para DM sob estresse podem ser na realidade um sinal de sensibilidade.

O desbalanceamento observado para ATW em SR também é uma resposta fisiológica ao estresse ao calor. Altas temperaturas ao longo do ciclo diminuem a quantidade de tubérculos formados e, com o número reduzido, os genótipos que conseguem tuberizar geram poucos tubérculos que, quando terminam seu enchimento, são maiores do que observaríamos em uma condição sem estresse (Muthoni e Kabira, 2015), explicando o motivo de ter um grande número de genótipos classificados como responsivos. A distribuição de TS em SR revela que um menor número de tubérculos foi produzido no ambiente estressante, porém alguns genótipos responsivos ou tolerantes ao estresse tiveram uma produção que compensou essa perda, evidenciado por uma maior correlação entre TW e ATW em SR quando comparado com LM. Isso corrobora com os resultados encontrados por Veilleux et al. (1997) onde os autores concluem que a formação e crescimento do tubérculo possuem mecanismos independentes.

Existem estudos na literatura que indicam SE como uma característica importante para a tolerância ao calor. Levy (1986) observou que cultivares mais precoces tiveram menores perdas de produção entre o ambiente ideal e estressante quando comparada com clones tardios, sugerindo que a precocidade estaria mais relacionada a um mecanismo de escape do que necessariamente a um mecanismo de tolerância. Porém, estudos posteriores demonstram que existe uma relação entre a tolerância e a precocidade, por efeito pleiotrópico ou de genes ligados a senescência que se modificam e alteram o desenvolvimento da planta quando está sobre efeito do estresse (George et al., 2017b; Pradel et al., 2019; Zhang et al., 2020). Nossos resultados da análise de correspondência e da nota de senescência da classificação em relação à sensibilidade corroboram tanto como sendo um mecanismo de escape e indícios de mecanismos de tolerância.

Em LM, as condições até o início da tuberização em conjunto com o estresse durante a formação dos tubérculos permitiu que clones precoces formassem tubérculos e, permitiu também um maior enchimento dos mesmos, enquanto clones tardios foram mais impactados pelo estresse. O resultado de associação entre SE e os caracteres avaliados não foi tão marcante em SR quando comparado em LM, com TW e TS sendo as características com mais associação do que DM e ATW. Observando a sensibilidade geral, considerando os três ambientes, também é possível notar a tendência de clones responsivos estarem associados à precocidade, somente DM fugindo do padrão que as outras três características seguem.

O mesmo antagonismo levantado por Levy e Veilleux (2007) também foi encontrado neste trabalho, apesar de clones tolerantes e responsivos serem mais precoces, existe uma grande variação dentro dos grupos de senescência e, devido ao fato do menor potencial de produtividade em comparação a clones com ciclos mais longos, a redução da produção pode ser compensada pelo alto potencial de indivíduos de tardios. O índice baseado na sensibilidade selecionou clones mais precoces que os outros dois índices e que tiveram um aumento das médias em ambientes estressantes. HTI e CS selecionaram clones com uma média menor para nota de SE (clones mais tardios) e a maioria com classificação como sensível para as características. Apesar disso, a média dos selecionados por esses dois últimos índices foram superiores em comparação com os selecionados pela sensibilidade e obtiveram médias acima da população nos três ambientes.

A utilização dos índices de seleção demonstra que mesmo selecionando clones com sensibilidade para as diferentes características, o potencial desses materiais é maior e compensa a perda em ambientes estressantes. Além disso, mesmo HTI e CS tendo médias de SE iguais nos diferentes ambientes, ocorreram variações em relação a média dos selecionados, corroborando com o que foi dito anteriormente sobre a variação de tolerância dentro de diferentes grupos de maturação. Vale ressaltar que nesse estudo estamos tratando somente de variáveis quantitativas e quando adicionamos outras como aparência, distúrbios fisiológicos e resistência a estresses bióticos, a tarefa do melhorista se torna mais difícil e o ganho genético menor.

Pelo exposto, ficam evidentes os desafios a serem enfrentados no melhoramento da cultura da batata em ambientes cujas temperaturas mais elevadas proporcionem maior estresse por calor. Apesar de existir uma variação entre o comportamento dos clones para cada característica avaliada, está claro que clones responsivos e estáveis frente ao aumento da temperatura são menos frequentes na população, além de possuírem uma média inferior no ambiente ideal. Com isso, é importante ter em mente que dependendo do objetivo e como é delineado o programa de melhoramento, alguns clones com genes que podem ser de interesse para melhorar o desempenho frente ao estresse estão sendo descartados. À primeira vista, selecionar clones mais precoces seria uma boa estratégia para um mecanismo de escape do estresse, porém quando se visa a seleção para o estresse durante todo o ciclo, a complexidade da associação devido a diferentes mecanismos de tolerância e a variação de potencial de produção de clones dentro de cada grupo de maturação faz necessária a avaliação dos clones para encontrar o melhor balanço. Por último, é importante deixar mais um alerta em relação à sensibilidade da cultura da batata ao aumento de temperatura e a necessidade de despender mais esforços em estudos e desenvolvimento de genótipos com melhores performances diante do estresse ocasionado por temperaturas mais elevadas.

CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos neste trabalho, pode-se concluir que:

- Genótipos selecionados como sendo mais tolerantes ao calor, de maneira geral, apresentam baixo desempenho em condições nas quais o estresse por temperatura seja menor ou inexistente;
- Há indícios que de a precocidade esteja relacionada com a maior tolerância ao calor, via mecanismo de escape de períodos cuja condição de estresse por calor, principalmente mais ao final do ciclo cultura, seja mais pronunciada;
- Clones que apresentam elevada performance em condições ideais de temperatura, tendem a manter uma média geral elevada em condições de estresse, quando comparados com clones tolerantes de menor performance média;
- A seleção pode ser mais efetiva se for direcionada para clones de alta performance média ao invés de clones que apresentam maior tolerância ao calor estimada via índices de seleção que utilizam valores relativos de desempenho.

REFERÊNCIAS

- Aien, A., Chaturvedi, A. K., Bahuguna, R. N., e Pal, M. (2017). Phenological sensitivity to high temperature stress determines dry matter partitioning and yield in potato. *Indian Journal of Plant Physiology*, 22(1), 63–69. <https://doi.org/10.1007/s40502-016-0270-z>
- Al Mahmud, A., Alam, M. J., Kundu, B. C., Skalicky, M., Rahman, M. M., Rahaman, E. H. M. S., Sultana, M., Molla, M. S. H., Hossain, A., El-Shehawi, A. M., Brestic, M., e Sabagh, A. EL. (2021). Selection of Suitable Potato Genotypes for Late-Sown Heat Stress Conditions Based on Field Performance and Stress Tolerance Indices. *Sustainability*, 13(5), 2770. <https://doi.org/10.3390/su13052770>
- Araújo, S. S., Beebe, S., Crespi, M., Delbreil, B., González, E. M., Gruber, V., Lejeune-Henaut, I., Link, W., Monteros, M. J., Prats, E., Rao, I., Vadez, V., e Patto, M. C. V. (2015). Abiotic Stress Responses in Legumes: Strategies Used to Cope with Environmental Challenges. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 34(1–3), 237–280. <https://doi.org/10.1080/07352689.2014.898450>
- Bashir, I., Nardino, M., Castro, C. M., e Heiden, G. (2022). Genotypic Response and Selection of Potato Germplasm Under Heat Stress. *Potato Research*. <https://doi.org/10.1007/s11540-022-09573-w>
- Benites, F. R. G., e Pinto, C. A. B. P. (2011). Genetic gains for heat tolerance in potato in three cycles of recurrent selection. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 11(2), 133–140. <https://doi.org/10.1590/S1984-70332011000200005>
- Benzecri J.P. (1975). L'analyse des données. *Population*, 1190. https://www.persee.fr/doc/pop_0032-4663_1975_num_30_6_15911
- Bethke, P. C., Sabba, R., e Bussan, A. J. (2009). Tuber Water and Pressure Potentials Decrease and Sucrose Contents Increase in Response to Moderate Drought and Heat Stress. *American Journal of Potato Research*, 86(6), 519–532. <https://doi.org/10.1007/s12230-009-9109-8>
- Bonierbale, M. W., Amoros, W. R., Salas, E., e de Jong, W. (2020). Potato Breeding. In *The Potato Crop* (pp. 163–217). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-28683-5_6
- Cullis, B. R., Smith, A. B., e Coombes, N. E. (2006). On the design of early generation variety trials with correlated data. *Journal of Agricultural, Biological, and Environmental Statistics*, 11(4), 381–393. <https://doi.org/10.1198/108571106X154443>
- Davis, G. E. (1941). The effects of certain environmental factors on tuberization in the wild potato, *Solanum commersonii*. *American Potato Journal*, 18(9), 266–269. <https://doi.org/10.1007/BF02892051>
- Devaux, A., Goffart, J.-P., Petsakos, A., Kromann, P., Gatto, M., Okello, J., Suarez, V., e Hareau, G. (2020). Global Food Security, Contributions from Sustainable Potato Agri-Food Systems. In *The Potato Crop* (pp. 3–35). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-28683-5_1
- Devaux, A., Kromann, P., e Ortiz, O. (2014). Potatoes for Sustainable Global Food Security. *Potato Research*, 57(3–4), 185–199. <https://doi.org/10.1007/s11540-014-9265-1>
- Du, Y.-L., Xi, Y., Cui, T., Anten, N. P. R., Weiner, J., Li, X., Turner, N. C., Zhao, Y.-M., e Li, F.-M. (2020). Yield components, reproductive allometry and the tradeoff between grain yield and yield stability in dryland spring wheat. *Field Crops Research*, 257, 107930. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2020.107930>
- Ewing, E. E. (1981). Heat stress and the tuberization stimulus. *American Potato Journal*, 58(1), 31–49. <https://doi.org/10.1007/BF02855378>
- Falconer, D. S., e Mackay, T. F. C. (1996). *Introduction to Quantitative Genetics*. Prentice Hall.
- FAO. (2017). *FAOSTAT. Food and Agriculture Organization of the United Nations*.
- Fernandez, G. C. J. (1992). Effective selection criteria for assessing plant stress tolerance. *Proceedings of the International Symposium on Adaptation of Vegetables and Other Food Crops In Temperature and Water Stress*, 257–270.
- Finlay, K., e Wilkinson, G. (1963). The analysis of adaptation in a plant-breeding programme. *Australian Journal of Agricultural Research*, 14(6), 742. <https://doi.org/10.1071/AR9630742>
- Gawronska, H., Thornton, M. K., e Dwelle, R. B. (1992). Influence of heat stress on dry matter production and photo-assimilate partitioning by four potato clones. *American Potato Journal*, 69(10), 653–665. <https://doi.org/10.1007/BF02852678>
- George, T. S., Taylor, M. A., Dodd, I. C., e White, P. J. (2017a). Climate Change and Consequences for Potato Production: a Review of Tolerance to Emerging Abiotic Stress. *Potato Research*, 60(3–4), 239–268. <https://doi.org/10.1007/s11540-018-9366-3>
- George, T. S., Taylor, M. A., Dodd, I. C., e White, P. J. (2017b). Climate Change and Consequences for Potato Production: a Review of Tolerance to Emerging Abiotic Stress. *Potato Research*, 60(3–4), 239–268. <https://doi.org/10.1007/s11540-018-9366-3>
- Hancock, R. D., Morris, W. L., Ducreux, L. J. M., Morris, J. A., Usman, M., Verall, S. R., Fuller, J., Simpson, C. G., Zhang, R., Hedley, P. E., e Taylor, M. A. (2014). Physiological, biochemical and molecular responses of the potato (*Solanum tuberosum* L.) plant to moderately elevated temperature. *Plant, Cell e Environment*, 37(2), 439–450. <https://doi.org/10.1111/pce.12168>

- Hijmans, R. J. (2003). The effect of climate change on global potato production. *American Journal of Potato Research*, 80(4), 271–279. <https://doi.org/10.1007/BF02855363>
- Hiller, L. K., Koller, D. C., e Thornton, R. E. (1985). Physiological disorders of potato tubers. *Potato Physiology*, 389–455.
- IPCC. (2022). *Contribution of Working Group II to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*.
- Kim, Y.-U., Seo, B.-S., Choi, D.-H., Ban, H.-Y., e Lee, B.-W. (2017). Impact of high temperatures on the marketable tuber yield and related traits of potato. *European Journal of Agronomy*, 89, 46–52. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2017.06.005>
- Ku, S.-B., Edwards, G. E., e Tanner, C. B. (1977). Effects of Light, Carbon Dioxide, and Temperature on Photosynthesis, Oxygen Inhibition of Photosynthesis, and Transpiration in *Solanum tuberosum*. *Plant Physiology*, 59(5), 868–872. <https://doi.org/10.1104/pp.59.5.868>
- Lafta, A. M., e Lorenzen, J. H. (1995). Effect of High Temperature on Plant Growth and Carbohydrate Metabolism in Potato. *Plant Physiology*, 109(2), 637–643. <https://doi.org/10.1104/pp.109.2.637>
- Lal, M. K., Tiwari, R. K., Kumar, A., Dey, A., Kumar, R., Kumar, D., Jaiswal, A., Changan, S. S., Raigond, P., Dutt, S., Luthra, S. K., Mandal, S., Singh, M. P., Paul, V., e Singh, B. (2022). Mechanistic Concept of Physiological, Biochemical, and Molecular Responses of the Potato Crop to Heat and Drought Stress. *Plants*, 11(21), 2857. <https://doi.org/10.3390/plants11212857>
- Legarra, A. (2016). Comparing estimates of genetic variance across different relationship models. *Theoretical Population Biology*, 107, 26–30. <https://doi.org/10.1016/j.tpb.2015.08.005>
- Levy, D. (1986). Genotypic variation in the response of potatoes (*Solanum tuberosum* L.) to high ambient temperatures and water deficit. *Field Crops Research*, 15(1), 85–96. [https://doi.org/10.1016/0378-4290\(86\)90103-6](https://doi.org/10.1016/0378-4290(86)90103-6)
- Levy, D., Kastenbaum, E., e Itzhak, Y. (1991). Evaluation of parents and selection for heat tolerance in the early generations of a potato (*Solanum tuberosum* L.) breeding program. *Theoretical and Applied Genetics*, 82(2), 130–136. <https://doi.org/10.1007/BF00226203>
- Levy, D., e Veilleux, R. E. (2007). Adaptation of potato to high temperatures and salinity—a review. *American Journal of Potato Research*, 84(6), 487–506. <https://doi.org/10.1007/BF02987885>
- Lin, C. S., e Binns, M. R. (1988). A superiority measure of cultivar performance for cultivar x location data. *Canadian Journal of Plant Science*, 68(1), 193–198. <https://doi.org/10.4141/cjps88-018>
- Lundgren, M. R., e Des Marais, D. L. (2020). Life History Variation as a Model for Understanding Trade-Offs in Plant–Environment Interactions. *Current Biology*, 30(4), R180–R189. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2020.01.003>
- Manuel, G., Diaz, L., Quispe, K., e Bonierbale, M. (2019). Parental Value for Tuber Yield in Potato Under High Temperature Environments in Climate Change Conditions. *Open Agriculture*, 4(1), 630–640. <https://doi.org/10.1515/opag-2019-0060>
- Menezes, C. B., Pinto, C. A. B. P., e Lambert, E. S. (2001). Combining Ability of Potato Genotypes for Cool and Warm Seasons in Brazil. *Cropps Breeding and Applied Biotechnology*, 1(2), 145–157. <https://doi.org/10.13082/1984-7033.v01n02a06>
- Mulamba, N. N., e Mock, J. J. (1978). Improvement of yield potential of the Eto Blanco maize (*Zea mays* L.) population by breeding for plant traits. *Egyptian Journal of Genetics and Cytology*, 7, 40–51.
- Muñoz, L., Chacaltana, C., Sosa, P., Gastelo, M., zum Felde, T., e Burgos, G. (2022). Effect of environment and peeling in the glycoalkaloid concentration of disease-resistant and heat-tolerant potato clones. *Journal of Agriculture and Food Research*, 7, 100269. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2022.100269>
- Muthoni, J., e Kabira, J. N. (2015). Potato Production in the Hot Tropical Areas of Africa: Progress Made in Breeding for Heat Tolerance. *Journal of Agricultural Science*, 7(9). <https://doi.org/10.5539/jas.v7n9p220>
- Oakey, H., Verbyla, A., Pitchford, W., Cullis, B., e Kuchel, H. (2006). Joint modeling of additive and non-additive genetic line effects in single field trials. *Theoretical and Applied Genetics*, 113(5), 809–819. <https://doi.org/10.1007/s00122-006-0333-z>
- Pradel, W., Gatto, M., Hareau, G., Pandey, S. K., e Bhardway, V. (2019). Adoption of potato varieties and their role for climate change adaptation in India. *Climate Risk Management*, 23, 114–123. <https://doi.org/10.1016/j.crm.2019.01.001>
- R Core Team (2022). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing
- Raymundo, R., Asseng, S., Cammarano, D., e Quiroz, R. (2014). Potato, sweet potato, and yam models for climate change: A review. *Field Crops Research*, 166, 173–185. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2014.06.017>
- Resende, M. D. V. de. (2002). *Genética biométrica e estatística no melhoramento de plantas perenes*. Embrapa Informação Tecnológica: Colombo: Embrapa Florestas.

- Rosen, C., Sun, N., Olsen, N., Thornton, M., Pavek, M., Knowles, L., e Richard Knowles, N. (2018). Impact of Agronomic and Storage Practices on Acrylamide in Processed Potatoes. *American Journal of Potato Research*, 95(4), 319–327. <https://doi.org/10.1007/s12230-018-9659-8>
- Rykaczewska, K. (2015). The Effect of High Temperature Occurring in Subsequent Stages of Plant Development on Potato Yield and Tuber Physiological Defects. *American Journal of Potato Research*, 92(3), 339–349. <https://doi.org/10.1007/s12230-015-9436-x>
- Shukla, G. K. (1972). Some statistical aspects of partitioning genotype-environmental components of variability. *Heredity*, 29(2), 237–245. <https://doi.org/10.1038/hdy.1972.87>
- Simmonds, N. W. (1991). Selection for local adaptation in a plant breeding programme. *Theoretical and Applied Genetics*, 82(3), 363–367. <https://doi.org/10.1007/BF02190624>
- Singh, B., Kukreja, S., e Goutam, U. (2020). Impact of heat stress on potato (*Solanum tuberosum* L.): present scenario and future opportunities. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 95(4), 407–424. <https://doi.org/10.1080/14620316.2019.1700173>
- Struik, P. C., Geertsema, J., e Custers, C. H. M. G. (1989). Effects of shoot, root and stolon temperature on the development of the potato (*Solanum tuberosum* L.) plant. I. Development of the haulm. *Potato Research*, 32(2), 133–141. <https://doi.org/10.1007/BF02358225>
- Tang, R., Niu, S., Zhang, G., Chen, G., Haroon, M., Yang, Q., Rajora, O. P., e Li, X.-Q. (2018). Physiological and growth responses of potato cultivars to heat stress. *Botany*, 96(12), 897–912. <https://doi.org/10.1139/cjb-2018-0125>
- Thiele, G., Khan, A., Heider, B., Kroschel, J., Harahagazwe, D., Andrade, M., Bonierbale, M., Friedmann, M., Gemenet, D., Cherinet, M., Quiroz, R., Faye, E., e Dangles, O. (2017). Roots, Tubers and Bananas: Planning and research for climate resilience. *Open Agriculture*, 2(1), 350–361. <https://doi.org/10.1515/opag-2017-0039>
- Thiery, W., Lange, S., Rogelj, J., Schluessner, C.-F., Gudmundsson, L., Seneviratne, S. I., Andrijevic, M., Frieler, K., Emanuel, K., Geiger, T., Bresch, D. N., Zhao, F., Willner, S. N., Büchner, M., Volkholz, J., Bauer, N., Chang, J., Ciais, P., Dury, M., ... Wada, Y. (2021). Intergenerational inequities in exposure to climate extremes. *Science*, 374(6564), 158–160. <https://doi.org/10.1126/science.abi7339>
- Veilleux, R. E., Paz, M. M., e Levy, D. (1997). Potato germplasm development for warm climates: genetic enhancement of tolerance to heat stress. *Euphytica*, 98(1/2), 83–92. <https://doi.org/10.1023/A:1003014629029>
- Winkler, E. (1971). Kartoffelbau in Tirol II. Photosynthesevermögen und Respiration von verschiedenen Kartoffelsorten. *Potato Research*, 14(1), 1–18. <https://doi.org/10.1007/BF02355914>
- Yencho, G. C., McCord, P. H., Haynes, K. G., e Sterrett, S. B. R. (2008). Internal Heat Necrosis of Potato—A Review. *American Journal of Potato Research*, 85(1), 69–76. <https://doi.org/10.1007/s12230-008-9008-4>
- Zhang, G., Tang, R., Niu, S., Si, H., Yang, Q., Bizimungu, B., Regan, S., e Li, X.-Q. (2020). Effects of Earliness on Heat Stress Tolerance in Fifty Potato Cultivars. *American Journal of Potato Research*, 97(1), 23–32. <https://doi.org/10.1007/s12230-019-09740-9>
- Zinta, R., Tiwari, J. K., Buckseth, T., Thakur, K., Goutam, U., Kumar, D., Challam, C., Bhatia, N., Poonia, A. K., Naik, S., Singh, R. K., Thakur, A. K., Dalamu, D., Luthra, S. K., Kumar, V., e Kumar, M. (2022). Root system architecture for abiotic stress tolerance in potato: Lessons from plants. *Frontiers in Plant Science*, 13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.926214>

3. ESTUDO DE ASSOCIAÇÃO GENÔMICA AMPLA PARA TOLERÂNCIA E RESPONSABILIDADE AO ESTRESSE POR CALOR EM BATATA

Resumo

O estresse térmico é um grande desafio na cultura da batata, afetando o rendimento e a qualidade da cultura. Assim, este estudo teve como objetivo investigar a base genética da tolerância ao estresse por calor em batatas, analisando múltiplos genes e sua arquitetura complexa. Foram utilizados 655 clones de batata do painel LTVR (*Lowland Tropic Virus Resistant*), em três locais diferentes no Peru (Majes, La Molina e San Ramón) para avaliar características fenotípicas e genotípicas. Foram coletados dados de produção por planta, número e peso dos tubérculos, percentual de matéria seca e senescência. Os genótipos foram genotipados utilizando a plataforma DArTag e 1360 marcadores de alta qualidade foram obtidos. As análises estatísticas incluíram estimativas de médias ajustadas, decomposição da variância genética, proporção da variância explicada, responsividade ao estresse, tolerância ao calor, estabilidade e análise de associação genômica (GWAS). Pelos resultados obtidos pela análise GWAS, a tolerância ao estresse por calor em batatas é controlada por uma combinação de múltiplos genes, indicando um mecanismo genético complexo. Em segundo lugar, os clones contendo o gene *CDF1* exibiram melhor desempenho em condições de temperatura mais elevada durante o período de tuberação, sugerindo seu potencial como marcador genético para tolerância ao calor em batatas. Além disso, foram identificadas regiões sobrepostas com pesquisas anteriores sobre proteínas cognatas de choque térmico 70, indicando um papel potencial dessas proteínas na resposta ao estresse por calor. A identificação dessas regiões sobrepostas apresenta oportunidades promissoras para o desenvolvimento de cultivares de batata tolerantes ao calor. No geral, esta pesquisa aumenta nossa compreensão dos fatores genéticos envolvidos na tolerância ao estresse térmico em batatas e fornece informações valiosas para programas de melhoramento destinados a desenvolver cultivares de batata resilientes, capazes de suportar condições de cultivo sob temperaturas elevadas.

Palavras-chave: Estresse abiótico; *Solanum tuberosum* L.; Reação fenotípica

Abstract

Heat stress is a major challenge in potato crops, affecting the yield and quality of the crop. This study aimed to investigate the genetic basis of heat stress tolerance in potatoes by analyzing multiple genes and their complex architecture. A total of 655 autotetraploid potato clones from the LTVR panel were used at three different locations (Majes, La Molina and San Ramón) to evaluate phenotypic and genotypic traits. Data were collected for yield, tuber number and weight, dry matter, and senescence. Genotypes were genotyped using the DArTag platform and 1360 high quality markers were obtained. Statistical analyses included adjusted mean estimates, decomposition of genetic variance, proportion of variance explained, stress responsiveness, heat tolerance, stability, and genome-wide association analysis (GWAS). From the results obtained by GWAS analysis, heat stress tolerance in potatoes is controlled by a combination of multiple genes, indicating a complex genetic mechanism. Second, clones containing the *CDF1* gene exhibited enhanced performance under heat stress conditions during the tuberization period, suggesting its potential as a genetic marker for heat tolerance in potatoes. In addition, overlapping regions were identified with previous research on cognate heat shock 70 proteins, indicating a potential role for these proteins in the heat stress response. The identification of these overlapping regions presents promising opportunities for the development of heat stress tolerant potato cultivars. Overall, this research increases our understanding of the genetic factors involved in heat stress tolerance in potatoes and provides valuable information for breeding programs aimed at developing resilient potato varieties capable of withstanding heat stress conditions.

Keywords: Abiotic stress; *Solanum tuberosum* L.; Phenotypic reaction

3.1 Introdução

Um dos grandes desafios da humanidade para os próximos anos é garantir a segurança alimentar frente ao contexto das mudanças climáticas. Com o aumento da temperatura global, os desafios relacionados à agricultura têm se tornado cada vez maiores, principalmente em países em desenvolvimento. É estimado que o aumento de 2 °C na temperatura global colocaria em risco 76% dos países, principalmente países em desenvolvimento (Betts et al., 2018). A batata (*Solanum tuberosum* L.) é a terceira cultura mais importante para a alimentação humana, conhecida por ser uma espécie estratégica para o combate à fome, devido a sua eficiência no uso da água e potencial de conversão e acúmulo de carboidratos, bem como o rendimento por área (Djaman et al., 2021).

Historicamente, a produção da batata tem se concentrado na América do Norte e Europa. Porém, é observada uma mudança nos últimos anos, com aumentos expressivos de produção na África e na Ásia, com especial destaque para a China. Devido ao seu histórico de melhoramento e dispersão ao redor do mundo, muitos clones comerciais têm no seu pedigree, genótipos oriundos de regiões com clima ameno, o que refletiu em uma sensibilidade da cultura ao aumento da temperatura, principalmente quando cultivada em regiões cuja temperatura média fica acima de 25 °C (Zinta et al., 2022; Struik et al., 1989; Ku et al., 1977). Hijmans, (2003) projetou uma diminuição de 18 a 32% na produção mundial de batata devido ao aumento Global da temperatura. Tang et al. (2018) avaliaram diversas cultivares comerciais da América do Norte e encontraram uma redução severa na produção, chegando a 93% de perda de massa de tubérculos. A necessidade de desenvolver genótipos tolerantes e compreender os mecanismos moleculares é de extrema importância para a segurança alimentar de diversos países.

Diversos trabalhos foram realizados com diferentes estratégias para melhorar a cultura visando a tolerância ao calor. Como o gênero *Solanum* tem uma dispersão geográfica ampla pela América do Sul, diversas espécies já foram identificadas como boas fontes de genes para a tolerância (Guedes et al., 2019; Peloquin et al., 1989; Reynolds e Ewing, 1989). Porém, a utilização de introgressão de germoplasma selvagem para a batata cultivada tem alguns entraves, como incompatibilidade de cruzamento, *drag* genômico de características indesejáveis e longo período para se obter os parentais para iniciar os cruzamentos. No âmbito do desenvolvimento de cultivares, um dos problemas enfrentados pelos melhoristas é o tempo que dura um ciclo de melhoramento. Diferentes estratégias têm sido utilizadas para aumentar o ganho genético, entre elas a utilização de seleção recorrente com seleção precoce e a pré-seleção utilizando estresse *in vitro* parecem ser promissoras para o desenvolvimento de cultivares (Benites e Pinto, 2011; Figueiredo et al., 2015; Khan et al., 2015). Também é encontrado na literatura uma diversidade de estudos sobre genes relacionados à resposta ao calor. Hancock et al. (2014) utilizaram microarranjos para identificar genes diferencialmente expressos nas folhas e tubérculos de batatas submetidas a estresse por calor, sugerindo seis genes (StUGT, StSP5G, StCO, StGI, StSP6A e StCDF) como importantes candidatos para a compreensão da resposta da cultura ao estresse.

A primeira publicação do genoma da batata (Potato Genome Consortium, 2011) foi um marco para possibilitar estudo moleculares mais aprofundados. Somente nos últimos cinco anos, com o preço menor para genotipagem e o desenvolvimento de métodos para estimar a dosagem alélica, observamos um aumento expressivo de estudos de associação genômica ampla (GWAS) ao nível tetraploide. Diversos estudos tem sido então realizados para compreender melhor a estrutura genética das características, encontrar regiões relacionadas a resistência a doenças e insetos, e tolerância a estresses abióticos (Alvarez-Morezuelas et al.,

2023a; Byrne et al., 2020; Caraza-Harter e Endelman, 2022; Saidi e Hajibarat, 2021). Porém, poucos trabalhos são encontrados na literatura relacionando QTLs, GWAS e a utilização de marcadores para tolerância a calor em batata, sendo muito mais vastos os estudos relativos à reações fisiológicas, variações no perfil de proteínas e regulação de mecanismos genótico-fisiológicos (Lehretz et al., 2021; Levy e Veilleux, 2007; Liu et al., 2021). Além disso, a maioria dos trabalhos encontrados na literatura foram realizados em condições controladas, o que não reflete as variáveis que influenciam o crescimento das plantas no campo. Estudar essas regiões previamente relatadas e encontrar outras seria de extrema importância para acelerar o desenvolvimento de cultivares com bom desempenho em ambientes com condições marginais para o cultivo da batata.

Desde a década de 70, o *Centro Internacional de la Papa* (CIP) iniciou trabalhos procurando desenvolver cultivares mais tolerantes ao estresse por calor. Deste esforço foi desenvolvida a população *Lowland Tropic Virus Resistant* (LTVR), sendo uma população com um background genético proveniente de cruzamentos entre *Solanum tuberosum* adaptados ao verão e de ciclo curto com outras espécies (Bonierbale et al., 2020). Algumas cultivares como “Unica” e “Tacna” são provenientes da população LTVR e têm demonstrado boa aptidão para regiões de alta temperatura. Com isso, a população LTVR possui uma diversidade genética elevada e genótipos com diferentes respostas ao estresse que proporcionam condições bastante favoráveis para um estudo de GWAS. Assim, o objetivo desse trabalho é estudar a arquitetura genética relacionada a diferentes características, em diferentes condições ambientais, visando encontrar regiões relacionadas ao melhor desempenho de clones cultivados em locais sob estresse por temperatura elevada, tolerância, estabilidade e responsividade ao calor.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.3.1 Material vegetal e experimentos de campo

Para a avaliação de campo, foram selecionados 655 clones de batata, do painel de acessos *Lowland Tropic Virus Resistant* (LTVR) desenvolvido pelo CIP em esquema de seleção recorrente. Este painel é composto por 41 clones provenientes do ciclo 6 de seleção, sendo 24 desses parentais do ciclo subsequente, e 614 progênies do ciclo 7. As progênies do ciclo 7 foram obtidas a partir de cruzamentos bi-parentais, formando 34 famílias, com tamanho médio de 18 clones por família (intervalo 12 – 21). A LTVR é uma população que se originou de cruzamento entre *Solanum tuberosum* subespécie *andigena* e *Neotuberosum*, visando adaptação a climas mais quentes, resistência a viroses (PVY, PVX e PLRV), precocidade, boa aceitação em relação ao sabor e percentual de matéria seca acima de 17% (Bonierbale et al, 2020).

Os experimentos de campo foram instalados em três localidades no Peru: Majes (MJ) em 2018, La Molina (LM) em 2020 e San Ramón (SR) em 2021. MJ ($-16^{\circ} 18' 14.4138''$, $-72^{\circ} 9' 22.9674''$, 1578 m de altitude) e LM ($-12^{\circ} 4' 34.6398''$, $-76^{\circ} 56' 54.3012''$, 244 m de altitude) são classificados como clima subtropical árido, enquanto SR ($-11^{\circ} 7' 38.9994''$, $-75^{\circ} 21' 22.9998''$, 828 m de altitude) é um clima subtropical úmido, seguindo a classificação climática de Köppen-Geiger. Uma estação meteorológica foi posicionada em cada um dos experimentos e foram coletados dados de temperatura máxima, mínima, média e precipitação ao longo do ciclo da cultura. O design experimental em MJ foi o de blocos completos casualizados com duas repetições, enquanto LM e SR foram realizados utilizando design linha-coluna com duas repetições. Em MJ e LM, a parcela foi composta de quatro tubérculos, enquanto em SR foram plantados seis tubérculos. O espaçamento utilizado foi de 0,30 m entre plantas e 0,90 entre linhas, com um

espaçamento de 0,50 m entre parcelas. Em todos os ambientes foram utilizados os mesmos manejos fitossanitários e a suplementação da água foi realizada via irrigação. A aplicação de dessecante foi realizada aos 94 dias após o plantio e as parcelas foram colhidas manualmente aos 100 dias.

3.3.2 Dados fenotípicos

As características avaliadas foram senescência (SE, escala de notas), produção de tubérculos por planta (TW, g.planta⁻¹), número de tubérculos por planta (TS, tubérculos.planta⁻¹), percentual de matéria seca (DM, %) e peso médio dos tubérculos (ATW, g.tubérculo⁻¹). A avaliação de senescência (SE) dos clones foi realizada aos 70 dias, utilizando escala visual de notas descrita a seguir:

- 1 = Muito tardio (as plantas da parcela apresentam folhagem verde e flores);
- 3 = Tardio (a maioria das plantas estão verdes, florescimento terminou e existe o início de formação de frutos);
- 5 = Médio (plantas no início de senescência, diminuição do ângulo foliar e frutos em estágio avançado);
- 7 = Precoce (folhagem senescente, amarelecimento, com a planta ainda ereta e frutos maduras);
- 9 = Muito precoce (plantas completamente senescentes, totalmente amarelecidas e decumbentes).

TW foi calculado a partir da produção em quilogramas produzidos na parcela e dividido pelo número de plantas colhidas, sendo o mesmo procedimento realizado para TS, onde foram contabilizados o número total de tubérculos e feita a correção pelo número de plantas colhidas. ATW foi calculado através das médias ajustadas de TW dividido por TS. Para avaliação de DM, cinco tubérculos são cortados em pequenos cubos de 1 a 2 cm, misturados e duas subamostras de 200 gramas são levadas para secar a 80 °C por 72 horas. Após a estabilização do peso (massa constante), DM é calculada pela média da razão entre o peso seco e o peso fresco, multiplicado por 100.

3.3.3 Dados genotípicos

Discos foram retirados das folhas dos clones e enviados para a empresa Intersek para extração e purificação de DNA. Após essa etapa, as amostras foram enviadas para a empresa DArT para genotipagem utilizando a plataforma de marcadores de média densidade chamada de DArTag. A abordagem de sequenciamento multiplexed PCR amplicon contém um subset do potato v3 Infinium array e dois SNPs ligados a genes de resistência ao PVY, totalizando 2503 SNPs, distanciados em média de 2 a 3 cM pelos 12 cromossomos da batata. Com as contagens das reads, foi realizada a estimação da dosagem alélica. Primeiramente foram filtrados marcadores que tiveram no mínimo 61 contagens para atingir uma qualidade esperada de genótipo com 95% de acurácia, como sugerido por Matias et al. (2019). Após essa etapa, com as contagens remanescentes, foi realizada a estimação dosagem alélica utilizando o pacote updog (Gerard e Ferrão, 2019; Gerard et al., 2018) no software R (R Core Team, 2021), excluindo marcadores com probabilidade de posterior misclassification maior que 0.05 e allelic bias maior ou menor que o exponencial de -1 e 1. Por último, foram mantidos marcadores que estavam presentes no mínimo em 90% dos genótipos e uma frequência do alelo menor de 0.05. No final, foram obtidos 1360 marcadores de alta qualidade, com os

genótipos classificados nos cinco possíveis estados alélicos (0, 1, 2, 3 ou 4) para o alelo alternativo ao disponibilizado no genoma de referência.

3.3.4 Análise de dados fenotípicos

Para cada uma das características, primeiramente foi obtida a média ajustada para cada ambiente considerando o design experimental adotado. As médias ajustadas foram obtidas levando em consideração o design experimental utilizado em cada ambiente. Em MJ, por ter sido aplicado o RCBD, o modelo utilizado foi:

$$y_{ir} = \mu + g_i + b_r + e_{ir}$$

onde y_{ir} é a observação do i^{th} -genótipo no r^{th} -bloco, μ é o intercepto, g_i é o efeito fixo do i^{th} -genótipo, b_r é o efeito fixo do r^{th} -bloco e e_{ir} é o resíduo. LM e SR foram montados em design linha-coluna, sendo o modelo considerado para estimar as médias ajustadas:

$$y_{irmn} = \mu + g_i + r_{m(r)} + c_{n(r)} + b_r + e_{irmn}$$

onde y_{irkl} é a observação do i^{th} -genótipo na k^{th} -linha em combinação com l^{th} -coluna dentro do r^{th} -bloco, μ é o intercepto, g_i é o efeito fixo do i^{th} -genótipo, $r_{k(r)}$ é o efeito aleatório da m^{th} -linha dentro do r^{th} -bloco, $c_{l(r)}$ é o efeito aleatório da n^{th} -coluna dentro do r^{th} -bloco, b_r é o efeito fixo do r^{th} -bloco, e e_{ir} é o resíduo.

Os componentes de variância foram estimados e a herdabilidade plot based foi calculada considerando o efeito de genótipo como aleatório e utilizando a fórmula:

$$h^2 = \frac{\sigma_g^2}{\sigma_g^2 + \sigma_e^2}$$

onde σ_g^2 é a variância genética e σ_e^2 é a variância residual. Na análise conjunta, foi utilizado o modelo totalmente eficiente descrito por Damesa et al. (2008):

$$y_{ij} = \mu + g_i + E_j + gE_{ij} + s_{ij}$$

onde y_{ij} é a média ajustada do i^{th} -genótipo no j^{th} -ambiente, g_i é o efeito aleatório do i^{th} -genótipo, E_j é o efeito aleatório do j^{th} -ambiente, gE_{ij} é o efeito aleatório da interação e s_{ij} é o erro estimado na análise dentro de cada ambiente. A decomposição da variância genética foi realizada utilizando uma matriz de covariância proporcional a matriz genômica aditiva \mathbf{G} , descrita por VanRaden (2008), modelo 1 e estendida para outras ploidias, e a matriz genômica de dominância digênica \mathbf{D} (formulada por Fisher (1941) e Kempthorne (1957), modificada por Vetizica et al. (2013), Xiang et al. (2016), Endelman et al. (2018) e Batista et al. (2021). As matrizes \mathbf{G} e \mathbf{D} foram calculadas seguindo as fórmulas:

$$\mathbf{G} = \frac{WW^T}{4 \sum_k p_k q_k}$$

$$\mathbf{D} = \frac{QQ^T}{\binom{4}{2} \sum_k 4p_k^2 q_k^2}$$

onde W é a matriz centrada de dosagem alélica, Q é a matriz dos coeficientes de dominância, p_k e q_k são as frequências alélicas para o k^{th} -marcador. A proporção da variância explicada (PVE) foi calculada seguindo a metodologia proposta por Legarra (2016), sendo uma aproximação, uma vez que os efeitos não são ortogonais. A PVE foi realizada para os efeitos aditivos, dominância, heterose, interação genótipo por ambiente e ambiente. Para mais detalhes sobre as deduções e análises descritas, consultar Endelman (2022). As análises foram realizadas utilizando o pacote StageWise e ASReml-R. Foram calculadas as correlações entre as diferentes características nos diferentes experimentos utilizando o método proposto por Pearson.

3.3.5 Responsividade, tolerância e estabilidade frente ao estresse

Com intuito de identificar regiões associadas a responsividade ao calor, foi realizada a análise proposta por Finlay e Wilkinson (1963) para se obter os coeficientes de sensibilidade. O modelo considerado foi:

$$y_{ij} = \mu + G_i + \beta_i E_j + e_{ij}$$

onde y_{im} é a média ajustada do i^{th} -genótipo no j^{th} -ambiente, μ é a média geral, G_i é o efeito do i^{th} -genótipo, β_i é a sensibilidade associada ao i -genótipo, E_j é o efeito do j^{th} -ambiente e e_{ij} é o resíduo. Através de uma meta-análise, através das médias da população e as temperaturas para cada um dos três ambientes, foi considerado MJ como o ambiente ideal, LM foi um ambiente com estresse moderada e SR um ambiente com elevado estresse.

Para tolerância ao calor, foi utilizado o índice de tolerância ao estresse (STI) proposto por Fernandez (1992):

$$STI_i = \frac{(y_{si} \times y_{nsi})}{\bar{y}_{ns}^2}$$

onde y_{si} é média ajustada do i^{th} -genótipo no ambiente com estresse, y_{nsi} é a média do i^{th} -genótipo no ambiente não estressante e \bar{y}_{ns} é a média dos genótipos avaliados no ambiente sem estresse. Para este estudo, dois STI foram calculados, considerando como ambiente não estressante MJ em relação aos outros dois ambientes classificados como estressantes, LM e SR.

Por último, a estabilidade de variância proposta por Shukla (1972) é definida como a variância do desempenho médio do genótipo pelos ambientes, foi utilizada com o intuito de encontrar regiões associadas a estabilidade considerando todo o conjunto de ambientes. A fórmula utilizada foi:

$$Sh_i^2 = \frac{1}{(g-1)(g-2)(E-1)} \left[g(g-1) \sum_j (u_{ij} - \bar{u}_i)^2 - \sum_i \sum_j (u_{ij} - \bar{u}_i)^2 \right]$$

onde g é o número de genótipos, E é o número de ambientes, $u_{ij} = \bar{y}_{ij} - \bar{y}_j$ e \bar{u}_i é a média do i th-genótipo em todos os ambientes. Para comparação dos experimentos, foram calculados a herdabilidade e acurácia dentro de cada um dos ambientes. O cálculo da herdabilidade (h^2), o efeito de genótipo foi considerado como aleatório. Para MJ, a h^2 foi calculada utilizando a fórmula de Falconer e Mackay (1996):

$$h^2 = \frac{\sigma_g^2}{\sigma_g^2 + \left(\frac{\sigma_e^2}{m}\right)}$$

3.3.6 Análise de genética de populações

Primeiramente, para análise descritiva da população, foram extraídos os valores da diagonal e off-diagonal da matriz \mathbf{G} . Os valores da diagonal equivalem a $1+f$, onde f é o coeficiente de endogamia da população, e os valores off-diagonal podem ser utilizados para detectar estrutura de população (Endelman e Jannink, 2012). Além dos valores off-diagonal, foi realizada uma análise de coordenadas principais (PCoA) utilizando a matriz de distância euclidiana baseada nos marcadores, utilizando o pacote adegenet (Jombart e Ahmed, 2011; Jombart, 2008). Por último, uma análise para identificação do número de populações fundadoras foi realizada utilizando o algoritmo proposto por Frichot e François (2015), onde a estimação é realizada utilizando PCA e coeficientes admixture da matriz genotípica (Pritchard, Stephens e Donnelly 2000; Patterson, Price e Reich 2006). Para essa análise, foi utilizado o pacote LEA no software R, colocando um limite de busca de ancestralidade de 1 a 50 populações fundadoras e selecionando o valor de entropia que melhor se adequa aos dados.

3.3.7 Análise de associação genômica ampla

Como este estudo abrange diferentes cenários, foi adotada a seguinte nomenclatura para descrever cada um: S1 considerando somente as médias em MJ; S2 considerando somente as médias em LM; S3 considerando somente as médias em SR; S4 considerando as médias nos três ambientes simultaneamente; FW1 considerando os coeficientes de sensibilidade entre MJ e LM; FW2 considerando os coeficientes de sensibilidade entre MJ e SR; H1 utilizando o STI entre MJ e LM; H2 utilizando STI entre MJ e SR; e Sh considerando a estabilidade de variância de Shukla considerando os três ambientes simultaneamente. Além disso, devido o número dos genótipos varia de acordo com fatores como a limitação de avaliação ou não possibilidade de avaliar, na Tabela 6 estão apresentados os cenários e o número de genótipos avaliados para cada característica. Para a performance da análise de associação, foi utilizado o pacote GWASpoly (Royara et al., 2016). Optou-se pelo modelo $Q + K$ para o controle da estrutura da população foram testados, e para cada uma das diferentes características dentro dos diferentes cenários, quatro modelos genéticos diferentes: aditivo, simplex dominante (1-dom), duplex dominante (2-dom) e aditivo diploidizado, sendo os modelos dominantes testados tanto para o alelo alternativo quanto o alelo de referência. O threshold de significância

foi estabelecido utilizando o teste de Bonferroni usando o número efetivo de marcadores que leva em consideração o desequilíbrio entre eles (Moskvina e Schmidt, 2008), sendo menos conservativo que o teste tradicional de Bonferroni, uma vez que os testes não são independentes. Todas as análises foram realizadas utilizando o software R versão 4.1.3 (R Core Team, 2022).

Tabela 6. Número de clones com informação fenotípica para cada característica e cenário.

Cenário	TW	TS	DM	ATW	SE
S1	515	515	515	515	-
S2	608	608	603	608	608
S3	238	238	236	238	238
S4	628	628	626	628	-
FW1	495	495	492	495	-
FW2	215	215	214	215	-
FW3	215	215	214	215	-
H1	495	495	492	495	-
H2	215	215	215	215	-
Sh	215	215	214	215	-

3.3 RESULTADOS

3.1 Experimentos de campo e dados fenotípicos

As temperaturas máximas, médias e mínimas ao longo do ciclo para cada ambiente estão apresentadas na Figura 5. Em MJ, a média ao longo do ciclo da temperatura máxima foi de 25,49 °C (variando de 21,84 °C a 28,02 °C), enquanto em LM a média foi de 26,12 °C (21,15 – 30,34 °C) e em SR 31,63 °C (25,50 – 36,12 °C). Os valores médios para MJ, LM e SR para temperatura média foi de 18,46 °C (14,44 – 20,45 °C), 21,67 °C (18,59 – 25,26 °C) e 25,56 (22,16 – 28,92 °C), respectivamente. A média da temperatura mínima em MJ foi de 13,30 °C (8,34 – 16,67 °C), em LM foi de 18,76 °C (16,73 – 21,70 °C) e, por último, SR teve média de 19,05 °C (15,68 – 22,20 °C). Quanto a precipitação, a média foi em todos os ambientes se aproximou de 0, onde somente em SR teve uma média de 0,1 mm durante o ciclo da cultura.

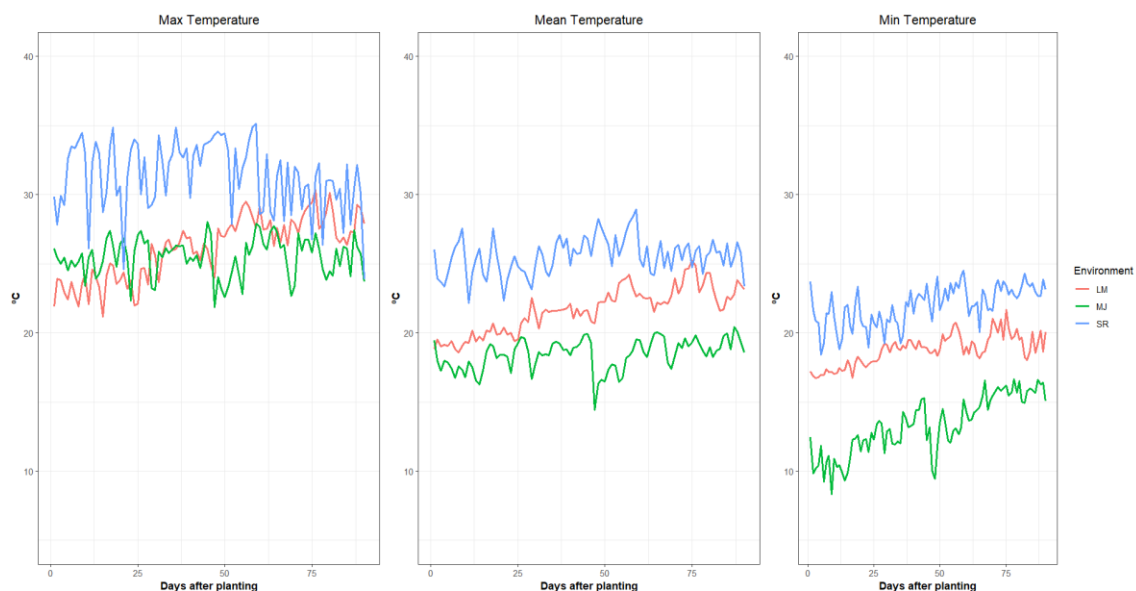


Figura 5. Temperaturas máxima, média e mínima (°C) ao longo do ciclo em MJ, LM e SR.

Na Tabela 7, estão apresentadas as herdabilidades, as médias para cada característica e a partição da variância na análise conjunta. Com exceção de ATW, as outras características variaram similarmente quanto a herdabilidade, sendo os menores valores obtidos em MJ e os maiores valores em SR. Em relação as médias, ocorreu um decréscimo de MJ para LM de 39,03% para a característica TW, 28,78% para TS, 0,99% para DM e 18,45% para ATW. A redução das médias entre MJ e SR foram na ordem de 49,90% para TW, 44,17% para TS, 7,77% para DM e 9,49% para ATW. De LM para SR também são observadas reduções nas características avaliadas, com exceção de ATW que teve um aumento, porém com uma média menor quando comparada com a de MJ. As herdabilidades foram variaram entre os ambientes para cada característica. No geral, MJ teve valores de baixos para médio, enquanto LM obteve valores médios e SR valores altos de herdabilidade.

Tabela 7. Herdabilidades e médias para cada uma das características avaliadas nos diferentes ambientes com a partição da variância da análise conjunta.

Parâmetro	TW			TS			DM			ATW		
	MJ	LM	SR	MJ	LM	SR	MJ	LM	SR	MJ	LM	SR
h ²	0,40	0,53	0,86	0,62	0,61	0,84	0,66	0,64	0,86	0,23	0,91	0,77
Média	781,13	476,25	391,34	12,09	8,61	6,75	19,18	18,99	17,69	67,58	55,11	61,84
Aditivo		0,12			0,13			0,47			0,05	
Dominância		0,00			0,03			0,02			0,00	
Heterose		0,02			0,00			0,00			0,00	
GxE		0,35			0,16			0,22			0,03	
Env		0,51			0,68			0,29			0,92	

Pelos resultados da PVE apresentados na Tabela 7, é possível notar que os efeitos do ambiente e da interação genótipo por ambiente tiveram os maiores valores para todas as características, explicando mais de 50% da variação observada, sendo 95% para ATW o maior valor e 51% para DM sendo o menor valor. Para TW e TS, somente 12 e 13% da variação observada foi devido ao efeito aditivo, respectivamente. DM teve um valor maior de PEV explicado pela parte genética, majoritariamente da proporção aditiva, de 47,20%. O menor valor de PEV relacionado a parte genética foi de ATW, com somente 5% sendo explicado pela porção aditiva. Para todas as características, tanto a heterose quanto a dominância não obtiveram valores que ressaltam a importância desses efeitos para as características avaliadas nestes experimentos.

As correlações entre as características nos diferentes ambientes estão apresentadas na Figura 6. TW teve os menores valores de correlação entre os diferentes ambientes, de aproximadamente 0,14 na média. TS, DM e ATW foram características que tiveram valores maiores, com médias de aproximadamente de 0,41, 0,53 e 0,35, respectivamente.

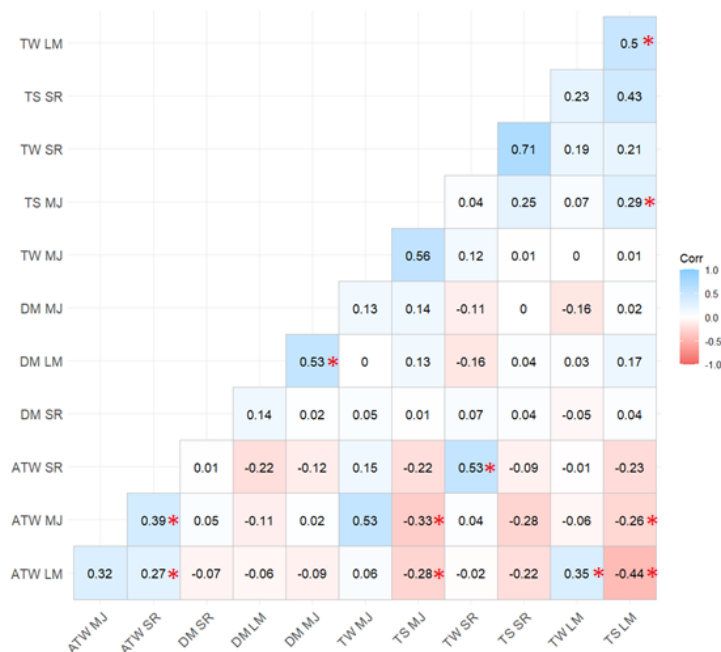


Figura 6. Correlação de Pearson entre TW, TS, DM e ATW nos diferentes ambientes em que foram avaliados. * p<0,05 pelo teste t

Quanto à correlação entre as diferentes características nos diferentes ambientes, algumas características tiveram uma relação consistente ao longo dos ambientes, como TW e TS que tiveram uma correlação semelhante. Em contraste, algumas mudanças ocorreram, principalmente para ATW, tendo uma diminuição entre a correlação de TW e ATW em LM, em contraste com um aumento expressivo entre TS e ATW no mesmo ambiente. Além disso, é possível notar que as correlações entre DM e as outras características é baixa.

3.2 Análise de dados genotípicos

Na Figura 7 estão apresentados os valores da diagonal e fora da diagonal. Os valores da diagonal variam de 0,48 a 2,06, com uma média de 1,00, enquanto a média dos valores fora da diagonal foi de 0, variando de -0,41 a 1,00. Esses resultados demonstram que a população possui baixos valores de endogamia e indícios de que não existe uma estrutura populacional.

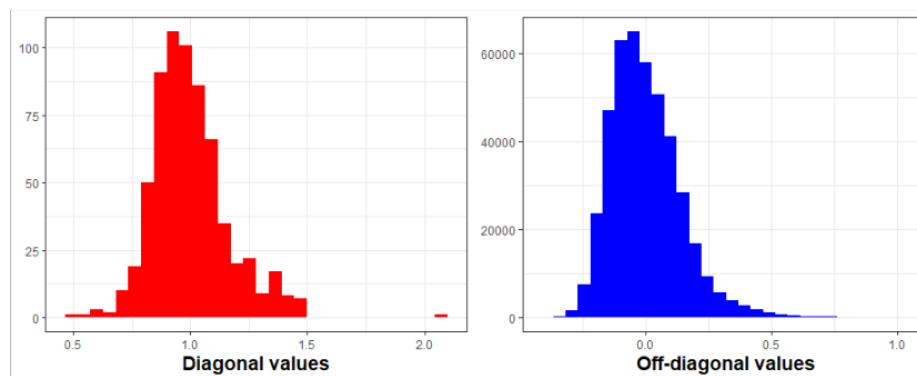


Figura 7. Valores da diagonal e valores fora da diagonal da matriz de parentesco genômico

Utilizando a análise PCoA (Figura 8), é possível observar que existem três possíveis clusters, porém o valor explicado pelo primeiro e segundo componente foram de 2,82% e 2,44%. A entropia selecionada foi de 22, por ser um valor anterior da estabilização dos valores (Figura complementar 2).

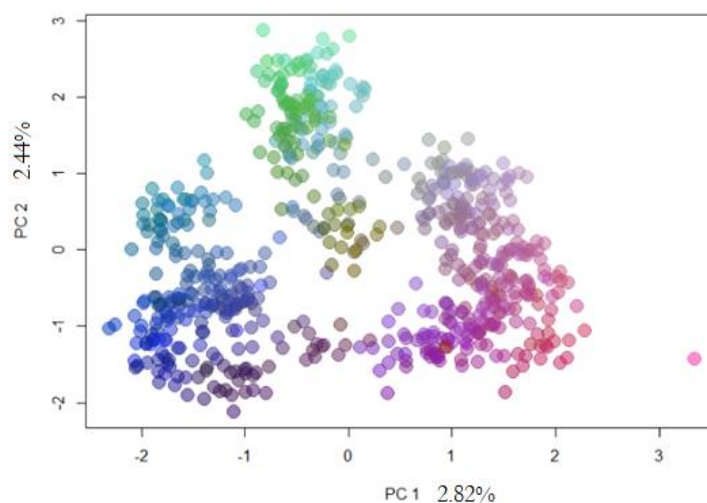


Figura 8. Análise de coordenadas principais do painel de batata proveniente da população LTVR

Na Figura 9 estão apresentados os indivíduos e as proporções que cada um possui de uma das 22 populações ancestrais. Analisando a mesma imagem, é possível notar a formação de aproximadamente 33 clusters, sendo um deles mais variável e composto pelos genótipos que serviram como parentais da população.

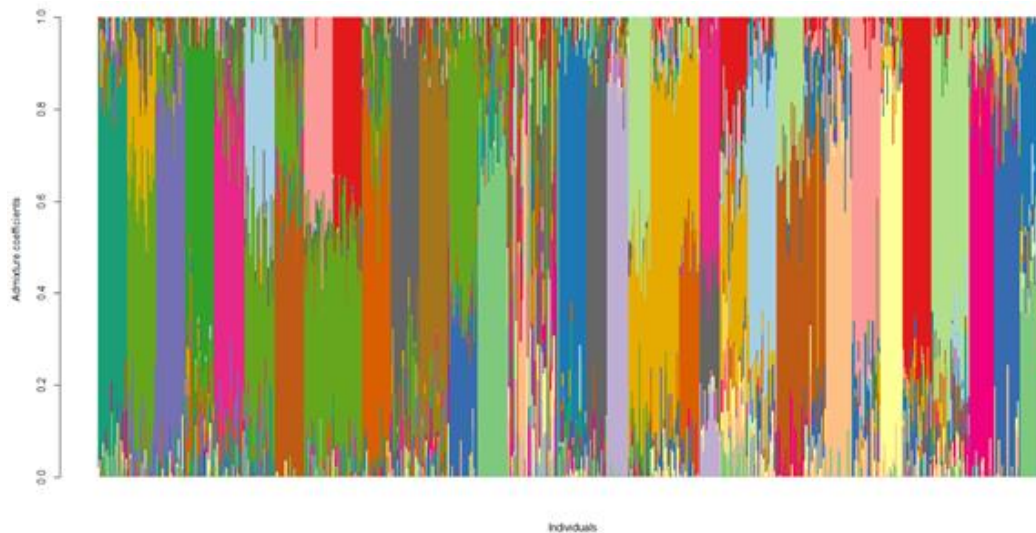


Figura 9. Análise de estrutura populacional. do painel LTVR

3.3 Análise de associação genômica

Para todos os diferentes cenários para as diferentes características avaliadas, 63 marcadores foram significativos (Tabela S1). Alguns marcadores foram significativos para diferentes modelos para a mesma característica. Para TW, 2 marcadores foram significativos para S1, 2 para S2, 3 para S3, 4 para S4, 1 para FW1, 1 para H1 e 4 para H2, sendo 13 marcadores que foram significativos em diferentes cenários e diferentes modelos. O efeito médio de troca de um alelo pelo alternativo variou de 285 até -165,46 g.planta⁻¹, enquanto o R² teve um intervalo de aproximadamente 0,04% até 8,42%. TS teve 11 marcadores únicos significativos, sendo 1 para S2, 1 para S3, 2 para S4, 1 para FW1, 2 para H1 e 5 para H2. Os efeitos variaram de 5,47 até -6,87 tubérculos por planta com a substituição do alelo alternativo. O R² explicado pelas marcas sobre o fenótipo variou de 0,23% até 7,88%. DM foi a característica com o maior número de marcadores, com 22 marcadores únicos nos cenários e modelos utilizados, dos quais 5 foram significativos em S1, 4 em S2, 12 em S4, 2 em FW1, 3 em H1 e 3 em H2.

O efeito de substituição médio de alelo variou de 11,12% até -3,19%, e o R² teve um intervalo de aproximadamente zero até 9,88%. Para ATW, 25 marcadores únicos foram significativos para essa característica, tendo um intervalo de efeito médio de substituição variando de 39,99 a -16,82 g.tubérculo⁻¹ e R² de 9,02% a quase 0. Para SE, marcadores significativos foram identificados somente em LM, sendo 6 significativos. Os efeitos variaram de 0,68 a -0,55 na escala dos marcadores e o R² teve intervalo de 4,02% a 0,09%. Do resultado dos modelos testados, 34 marcadores foram significativos para o modelo aditivo, 10 para o modelo simplex dominante para o alelo de referência, 9 para o modelo simplex dominante para o alelo alternativo, 23 para o modelo duplex dominante para o alelo de referência, 19 para o modelo duplex dominante para o alelo alternativo, 4 para diploidizado geral e 2 para diploidizado aditivo. Sobre a dispersão

dos marcadores significativos pelos cromossomos, 2 estavam presentes no cromossomo 1, 12 no cromossomo 2, 9 no cromossomo 3, 4 no cromossomo 4, 8 no cromossomo 5, 14 no cromossomo 6, 2 no cromossomo 7, 1 no cromossomo 8, 5 no cromossomo 9, 3 no cromossomo 10, 1 no cromossomo 11 e 2 no cromossomo 12. Os gráficos do tipo Manhattan para cada um dos cenários e as características avaliadas estão apresentados no apêndice (Figura suplementar de 3 a 11)

3.4 DISCUSSÃO

No atual contexto das mudanças climáticas, a necessidade de desenvolver cultivares mais resilientes é essencial para garantir a segurança alimentar da humanidade. Durante a história do melhoramento da cultura da batata, a maioria do germoplasma utilizado era originário de regiões frias, tornando o estresse ao aumento da temperatura como um dos fatores que mais afetam a produção (Levy e Veilleux, 2007b). Esse fato fica evidente na redução observada nas médias nos ambientes considerados estressantes em relação ao considerado não estressante, sendo observada uma redução de aproximadamente 50% na média de TW e TS entre MJ e SR. Ademais, as correlações das características avaliadas entre e dentro dos ambientes mudam, dificultado ainda mais a seleção. TW teve uma correlação baixa entre MJ e SR e nula entre MJ e LM. Uma possível explicação para a inexistência de correlação entre MJ e LM é que o primeiro ambiente favorecerá genótipos com ciclo mais longo, enquanto no segundo, devido ao estresse ter acontecido próximo do período de tuberação, clones com ciclo mais curto teriam escapado dos efeitos mais drásticos.

Zhang et al. (2020) observaram que o tamanho do tubérculo e precocidade são correlacionados negativamente em condições ideais de crescimento da cultura, porém a relação se inverte quando os genótipos foram testados em ambientes nos quais há estresse por calor. Por outro lado, a correlação de TS em LM e SR foi maior quando comparadas suas correlações com MJ. Kim e Lee (2019) estudando o efeito do estresse ao calor na fase de tuberação e enchimento de tubérculo, notaram que o estresse causa mais impactos durante a formação do tubérculo. Devido à este painel de acessos ter sido desenvolvido visando tolerância ao calor, é de se esperar uma resposta positiva da maioria dos genótipos em relação a ambientes com temperaturas mais elevadas em relação a essa característica. Para TW, essa relação não é tão direta, devido ao fato que a formação e enchimento de tubérculos possuem mecanismos independentes (Veilleux et al., 1997). Outro resultado interessante é a relação entre ATW, TW e TS nos diferentes ambientes. Enquanto em MJ e LM existe uma correlação negativa entre ATW e TS, porém em SR essa correlação não é observada, demonstrando novamente que o momento do estresse modifica as respostas dos genótipos.

Apesar de ser um conjunto de genótipos desenvolvidos em esquema de seleção recorrente, os resultados demonstram que a diversidade alélica tão grande entre e dentro famílias que nenhuma estrutura populacional é identificada. Lee et al. (2021) avaliando a diversidade de um banco de germoplasma de batatas, encontrou que 97% da variabilidade foi atribuída dentro da população, enquanto somente 3% entre populações. O painel é composto por 34 famílias de meio-irmão, um número similar a quantidade de grupos que foram formados na análise de estrutura populacional. Porém, dentro de cada um desses grupos, existe uma variedade de contribuição de haplótipos ancestrais diferentes, o que explica o valor baixo explicado pelos dois primeiros componentes na análise de correspondência. O resultado observado de alta variabilidade e baixa endogamia é devido a própria genética da batata, a maneira que se conduz o melhoramento da cultura e a origem da população LTVR. Primeiramente, a alta heterozigosidade presente no genoma da batata permite que a partir de um cruzamento biparental, mesmo para características controladas por poucos genes, uma

variação grande é obtida (Gallais, 2003). Outro fator a ser levado em conta é que a batata sofre com a depressão por endogamia (Manrique-Carpintero et al., 2018; C. Zhang et al., 2019), o que leva os melhoristas a não cruzarem materiais aparentados, mantendo a variabilidade genética por mais tempo, mesmo em esquemas de seleção recorrente intrapopulacional, tal como observado nesse estudo. Ortiz et al. (2022) e Selga et al. (2022) analisaram a diversidade em programas de melhoramento de diferentes países europeus e encontraram uma diversidade restrita. Diferentemente ao encontrado por esses autores, a alta variabilidade na LTVR pode ser explicada pelos cruzamentos que originaram esta população, que contaram com cruzamento de *Solanum tuberosum* e diversos parentes selvagens (Bonierbale et al., 2020).

Para as diferentes características foram identificados diversos QTLs espalhados pelo genoma para aumento, estabilidade, tolerância e responsividade ao estresse por calor. Para cada um dos três ambientes analisados individualmente, não ocorreu uma sobreposição deles em relação aos marcadores, ou seja, não houve a ocorrência de marcadores que foram significativos em um ambiente que foram significativos em outro. Quando consideramos o desequilíbrio de ligação, uma região no cromossomo 3 e outra no cromossomo 6 foram significativas entre MJ-LM e MJ-SR, respectivamente, para ATW. Para DM, uma região no início do cromossomo 2 foi responsável por um aumento nessa característica tanto em MJ quanto em LM. A mesma falta de sobreposição acontece quando comparamos a análise dos três ambientes separadamente e a análise conjunta, onde somente um marcador foi significativo para ATW e outros dois para DM entre MJ e a conjunta.

O resultado mais interessante foi de TW em LM ter marcadores significativos na mesma posição que foi para SE. A região do cromossomo 5 que foi significativa, possui um gene conhecido como *CDF1*, um grande QTL responsável por controlar a maturidade em batata (Kloosterman et al., 2013). Além dessa função, estudos demonstraram que alelos desse gene são responsáveis por aumentar a tolerância a estresses abióticos, como frio, salinidade, temperaturas altas e seca em *Arabidopsis* e *Solanum lycopersicum* (A. Corrales et al., 2017; A.-R. Corrales et al., 2014). Ramírez Gonzales et al. (2021) utilizando acessos de batata sem e com modificação por CRISPR-Cas9, observaram que o CDF1 em conjunto com StFLORE são responsáveis pela regulação estomatal e, por consequência, aos mecanismos de perda de água sob ambientes estressantes. Pelos nossos resultados, é possível que esse gene possa estar relacionado a dois mecanismos de tolerância relacionados a TW.

O primeiro mecanismo está relacionado ao que os autores anteriormente citados concluíram em seus trabalhos. O segundo seria um escape ao estresse, uma vez que clones mais precoces teriam sido menos afetados com o aumento de temperatura que ocorreu durante o ciclo em LM. Outro resultado encontrado foi no trabalho de Alvarez-Morezuelas et al. (2023) com tolerância a seca, onde os autores identificaram marcadores ligados a transporte de sucrose e proteína quinase do tipo receptor rico em leucina no cromossomo 4 para açúcares redutores, na mesma região associada nesse estudo ao aumento de DM na análise conjunta. Seguindo na mesma linha de pesquisa de estresse a seca, Tagliotti et al. (2021) identificaram duas regiões que se sobrepuseram com aquelas identificadas em nosso estudo, sendo uma relacionada a concentração de prolina e outra relacionada a rendimento, que em no nosso estudo foi significativo para TS.

Outros QTLs encontrados podem estar relacionados com fatores de transcrição de proteínas cognatas de Choque Térmico 70, responsáveis por sinalizarem downstream efetores para a resposta de seres vivos a estresses abióticos (Mayer e Bukau, 2005). Tang et al. (2016) identificaram múltiplas regiões no genoma onde essas proteínas são codificadas, sendo algumas ativadas dependendo do estresse que a planta

está sendo submetida. Trapero-Mozos et al. (2018), trabalhando com mapeamento de QTL para tolerância ao calor, encontraram três regiões associadas a HS proteínas, sendo uma delas mapeadas também nesse estudo. Porém, diferentemente do encontrado pelos autores, a região nesse estudo foi relacionada a DM ao invés de TW.

Normalmente, seria esperado que não encontrássemos marcadores associados a uma melhora do desempenho quando movemos de ambientes ideais para ambientes de maior estresse por calor devido à sensibilidade da cultura. Porém, devido ao background genético da população, foi possível identificar algumas regiões associadas a um melhor desempenho em regiões mais quentes, sendo 11 significativos para FW1 e FW2. O mesmo marcador que foi significativo para TW em S2, também foi significativo para FW1, reforçando o que foi mencionado sobre a relação de maturidade e TW. O número de marcadores serem na maioria para FW1, sendo somente um identificado para uma melhora da performance quando o estresse é durante ciclo inteiro, reforçando a sensibilidade da cultura. Para Sh, somente um marcador foi significativo, demonstrando a complexidade de selecionar combinando estresse e o momento de ocorrência. Esse marcador para ATW que foi significativo para Sh está na mesma região que um marcador foi significativo para ATW em SR.

Para os índices de tolerância ao calor, HT1 e HT2, 19 marcadores foram significativos, sendo somente 1 em comum para DM, que coincidiu também em ser significativo para S4. Além disso, 2 marcadores para TW e 1 para TS também foram significativos quando analisamos SR isoladamente. São poucos os trabalhos relacionando GWAS com estresse abiótico em batatas autotetraploides. Campbell et al. (2023) trabalhando com uma população de *Solanum tuberosum* grupo *tuberosum* e *Solanum tuberosum* grupo *Phureja*, encontraram diversas regiões pelo genoma associadas a uma maior produção sob ambientes estressantes. No cromossomo 4, os autores relatam uma região relacionada ao gene Heat Shock Cognate 70 que também foi encontrada no HT2 para TW, com o mesmo modelo identificado no estudo. A coincidência desse resultado pode ser devida ao fato que, assim como SR, a temperatura foi alta durante o ciclo todo, de forma similar ao relatado nos experimentos avaliados por esses autores nos quais o estresse também durou do plantio até colheita.

Devido ao fato de o melhoramento genético de batata ser feito majoritariamente por poucos programas públicos, normalmente se procura genótipos estáveis e produtivos para diversos ambientes. Identificar regiões do genoma que auxiliem a pré-selecionar alguns genótipos para estabilidade, tolerância e alta performance seria um avanço importante para a cultura. O desafio de se trabalhar com características de controle genético complexo em diferentes ambientes fica evidente nesse estudo, devido ao grande número de marcadores obtidos que foram significativos, a falta de sobreposição entre os marcadores para as características e diferentes cenários, a diversidade de modelos que foram significativos e o pequeno efeito das marcas em explicar a variação observada.

Muitos dos trabalhos citados anteriormente, foram realizados em ambientes controlados, o que não reflete as situações enfrentadas no campo, dificultando assim a avaliação das interações entre os genes identificados e a tolerância (Bita e Gerats, 2013). Apesar de termos observado uma sobreposição de regiões do nosso estudo com os outros estudos, é possível notar que os QTLs tiveram pequeno efeito no campo, dificultando a utilização de marcadores para a seleção. A arquitetura genética de cada característica também torna a tarefa difícil para encontrar a melhor estratégia de programa de melhoramento, sendo efeitos aditivos e não aditivos importantes para os diferentes cenários avaliados. O CDF1 parece ter um papel central como

um mecanismo de escape, mas seu efeito não ficou claro quando o estresse por calor durou o ciclo inteiro. Já as proteínas Heat-Shock Cognate 70 tiveram um papel mais importante quando o estresse foi do plantio a colheita, sendo necessário compreender melhor essa dinâmica em nível de campo.

Quanto a responsividade ao estresse, com exceção da região do cromossomo 5 próxima ao *CDF1*, não foi possível identificar um QTL de grande efeito. O que reforça que mesmo com uma grande diversidade, a cultura é suscetível ao aumento de temperatura. Apesar da pouca variação explicada por essas regiões, a de combinação de mais estudos de identificação de regiões associadas a um melhor desempenho sob ambientes estressantes em avaliação em campo, com outras estratégias como pré-seleção *in vitro*, predição genômica e seleção recorrente, podem aumentar as chances de acelerar o ganho genético e desenvolver boas cultivares.

CONCLUSÃO

Com base nos resultados apresentados neste trabalho, podemos concluir que:

- A tolerância, responsividade e estabilidade ao estresse ao calor em batata são controladas por múltiplos genes e arquitetura complexa;
- Clones com o gene *CDF1* obtiveram um desempenho melhor no ambiente em que o estresse por calor aconteceu no período de tuberização;
-
- As mesmas regiões estudadas em outros estudos relacionados a proteínas cognatas de Choque Térmico 70 também foram encontradas nesse estudo, porém com um efeito menos expressivo do encontrado na literatura;
- As sobreposições de regiões entre os diferentes cenários são interessantes para desenvolver cultivares tolerantes ao estresse por calor.

REFERÊNCIAS

- Alvarez-Morezuelas, A., Barandalla, L., Ritter, E., e Ruiz de Galarreta, J. I. (2023a). Genome-Wide Association Study of Agronomic and Physiological Traits Related to Drought Tolerance in Potato. *Plants*, 12(4), 734. <https://doi.org/10.3390/plants12040734>
- Alvarez-Morezuelas, A., Barandalla, L., Ritter, E., e Ruiz de Galarreta, J. I. (2023b). Genome-Wide Association Study of Agronomic and Physiological Traits Related to Drought Tolerance in Potato. *Plants*, 12(4), 734. <https://doi.org/10.3390/plants12040734>
- Benites, F. R. G., e Pinto, C. A. B. P. (2011). Genetic gains for heat tolerance in potato in three cycles of recurrent selection. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 11(2), 133–140. <https://doi.org/10.1590/S1984-70332011000200005>
- Betts, R. A., Alfieri, L., Bradshaw, C., Caesar, J., Feyen, L., Friedlingstein, P., Gohar, L., Koutroulis, A., Lewis, K., Morfopoulos, C., Papadimitriou, L., Richardson, K. J., Tsanis, I., e Wyser, K. (2018). Changes in climate extremes, fresh water availability and vulnerability to food insecurity projected at 1.5°C and 2°C global warming with a higher-resolution global climate model. *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 376(2119), 20160452. <https://doi.org/10.1098/rsta.2016.0452>
- Bitá, C. E., e Gerats, T. (2013). Plant tolerance to high temperature in a changing environment: scientific fundamentals and production of heat stress-tolerant crops. *Frontiers in Plant Science*, 4. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00273>
- Bonierbale, M. W., Amoros, W. R., Salas, E., e de Jong, W. (2020). Potato Breeding. In *The Potato Crop* (pp. 163–217). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-28683-5_6
- Byrne, S., Meade, F., Mesiti, F., Griffin, D., Kennedy, C., e Milbourne, D. (2020). Genome-Wide Association and Genomic Prediction for Fry Color in Potato. *Agronomy*, 10(1), 90. <https://doi.org/10.3390/agronomy10010090>
- Campbell, R., Ducreux, L., Cowan, G., Young, V., Chinoko, G., Chitedze, G., Kwendani, S., Chiipanthenga, M., Bitá, C. E., Mwenye, O., Were, H., Torrance, L., Sharma, S. K., Hancock, R. D., Bryan, G. J., e Taylor, M. (2023). Allelic variants of a potato *HEAT SHOCK COGNATE 70* gene confer improved tuber yield under a wide range of environmental conditions. *Food and Energy Security*, 12(1). <https://doi.org/10.1002/fes3.377>
- Caraza-Harter, M. V., e Endelman, J. B. (2022). The genetic architectures of vine and skin maturity in tetraploid potato. *Theoretical and Applied Genetics*, 135(9), 2943–2951. <https://doi.org/10.1007/s00122-022-04159-z>
- Corrales, A., Carrillo, L., Lasierra, P., Nebauer, S. G., Dominguez-Figueroa, J., Renau-Morata, B., Pollmann, S., Granell, A., Molina, R., Vicente-Carbajosa, J., e Medina, J. (2017). Multifaceted role of cycling DOF factor 3 (CDF3) in the regulation of flowering time and abiotic stress responses in *Arabidopsis*. *Plant, Cell e Environment*, 40(5), 748–764. <https://doi.org/10.1111/pce.12894>
- Corrales, A.-R., Nebauer, S. G., Carrillo, L., Fernández-Nohales, P., Marqués, J., Renau-Morata, B., Granell, A., Pollmann, S., Vicente-Carbajosa, J., Molina, R.-V., e Medina, J. (2014). Characterization of tomato Cycling Dof Factors reveals conserved and new functions in the control of flowering time and abiotic stress responses. *Journal of Experimental Botany*, 65(4), 995–1012. <https://doi.org/10.1093/jxb/ert451>
- Djaman, K., Irmak, S., Koudahe, K., e Allen, S. (2021). Irrigation Management in Potato (*Solanum tuberosum* L.) Production: A Review. *Sustainability*, 13(3), 1504. <https://doi.org/10.3390/su13031504>
- Figueiredo, I. C. R. de, Pinto, C. A. B. P., Ribeiro, G. H. M. R., Lino, L. de O., Lyra, D. H., e Moreira, C. M. (2015). Efficiency of selection in early generations of potato families with a view toward heat tolerance. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 15(4), 210–217. <https://doi.org/10.1590/1984-70332015v15n4a37>
- Gallais, A. (2003). *Quantitative Genetics and Breeding Methods in Autopolyploid Plants* (INRA, Ed.). Quae. <https://books.google.com.br/books?id=wHcjCwAAQBAJ>
- Guedes, M. L., Haynes, K. G., Vinyard, B. T., e Pinto, C. A. B. P. (2019). Heat Tolerance in Diploid Wild Potato Species In Vitro. *American Journal of Potato Research*, 96(3), 294–302. <https://doi.org/10.1007/s12230-019-09716-9>
- Hancock, R. D., Morris, W. L., Ducreux, L. J. M., Morris, J. A., Usman, M., Verral, S. R., Fuller, J., Simpson, C. G., Zhang, R., Hedley, P. E., e Taylor, M. A. (2014). Physiological, biochemical and molecular responses of the potato (*Solanum tuberosum* L.) plant to moderately elevated temperature. *Plant, Cell e Environment*, 37(2), 439–450. <https://doi.org/10.1111/pce.12168>
- Hijmans, R. J. (2003). The effect of climate change on global potato production. *American Journal of Potato Research*, 80(4), 271–279. <https://doi.org/10.1007/BF02855363>

- Khan, M. A., Munive, S., e Bonierbale, M. (2015). Early generation in vitro assay to identify potato populations and clones tolerant to heat. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 121(1), 45–52. <https://doi.org/10.1007/s11240-014-0677-z>
- Kim, Y.-U., e Lee, B.-W. (2019). Differential Mechanisms of Potato Yield Loss Induced by High Day and Night Temperatures During Tuber Initiation and Bulking: Photosynthesis and Tuber Growth. *Frontiers in Plant Science*, 10. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00300>
- Kloosterman, B., Abelenda, J. A., Gomez, M. del M. C., Oortwijn, M., de Boer, J. M., Kowitzanich, K., Horvath, B. M., van Eck, H. J., Smaczniak, C., Prat, S., Visser, R. G. F., e Bachem, C. W. B. (2013). Naturally occurring allele diversity allows potato cultivation in northern latitudes. *Nature*, 495(7440), 246–250. <https://doi.org/10.1038/nature11912>
- Lee, K.-J., Sebastin, R., Cho, G.-T., Yoon, M., Lee, G.-A., e Hyun, D.-Y. (2021). Genetic Diversity and Population Structure of Potato Germplasm in RDA-Genebank: Utilization for Breeding and Conservation. *Plants*, 10(4), 752. <https://doi.org/10.3390/plants10040752>
- Lehretz, G. G., Sonnewald, S., Lugassi, N., Granot, D., e Sonnewald, U. (2021). Future-Proofing Potato for Drought and Heat Tolerance by Overexpression of Hexokinase and SP6A. *Frontiers in Plant Science*, 11. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.614534>
- Levy, D., e Veilleux, R. E. (2007a). Adaptation of potato to high temperatures and salinity-a review. *American Journal of Potato Research*, 84(6), 487–506. <https://doi.org/10.1007/BF02987885>
- Levy, D., e Veilleux, R. E. (2007b). Adaptation of potato to high temperatures and salinity-a review. *American Journal of Potato Research*, 84(6), 487–506. <https://doi.org/10.1007/BF02987885>
- Liu, B., Kong, L., Zhang, Y., e Liao, Y. (2021). Gene and Metabolite Integration Analysis through Transcriptome and Metabolome Brings New Insight into Heat Stress Tolerance in Potato (*Solanum tuberosum* L.). *Plants*, 10(1), 103. <https://doi.org/10.3390/plants10010103>
- Manrique-Carpintero, N. C., Coombs, J. J., Pham, G. M., Laimbeer, F. P. E., Braz, G. T., Jiang, J., Veilleux, R. E., Buell, C. R., e Douches, D. S. (2018). Genome Reduction in Tetraploid Potato Reveals Genetic Load, Haplotype Variation, and Loci Associated With Agronomic Traits. *Frontiers in Plant Science*, 9. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00944>
- Mayer, M. P., e Bukau, B. (2005). Hsp70 chaperones: Cellular functions and molecular mechanism. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 62(6), 670–684. <https://doi.org/10.1007/s00018-004-4464-6>
- Ortiz, R., Reslow, F., Cuevas, J., e Crossa, J. (2022). Genetic gains in potato breeding as measured by field testing of cultivars released during the last 200 years in the Nordic Region of Europe. *The Journal of Agricultural Science*, 1–7. <https://doi.org/10.1017/S002185962200034X>
- Peloquin, S. J., Yerk, G. L., Werner, J. E., e Darro, E. (1989). Potato breeding with haploids and 2n gametes. *Genome*, 31(2), 1000–1004. <https://doi.org/10.1139/g89-174>
- Potato Genome Consortium. (2011). Genome sequence and analysis of the tuber crop potato. *Nature*, 475(7355), 189–195. <https://doi.org/10.1038/nature10158>
- R Core Team (2022). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing
- Ramírez Gonzales, L., Shi, L., Bergonzi, S. B., Oortwijn, M., Franco-Zorrilla, J. M., Solano-Tavira, R., Visser, R. G. F., Abelenda, J. A., e Bachem, C. W. B. (2021). Potato CYCLING DOF FACTOR 1 and its lncRNA counterpart *StFLORÉ* link tuber development and drought response. *The Plant Journal*, 105(4), 855–869. <https://doi.org/10.1111/tpj.15093>
- Reynolds, M. P., e Ewing, E. E. (1989). Heat tolerance in tuber bearing *Solanum* species: A protocol for screening. *American Potato Journal*, 66(2), 63–74. <https://doi.org/10.1007/BF02854425>
- Saidi, A., e Hajibarat, Z. (2021). Approaches for developing molecular markers associated with virus resistances in potato (*Solanum tuberosum*). *Journal of Plant Diseases and Protection*, 128(3), 649–662. <https://doi.org/10.1007/s41348-021-00440-3>
- Selga, C., Chrominski, P., Carlson-Nilsson, U., Andersson, M., Chawade, A., e Ortiz, R. (2022). Diversity and population structure of Nordic potato cultivars and breeding clones. *BMC Plant Biology*, 22(1), 350. <https://doi.org/10.1186/s12870-022-03726-2>
- Tagliotti, M. E., Deperi, S. I., Bedogni, M. C., e Huarte, M. A. (2021). Genome-wide association analysis of agronomical and physiological traits linked to drought tolerance in a diverse potatoes (*Solanum tuberosum*) panel. *Plant Breeding*, 140(4), 654–664. <https://doi.org/10.1111/pbr.12938>
- Tang, R., Niu, S., Zhang, G., Chen, G., Haroon, M., Yang, Q., Rajora, O. P., e Li, X.-Q. (2018). Physiological and growth responses of potato cultivars to heat stress. *Botany*, 96(12), 897–912. <https://doi.org/10.1139/cjb-2018-0125>
- Tang, R., Zhu, W., Song, X., Lin, X., Cai, J., Wang, M., e Yang, Q. (2016). Genome-Wide Identification and Functional Analyses of Heat Shock Transcription Factors in Potato. *Frontiers in Plant Science*, 7. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00490>
- Trapero-Mozos, A., Morris, W. L., Ducreux, L. J. M., McLean, K., Stephens, J., Torrance, L., Bryan, G. J., Hancock, R. D., e Taylor, M. A. (2018). Engineering heat tolerance in potato by temperature-

- dependent expression of a specific allele of *HEAT-SHOCK COGNATE 70*. *Plant Biotechnology Journal*, *16*(1), 197–207. <https://doi.org/10.1111/pbi.12760>
- Veilleux, R. E., Paz, M. M., e Levy, D. (1997). Potato germplasm development for warm climates: genetic enhancement of tolerance to heat stress. *Euphytica*, *98*(1/2), 83–92. <https://doi.org/10.1023/A:1003014629029>
- Zhang, C., Wang, P., Tang, D., Yang, Z., Lu, F., Qi, J., Tawari, N. R., Shang, Y., Li, C., e Huang, S. (2019). The genetic basis of inbreeding depression in potato. *Nature Genetics*, *51*(3), 374–378. <https://doi.org/10.1038/s41588-018-0319-1>
- Zhang, G., Tang, R., Niu, S., Si, H., Yang, Q., Bizimungu, B., Regan, S., e Li, X.-Q. (2020). Effects of Earliness on Heat Stress Tolerance in Fifty Potato Cultivars. *American Journal of Potato Research*, *97*(1), 23–32. <https://doi.org/10.1007/s12230-019-09740-9>

APÊNDICE

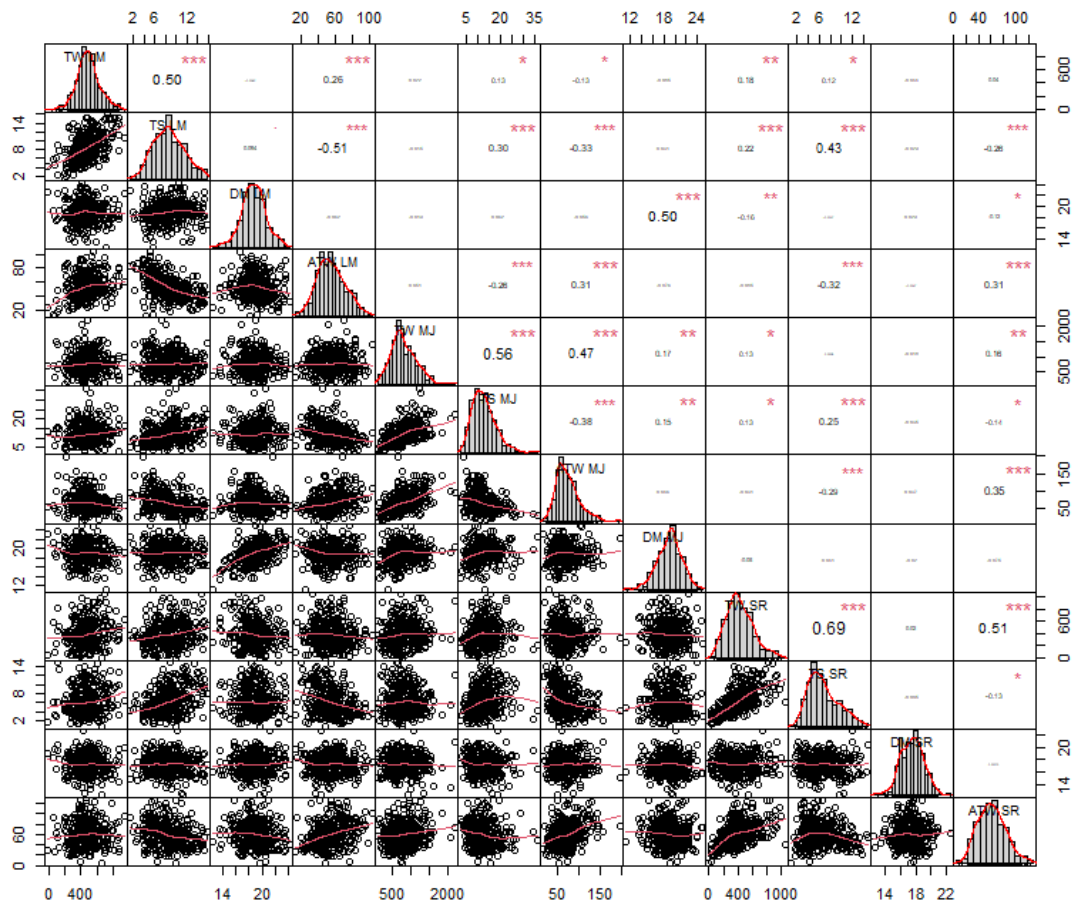


Figura suplementar 1. Correlação entre as diferentes características avaliadas nos três ambientes

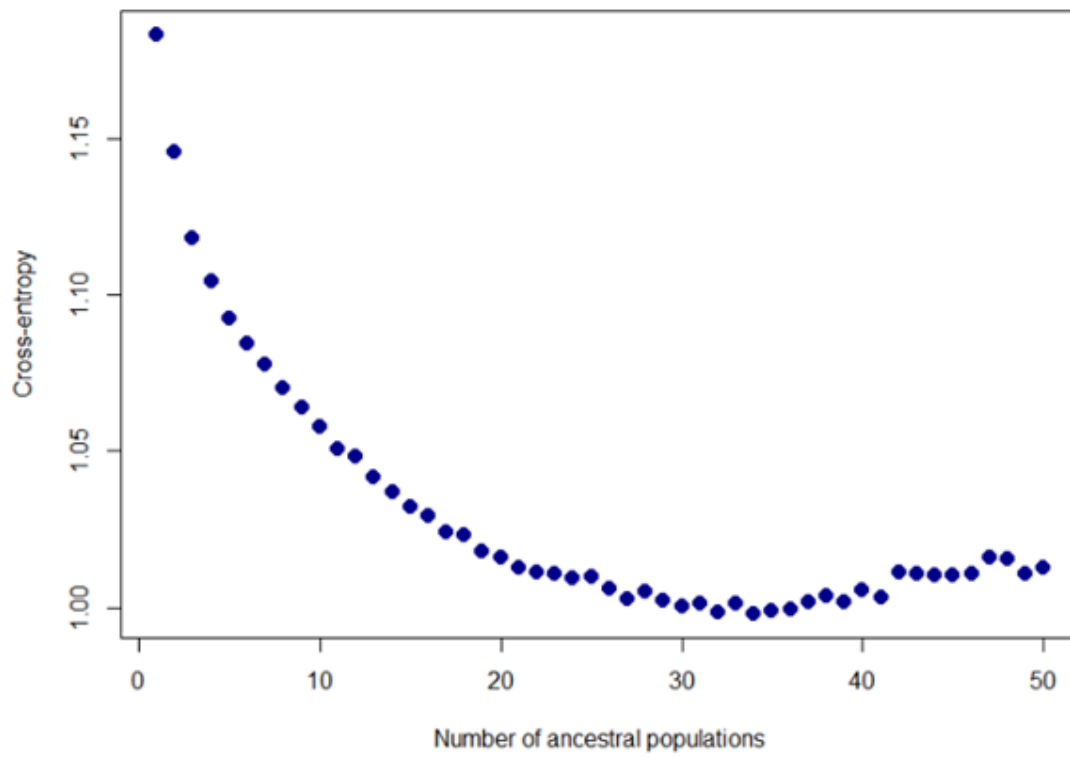


Figura suplementar 2. Valores de entropia-cruzada para o número de populações ancestrais

Tabela S1. Marcadores significativos para cada um dos cenários, para cada característica, discriminando o modelo no qual foi significativo, o nome do marcador, o cromossomo, a posição dentro do cromossomo, o efeito de substituição e a variação explicada pelo marcador.

Cenário	Característica	Modelo	Marcador	Crom.	Posição	Efeito	R ²
S1	TW	2-dom-alt	solcap_snp_c1_87	3	56426952	166,43	0,031
		2-dom-ref	solcap_snp_c1_16127	6	56585602	285,86	0,033
	DM	1-dom-ref	solcap_snp_c1_7848	2	43813005	-1,14	0,005103
		Aditivo	solcap_snp_c1_7848	2	43813005	-0,57	0,006932
		2-dom-alt	solcap_snp_c2_24864	2	43919157	-0,84	0,008391
		Aditivo	PotVar0120595	3	44198470	0,46	0,027528
	ATW	2-dom-ref	solcap_snp_c1_15642	12	58834181	-3,18	0,030911
		2-dom-ref	solcap_snp_c2_8790	6	52361022	-15,61	0,031788
		2-dom-ref	solcap_snp_c2_200	3	56513673	-13,97	0,027882
S2	TW	Aditivo	solcap_snp_c1_6841	2	24059008	-6,75	0,037088
		Aditivo	solcap_snp_c1_3803	5	3599734	38,51	0,021744
	TS	1-dom-alt	PotVar0117068	5	5157172	77,28	0,018419
		Diplo-a	solcap_snp_c1_4103	9	52883398	-6,87	0,02035
		Aditivo	solcap_snp_c2_16425	1	76379703	0,56	0,027593
	DM	Aditivo	solcap_snp_c1_5931	5	45996829	-0,39	0,025652
		Aditivo	PotVar0014770	4	25155688	-0,48	0,013808
		2-dom-ref	solcap_snp_c1_8353	4	10469296	0,76	0,021158
		2-dom-ref	PotVar0019251	3	2330568	-2,70	0,003709
	ATW	Aditivo	PotVar0019251	3	2330568	-1,55	0,007652
		1-dom-ref	solcap_snp_c2_57258	3	52007025	5,63	0,047604
		2-dom-alt	solcap_snp_c1_3803	5	3599734	2,76	0,001343
		Aditivo	solcap_snp_c1_3803	5	3599734	1,42	0,016195
		2-dom-ref	PotVar0037237	7	55989785	-5,37	0,03208
		2-dom-alt	solcap_snp_c1_3803	5	3599734	0,58	0,013608
SE	2-dom-ref	PotVar0079585	5	4486966	-0,54	0,000975	
	Aditivo	PotVar0079585	5	4486966	-0,36	0,009239	
	1-dom-alt	PotVar0117068	5	5157172	0,59	0,040251	
	2-dom-alt	PotVar0090998	5	10366895	0,68	0,00984	
	Aditivo	solcap_snp_c2_47087	5	13872569	0,40	0,004402	
	2-dom-ref	solcap_snp_c2_33777	6	49982258	-165,36	0,017486	
S3	TW	2-dom-alt	solcap_snp_c2_5852	6	50939045	-125,90	0,034139
		Aditivo	solcap_snp_c2_41406	6	51332132	-91,16	0,034139
		2-dom-ref	solcap_snp_c1_15206	3	9009092	5,23	0,038
	TS	Diplo-a	solcap_snp_c1_15206	3	9009092	5,46	0,046
		2-dom-alt	solcap_snp_c2_53036	2	36571831	29,79	0,051981
	ATW	Aditivo	solcap_snp_c1_2978	6	52358132	-9,92	0,027452
		2-dom-alt	solcap_snp_c1_2978	6	52358132	-16,88	0,002233
		1-dom-ref	PotVar0127585	6	55699320	39,99	0,044814
		Aditivo	solcap_snp_c2_33892	6	49952539	38,37	0,000368
S4	TW	2-dom-alt	solcap_snp_c2_33892	6	49952539	68,24	0,000928
		2-dom-alt	solcap_snp_c2_49048	6	42439580	159,79	0,005215
		Aditivo	solcap_snp_c2_26498	6	11783944	48,71	0,007452
		2-dom-ref	PotVar0074119	6	51767148	-109,85	0,007912
		Aditivo	solcap_snp_c1_12655	10	57508914	1,46	0,003844
	TS	2-dom-ref	solcap_snp_c1_9058	10	57135989	3,26	0,004159
		2-dom-alt	solcap_snp_c2_49619	1	59670526	4,56	0,011511
	DM	2-dom-ref	PotVar0038665	2	32938356	5,33	0,016665
		2-dom-ref	solcap_snp_c2_24864	2	43919157	5,28	0,00157
		1-dom-ref	solcap_snp_c1_7848	2	43813005	5,56	0,004617
		1-dom-alt	PotVar0002433	2	43786801	4,33	0,005517

		Aditivo	solcap_snp_c1_7848	2	43813005	11,12	9,75E-05
		2-dom-alt	solcap_snp_c2_24864	2	43919157	6,16	0,005181
		Aditivo	PotVar0120595	3	44198470	4,54	0,017772
		Aditivo	PotVar0127732	4	7915940	4,59	0,005223
		2-dom-ref	solcap_snp_c1_8353	4	10469296	4,54	0,007254
		1-dom-alt	PotVar0025599	5	3822520	4,77	7,95E-06
		Aditivo	PotVar0025599	5	3822520	4,91	0,001823
		2-dom-alt	solcap_snp_c2_34085	8	34629849	4,33	0,010366
		1-dom-ref	PotVar0061744	9	61962598	4,29	0,008953
		1-dom-alt	PotVar0011101	9	63673985	5,36	0,001243
		Aditivo	PotVar0011101	9	63673985	5,2	0,00154
		Aditivo	solcap_snp_c1_5411	11	23814241	4,69	0,023609
		ATW	2-dom-ref	solcap_snp_c2_8790	6	52361022	-8,32
Aditivo	solcap_snp_c2_8790		6	52361022	-3,69	0,007234	
2-dom-ref	solcap_snp_c2_133		3	56797571	-6,97	0,013045	
Sh	ATW	Aditivo	solcap_snp_c2_41405	6	51332581	-4,62	0,090221
FW1	TW	Aditivo	PotVar0117068	5	5157172	-0,35	0,006244
		1-dom-alt	PotVar0117068	5	5157172	-0,48	0,002808
		Diplo-G	PotVar0117068	5	5157172	-0,48	0,002808
	TS	1-dom-alt	PotVar0117068	5	5157172	0,42	0,002318
		Aditivo	PotVar0117068	5	5157172	0,30	0,007882
	DM	Aditivo	solcap_snp_c2_13821	3	42602793	-1,63	0,030041
		Aditivo	solcap_snp_c2_11771	5	3090828	-1,09	0,001082
		2-dom-ref	solcap_snp_c2_11771	5	3090828	-2,76	0,019512
	ATW	2-dom-alt	solcap_snp_c1_6841	2	24059008	-0,21	0,01454
		Aditivo	PotVar0029530	2	23452479	-0,11	0,023002
2-dom-ref		solcap_snp_c2_8790	6	52361022	-0,32	0,003	
FW2	ATW	2-dom-ref	PotVar0018569	12	3949654	-3,10	0,074
H1	TW	Aditivo	solcap_snp_c2_26498	6	11783944	0,095	0,034
	TS	Diplo-g	solcap_snp_c2_23178	2	29380550	0,039	0,038
		Diplo-g	solcap_snp_c2_27372	2	41690807	0,042	0,054
	DM	1-dom-ref	solcap_snp_c1_7848	2	43813005	-0,09	0,002378
		Aditivo	solcap_snp_c1_7848	2	43813005	-0,04	0,012856
		2-dom-alt	solcap_snp_c2_24864	2	43919157	-0,07	0,01384
		2-dom-alt	PotVar0090998	2	10366895	0,06	0,035215
H2	TW	1-dom-ref	solcap_snp_c1_7132	3	52915590	0,39	0,060466
		Diplo-g	PotVar0098903	4	59344435	-0,45	0,06326
		1-dom-alt	PotVar0098903	4	59344435	-0,48	0,08424
		2-dom-ref	solcap_snp_c2_33777	6	49982258	-0,28	0,013212
		Aditivo	solcap_snp_c2_41406	6	51332132	-0,12	0,045547
	TS	2-dom-ref	solcap_snp_c1_15206	3	9009092	0,79	0,044741
		1-dom-ref	solcap_snp_c2_29204	6	55003191	0,75	0,023329
		1-dom-ref	PotVar0012376	9	3544126	0,81	0,024251
		1-dom-alt	PotVar0072988	9	62781990	-0,41	0,078782
		2-dom-alt	solcap_snp_c1_289	10	2346214	0,61	0,054919
	DM	Aditivo	solcap_snp_c1_7848	2	43813005	-0,05	0,088586
		1-dom-ref	PotVar0019251	3	2330568	0,10	0,075155
		2-dom-alt	solcap_snp_c1_7980	7	48808564	0,20	0,098757
ATW	Aditivo	solcap_snp_c2_41405	6	51332581	-0,22	0,083	

S1

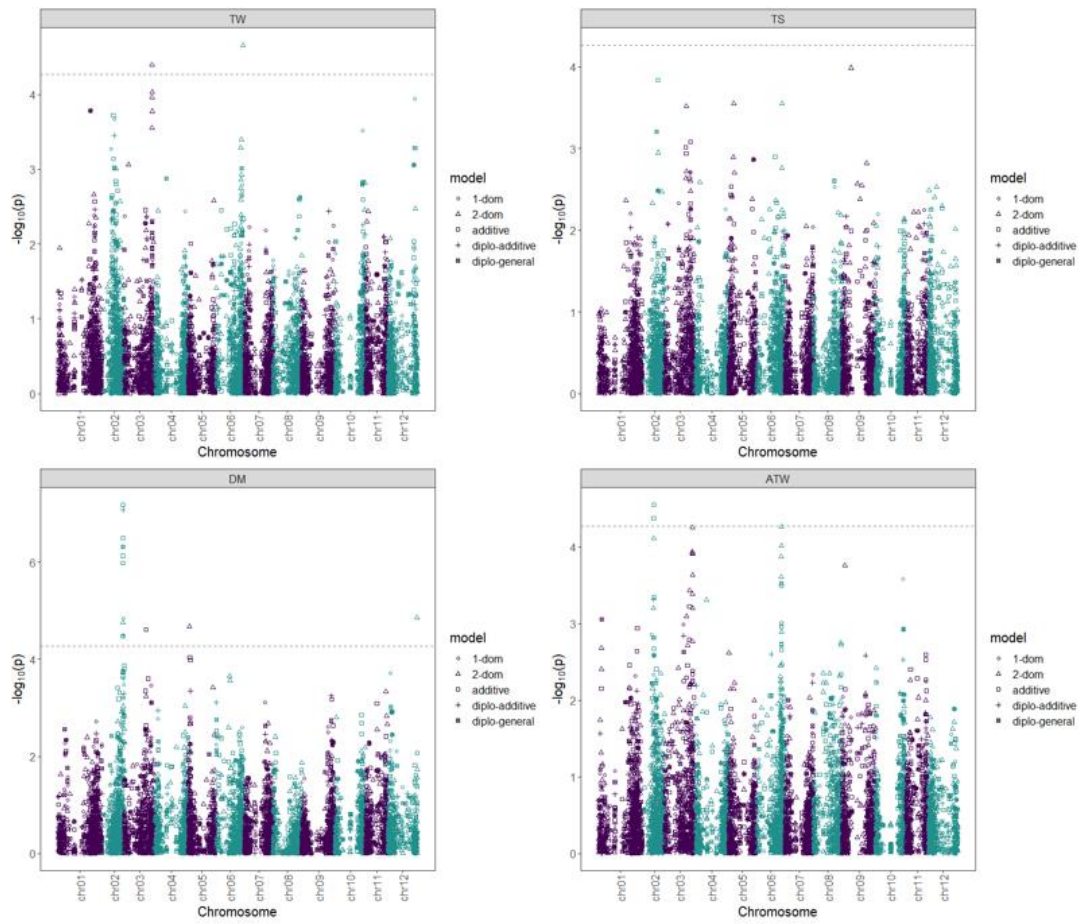


Figura suplementar 3. Gráficos do tipo Manhattan para o cenário S1

S2

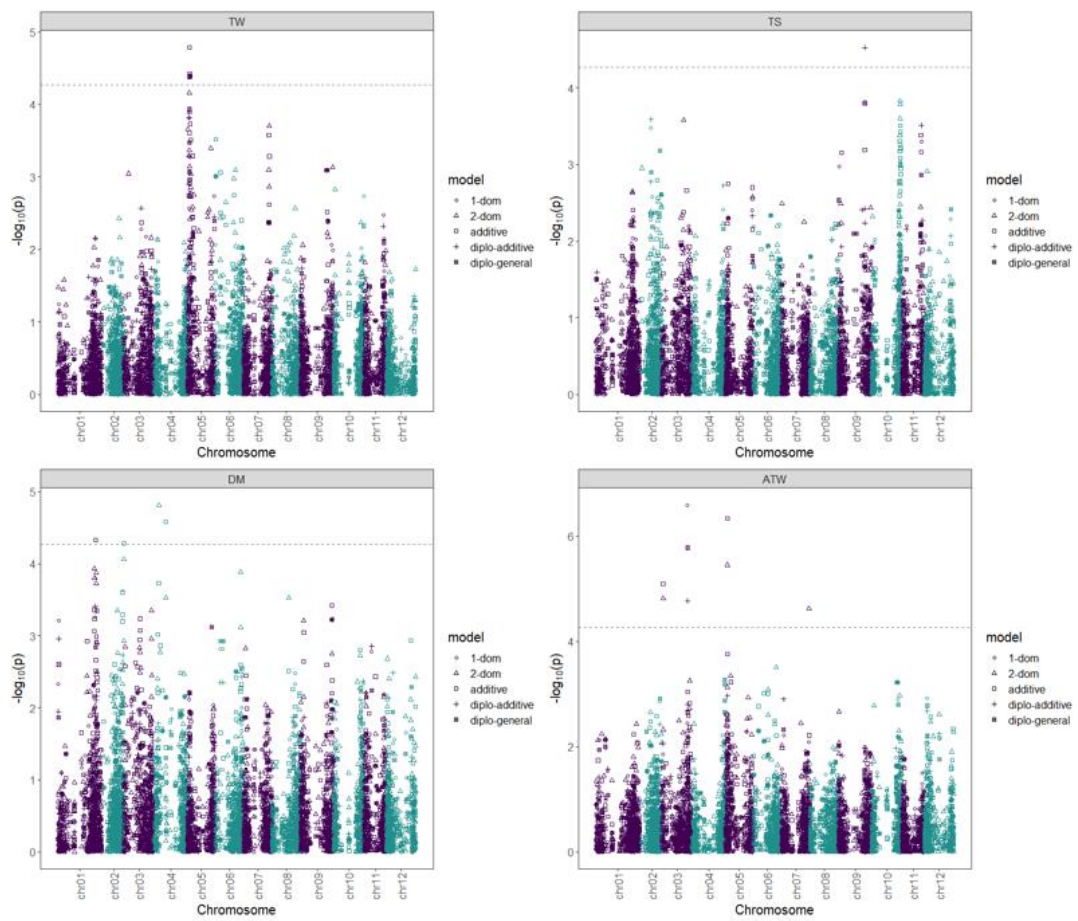


Figura suplementar 4. Gráficos do tipo Manhattan para o cenário S2.

S3

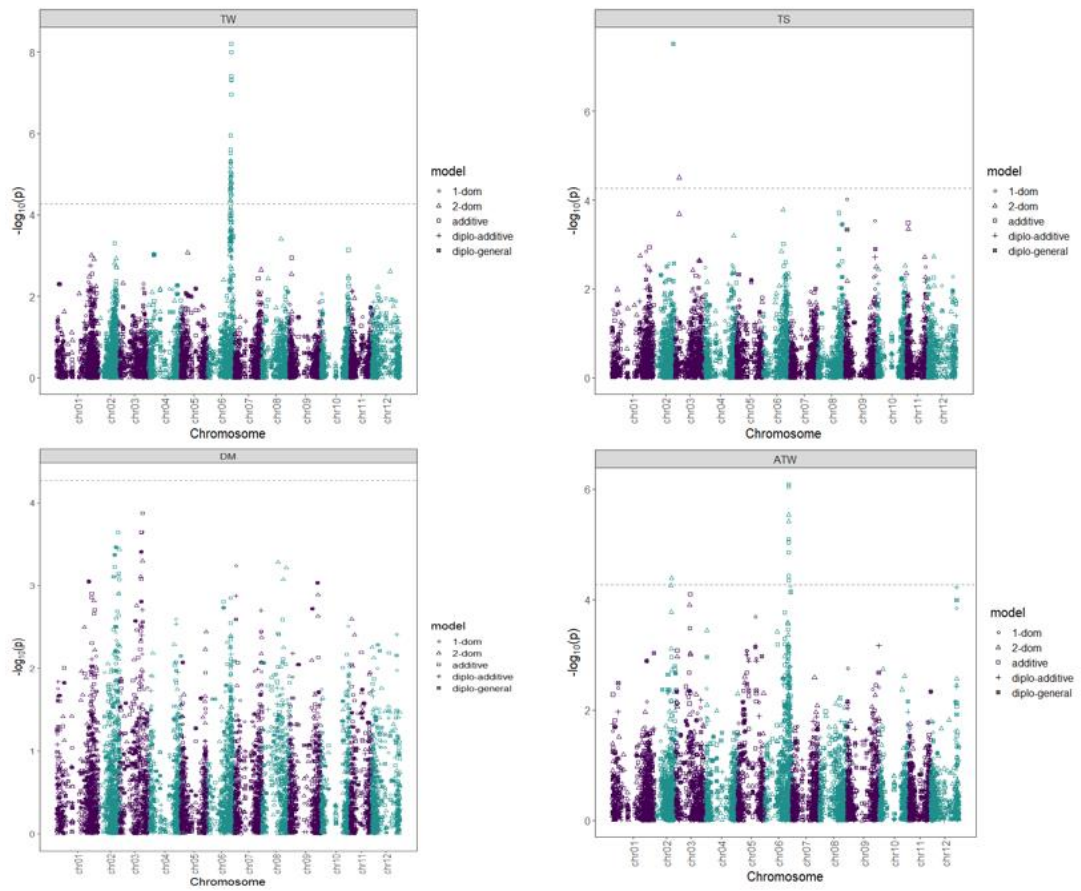


Figura suplementar 5. Gráficos do tipo Manhattan para o cenário S3

S4

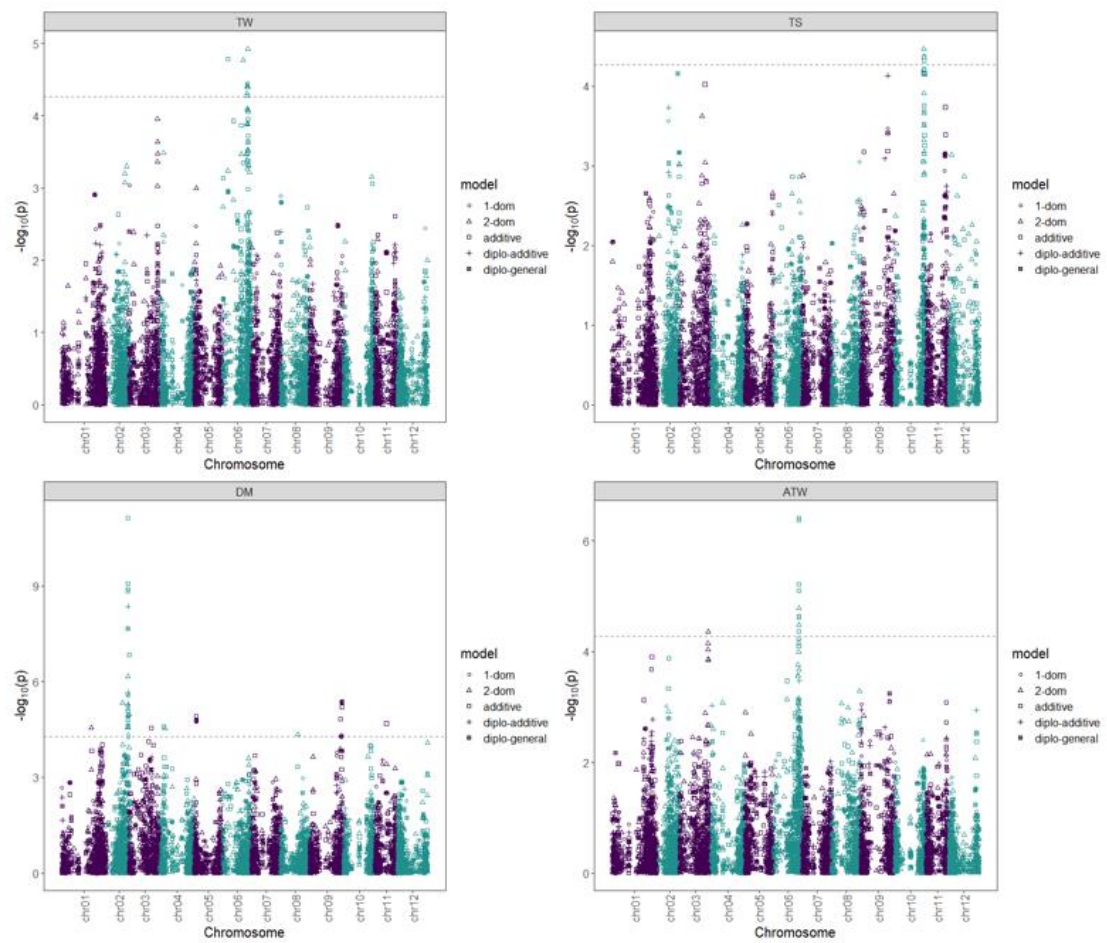


Figura suplementar 6. Gráficos do tipo Manhattan para o cenário S4

Sh

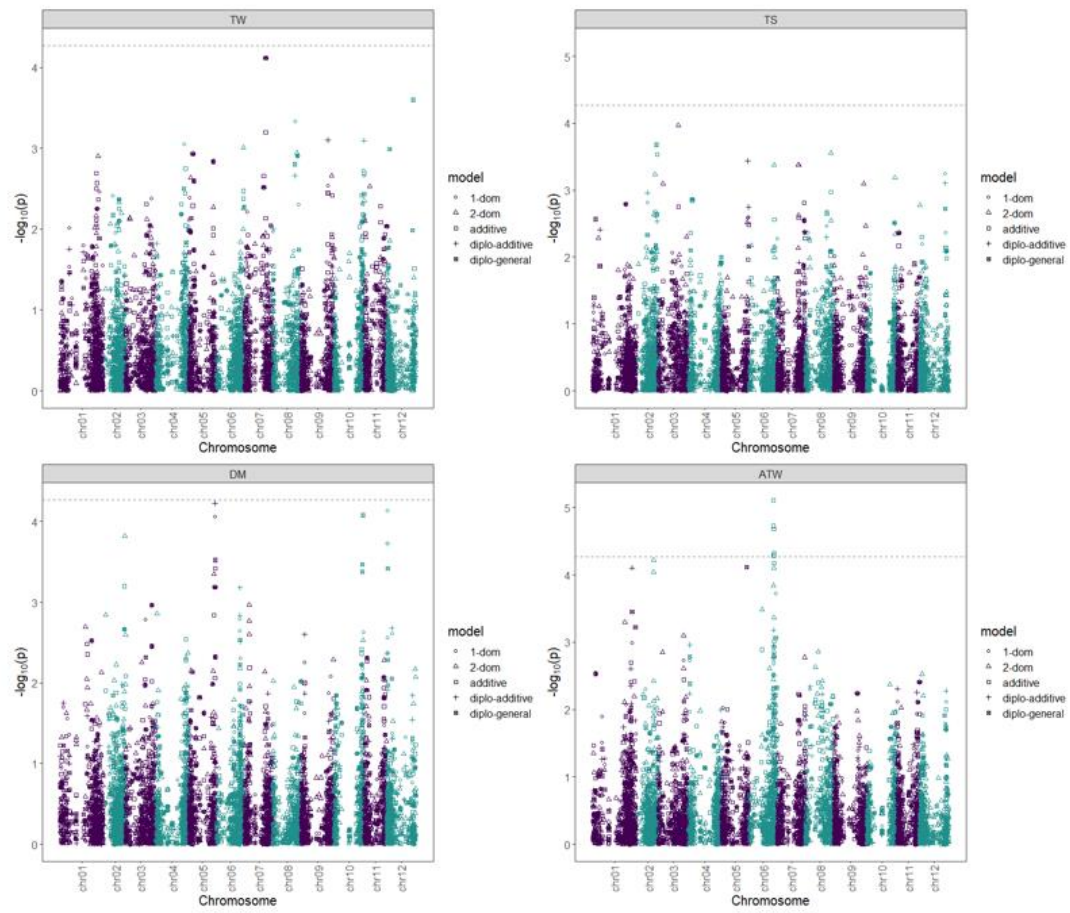


Figura suplementa 7. Gráficos do tipo Manhattan para o cenário Sh

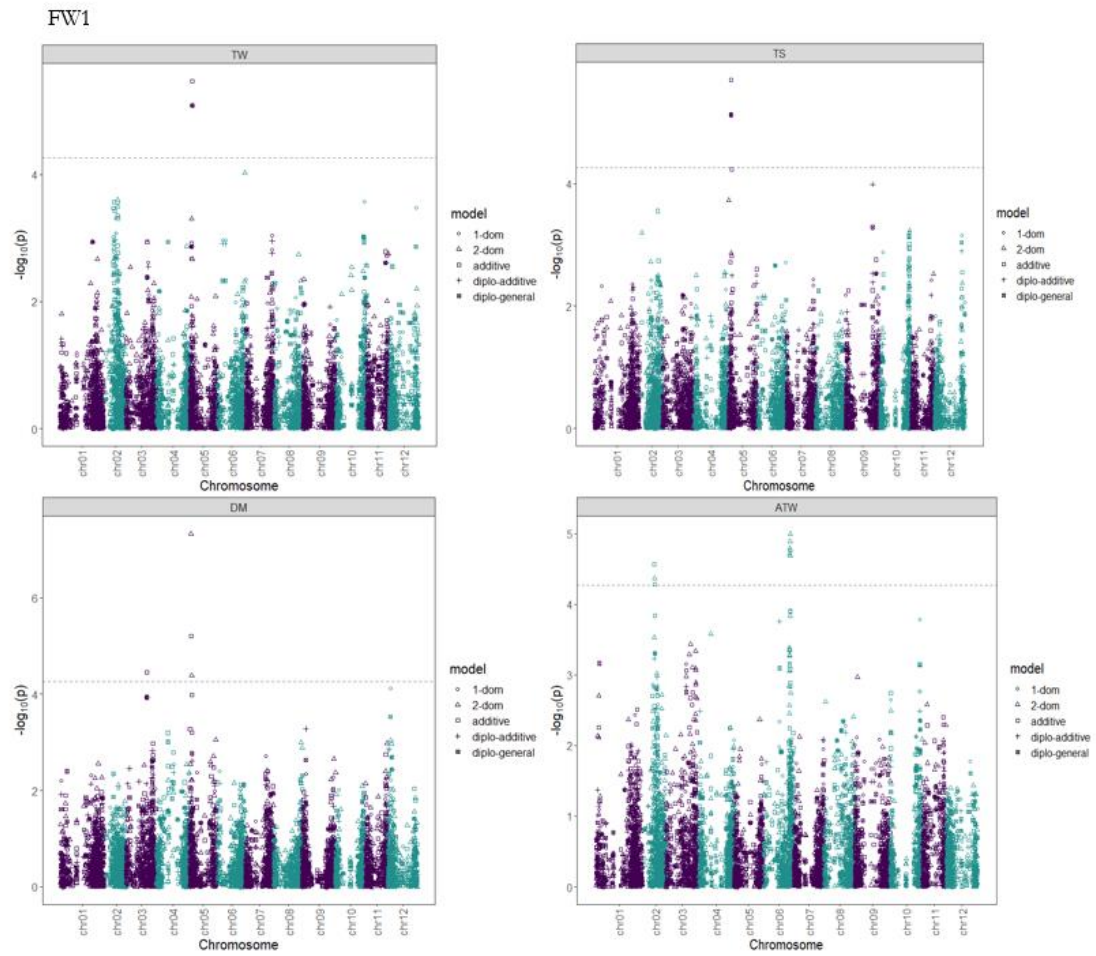


Figura suplementar 8. Gráficos do tipo Manhattan para o cenário FW1

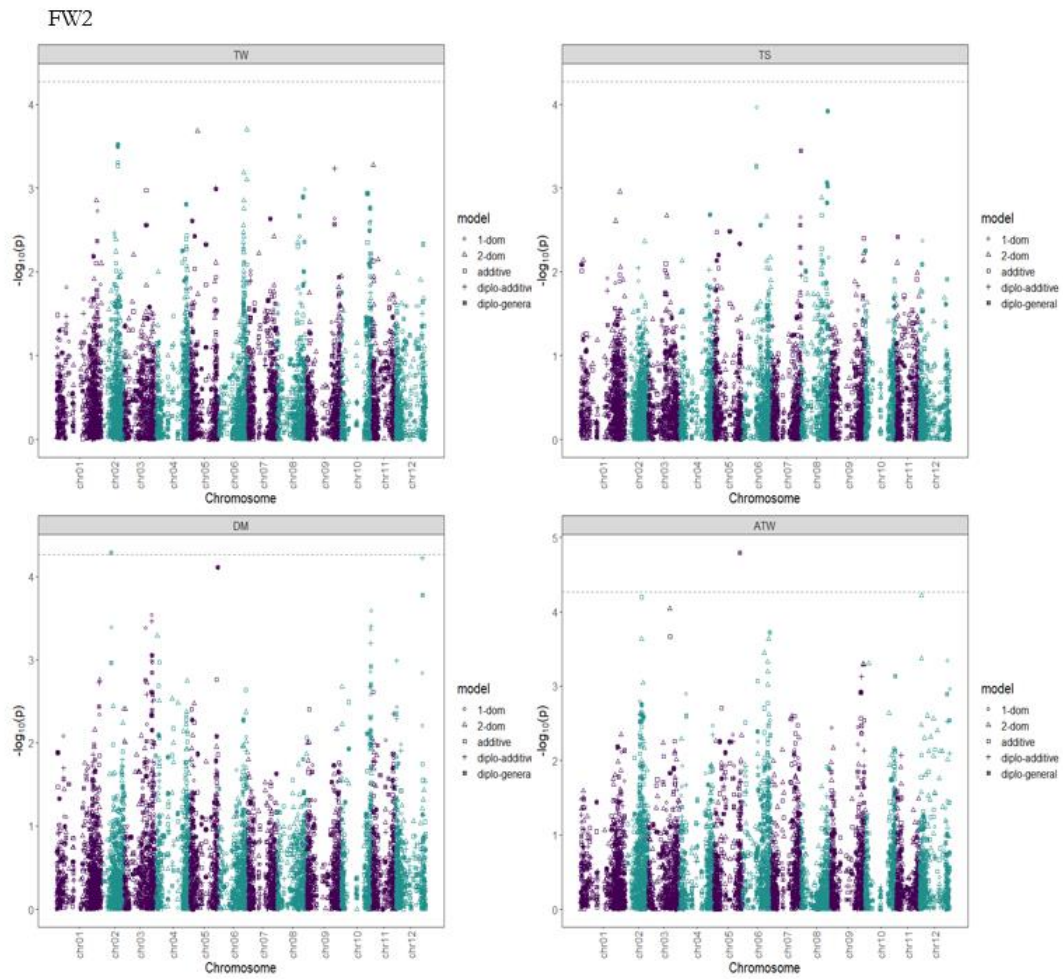


Figura suplementar 9. Gráficos do tipo Manhattan para o cenário FW2

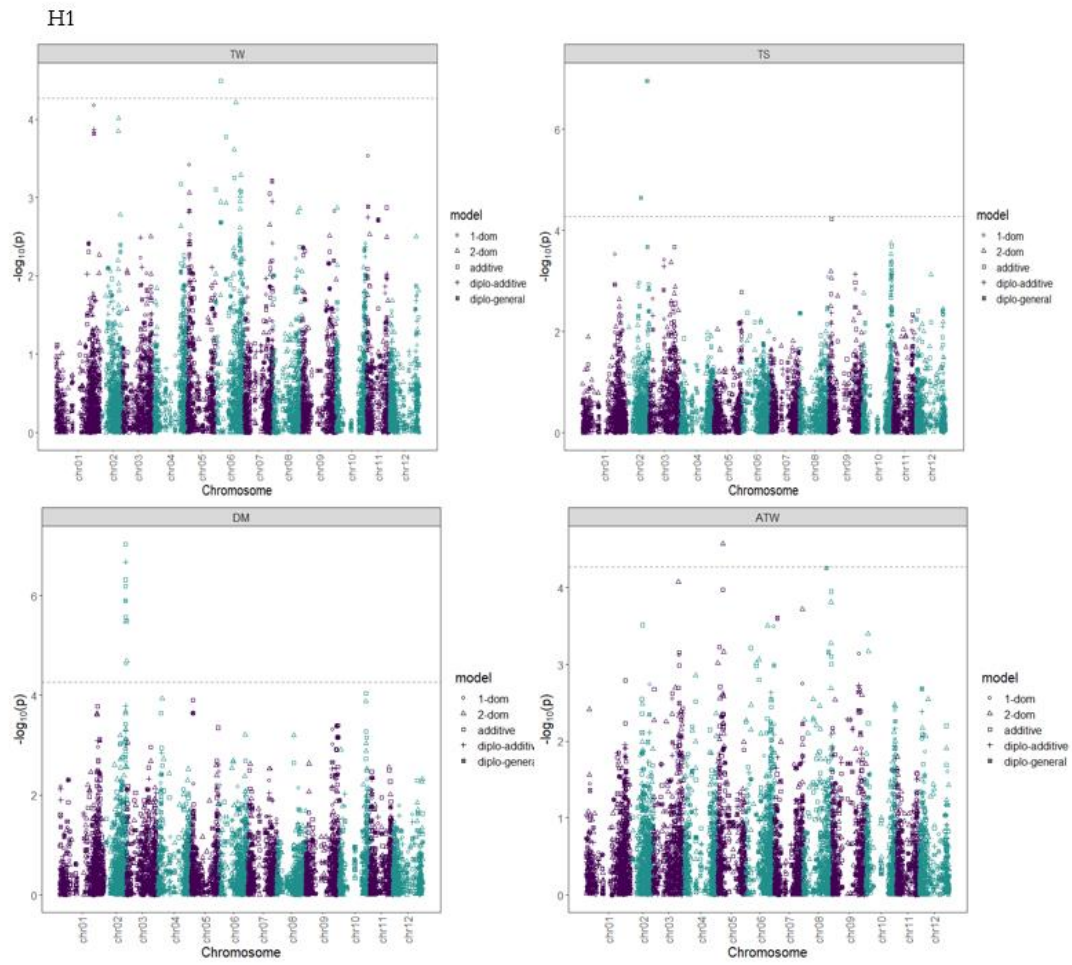


Figura suplementar 10. Gráficos do tipo Manhattan para o cenário H1

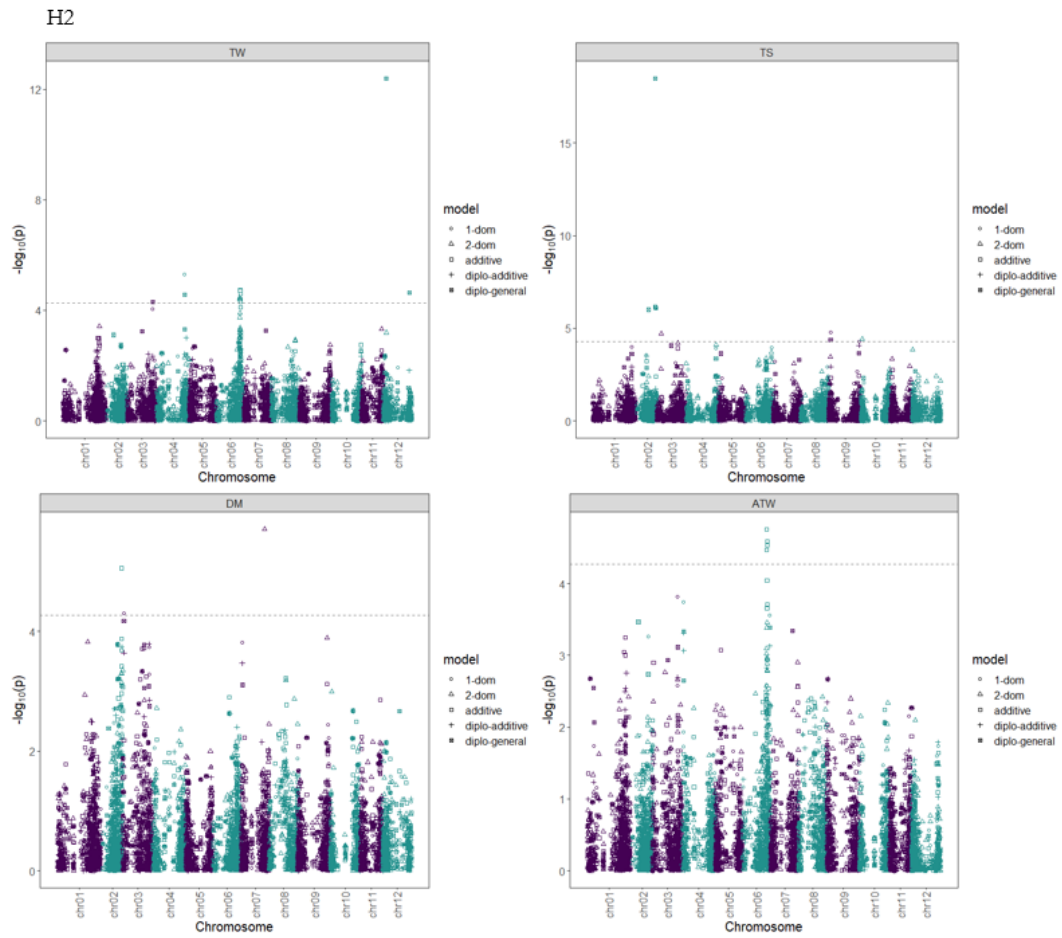


Figura suplementar 11. Gráficos do tipo Manhattan para o cenário H2