

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**DESENVOLVIMENTO DE CLONES DE BATATA DE
ALTA QUALIDADE DE TUBÉRCULO A PARTIR DE
GENITORES RESISTENTES A REQUEIMA**

TESE DE DOUTORADO

Liege Camargo da Costa

**SANTA MARIA, RS, BRASIL
2007**

**DESENVOLVIMENTO DE CLONES DE BATATA DE ALTA
QUALIDADE DE TUBÉRCULO A PARTIR DE GENITORES
RESISTENTES A REQUEIMA**

por

Liege Camargo da Costa

Tese apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em
Agronomia, Área de Concentração em Produção Vegetal, da Universidade
Federal de Santa Maria (UFSM), como requisito parcial para obtenção do grau
de **Doutora em Agronomia**.

Orientador: Prof. Dilson Antônio Bisognin, PhD.

**Santa Maria, RS, Brasil
2007**

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciência Rurais
Programa de Pós-Graduação em Agronomia**

A Comissão Examinadora abaixo assinada,
aprova a Tese de Doutorado

**DESENVOLVIMENTO DE CLONES DE BATATA DE ALTA
QUALIDADE DE TUBÉRCULO A PARTIR DE GENITORES
RESISTENTES A REQUEIMA**

elaborada por
Liege Camargo da Costa

como requisito parcial para obtenção do grau de
Doutora em Agronomia

COMISSÃO EXAMINADORA:

Dilson Antônio Bisognin, PhD. (UFSM)
(Presidente/ Orientador)

Francisco Vilaró, PhD. (INIA)
(Examinador)

Márcia Vizzotto, PhD. (CPACT – Embrapa)
(Examinadora)

Jerônimo Luiz Andriolo, Dr. (UFSM)
(Examinador)

Elena Blume, PhD. (UFSM)
(Examinadora)

Santa Maria, 12 de março de 2007.

AGRADECIMENTOS

À Deus, especialmente pela vida, saúde, pelo carinho das pessoas que participaram na realização desta conquista e pela inspiração espiritual que tem possibilitado o cumprimento dos meus compromissos para alcançar meus objetivos.

À minha família, meu Pai, Sr. Nelson da Costa, irmãs, Josie e Etieli, meu filho, Carlos Henrique, com quem compartilho a felicidade de viver, pela presença, carinho e apoio, o que me proporcionou a idealização deste trabalho;

Ao Carlos Barreto, pelo companheirismo, amor e amizade em todos os momentos;

Ao meu orientador Professor Dilson Antônio Bisognin, PhD., pela orientação firme e segura, amizade e confiança;

Aos co-orientadores, Professores Dr. Jerônimo Luiz Andriolo, Dr^a. Nerinéia Dalfollo Ribeiro e Dr^a. Elena Blume, pelas contribuições para o aperfeiçoamento deste trabalho;

Aos demais Professores do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, que direta ou indiretamente colaboraram com reflexões e intervenções durante a elaboração do presente trabalho;

À Professora Dr^a. Lia Reiniger, pela sua amizade, atenção e disponibilidade permanentes;

Aos Professores Dr. Francisco Vilaró e Dr^a. Márcia Vizzotto, pela gentileza da participação na banca examinadora e pelas correções necessárias;

Ao funcionário João Vicente Colpo, pela amizade e auxílio durante a realização deste trabalho;

Aos colegas da Pós-Graduação, pela amizade demonstrada e pela troca de experiências;

Aos bolsistas e estagiários do Programa de Genética e Melhoramento da Batata, por todo o auxílio prestado durante a realização deste trabalho e pela grande amizade, a qual nos proporcionou momentos de descontração no decorrer deste período;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa de Doutorado.

“O segredo é não correr atrás
das borboletas...
É cuidar do jardim para que elas
venham até você.”

(Mário Quintana)

RESUMO

Tese de Doutorado
Programa de Pós-Graduação em Agronomia
Universidade Federal de Santa Maria

DESENVOLVIMENTO DE CLONES DE BATATA DE ALTA QUALIDADE DE TUBÉRCULO A PARTIR DE GENITORES RESISTENTES A REQUEIMA

AUTORA: LIEGE CAMARGO DA COSTA

ORIENTADOR: DILSON ANTÔNIO BISOGNIN

Data e Local de Defesa: Santa Maria, 19 de março de 2007.

A batata (*Solanum tuberosum* L.) é a olerícola cultivada de maior expressão econômica no mundo e no Brasil. A principal e mais devastadora doença da cultura é a requeima, causada pelo oomiceto *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary e a ausência de cultivares brasileiras, com altos níveis de resistência determina que uma grande parcela dos custos de produção sejam empregados para o seu controle. A resistência a requeima por si não determina a aceitação de novas cultivares, que devem apresentar alta qualidade de tubérculo para processamento ou para consumo de mesa. Os objetivos deste estudo foram a) desenvolver progênies de genitores resistentes a requeima; b) comparar a seleção para qualidade de tubérculo em gerações de cova única e oito covas; c) identificar clones de alta qualidade de tubérculo com potencial para processamento industrial ou consumo; e d) determinar o meio de cultura que proporcione o maior crescimento e esporulação de isolados de *P. infestans*. Foram realizados cruzamentos em telado do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Santa Maria durante o ano de 2005. Clones resistentes a requeima (SMIJ319-1, SMIJ456-4Y, SMIG274-3, Torridon, Tollocan e Stirling) foram cruzados com clones ou cultivares adaptados ou de alta qualidade de tubérculo, resultando em 20 famílias que foram avaliadas e clones selecionados na geração de cova única na primavera de 2005. Os clones selecionados foram também avaliados na geração de oito covas no outono de 2006. A seleção para aparência de tubérculo, gravidade específica e coloração de chips resultou em 19 clones que foram novamente plantados em parcelas de 20 covas na primavera de 2006 e avaliados para aparência de tubérculo, coloração de chips, teores de matéria seca, açúcares redutores, amido e amilose. O crescimento e a esporulação de isolados de *P. infestans* foram avaliados nos meios batata-dextrose-ágar (BDA), cenoura-ágar, farinha de milho-ágar, B de centeio e suco de oito vegetais (V8). Alta porcentagem de clones que combinam aparência de tubérculo, gravidade específica e coloração de chips foram identificados nas progênies de Tollocan, Stirling, SMIJ319-1 e SMIJ456-4Y. A aplicação de moderado índice de seleção permitiu a identificação de 89%, 63,9% e 79,8% dos clones em cova única e 71,2%, 63,9% e 71,4% em oito covas respectivamente para aparência de tubérculo, gravidade específica e coloração de chips. Os clones SMA501-1, SMA508-2, SMA508-4, SMA514-8, SMA514-10, SMA514-11 e SMA520-5 apresentaram alto potencial para processamento industrial e os clones SMA504-2, SMA505-2, SMA505-7, SMA506-4, SMA513-2, SMA516-2, SMA517-2, SMA519-1 e SMA520-5 apresentam potencial para consumo de mesa ou processamento na forma de fritas tipo palito. O meio B de centeio promoveu o rápido crescimento micelial de *P. infestans* e os meios de cultura BDA e suco V8 promoveram a maior produção de esporângios.

Palavras-chave: *Solanum tuberosum*; seleção precoce; qualidade de tubérculo; processamento industrial.

ABSTRACT

Doctoral Thesis
Graduate Program of Agronomy
Federal University of Santa Maria, RS, Brazil

DEVELOPMENT OF POTATO CLONES WITH HIGH TUBER QUALITY FROM LATE BLIGHT RESISTENT PROGENITORS

AUTHOR: LIEGE CAMARGO DA COSTA
ADVISER: DILSON ANTÔNIO BISOGNIN
Local and Date of Defense: Santa Maria, March 19th, 2007.

Potato (*Solanum tuberosum* L.) is the most important horticultural crop of the world. Late blight (*Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary) is the most important and devastating disease. There is no cultivar with sufficient level of resistance in Brazil being most part of production costs used for its control. Besides late blight resistance, new cultivars should have high tuber quality either for processing or table stock. The objectives of this study were to a) develop progeny of late blight resistant progenitors; b) compare selection for tuber quality in single and eight hill plots; c) identify clones with high tuber quality for processing or table stock; and d) study culture medium to increase growth and sporulation of *P. infestans* isolates. Crosses among late blight resistant clones (SMIJ319-1, SMIJ456-4Y, SMIG274-3, Torridon, Tollocan e Stirling) and clones or cultivars either with high tuber quality or highly adapted were made in a screen house of Fitotecnia Department of Universidade Federal de Santa Maria during 2005. Twenty families were evaluated in single hill during spring 2006. Selected clones were also evaluated in eight hill plots during autumn 2006. Tuber appearance, specific gravity and chip color were assessed in all selected clones of both clonal generations. The 19 selected new clones were then evaluated in twenty hill plots during spring 2006 for tuber appearance, chip color, contents of dry matter, reduced sugars, starch and amylose. Growth and sporulation of *P. infestans* isolates were assessed in potato-dextrose-agar (PDA), carrot-agar, corn flour-agar, rye B and juice of eight vegetables (V8) culture mediums. A high percentage of clones combined tuber appearance, specific gravity and chip color and were identify in progeny of Tollocan, Stirling, SMIJ319-1 e SMIJ456-4Y. A moderate selection index resulted in 89.4%, 63.9% and 79.8% selections in single hill and 71.2%, 63.9% and 71.4% selections in eight hill plots respectively for tuber appearance, specific gravity and chip color. The clones SMA501-1, SMA508-2, SMA508-4, SMA514-8, SMA514-10, SMA514-11 e SMA520-5 showed high processing potential. The clones SMA504-2, SMA505-2, SMA505-7, SMA506-4, SMA513-2, SMA516-2, SMA517-2, SMA519-1 e SMA520-5 showed high potential either for processing or table stock. The rye B medium increased mycelium growth of *P. infestans* and the culture mediums PDA and V8 increased sporangium production.

Key Words: *Solanum tuberosum*; *Phytophthora infestans*; early selection; processing quality. oomiceto *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary

LISTA DE FIGURAS

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| FIGURA 1 - Relação entre proteínas e calorias em batata comparados a outros alimentos considerados básicos na dieta humana..... | 18 |
| FIGURA 2 - Comportamento de clones suscetíveis (à esquerda) e resistentes a requeima..... | 26 |
| FIGURA 3 - Esquema para o desenvolvimento de novas cultivares de batata resistentes a requeima, combinando alta qualidade de tubérculo com maturidade precoce de parte aérea..... | 27 |
| FIGURA 4 - Plântulas obtidas por sementes botânicas. A) Semeadura de uma família por vaso; B) Transplante de uma plântula por alvéolo para produção de um tubérculo..... | 31 |
| FIGURA 5 - Esporangióforos e esporângios de <i>Phytophthora infestans</i> em placas contendo meio B de centeio..... | 62 |
| FIGURA 6 - Preparo de suspensão de para contagem de esporângios de <i>P. infestans</i> . a) Diluição e raspagem das estruturas com auxílio da alça de Drigalski; b) Homogeneização..... | 63 |
| FIGURA 7 - Câmara de Neubauer vista através do microscópio ótico (aumento de 10x) contendo hifas e esporângios de <i>Phytophthora infestans</i> | 63 |
| FIGURA 8 - Comportamento de <i>Phytophthora infestans</i> em diferentes meios de cultura. Onde BDA = meio batata-dextrose-ágar; V8 = suco V8; FM = meio farinha de milho; CE = meio centeio B e CA = meio cenoura-ágar..... | 65 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| TABELA 1 - Panorama atual da produção mundial da batata (<i>Solanum tuberosum</i> L.)..... | 16 |
| TABELA 2 - Panorama atual da produção nacional de batatas (<i>Solanum tuberosum</i> L.)..... | 17 |
| TABELA 3 - Clones resistentes a requeima e clones de alta qualidade de tubérculo ou adaptados as condições brasileiras de cultivo utilizados para desenvolver populações segregantes..... | 33 |
| TABELA 4 - Número e porcentagem de clones selecionados em geração de cova única e oito covas em relação ao número total de clones avaliados..... | 35 |
| TABELA 5 - Desempenho das progênes de seis parentais resistentes a requeima para qualidade de tubérculo em geração de cova única em 2005..... | 36 |
| TABELA 6 - Desempenho das progênes de seis parentais resistentes a requeima para qualidade de tubérculo em geração de oito covas em 2006..... | 37 |
| TABELA 7 - Comparação da porcentagem de clones selecionados com aceitável aparência de tubérculo em gerações de cova única e oito covas..... | 39 |
| TABELA 8 - Comparação da porcentagem de clones selecionados com alta gravidade específica (GE) em geração de cova única e em oito covas..... | 40 |
| TABELA 9 - Comparação da porcentagem de clones selecionados com coloração clara dos chips (COR) em geração de cova única e em oito covas..... | 40 |
| TABELA 10 - Correlações entre gerações de cova única e oito covas para famílias e combinada de todas as famílias de parentais resistentes a requeima..... | 42 |
| TABELA 11 - Resposta esperada (%) para seleção de gerações de cova única e oito covas para caracteres de qualidade de tubérculo em batata..... | 43 |
| TABELA 12 - Porcentagem de clones com qualidade de tubérculo descartados em geração de cova única e oito covas..... | 44 |

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| TABELA 13 – Aparência de tubérculo e coloração de chips de clones avançados de melhoramento durante os cultivos de outono e primavera de 2006..... | 55 |
| TABELA 14 – Teores de matéria seca e amido de clones de batata avançados de melhoramento durante os cultivos de outono e primavera de 2006..... | 56 |
| TABELA 15 – Teor de açúcares redutores e amilose em clones de batata avançados de melhoramento, selecionados para curta dormência nos cultivos de outono e primavera de 2006..... | 57 |
| TABELA 16 – Crescimento de <i>Phytophthora infestans</i> em diferentes meios de cultura..... | 64 |
| TABELA 17 – Produção de esporângios por <i>Phytophthora infestans</i> em diferentes meios de cultura..... | 66 |

ANEXOS

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| ANEXO A – Escala para avaliação da coloração de chips..... | 78 |
| ANEXO B - Constituintes usados para o preparo de 1L de meio utilizados para o cultivo e esporulação de <i>Phytophthora infestans</i> | 79 |

SUMÁRIO

| | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1. INTRODUÇÃO | 14 |
| 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 16 |
| 2.1. Importância econômica e alimentar da batata..... | 16 |
| 2.2. Melhoramento genético da batata..... | 19 |
| 2.2.1 - Melhoramento genético da batata para curta dormência..... | 20 |
| 2.2.1.1 – Auxinas e a dormência de tubérculos..... | 20 |
| 2.2.1.2 – Ácido abscísico e a dormência de tubérculos..... | 21 |
| 2.2.1.3 – Etileno e a dormência de tubérculos..... | 21 |
| 2.2.1.4 – Giberelinas e a dormência de tubérculos..... | 22 |
| 2.2.1.5 – Citocininas e a dormência de tubérculos..... | 22 |
| 2.2.2 – Melhoramento genético da batata para maturidade precoce..... | 22 |
| 2.2.3 – Melhoramento genético da batata para qualidade de tubérculo..... | 23 |
| 2.2.4 – Melhoramento genético da batata para resistência a requeima..... | 25 |
| | |
| 3. CAPÍTULO I | 28 |
| SELEÇÃO PRECOCE PARA QUALIDADE DE TUBÉRCULO EM PROGÊNIES DE PARENTAIS RESISTENTES A REQUEIMA | 28 |
| 3.1. Resumo | 28 |
| 3.2. Abstract | 28 |
| 3.3. Introdução | 29 |
| 3.4. Materiais e Métodos | 30 |
| 3.5. Resultados e Discussão | 34 |
| 3.5.1 – Desempenho da progênie para qualidade de tubérculo..... | 34 |
| 3.5.2 – Seleção de clones com aceitável qualidade de tubérculo em gerações de cova única e oito covas..... | 38 |

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 4. CAPÍTULO II..... | 47 |
| QUALIDADE PARA PROCESSAMENTO DE CLONES AVANÇADOS DE BATATA..... | 47 |
| 4.1. Resumo..... | 47 |
| 4.2. Abstract..... | 47 |
| 4.3 Introdução..... | 48 |
| 4.4 Materiais e Métodos..... | 49 |
| 4.5 Resultados e Discussão..... | 50 |
| | |
| 5. CAPÍTULO III..... | 59 |
| OBTENÇÃO DE ISOLADOS DE <i>PHYTOPHTHORA INFESTANS</i> (Mont.) de BARY..... | 59 |
| 5.1. Resumo..... | 59 |
| 5.2. Abstract..... | 59 |
| 5.3. Introdução..... | 60 |
| 5.4 Material e Métodos..... | 61 |
| 5.5 Resultados e Discussão..... | 64 |
| | |
| 6. CONCLUSÕES GERAIS..... | 68 |
| 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 70 |
| ANEXO A - Escala visual para coloração de chips..... | 78 |
| ANEXO B – Constituição dos meios usados para cultivo e esporulação de <i>P. infestans</i>..... | 79 |

1. INTRODUÇÃO

A batata (*Solanum tuberosum* L.) é a olerícola de maior importância econômica no Brasil e ocupa o quarto lugar em produção depois do trigo, milho e arroz. Em termos mundiais, aproximadamente 19 milhões de hectares foram plantados com batata em 2005, com uma produção anual de 307 milhões de toneladas (FAO, 2006). O Brasil produz batatas o ano inteiro, em uma área estimada em 139 mil hectares sendo que diferentes regiões produtoras apresentam uma, duas ou até três safras anuais. Isto gera uma produção total anual em torno de 1.950 toneladas, com uma produtividade média de 20 t ha⁻¹, ou seja, cerca de 500 sacos por hectare (IBGE, 2006). O Rio Grande do Sul situa-se em quarto lugar em produção (270 mil toneladas) no Brasil depois de Minas Gerais, Paraná e São Paulo, com a maior área plantada (19,85 mil ha), porém com a menor produtividade (13,6t ha⁻¹) (IBGE, 2006).

A cultura da batata se caracteriza no Brasil pela grande dependência de cultivares estrangeiras. Atualmente, os tubérculos-semente das cultivares economicamente importantes no Brasil são importados, em grande parte, da Holanda, Canadá e Chile, em uma quantidade em torno de 3,5 a 4,0 mil toneladas anuais. As principais cultivares importadas são a Atlantic, Ágata, atualmente a mais plantada no Brasil, e Cupido. Em ascensão, estão as cultivares Asterix, Caesar e Markies, as quais apresentam boa qualidade culinária, característica importante para aceitação de novas cultivar no mercado (ABBA, 2007). Na região Sul, as cultivares importadas em maior número são a Monalisa, Bintje, Achat e Asterix. A única cultivar nacional de grande expansão é a Baronesa, cujo cultivo se concentra no Rio Grande do Sul (Pereira, 2003). Cultivares nacionais, por estarem mais bem adaptadas as condições ecológicas e tecnológicas de cultivo, apresentam maior facilidade de manejo e menor custo de produção para um mesmo nível de produtividade (Silva *et al.*, 2001, Pereira, 2003). Entretanto, não apresentam a qualidade de tubérculo exigida pelo consumidor, para consumo de mesa e, principalmente, pela indústria de processamento, não sendo competitivas nos principais mercados nacionais.

Aparência de tubérculo é um dos principais caracteres que determina a escolha dos tubérculos pelos consumidores. Existe certa preferência em tubérculos com película de coloração branca em relação aos rosados, porém no Rio Grande do Sul, tubérculos com película rosada têm grande aceitação, porém em ambos os casos devem ser lisos e brilhantes

(Fioreze, 2003). Para o processamento industrial, a aparência de tubérculos não é um caracter determinante, no entanto os tubérculos devem estar livres de defeitos internos. Altos teores de matéria seca, superiores a 20%, e baixos teores de açúcares redutores, próximos a 15mg g⁻¹ matéria seca, são indispensáveis, pois determinam alto rendimento do produto final processado, chips ou fritas crocantes, com textura e sabor agradáveis e de coloração clara (Zorzella *et al.*, 2003a; Freitas *et al.*, 2006).

Todas as cultivares importadas apresentam problemas quanto à adaptação às condições ecológicas e de cultivo, principalmente devido ao ciclo, a susceptibilidade as principais doenças e a longa dormência. Cultivares de ciclo longo e longa dormência dificultam a realização de duas safras anuais, resultando em instabilidade de produção e qualidade de tubérculo, como presença de rachaduras e formatos irregulares. Aplicações freqüentes de produtos químicos para o controle de pragas e doenças são necessários devido à baixa resistência, principalmente à requeima [*Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary] e à pinta-preta (*Alternaria solani* Sorauer). Estima-se que no Brasil o controle de requeima chegue a 20% dos custos totais de produção. Além disso essas cultivares necessitam de altas doses de fertilizantes para atingirem níveis satisfatórios de produtividade.

Existe a necessidade urgente de ampliar pesquisas na área de melhoramento genético visando desenvolver novas cultivares de batata que combinem adaptação com alta qualidade de tubérculo e resistência a requeima. A utilização dessas cultivares permitirá uma redução imediata da importação de batata-semente e da utilização de produtos químicos nas lavouras. Isso proporcionará o aumento da produção nacional de batata-semente de alta qualidade genética e fitossanitária, a redução dos custos de produção e o aumento da sustentabilidade da cadeia produtiva da batata.

Este estudo teve como objetivos a) desenvolver progênies de genitores resistentes a requeima; b) comparar a seleção para qualidade de tubérculo em gerações de cova única e de oito covas; c) identificar clones de alta qualidade de tubérculo e resistência a requeima para processamento industrial ou consumo; e d) adaptar metodologia para a obtenção de isolados de *P. infestans* para posterior inoculação e avaliação de clones para resistência a requeima.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Importância econômica e alimentar

A batata, gênero *Solanum* espécie *tuberosum* e subespécie *tuberosum*, é o quarto produto mais consumido no mundo e o 10º mais consumido no Brasil, sendo atualmente plantada em mais de 125 países (FAO, 2006). A China é o maior produtor mundial de batatas, porém tem baixa produtividade. As maiores produtividades de batata são alcançadas nos Estados Unidos e na Alemanha (Tabela 1). No Brasil, a batata está entre os dez principais produtos agrícolas e é a hortaliça mais importante para a economia nacional (Pineli *et al.*, 2005), com uma produção anual de 3,07 milhões de toneladas (FAO, 2006), o que posiciona o país como 21º produtor em relação ao volume total de produção anual (Tabela 2).

Tabela 1 – Panorama atual da produção mundial da batata (*Solanum tuberosum* L.).

| País produtor | Produção (mil ton ano ⁻¹) | Área colhida (mil ha ⁻¹) | Produtividade (ton ha ⁻¹) |
|-------------------|------------------------------------------|-----------------------------------------|------------------------------------------|
| 1º China | 65.052 | 4.402 | 14,78 |
| 2º Rússia | 31.900 | 3.229 | 9,88 |
| 3º Índia | 24.000 | 1.410 | 17,02 |
| 4º Estados Unidos | 21.011 | 517 | 40,64 |
| 5º Polônia | 15.442 | 412 | 37,48 |
| 6º Ucrânia | 16.100 | 1.600 | 10,06 |
| 7º Alemanha | 11.492 | 284 | 40,46 |
| 21º Brasil | 2.865 | 153 | 18,73 |
| Total mundial | 307.440 | 19.059 | 16,13 |

Fonte: FAO (Food and Agricultural Organization, 2006).

A região sul do Brasil foi o berço da produção de batata e, ainda hoje, apresenta a maior área cultivada e o maior contingente de produtores. O Rio Grande do Sul apresenta a maior área cultivada, no entanto uma das produtividades mais baixas, inferior à média nacional (Tabela 2). Este fato foi responsável por grandes mudanças no setor agrícola, pela implementação da industrialização e padronização de práticas, processos e produtos (Fioreze, 2003). Dessa forma, o crescente uso de insumos industrializados, a mecanização intensiva de

práticas agrícolas, o melhoramento genético visando o desenvolvimento de cultivares altamente responsivas a esse sistema de produção, promoveram um decréscimo significativo na ordem de 72% e 50% no número de produtores e total da área plantada, respectivamente, nos últimos seis anos de cultivo no estado (IBGE, 2006), o que determina que uma maior atenção deva ser direcionada à cadeia produtiva da batata. Estes fatores, associados aos problemas estruturais das localidades, como falta de infra-estrutura de transporte, disponibilidade de terra, dificuldade de mecanização e não implantação de medidas compensatórias favoreceu ao surgimento de uma crise socioeconômica na cadeia da batata da região sul do Brasil, especialmente no Rio Grande do Sul (Fioreze, 2003 e 2006). Portanto, a batata é uma fonte cada vez mais importante de alimento, emprego rural e ingressos financeiros, podendo contribuir para a alimentação e estabilização social do meio rural, principalmente em países como o Brasil.

Tabela 2 – Panorama atual da produção nacional de batatas (*Solanum tuberosum* L.).

| Estado | Área plantada (ha) | Produção (t) | Produtividade (kg/ha) |
|----------------|-----------------------|------------------|--------------------------|
| Minas Gerais | 18.179 | 471.379 | 25.930 |
| Paraná | 16.885 | 375.290 | 22.226 |
| São Paulo | 10.940 | 267.000 | 24.406 |
| Rio G. do Sul | 19.848 | 269.947 | 13.601 |
| Santa Catarina | 6.588 | 94.107 | 14.285 |
| Espírito Santo | 250 | 3.789 | 15.156 |
| BRASIL | 72.690 | 1.481.512 | 20.381 |

Fonte: IBGE, 2006.

Além da grande importância econômica, a batata é um dos alimentos mais completos, constituindo-se em fonte de proteína de alta qualidade, vitaminas e sais minerais, disponibilizando energia oriunda dos carboidratos. Cerca de 100g de batata são suficientes

para suprir pelo menos 10% das necessidades nutricionais recomendadas de proteína para uma criança ou 10% da demanda de tiamina, niacina, vitamina B6, ácido fólico e 50% da vitamina C para um adulto (Glennon, 2000). A batata apresenta em média 2,1% de proteína total o que corresponde a cerca de 10,4% da massa seca do tubérculo, comparado com o trigo e o arroz, que apresentam valores na ordem de 13 e 7,5%, respectivamente (Figura 1). Considerando-se as produções e teores de proteínas de cada cultura, tubérculos de batata podem render cerca de 300 kg de proteínas por hectare, enquanto que o trigo e o arroz podem alcançar rendimentos em torno de 200 kg e 168 kg, respectivamente. A proteína da batata apresenta um valor biológico igual a 73,0 que corresponde a cerca de 77% do valor biológico da proteína do ovo. A batata é considerada uma importante fonte de vitaminas para a nutrição humana, principalmente ácido ascórbico. As principais vitaminas do complexo B presentes são tiamina, riboflavina, niacina, piridoxina e ácido fólico. Em média, uma batata de 150 g contém 150 cal, 3,7 g de proteínas, 23g de carboidratos, 27g de fibras alimentares, 5mg de sódio e quantidade de lipídeos (gordura) ausente (ABBA, 2007).

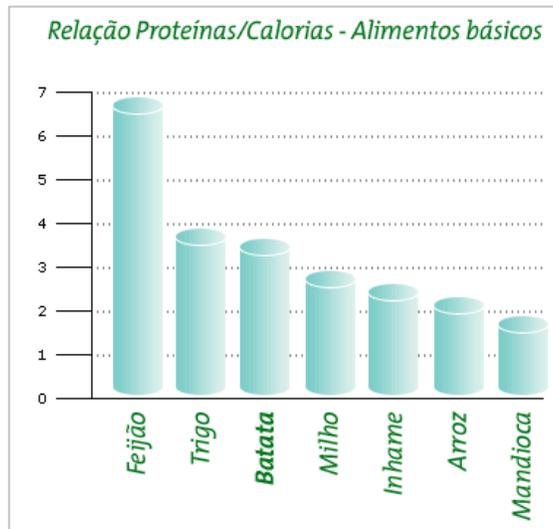


Figura 1 - Relação entre proteínas e calorias em batata comparada a outros alimentos considerados básicos na dieta humana. Fonte: Associação Brasileira da Batata, 2007.

Estima-se que o consumo per capita de batata no mundo seja de 27 kg habitante ano⁻¹, sendo que em alguns países onde a batata constitui-se em importante fonte de energia na dieta, como na Europa e nos Estados Unidos, seja de 86 kg habitante ano⁻¹ e 63 kg habitante ano⁻¹, respectivamente (CIPOTATO, 2007). Na América Latina, o consumo está em torno de 24 Kg habitante ano⁻¹ enquanto que no Brasil, em função de fatores tecnológicos, econômicos, sociais e culturais, a batata não constitui-se em alimento básico comum na mesa do consumidor brasileiro, estando o consumo per capita em torno dos 15 kg habitante ano⁻¹ (Lunardon, 2006).

O consumo de mesa é hábito tradicional de consumo da batata, através do preparo de pratos como fritas, purês e saladas, sendo que há uma demanda crescente por produtos industrializados, na forma de palitos pré-fritos congelados, palha e chips (Freitas *et al.*, 2006; Souza, 2006). O mercado de batata para o consumo de mesa exige que os tubérculos sejam lavados e tenham excelente aparência externa obtida, principalmente, com cultivares importadas (Fioreze, 2003; Souza, 2006). Neste contexto, a cultivar Ágata vem suprindo esta exigência para boa aparência externa de tubérculo, sendo muito difundida atualmente nas diferentes regiões produtoras do Brasil, porém não apresenta qualidade de tubérculo, o que ao longo do tempo pode ter influência negativa sobre essa demanda (Lunardon, 2006).

2.2. *Melhoramento genético da batata*

Recentemente, pesquisadores de várias instituições nacionais de pesquisa uniram-se em reunião para a criação de uma Rede Nacional de Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação (P&D e I) em Melhoramento de Batata para condições Tropicais e Sub-tropicais do Brasil, a chamada Rede Melhor Batata (Batata Show, 2006). Esta rede objetiva aumentar a eficiência e a eficácia do melhoramento genético da batata no Brasil, de modo a enfrentar, com sucesso, o desafio de desenvolver novas cultivares nacionais que mantenham os ganhos conseguidos até aqui, além de serem mais adaptadas e produzirem tubérculos de qualidade culinária superior àqueles ofertados atualmente no mercado pelas cultivares estrangeiras (Melo *et al.*, 2006). Nessa mesma ocasião, ficaram definidos os atributos essenciais e desejáveis para a adoção de novas cultivares. Dessa forma, a aparência de tubérculo, coloração da polpa, resistência ao esverdeamento e baixo teor de glicoalcalóides, são caracteres essenciais em cultivares destinadas ao consumo de mesa, enquanto que formato de tubérculos e gemas superficiais, altos teores de matéria seca e baixos teores de açúcares redutores, são essenciais em cultivares destinadas ao processamento de fritas tipo palitos (Melo *et al.*, 2006).

2.2.1. *Melhoramento genético para curta dormência*

Um caráter comum em cultivares desenvolvidas para outras condições edafocológicas de cultivo é a longa dormência. A dormência pode ser definida como o estágio fisiológico no qual o crescimento do broto não ocorrerá, mesmo quando o tubérculo é colocado em condições ideais para o crescimento (Fontes & Finger, 1999). Os tubérculos-mente das cultivares importadas requerem o armazenamento em condições de baixas temperaturas por longos períodos na entressafra para o rompimento da dormência. No melhoramento para curta dormência são utilizadas como fontes de variabilidade as cultivares nacionais ou clones desenvolvidos para condições de cultivos semelhantes às do Brasil, que são comumente cruzadas com cultivares importadas para incorporar caracteres de interesse. A avaliação e seleção para dormência na primeira geração clonal, pela eliminação daqueles clones que se mantêm dormentes, reduz o número de clones a serem mantidos e permite uma seleção mais criteriosa para outros caracteres. Curta dormência é um caráter importante para regiões onde a batata é cultivada em mais de uma safra anual, como é o caso da região sul do Brasil, onde o período entre a colheita e o próximo plantio é insuficiente para o rompimento natural da dormência dos tubérculos (Benedetti *et al.*, 2005).

A dormência é uma condição endógena do tubérculo, regulada pelo balanço hormonal entre promotores e inibidores do crescimento (Bisognin, 1996; Sonnewald, 2001), sendo que o período da dormência está sob controle genético e ambiental (Sonnewald, 2001). Os principais reguladores da dormência são as auxinas, o ácido abscísico, o etileno, as giberilinas e as citocininas (Suttle, 1998; Sonnewald, 2001).

2.2.1.1 *Auxinas e a dormência de tubérculos*

As auxinas foram a primeira classe de hormônios vegetais endógenos caracterizada e cuja função se aproxima da regulação do desenvolvimento das plantas, visto que os níveis de auxinas são baixos em tecidos de tubérculos dormentes e aumentam durante o início da brotação e crescimento dos brotos (Hemberg, 1949). Entretanto, os dados não suportam um papel decisivo das auxinas no controle da dormência de tubérculos propriamente dito, mas sim sua ação no crescimento subsequente dos brotos, tendo por base um estudo que determinou o aumento no conteúdo das auxinas nas gemas dos tubérculos, antecedendo o momento no qual é possível visualizar o crescimento dos brotos (Sorce *et al.*, 2000). Sendo assim, as auxinas são essenciais reguladores do ciclo de progressão celular nos tecidos

vegetais, sendo requerida em determinados níveis limiares para o crescimento dos brotos, porém não sendo responsável pela início da brotação (Francis & Sorrel, 2001; Suttle, 2004a).

2.2.1.2 Ácido abscísico e a dormência de tubérculos

A importância do ácido abscísico na regulação da dormência foi inicialmente proposta devido ao efeito como inibidor do crescimento (Hemberg, 1949). Estudos posteriores confirmaram a presença de altos níveis endógenos de ácido abscísico em tubérculos dormentes que declinaram durante o armazenamento (Suttle, 1995). O envolvimento do ácido abscísico na dormência de tubérculos foi confirmado com o tratamento *in vitro* de microtubérculos com fluridona, que é um inibidor da síntese desse hormônio (Suttle & Hultstrand, 1994). Nesse experimento foi constatado que houve a inibição do acúmulo de ácido abscísico em mais de 90% dos microtubérculos tratados, resultando no desenvolvimento de brotação prematura. A aplicação de ácido abscísico em microtubérculos previamente tratados com fluridona restaurou os níveis endógenos e suprimiu completamente a brotação, demonstrando que a síntese de ácido abscísico é requerida tanto para indução quanto para a manutenção da dormência (Suttle, 1998).

2.2.1.3 Etileno e a dormência de tubérculos

Os efeitos do etileno no desenvolvimento da brotação de tubérculos têm sido estudados, porém com resultados conflitantes (Suttle, 2004a). O envolvimento do etileno foi estabelecido quando se demonstrou que a exposição ao etileno por curtos períodos de tempo (menores que três dias) pode terminar, prematuramente, a dormência de tubérculos, enquanto a exposição contínua resulta na inibição da brotação (Rilsky *et al.*, 1974). Da mesma forma, tratamentos com agentes que liberam etileno podem adiantar ou atrasar a brotação de tubérculos (Cvikrova *et al.*, 1994; Suttle, 1998). A taxa de produção de etileno aumenta em tubérculos saindo do estágio de dormência e iniciando a brotação (Suttle, 2003), provavelmente devido ao aumento na taxa respiratória dos tubérculos (Rilsky *et al.*, 1974). Atualmente, o etileno tem sido avaliado como supressante comercial de brotação de tubérculos (Prange *et al.*, 1997, Prange *et al.*, 2005). Como os tubérculos tratados com etileno permanecem viáveis e comestíveis, longos períodos de armazenamento levam ao rompimento da dormência. A exposição ao etileno aumenta a taxa de respiração e acelera a conversão de amido a açúcares redutores (Prange *et al.*, 2005). A aplicação de etileno afeta a qualidade de

processamento dos tubérculos, pelo aumento da concentração de açúcares redutores, e diminui a massa seca, pela respiração e crescimento dos brotos (Burton *et al.*, 1992).

2.2.1.4 Giberilinas e a dormência de tubérculos

O fato de que a dormência de tubérculos poderia ser rompida pela exposição à giberilina exógena foi inicialmente demonstrado por Hemberg (1985) e confirmado pelo aumento dos níveis endógenos de certas giberilinas com o início da brotação (Suttle, 2004b). Atualmente, mais de 100 tipos de giberilinas foram identificados em sementes de espécies vegetais, sendo que em espécies de solanáceas, as giberilinas GA₁ tem sido a forma predominante (Van den Berg *et al.*, 1996; Suttle, 2004b). Em programas de melhoramento e de certificação de sementes que requerem a brotação precoce dos tubérculos, as giberilinas GA₃ são frequentemente utilizadas (Suttle, 2004b; Benedetti *et al.*, 2005).

2.2.1.5 Citocininas e a dormência de tubérculos

Considera-se que citocininas e giberilinas endógenas exercem um papel fundamental na dormência (Hemberg, 1985), podendo ser facilmente rompida pelo tratamento com citocinina. O nível e a atividade das citocininas (*trans* e *cis*-zeatinas) aumentam durante o armazenamento de tubérculos e a injeção de qualquer isômero de citocinina induz a brotação prematura (Suttle, 1998), indicando que citocininas endógenas estão intimamente envolvidas na terminação da dormência de tubérculos de batata (Suttle, 2004a). Além do acréscimo no teor de citocininas, a progressão da dormência é caracterizada pela sensibilidade a aplicação exógena de citocininas (Suttle, 2002), pois tubérculos recém colhidos e logo no início do armazenamento são insensíveis as citocininas (Suttle, 2004b).

2.2.2. Melhoramento genético para maturidade precoce

A maturidade de parte aérea das plantas é um parâmetro usado para estimar o comprimento do ciclo da cultura, sendo determinante para mostrar o grau de adaptabilidade das cultivares em diferentes regiões. Além de ser variar com a genética da cultivar, é dependente do fotoperíodo, radiação e temperatura. Para a produção comercial, cultivares de ciclo muito longo proporciona altos rendimentos e ampliam o período de colheita, podendo

contornar situações de baixo preço ou aumentar a oferta em períodos de entressafra (Douches *et al.*, 1996). Entretanto, essas cultivares não podem ser utilizadas em regiões onde são possíveis dois cultivos anuais (Bisognin & Douches, 2002). Além da adaptabilidade, a maturidade também é determinante para a produção de matéria seca, amido e açúcares redutores nos tubérculos, que também são influenciados pelo ambiente (Kooman *et al.*, 1996; Zorzella *et al.*, 2003a; Freitas *et al.*, 2006).

A escolha de genitores de curta dormência e maturidade precoce para serem utilizados nos programas de melhoramento é importante para aumentar a adaptabilidade de novas cultivares para condições ambientais específicas e para atender a demanda dos produtores e consumidores (Pereira & Daniels, 2003). Entretanto, é necessário que estejam combinados com alta qualidade de tubérculo e resistência a requeima, entre outros caracteres agronomicamente importantes (Bisognin & Douches, 2002).

2.2.3. Melhoramento genético para qualidade de tubérculo

O melhoramento genético de batata para qualidade de tubérculo visa desenvolver cultivares destinadas ao processamento industrial e para o consumo de mesa. Como não existe cultivares nacionais com alta qualidade de tubérculo para processamento, cruzamentos com clones não adaptados e de alta qualidade de tubérculo são realizados para ampliar a variabilidade genética (Bisognin & Douches, 2002). Para o desenvolvimento de cultivares para o consumo de mesa, a aparência de tubérculo é uma característica essencial, devido a escolha dos tubérculos pelo consumidor (Feltran *et al.*, 2004). Vários atributos constituem esse caráter como textura e cor da casca, profundidade das gemas, cor de polpa, formato, número e uniformidade dos tubérculos, comprimento e aderência dos estolões (Neele *et al.*, 1991; Tai, 1975). A casca deve ser branca, lisa e brilhante, sendo que no Rio Grande do Sul há uma preferência por cultivares rosadas (Fioreze, 2003). A inserção das gemas deve ser superficial, para que não ocorram perdas durante o preparo. O número e a uniformidade dos tubérculos são importantes, pois determinam o rendimento comercializável. Os estolões devem ser finos e pouco aderidos, para reduzir os danos mecânicos no tubérculos e aumentar a sanidade durante o armazenamento (Tai & Young, 1984; Neele *et al.*, 1991). Embora os tubérculos também sejam consumidos na forma de purês, saladas e batatas assadas, cerca de 90% a 98% do uso doméstico são na forma de fritas tipo palitos (Feltran *et al.*, 2004). Para isso, alto teor de matéria seca é fundamental para reduzir a quantidade de óleo absorvida durante a fritura (Coelho *et al.*, 1999; Zorzella *et al.*, 2003a).

Em cultivares destinadas para o processamento industrial, o formato e a ausência de defeitos internos nos tubérculos são muito importantes (Melo *et al.*, 2006). O formato do tubérculo depende da forma de preparo, podendo ser arredondado, para o preparo de chips, ou alongado, para o preparo de palitos. O formato e o tamanho do tubérculo não são importantes para o preparo de fritas tipo palha. Além disso, alto teor de matéria seca e baixo teor de açúcares redutores nos tubérculos são fundamentais para a qualidade do produto processado (Feltran *et al.*, 2004). Como a gravidade específica e o teor de matéria seca estão positivamente correlacionados (Lulai & Orr, 1979; Capezio *et al.*, 1992/93) e devido à facilidade de medição, a gravidade específica tem sido utilizada pela indústria de processamento de batata como estimador do teor de matéria seca dos tubérculos (Zorzella *et al.*, 2003a). Gravidade específica superior a 1,080 corresponde a aproximadamente 20% de matéria seca, que é considerado como mínimo necessário para o processamento (Freitas *et al.*, 2006). Batatas com altos teores de matéria seca resultam em maior rendimento, melhor textura e sabor do produto final processado (Zorzella *et al.*, 2003; Lulai & Orr, 1979).

A coloração de chips é a característica mais importante no julgamento da qualidade pelo consumidor (Pastorini *et al.*, 2003) e, por isso, determinante da aceitabilidade de cultivares para chips (Thill & Peloquin, 1995). O escurecimento excessivo indica baixa qualidade por associar a chips queimado e por apresentar gosto amargo (Pastorini *et al.*, 2003). O escurecimento está relacionado ao alto teor de açúcares redutores no tubérculo (como glicose e frutose) que afetam diretamente a coloração dos chips após a fritura, em decorrência da reação de Maillard, que inicia com a reação entre o grupamento carbonila ou cetona do açúcar redutor e o grupo amino de aminoácidos ou proteínas (Douches & Freyre, 1994). A reação de Maillard sofre influência direta da temperatura, sendo lenta a 67°C, rápida a 100°C e muito rápida a 150°C. Tendo em vista que durante o processo de fritura a temperatura do óleo normalmente varia entre 180°C a 185°C, há uma alta eficiência da reação de Maillard (Coelho *et al.*, 1999). Em termos de açúcares redutores, valores entre 02,% a 0,4% da massa fresca dos tubérculos, ou 10 a 15mg g⁻¹ da massa seca são aceitos pela indústria de processamento na forma de chips e palitos, pois teores muito baixos deixam o produto final muito branco (Cheong & Govinden, 2004; Freitas *et al.*, 2006).

A batata, por ser uma cultura de reprodução assexuada, qualquer combinação genética favorável pode ser perpetuada pela clonagem, representando grande vantagem ao melhoramento genético (Tai & Young, 1984). Como a alta qualidade de tubérculo é determinante do sucesso de novas cultivares destinadas o processamento industrial, o desafio do melhoramento genético é combinar boa aparência de tubérculo, altos teores de matéria

seca e baixos teores de açúcares redutores (Bisognin, 2003). Além disso, a qualidade de tubérculo pode ser selecionada nas primeiras gerações clonais, reduzindo o número de clones a serem avaliados para outros caracteres importantes (Bisognin, 2003).

2.2.4.- *Melhoramento genético para resistência a requeima*

A principal e mais devastadora doença da batata é a requeima ou mela, causada pelo oomiceto *P. infestans*. As epidemias resultam da rápida multiplicação do patógeno, podendo completar o ciclo em menos de cinco dias em cultivares suscetíveis, e da fácil disseminação (Fry & Goodwin, 1997). Tubérculos infectados apodrecem durante o armazenamento ou, se usados como batata-semente, são fonte de inóculo primário para a próxima safra (Bisognin, 2003).

Em meados da década de 90 surgiram e se disseminaram novas raças de *P. infestans* que são mais agressivas e resistentes ao Metalaxyl (Fry & Goodwin, 1997). Desde então, a estratégia de controle deixou de ser primeiramente por químicos e o uso de cultivares resistentes passou a ser o mais viável método para controle de requeima. Melhoramento para resistência a esse patógeno é um dos principais objetivos da maioria dos programas de melhoramento genético de batata (Bisognin, 2003).

Várias espécies diplóides resistentes a requeima foram estudadas a fim de identificar clones com altos níveis de resistência, sendo que *Solanum microdontum* Bitter e *Solanum berthaultii* (Hawkes) podem ser facilmente cruzadas com espécies cultivadas (Douches *et al.*, 2004; Bisognin *et al.*, 2002). Entretanto, a maioria das fontes de resistência está associada a caracteres indesejáveis como maturidade tardia e baixa qualidade de tubérculo para processamento (Bisognin *et al.*, 2002). No Brasil, não se conhece nenhuma cultivar de batata que apresente suficiente nível de resistência a requeima. Portanto, a avaliação de progênies de parentais resistentes e de alta qualidade de tubérculo cruzados com parentais suscetíveis e com maturidade precoce deve ser uma estratégia importante de melhoramento (Bradshaw & Mackay, 1994; Bisognin *et al.*, 2002).

Clones resistentes a requeima, com maturidade precoce e de alta qualidade de tubérculos foram desenvolvidos para outras condições de cultivo (Bisognin *et al.*, 2002) e posteriormente avaliados em Santa Maria, RS (Costa, 2004). Esses clones podem ser utilizados como parentais no programa de melhoramento genético para combinar com adaptação as condições sul-brasileiras de cultivo (Figura 2). Além desses clones, existem

cultivares como Tollocan, Torridon e Stirling com reconhecida resistência a requeima (Bisognin & Douches, 2002; Kirk *et al*, 2005). Essa resistência pode, em alguns casos, ser transferida para uma grande percentagem da progênie, o que permite a realização de seleção precoce para qualidade de tubérculo (Figura 3) e maturidade antes de se avaliar a resistência a requeima (Bisognin *et al.*, 2002, Bisognin, 2006). Esta estratégia possibilita uma grande redução do número de clones a serem avaliados para outros caracteres. Clones selecionados que combinam resistência a requeima com alta qualidade de tubérculo e maturidade precoce podem ser utilizados como parentais no programa de melhoramento ou seguir nos ensaios de distinguibilidade, homogeneidade e estabilidade (DHE) e de valor de cultivo e uso (VCU) visando o registro e a proteção de novas cultivares de batata.



Figura 2 – Comportamento de clones suscetíveis (à esquerda) e resistentes a requeima (fileira central - clone SMIJ461-1) com sintomas característicos da doença.

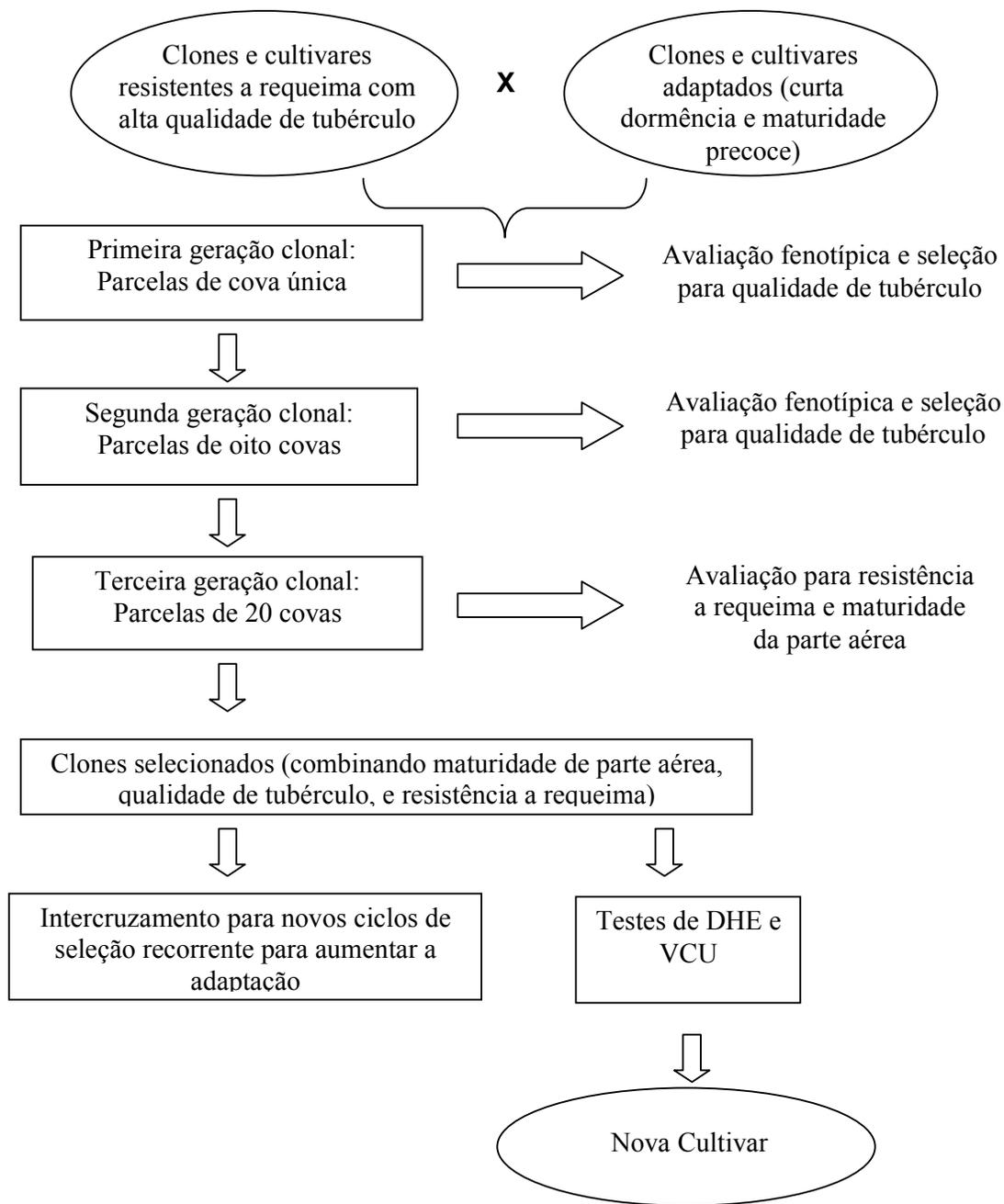


Figura 3 - Esquema para o desenvolvimento de novas cultivares de batata resistentes a requeima, combinando alta qualidade de tubérculo com maturidade precoce de parte aérea.

3. CAPÍTULO I

SELEÇÃO PRECOCE PARA QUALIDADE DE TUBÉRCULO EM PROGÊNIES DE PARENTAIS RESISTENTES A REQUEIMA

3.1. Resumo

A requeima, causada pelo oomiceto *Phytophthora infestans*, é a doença de maior importância econômica para a cultura da batata. O desenvolvimento de resistência genética é a principal estratégia para o controle de requeima, desde que combinada com maturidade precoce e alta qualidade de tubérculo. Os objetivos deste estudo foram desenvolver progênies de genitores resistentes a requeima, avaliar a capacidade de transmitir alta qualidade de tubérculo e comparar a seleção para qualidade de tubérculo em gerações de cova única e oito covas. Clones e cultivares resistentes a requeima (SMIJ319-1, SMIJ456-4Y, SMIG274-3, Torridon, Tollocan e Stirling) foram cruzados com clones e cultivares adaptados para gerar 20 populações segregantes (2887 plântulas). Clones de cada cruzamento foram selecionados em cova única com base na cor e aparência da casca, profundidade das gemas, formato dos tubérculos e defeitos internos. Os 89 clones selecionados foram também avaliados em parcela de oito covas. Os tubérculos produzidos por cada clone e geração de seleção foram avaliados para aparência de tubérculo, gravidade específica e coloração de chips. Alta porcentagem de clones que combinam aparência de tubérculo, gravidade específica e coloração de chips foram identificados nas progênies de Tollocan, Stirling, SMIJ319-1 e SMIJ456-4Y. A seleção moderada para qualidade de processamento em cova única resultou na eliminação de clones que seriam selecionados em oito covas, devendo, portanto, ser efetuada em oito covas. Palavras-chave: *Solanum tuberosum*, aparência de tubérculo, gravidade específica, coloração de chips.

3.2. Abstract

Late blight, caused by the oomycete *Phytophthora infestans*, is the most economically important disease of potato. Host resistance is the most important tool for late blight control, but should be combined with early maturity and high tuber quality. The objectives of this study were to develop progeny of late blight resistant progenitors, evaluate how tuber quality is transmitted to the progeny and compare tuber quality selection in single and eight hill plots. Clones and cultivars resistant to late blight (SMIJ319-1, SMIJ456-4Y, SMIG274-3, Torridon, Tollocan e Stirling) were crossed with adapted clones or cultivars to get 20 segregating

populations (2887 seedlings). Clones of each cross were selected in single hill generation based upon tuber color, appearance and shape, bud insertion and internal defects. Eighty-nine selected clones were also evaluated in eight hill plots. Produced tubers of each clone and clonal generations were evaluated for tuber appearance, specific gravity and chip color. A high percentage of clones combining tuber appearance, specific gravity and chip color were identified in Tollocan, Stirling, SMIJ319-1 e SMIJ456-4Y progenies. A moderate selection for tuber quality in single hill plots eliminated clones that would be selected in eight hill generation. Selection for tuber quality should be done in eight hill plots.

Key words: *Solanum tuberosum*, tuber appearance, specific gravity, chip color.

3.3. Introdução

No Rio Grande do Sul, como em outras regiões produtoras do país, a requeima ou mela, causada pelo oomiceto *Phytophthora infestans*, é a doença de maior importância econômica para a cultura da batata. Ocorrências de epidemias causam perdas de produção decorrentes da rápida desfolha das plantas, podendo também infectar os tubérculos (Bisognin & Douches, 2002; Kirk *et al.*, 2005). O controle é predominantemente químico, o que eleva os custos de produção aumentando os riscos de contaminação ambiental, de produtores e consumidores, além de contribuir para a seleção de populações de patógeno resistentes ao fungicida (Kirk *et al.*, 2005; Reis, *et al.*, 2006). O desenvolvimento de resistência genética tem sido a principal estratégia para o controle de requeima na batata (Bisognin *et al.*, 2005). Entretanto, resistência não pode ser considerada um caráter suficiente para o sucesso de uma nova cultivar (Umaerus *et al.*, 1983). Além do fato de que a resistência a requeima pode estar associada à maturidade tardia, o que é altamente indesejável, a resistência também deve estar combinada com alta qualidade de tubérculo e curta dormência (Bisognin *et al.*, 2002; Bisognin *et al.*, 2005; Silva *et al.*, 2006).

No melhoramento para resistência, a primeira etapa é a realização de cruzamentos entre clones não adaptados, resistentes a requeima e com alta qualidade de tubérculo com clones ou cultivares adaptadas e de curta dormência, para possibilitar a combinação dos caracteres, ampliar a base genética e aumentar a eficiência do melhoramento (Hayes & Thill, 2002). O desenvolvimento de uma numerosa população segregante aumenta a probabilidade de selecionar clones recombinantes (Tai, 1975; Maris, 1988, Pinto *et al.*, 1994). Durante o processo de seleção, caracteres que conferem qualidade de tubérculo como aparência, gravidade específica e coloração de chips podem ser avaliados e selecionados nas primeiras

gerações clonais (Bisognin & Douches, 2002). Uma seleção preliminar é feita por ocasião da colheita e se baseia principalmente no fenótipo, para caracteres como formato de tubérculo, profundidade das gemas, cor e aparência da casca, defeitos internos e externos, comprimento e aderência dos estolões. Clones selecionados são então avaliados para aparência de tubérculo, gravidade específica e coloração de chips. Estudos realizados anteriormente mostraram que a seleção para esses caracteres pode ser efetuada em parcelas de cova única (Bisognin & Douches, 2002), pois possibilita a eliminação de um grande número de clones a serem avaliados em parcelas de oito covas (Bisognin, 2006). Além disso, a seleção precoce para coloração clara dos chips é uma estratégia para aumentar a eficiência da seleção de clones destinados para o processamento industrial (Thill & Peloquim, 1995).

Os objetivos deste trabalho foram desenvolver progênies de genitores resistentes a requeima, avaliar a capacidade de transmitir alta qualidade de tubérculo e comparar a seleção para qualidade de tubérculo em gerações de cova única e oito covas.

3.4. Materiais e Métodos

Três clones (SMIJ319-1, SMIJ456-4Y, SMIG274-3) e três cultivares (Torridon, Tollocan e Stirling) altamente resistentes a requeima (Bisognin & Douches, 2002; Kirk *et al.*, 2005) foram cruzados com clones ou cultivares de alta qualidade de tubérculo ou adaptados as condições brasileiras de cultivo, originando 20 progênies (Tabela 3). Os cruzamentos foram realizados em telado do Programa de Genética e Melhoramento de Batata, Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal de Santa Maria, durante o ano de 2004. As sementes botânicas foram extraídas dos frutos, lavadas em água corrente para retirada do excesso de polpa aderida e secadas ao ar. Previamente à sementeira, as sementes foram imersas em solução de ácido giberélico (1500 ppm) por 12 h. As sementes de um mesmo cruzamento (família) foram semeadas em vasos contendo substrato comercial. Plântulas com duas folhas foram transplantadas para bandejas de 72 alvéolos no outono de 2005, sendo colocada uma plântula por alvéolo (Figura 4). Após a senescência natural das plantas, um tubérculo de cada alvéolo foi colhido para formar a família de tubérculos, que foram utilizados para o plantio da geração de cova única na primavera de 2005.



Figura 4 – Plântulas obtidas por sementes botânicas. A) Semeadura de uma família por vaso; B) Transplante de uma plântula por alvéolo para a produção de tubérculos.

Os tubérculos de cada família foram tratados com 30 ppm de ácido giberélico e etanol para o rompimento da dormência (Benedetti *et al.*, 2005) e armazenados a 20°C até o plantio. Todos os tubérculos brotados de cada família foram plantados em parcelas de cova única na área experimental do Departamento de Fitotecnia na primavera de 2005 (Tabela 3). O espaçamento entre covas foi de 0,50 m e entre fileiras de 0,80 m. Por ocasião da colheita foram selecionados clones com base no desenvolvimento da planta, no número, formato e uniformidade de tubérculos e na ausência de defeitos internos e externos dos tubérculos. Os mesmos clones foram plantados em parcelas de oito covas na área experimental do Departamento de Fitotecnia no outono 2006. O espaçamento entre covas foi de 0,30 m e entre fileiras de 0,80 m. Em ambas as gerações clonais, o manejo da lavoura seguiu as recomendações técnicas da batata (Bisognin, 1996).

Após a colheita, os clones de ambas as gerações foram avaliados para aparência de tubérculo, gravidade específica e coloração de chips. A aparência dos tubérculos foi avaliada em uma escala de 1 a 5 de ordem crescente para defeitos, sendo que valores iguais ou inferiores a 3,0 são aceitos pelos consumidores. A aparência de tubérculo é composta por vários atributos como presença ou ausência de defeitos internos e esverdeamento, comprimento dos estolões, profundidade das gemas, formato e tamanho dos tubérculos, coloração da polpa e casca, entre outros (Neele *et al.*, 1991). A gravidade específica foi

determinada através do quociente entre massa ao ar e a massa ao ar subtraindo a massa em água. Valores iguais ou superiores a 1,080 foram considerados altos e os tubérculos considerados aptos ao processamento industrial (Bisognin & Douches, 2002). A coloração de chips foi avaliada em uma escala de 2 a 10, de ordem crescente para cloração escura dos chips, sendo que valores iguais ou inferiores a 5,0 foram considerados aceitáveis para a indústria (Bisognin & Douches, 2002). A coloração dos chips foi determinada em uma amostra de cinco tubérculos, da qual se utilizaram duas fatias transversais de 2 mm de espessura de cada tubérculo. As 10 fatias foram fritas em fritadeira industrial a gás (Top Taylor, modelo TTF- 35-G) utilizando-se gordura vegetal hidrogenada na temperatura de 185°C, controlada por termostato, até cessar a borbulha. Para fins de seleção, quando se aplicou seleção para caracteres aceitáveis de qualidade, clones com aparência de tubérculo $\leq 3,0$, gravidade específica $\geq 1,070$ e coloração de chips $\leq 5,0$ foram selecionados. Para seleção moderada, foram selecionados os clones aparência de tubérculo $\leq 2,0$, gravidade específica $\geq 1,080$ e coloração de chips $\leq 4,0$.

Os dados foram submetidos à análise da variância para o teste F. As médias de cada família foram comparadas pelo teste de Fisher. Análises de correlação linear de Pearson foram realizadas em nível de clone e de família para estimar o ganho esperado de seleção. A resposta esperada para seleção (R) foi calculada pela fórmula $R = i \cdot r_{xy} \cdot \sigma_p$, onde i é a intensidade de seleção, r_{xy} é a correlação entre duas gerações clonais e σ_p é raiz quadrada da variação fenotípica (Bisognin & Douches, 2002).

Tabela 3 - Clones resistentes a requeima (primeira linha) e clones de alta qualidade de tubérculo ou adaptados as condições brasileiras de cultivo utilizados para desenvolver populações segregantes usadas neste estudo e genealogia dos parentais resistentes.

| SMIJ319-1 | SMIJ456-4Y | SMIG274-3 | Torridon ³ | Tollocan ³ | Stirling ³ |
|-------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| SMIJ461-1 (58) ¹ | Lady Christal (60) | A091-1 (300) | J060-2 (167) | H054-3 (51) | H419-1 (67) |
| Baronesa (53) | SMINIAIporã (23) | G214-1 (226) | B1865-2 (145) | | |
| Pérola (92) | SMINIA793101-3 (21) | H101-2 (333) | B0288-17 (115) | | |
| Michigan Purple (19) | Asterix (417) | G049-4 (170) | | | |
| | | H216-1 (73) | | | |
| | | E226-5 (381) | | | |
| | | NY103 (116) | | | |
| Genealogia dos parentais resistentes a requeima | | | | | |
| MSG274-3 | Tollocan x Chaleur MSU Breeding 4x Program | | | | |
| Tollocan | ((58-ER-1 x (Loman x HOL-32)) x (((Juanita x Mexico 4x (((Loman x ((Anita x (AC25953 x USDA2131-3))))))) | | | | |
| MSJ319-1 | B0718-3 x W870 | | | | |
| MSJ456-2Y | Conestoga x Tollocan | | | | |

¹ Entre parênteses é o número total de clones de cada progênie avaliado em cova única.

² Parental resistente a requeima

³ Cultivares comerciais resistentes a requeima.

3.5. Resultados e Discussão

3.5.1. *Desempenho da progênie para qualidade de tubérculo*

Os cruzamentos realizados foram eficientes em promover variabilidade em todas as progênies obtidas, para todas as características avaliadas. A gravidade específica foi o caractere que apresentou diferença significativa entre as famílias avaliadas, na geração de cova única. A interação entre famílias e gerações não foi significativa. A realização de cruzamentos entre parentais resistentes a requeima com adaptados resultou em uma população de 2887 clones que foram avaliados em parcelas de cova única (Tabela 4). A seleção fenotípica por ocasião da colheita resultou em 89 clones, ou seja, foram eliminados mais de 72% dos clones avaliados em cova única. Entre as seis progênies de parentais resistentes a requeima estudadas, Stirling apresentou a maior porcentagem de clones selecionados em ambas as gerações clonais.

Na média das famílias em cova única, os tubérculos apresentaram aceitável aparência (2,8), baixa gravidade específica (1,068) e aceitável coloração de chips (4,7) (Tabela 5). Não houve diferença entre famílias para aparência de tubérculo, sendo que apenas a família Torridon apresentou valor médio acima de 3,0, que não é aceitável em novas cultivares. A mais alta gravidade específica foi obtida nas famílias Tollocan e Torridon. Para coloração de chips, as famílias Tollocan, SMIJ319-1, SMIG274-3 e Stirling apresentaram chips com valores de coloração ≤ 5 , ou seja de coloração aceitável pela indústria de processamento.

Na geração de oito covas, a média de aparência de tubérculo (3,1) foi ligeiramente acima da aceitável e a de gravidade específica (1,071) e a coloração de chips (4,8) foram aceitáveis (Tabela 6). As médias para os caracteres de qualidade de tubérculo avaliados foram um pouco superiores na geração de oito covas em relação à geração de cova única. Não houve diferença entre famílias para os caracteres de aparência de tubérculo, gravidade específica e coloração de chips. Entretanto, as famílias Stirling, SMIG274-3 e Tollocan apresentaram aparência de tubérculo aceitável em novas cultivares, as famílias SMIG274-3, Tollocan, SMIJ456-4Y e SMIJ319-1 tiveram gravidade específica aceitável e somente a família Torridon não apresentou coloração de chips aceitável pela indústria de processamento. A amplitude de variação fenotípica para os caracteres de qualidade avaliados em cada família, nas duas gerações clonais, mostra que em todas as famílias existem clones de alta qualidade para serem selecionados. Em geração de cova única e oito covas, a família Tollocan destacou-se pelo alto potencial para processamento, por combinar boa aparência de tubérculo com gravidade específica e coloração de chips aceitáveis. Em geração de oito covas, a família

SMIJ319-1 combinou gravidade específica e coloração de chips aceitáveis e a família SMIG274-3 combinou boa aparência de tubérculo e gravidade específica aceitáveis.

Tabela 4 – Número e porcentagem de clones selecionados em geração de cova única e oito covas em relação ao número total de clones avaliados.

| Famílias clonais | Total de clones avaliados ¹ | Geração de cova única | | Geração de oito covas | |
|------------------|----------------------------------------|-----------------------|----------------|----------------------------------|----------------|
| | | Clones selecionados | % ² | Clones selecionados ³ | % ² |
| SMIJ319-1 | 222 | 11 | 5,0 | 4 | 1,8 |
| SMIJ456-4Y | 521 | 24 | 4,6 | 6 | 1,2 |
| SMIG274-3 | 1599 | 39 | 2,4 | 4 | 0,3 |
| Torridon | 427 | 8 | 1,9 | 3 | 0,7 |
| Tollocan | 67 | 1 | 1,5 | 1 | 1,5 |
| Stirling | 51 | 6 | 11,8 | 1 | 1,9 |
| Total | 2887 | 89 | -- | 19 | -- |
| Média | 360,9 | 11,1 | 3,4 | 2,4 | 0,9 |

¹ Número total de clones de cada progênie plantados na geração de cova única.

² Porcentagem de clones selecionados em relação ao número total de clones avaliados em cova única.

Tabela 5 – Características das progênes de seis parentais resistentes a requeima para qualidade de tubérculo em geração de cova única na primavera de 2005.

| Famílias ^a | Aparência de tubérculo ^b | Amplitude | Gravidade específica ^c | Amplitude | Coloração de chips ^d | Amplitude |
|-----------------------|-------------------------------------|-----------|-----------------------------------|---------------|---------------------------------|-----------|
| SMIG274-3 | 2,4 a ^e | 1 – 4 | 1,067 b | 1,040 – 1,083 | 4,4 a | 3 – 7 |
| SMIJ319-1 | 2,7 a | 2 – 4 | 1,061 b | 1,026 – 1,078 | 4,3 a | 3 – 5 |
| Stirling | 2,8 a | 2 – 3 | 1,064 b | 1,054 – 1,086 | 5,0 a | 4 – 6 |
| Tollocan | 3,0 a | 3 | 1,087 a | 1,087 | 4,0 a | 4 |
| SMIJ456-4Y | 3,0 a | 2 – 4 | 1,067 b | 1,026 – 1,120 | 5,1 a | 3 – 7 |
| Torridon | 3,1 a | 2 – 4 | 1,078 ab | 1,066 – 1,087 | 5,2 a | 4 – 7 |
| Média | 2,8 | | 1,068 | | 4,7 | |

^a Todos os clones avaliados são irmãos germanos em relação aos parentais resistentes a requeima.

^b Avaliado segundo escala de 1 a 5, onde 1 é a melhor e 5 é a pior aparência.

^c Fórmula [massa fresca ao ar/(massa fresca ao ar – massa fresca em água)].

^d Avaliado segundo escala de 2 a 10, onde 2 é chips claro e 10 é chips escuro.

^e Médias não seguidas pela mesma letra nas colunas diferem entre si pelo teste de Fisher em nível de 5% de probabilidade de erro.

Tabela 6 - Desempenho das progênies de seis parentais resistentes a requeima para qualidade de tubérculo em geração de oito covas no outono de 2006.

| Famílias ^a | Aparência de tubérculo | Amplitude | Gravidade específica ^c | Amplitude | Coloração de chips ^d | Amplitude |
|-----------------------|------------------------|-----------|-----------------------------------|---------------|---------------------------------|-----------|
| Stirling | 2,7 a ^e | 2 – 4 | 1,066 a | 1,051 – 1,084 | 5,0 a | 4 – 7 |
| SMIG274-3 | 2,8 a | 1 – 5 | 1,073 a | 1,048 – 1,103 | 5,4 a | 3 – 7 |
| Tollocan | 3,0 a | 3 | 1,073 a | 1,73 | 4,0 a | 4 |
| SMIJ456-4Y | 3,1 a | 1 – 5 | 1,074 a | 1,036 – 1,110 | 4,7 a | 3 – 6 |
| Torridon | 3,4 a | 2 – 5 | 1,066 a | 1,052 – 1,084 | 5,5 a | 4 – 7 |
| SMIJ319-1 | 3,5 a | 1 – 5 | 1,076 a | 1,064 – 1,101 | 4,5 a | 3 – 6 |
| Média | 3,1 | | 1,071 | | 4,8 | |

^a Todos os clones avaliados são irmãos germanos em relação aos parentais resistentes a requeima.

^b Avaliado segundo escala de 1 a 5, onde 1 é a melhor e 5 é a pior aparência.

^c Fórmula [massa fresca ao ar/(massa fresca ao ar – massa fresca em água)].

^d Avaliado segundo escala de 2 a 10, onde 2 é chips claro e 10 é chips escuro.

^e Médias não seguidas pela mesma letra nas colunas diferem entre si pelo teste de Fisher em nível de 5% de probabilidade de erro.

3.5.2. Seleção de clones com aceitável qualidade de tubérculo em gerações de cova única e oito covas

A família SMIG274-3 transmitiu boa aparência de tubérculo (valores $\leq 2,0$) a mais de 50% da progênie (Tabela 7). Tollocan, Stirling, SMIJ319-1 e SMIG274-3 transmitiram aceitável aparência de tubérculo (valores $\leq 3,0$) a mais de 90% da progênie, o que também foi observado na geração de oito covas para a família Tollocan (Tabela 7). Embora o julgamento para aparência de tubérculo seja direcionado para atributos de baixa herdabilidade, como por exemplo, tamanho, massa, número, maturidade e uniformidade de tubérculos (Tai, 1975; Pinto *et al.* 1994), a seleção visual com base na boa aparência de tubérculo em cova única permitiu a identificação de 75% dos clones das famílias SMIJ456-4Y e Torridon e de 100% das famílias Tollocan e Stirling. A família SMIG274-3 teve o melhor desempenho para aparência de tubérculo (2,4) e a maior porcentagem de clones selecionados para boa aparência (valor $\leq 2,0$) em cova única (56,4%). Em oito covas, a família Stirling apresentou a melhor média (2,7) e a maior porcentagem de clones selecionados para boa aparência de tubérculo (33,3%).

As famílias Tollocan e Stirling transmitiram gravidade específica aceitável ($GE \geq 1,070$) para a progênie, permitindo a seleção de todos os clones (Tabela 8). A família Stirling apresentou uma redução de 83,3% no número total de clones selecionados quando o critério de seleção considerou valores de alta gravidade específica, enquanto que para a família SMIJ319-1, nenhum clone atingiu o valor de gravidade específica para ser selecionado. Em oito covas, 63,9% dos clones e 17,4% a menos foram selecionados, respectivamente para aceitável e alta gravidade específica. As famílias Tollocan e Stirling apresentaram as maiores porcentagens de clones selecionados para valores aceitáveis e altos de gravidade específica, sendo que a família SMIJ319-1 destaca-se com 70% dos clones selecionados para aceitável gravidade específica em oito covas. Tollocan apresentou a mais alta gravidade específica média e a maior porcentagem de clones selecionados em cova única e em oito covas. As famílias SMIJ319-1 e Torridon apresentaram a menor gravidade específica média e a menor porcentagem de clones selecionados em cova única e oito covas, respectivamente. Em oito covas, todas as famílias tiveram clones selecionados para alta gravidade específica e a maior porcentagem de seleção foi nas famílias Tollocan e Stirling, evidenciando o potencial de uso dos clones selecionados para processamento. As porcentagens de clones selecionados não foram muito altas em oito covas, variando de 12,5% para Torridon a 100,0% para Tollocan. O acúmulo de matéria seca, medida indiretamente pela gravidade específica, é dependente de fatores genéticos, sendo influenciado por condições ambientais e pela maturidade da planta e

dos tubérculos (Chalá *et al.*, 2001; Zorzella *et al.* 2003a). Baixa porcentagem de clones selecionados foi obtida nas famílias SMIJ319-1, SMIJ456-4Y, SMIG274-3 em cova única e SMIJ456-4Y, SMIG274-3 e Torridon oito covas. A família Torridon teve a menor porcentagem de clones selecionados para alta gravidade específica. Clones com baixa gravidade específica tendem a acumular açúcares redutores, responsáveis pelo escurecimento dos chips.

As famílias Tollocan, SMIJ319-1 e SMIG274-3 apresentaram a maior porcentagem de clones com coloração clara de chips (valor $\leq 4,0$) em geração de cova única (Tabela 9). Torridon foi o parental que transmitiu coloração clara de chips à menor porcentagem da progênie. A coloração de chips é o caráter mais importante para a indústria de processamento (Thill & Peloquim, 1995, Bisognin & Douches, 2002). Todas as famílias avaliadas apresentaram ampla variação para coloração de chips. Tollocan e SMIJ319-1 foram os melhores parentais para coloração aceitável de chips, com a maior porcentagem de clones selecionados em ambas as gerações clonais. As famílias Tollocan, SMIJ319-1 e SMIG274-3 apresentaram alta porcentagem de clones selecionados para aceitável coloração de chips em cova única e Tollocan, SMIJ319-1 e SMIJ456-4Y em oito covas.

Tabela 7 - Porcentagem de clones selecionados com boa e aceitável aparência de tubérculo em gerações de cova única e oito covas.

| Famílias resistentes a requeima ^a | Geração de cova única | | Geração de oito covas | |
|-------------------------------------------------|-----------------------|---------------|-----------------------|---------------|
| | AP $\leq 2,0$ | AP $\leq 3,0$ | AP $\leq 2,0$ | AP $\leq 3,0$ |
| SMIJ319-1 | 36,4 | 91,0 | 18,1 | 50,0 |
| SMIJ456-4Y | 25,0 | 75,0 | 25,0 | 72,5 |
| SMIG274-3 | 56,4 | 94,9 | 28,2 | 75,0 |
| Torridon | 12,5 | 75,0 | 25,0 | 62,5 |
| Tollocan | 0,0 | 100,0 | 0,0 | 100,0 |
| Stirling | 16,7 | 100,0 | 33,3 | 66,7 |
| Total | 24,5 | 89,3 | 21,6 | 71,2 |

^a Todos os clones avaliados são irmãos germanos em relação a resistência a requeima.

^b Avaliados segundo uma escala de 1 a 5, onde 1 é a melhor e 5 é a pior aparência.

Tabela 8 - Porcentagem de clones selecionados com alta gravidade específica em geração de cova única e em oito covas.

| Famílias resistentes a requeima ^a | Geração de cova única | | Geração de oito covas | |
|----------------------------------------------|------------------------------|------------------------------|-----------------------|-----------------|
| | GE \geq 1,070 ^b | GE \geq 1,080 ^b | GE \geq 1,070 | GE \geq 1,080 |
| SMIJ319-1 | 27,3 | 0,0 | 70,0 | 30,0 |
| SMIJ456-4Y | 41,7 | 20,8 | 63,6 | 36,4 |
| SMIG274-3 | 46,2 | 10,3 | 45,8 | 33,3 |
| Torridon | 62,5 | 37,5 | 37,5 | 12,5 |
| Tollocan | 100,0 | 100,0 | 100,0 | 100,0 |
| Stirling | 100,0 | 16,7 | 66,7 | 66,7 |
| Total | 63,9 | 30,9 | 63,9 | 46,5 |

^a Todos os clones avaliados são irmãos germanos em relação a resistência a requeima.

^b Fórmula [massa fresca ao ar / (massa fresca ao ar – massa fresca em água)].

Tabela 9 - Porcentagem de clones selecionados com coloração de chips em geração de cova única e em oito covas.

| Famílias resistentes a requeima ^a | Geração de cova única | | Geração de oito covas | |
|----------------------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| | Cor \leq 4,0 ^b | Cor \leq 5,0 ^b | Cor \leq 4,0 ^b | Cor \leq 5,0 ^b |
| SMIJ319-1 | 54,5 | 100,0 | 40,0 | 80,0 |
| SMIJ456-4Y | 37,5 | 62,5 | 50,0 | 77,3 |
| SMIG274-3 | 53,8 | 87,2 | 25,0 | 41,7 |
| Torridon | 25,0 | 62,5 | 12,5 | 62,5 |
| Tollocan | 100,0 | 100,0 | 100,0 | 100,0 |
| Stirling | 33,3 | 66,7 | 66,7 | 66,7 |
| Total | 50,7 | 79,8 | 49,0 | 71,4 |

^a Todos os clones avaliados são irmãos inteiros em relação a resistência a requeima.

^b Avaliados segundo uma escala de 2 a 10, onde 2 é chips claro e 10 é chips escuro

Não houve correlação entre as gerações de cova única e oito covas, tanto em nível de clone quanto de famílias de parentais resistentes a requeima (Tabela 10). A análise de correlação entre gerações foi realizada com os 89 clones avaliados, o que pode ter sido um número muito reduzido de pares de dados para análise. A resposta esperada de seleção para gerações de cova única e oito covas mostrou-se similar aos procedimentos de seleção aplicados em gerações de oito covas, para os três caracteres avaliados (Tabela 11). Entretanto, para alta gravidade específica em geração de cova única (9,3%) apresentou um ganho significativamente superior em relação à seleção em oito covas (0,60%). A seleção realizada em geração de cova única resultou em um ligeiro acréscimo no ganho de seleção para boa e aceitável aparência de tubérculo, gravidade específica e coloração de chips aceitáveis.

Considerando valores $\leq 3,0$ como critério de seleção para boa aparência de tubérculo, uma média de 89,3% do total de clones foi selecionada em cova única e 71% dos clones em oito covas. A seleção baseada na ótima aparência de tubérculo (valores $\leq 2,0$) em geração de cova única eliminou 15,9% de clones que poderiam ser selecionados na geração de oito covas (Tabela 12). Alternativamente, considerando aparência de tubérculo $\leq 3,0$ como critério para seleção em cova única, somente 7,5% dos clones que apresentaram aceitável aparência de tubérculo em oito covas foram eliminados. A porcentagem de clones eliminados com aceitável aparência de tubérculo em geração de oito covas variou de 0% (família Tollocan) a 25% (família Torridon). A seleção de clones com aceitável gravidade específica ($GE \geq 1,070$) em geração de cova única resultou na seleção de 63,9% dos clones avaliados e poderia ter eliminado 20,4% dos clones que poderiam ser selecionados em oito covas (Tabela 12). Entretanto, a seleção de clones para alta gravidade específica ($GE \geq 1,080$) determinou que 30,9% dos clones fossem selecionados em geração de cova única e eliminaria somente 5,5% de clones que poderiam ser selecionados em oito covas (Tabela 12). A porcentagem de clones eliminados que apresentaram alta gravidade específica em oito covas variou de 0% (famílias Tollocan, Stirling e SMIJ319-1) a 37,5% (família Torridon). Quando se utilizou o critério de seleção para coloração aceitável de chips (valor $\leq 5,0$), as famílias Tollocan, SMIJ319-1 e SMIG274-3 tiveram a maior porcentagem de clones selecionados em cova única e Tollocan, SMIJ319-1 e SMIJ456-4Y em oito covas. A seleção baseada na cor clara dos chips em geração de cova única eliminou 13,0% dos clones que poderiam ser selecionados em oito covas. Quando a seleção considerou coloração aceitável de chips como valor limite para seleção, foi observada uma pequena redução na porcentagem de clones que seriam selecionados em oito covas. A porcentagem de clones descartados com aceitável coloração de chips em oito covas variou de 0% (família Tollocan) a 30,8% (família SMIG274-3).

Tabela 10 - Correlações entre gerações de cova única e oito covas para famílias e combinada de todas as famílias de parentais resistentes a requeima.

| Famílias | Caracteres avaliados | Aparência de tubérculo (AP) | Gravidade específica (GE) | Coloração de chips (Cor) |
|------------|----------------------|-----------------------------|---------------------------|--------------------------|
| SMIJ319-1 | AP | -0,315 ns | | |
| | GE | | 0,166 ns | |
| | Cor | | | -0,139 ns |
| SMIJ456-4Y | AP | -0,120 ns | | |
| | GE | | -0,117 ns | |
| | Cor | | | -0,039 ns |
| SMIG274-3 | AP | -0,156 ns | | |
| | GE | | -0,144 ns | |
| | Cor | | | -0,155 ns |
| Torridon | AP | -0,268 ns | | |
| | GE | | 0,218 ns | |
| | Cor | | | -0,317 ns |
| Tollocan | AP | -0,500 ns | | |
| | GE | | -0,013 ns | |
| | Cor | | | -0,866 ns |
| Stirling | AP | -0,056 ns | | |
| | GE | | -0,034 ns | |
| | Cor | | | -0,254 ns |
| Combinada | AP | -0,091 ns | | |
| | GE | | -0,101 ns | |
| | Cor | | | -0,072 ns |

^a ns = não significativo em nível de 5% de probabilidade de erro

Tabela 11 – Resposta esperada (%) para seleção de gerações de cova única e oito covas para caracteres de qualidade de tubérculo em batata.

| Caracteres de qualidade de tubérculo | Geração de cova única | Geração de oito covas |
|----------------------------------------------------|-----------------------|-----------------------|
| Aparência de tubérculo ($\leq 2,0$) ^a | -10,1 | -8,8 |
| Aparência de tubérculo ($\leq 3,0$) | 2,5 | 0,8 |
| Gravidade específica ($\geq 1,070$) ^b | 1,5 | 0,7 |
| Gravidade específica ($\geq 1,080$) | 9,3 | 0,6 |
| Coloração de chips ($\leq 4,0$) ^c | -4,7 | -5,3 |
| Coloração de chips ($\leq 5,0$) | 2,0 | 1,3 |

^a Avaliados segundo uma escala de 1 a 5, onde 1 é a melhor e 5 é a pior aparência

^b Fórmula [massa ao ar/ (massa ao ar – massa em água)]

^c Avaliados segundo uma escala de 2 a 10, onde 2 é chips claro e 5 é chips escuro.

A identificação de clones com aceitável qualidade para processamento de chips considerou vários critérios para a seleção determinados pela qualidade de tubérculo (Tabelas 7, 8 e 9). A seleção foi feita, primeiramente, para aparência de tubérculo, com valores $\leq 3,0$, seguido da gravidade específica $\geq 1,070$ e coloração clara de chips $\leq 5,0$. O uso deste critério de seleção determinou que 33 clones (37%) e 37 clones (41%) fossem identificados em geração de cova única e oito covas, respectivamente, possuindo aceitável qualidade para processamento de chips. Um total de 48 clones foi selecionado em ambas as gerações, sendo que 40% destes foram identificados em geração de cova única. A identificação de clones para consumo de mesa baseou-se somente na aparência de tubérculo $\leq 3,0$ e um total de 78 clones (87%) e 69 clones (77%) foram selecionados em geração de cova única e oito covas, respectivamente. Quatro parentais (Tollocan, SMIG274-3, Stirling e SMIJ456-4Y) transmitiram aceitável aparência de tubérculo a mais de 75% da progênie em ambas as gerações de seleção. Um total de 87 clones foi selecionado em ambas as gerações, dos quais 67% dos clones foram identificados em geração de cova única.

Tabela 12 – Porcentagem de clones com qualidade de tubérculo descartados em geração de cova única e oito covas.

| Famílias ^a | Aparência de tubérculo $\leq 2,0$ | | Aparência de tubérculo $\leq 3,0$ | |
|-----------------------|-----------------------------------|---------------------------|-----------------------------------|---------------------------|
| | Não selecionados ^b | Selecionados ^c | Não selecionados ^b | Selecionados ^c |
| SMIJ319-1 | 18,2 | 36,4 | 9,1 | 18,2 |
| SMIJ456-4Y | 20,8 | 16,7 | 20,8 | 20,8 |
| SMIG274-2 | 10,4 | 12,8 | 2,5 | 20,5 |
| Torridon | 12,5 | 0,0 | 12,5 | 25,0 |
| Tollocan | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 |
| Stirling | 33,3 | 16,7 | 0,0 | 16,7 |
| Total ^d | 15,9 | 13,8 | 7,5 | 16,9 |
| | Gravidade específica $\geq 1,070$ | | Gravidade específica $\geq 1,080$ | |
| | Não selecionados | Selecionados | Não selecionados | Selecionados |
| SMIJ319-1 | 63,6 | 0,0 | 18,2 | 0,0 |
| SMIJ456-4Y | 12,5 | 37,5 | 4,2 | 16,7 |
| SMIG274-2 | 12,8 | 12,8 | 10,4 | 2,5 |
| Torridon | 12,5 | 50,0 | 0,0 | 37,5 |
| Tollocan | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 |
| Stirling | 33,3 | 0,0 | 0,0 | 0,0 |
| Total | 20,4 | 16,7 | 5,5 | 9,5 |
| | Coloração de chips $\leq 4,0$ | | Coloração de chips $\leq 5,0$ | |
| | Não selecionados | Selecionados | Não selecionados | Selecionados |
| SMIJ319-1 | 18,2 | 27,3 | 0,0 | 18,2 |
| SMIJ456-4Y | 21,0 | 12,5 | 16,7 | 4,2 |
| SMIG274-2 | 5,5 | 20,5 | 5,1 | 30,8 |
| Torridon | 0,0 | 12,5 | 12,5 | 25,0 |
| Tollocan | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 |
| Stirling | 33,3 | 16,7 | 33,0 | 16,7 |
| Total | 12,9 | 15,0 | 11,2 | 15,8 |

^a Todos os clones da progênie são irmãos germanos.

^b Clones não selecionados em cova única que seriam selecionados na geração de oito covas.

^c Clones não selecionados em oito covas que foram selecionados na geração de cova única.

^d Referentes ao total dos 89 clones avaliados.

Neste estudo, clones resistentes a requeima foram cruzados com clones ou cultivares adaptados ou com alta qualidade de tubérculo para selecionar recombinantes na progênie. A eliminação de aproximadamente 97% dos clones em um único ciclo de seleção é parte de uma estratégia de seleção precoce para qualidade de tubérculo. A eliminação de um grande número de clones nas primeiras avaliações aumenta a eficiência da seleção, reduz os custos e o tempo necessário para a condução das populações segregantes, o que possibilita maior investimento em clones promissores (Maris, 1969; Tai, 1975; Pinto *et al.*, 1994; Amaro *et al.*, 2003). A seleção para qualidade de tubérculo antes de acessar a resistência a requeima foi proposta por Bisognin & Douches (2002), tendo em vista que alta qualidade de tubérculo é considerada um caráter limitante para a aceitação de novas cultivares (Douches *et al.*, 1996). A seleção de clones de batata nas primeiras gerações clonais foi realizada com sucesso (Bisognin & Douches, 2002; Haynes & Thill, 2002) e os resultados deste trabalho mostram que seleção moderada na primeira geração clonal pode ser realizada para aparência de tubérculo, gravidade específica e coloração de chips, tendo em vista o potencial dos parentais utilizados em transmitir esses caracteres à progênie. Tollocan e Stirling apresentaram alta porcentagem de clones selecionados neste estudo e, em estudos anteriores, transmitiram alto nível de resistência à elevada porcentagem da progênie, sendo parentais potenciais para transmitir caracteres de alta qualidade de tubérculo combinado com resistência a requeima a progênie (Bisognin *et al.*, 2002; Kirk *et al.*, 2005). Dentre os parentais resistentes a requeima, Tollocan, Stirling, SMIJ319-1 e SMIJ456-4Y tiveram clones recombinantes selecionados na progênie com alta qualidade de tubérculo.

Atendendo caracteres de qualidade em batata, uma seleção fenotípica baseada na aparência de tubérculo, formato, cor e aparência da casca e defeitos internos (Bisognin & Douches, 2002; Amaro *et al.*, 2003) reduziu o número de clones avaliados de 2887 para 89 (intensidade de seleção de 3,1%) em geração de cova única. Comparando com outros caracteres, a aparência de tubérculo e rendimento de tubérculos comercializáveis podem ser decisivos para a seleção (Tai, 1975; Pinto *et al.*, 1994; Bisognin & Douches, 2002). Dos 89 clones avaliados, 87,6% possuíam boa aparência de tubérculo, 43,8% e 78,7% dos clones apresentaram respectivamente aceitável gravidade específica e coloração de chips em geração de cova única. Um total de 97,8%; 67,4% e 80,9% apresentaram respectivamente aparência de tubérculo, gravidade específica e coloração de chips aceitável em ambas as gerações clonais. Considerando uma moderada intensidade de seleção empregada em geração de cova única, 16,9%; 9,5% e 15,8% dos clones não selecionados em geração de oito covas poderiam ser selecionados para aparência de tubérculo ($\leq 3,0$), gravidade específica ($\geq 1,070$) e coloração

de chips ($\leq 5,0$). Uma redução na intensidade de seleção em gerações precoces foi anteriormente estudada e definida como sendo uma opção para que se alcance um equilíbrio entre ganho de seleção e eliminação de clones superiores (Maris, 1988). Quando o objetivo é o desenvolvimento de cultivares para a indústria de processamento ou consumo de mesa, as informações sobre qualidade de tubérculo de gerações de cova única poderão servir como base para a seleção de clones em gerações posteriores para outros caracteres, inclusive resistência a requeima (Bisognin & Douches, 2002, Bisognin *et al.*, 2002). Além disso, a probabilidade de selecionar o mesmo clone em gerações posteriores é aproximadamente o dobro para clones selecionados baseados em características agrônômicas do que somente na gravidade específica, devido a grande influência do ambiente (Haynes & Wilson, 1992; Zorzella *et al.*, 2003; Andreu, 2005; Freitas *et al.*, 2006).

Dessa forma, moderada intensidade de seleção para qualidade de tubérculo (aparência de tubérculo $\leq 3,0$, gravidade específica $\geq 1,070$ e coloração de chips $\leq 5,0$) precisa ser priorizada antes mesmo das avaliações para resistência a requeima. A identificação de clones superiores para qualidade de tubérculo em gerações de cova única reduz o número de clones para as avaliações nas gerações seguintes e para as avaliações de resistência a requeima (Bisognin & Douches, 2002). Os parentais Tollocan, Stirling, SMIJ456-4Y e SMIJ319-1 foram os melhores para selecionar clones de alta qualidade de tubérculo nas primeiras gerações clonais. Neste trabalho, principalmente em algumas famílias, muitos clones não selecionados em cova única seriam selecionados em oito covas. Esse fato faz com que haja uma eliminação de clones com potencial de processamento, que poderiam ser posteriormente selecionados, discordando dos resultados de Bisognin & Douches (2002). Essas diferenças de resultados estão, provavelmente, associadas à não adaptação de alguns parentais utilizados neste trabalho e, principalmente, ao baixo número de clones selecionados na primeira geração clonal (89) e de clones de algumas famílias como Tollocan (1) e Stirling (6), o que inflacionou a porcentagem de clones não selecionados em cova única que seriam selecionados em oito covas.

4. CAPÍTULO II

QUALIDADE DE PROCESSAMENTO E CONSUMO DE MESA DE CLONES AVANÇADOS DE BATATA

4.1. Resumo

A demanda por novas cultivares destinadas para processamento está aumentando, devido à expansão da industrialização da batata no Brasil, o que requer novas cultivares com altos teores de matéria seca e amido, baixos teores de açúcares redutores e coloração clara de chips. O objetivo deste trabalho foi avaliar clones avançados de melhoramento para identificar aqueles com potencial para processamento industrial ou consumo de mesa. O experimento foi conduzido em um fatorial (clones x épocas de cultivo) no delineamento de blocos ao acaso, com quatro repetições. Foram avaliados 19 clones avançados e duas testemunhas, o clone SMIJ461-1 e a cultivar Asterix, outono e primavera de 2006. Os clones SMA501-1, SMA508-2, SMA508-4, SMA514-8, SMA514-10, SMA514-11 e SMA520-5 apresentaram boa aparência de tubérculo, coloração clara de chips, baixos teores de açúcares redutores, altos teores de matéria seca, amido e amilose em ambos os cultivos, apresentando alto potencial para processamento industrial. Os clones SMA504-2, SMA505-2, SMA505-7, SMA506-4, SMA513-2, SMA516-2, SMA517-2, SMA519-1 e SMA520-5 combinam boa aparência de tubérculo, aceitável coloração de chips, teores médios de matéria seca, amido e altos teores de amilose, sendo considerados com bom potencial para consumo de mesa ou até processamento na forma de fritas tipo palito, superior a cultivar Asterix.

Palavras-chave: *Solanum tuberosum*, melhoramento, matéria seca, coloração de chips.

4.2. Abstract

New processing cultivars are needed to attend the expansion of the potato industry in Brazil. New cultivars should have high content of dry matter and starch, low content of reduced sugars and light chip color. The objective of this work was to evaluate advanced selections to identify potential clones for processing or table stock. The experiment was a factorial (clones x growing seasons) in random block design with four replications. Nineteen advanced clones and SMIJ461-1 and Asterix as control were evaluated during autumn and spring seasons of 2006. SMA501-1, SMA508-2, SMA508-4, SMA514-8, SMA514-10,

SMA514-11 e SMA520-5 are potential processing clones, because of good tuber appearance, light chip color, low reduced sugar content and high contents of dry matter, starch and amylose in both growing seasons. SMA504-2, SMA505-2, SMA505-7, SMA506-4, SMA513-2, SMA516-2, SMA517-2, SMA519-1 e SMA520-5 are potential clones for table stock or processing as french fries, because of good tuber appearance, chip color, low reduced sugar content, medium content of dry matter and starch and high content of amylase.

Key words: *Solanum tuberosum*, breeding, dry matter, chip color.

4.3. Introdução

O mercado de batata processada tem aumentado nos últimos anos, principalmente para produtos de consumo direto, como batata palha e chips, ou prontos para o preparo, como resfriadas ou pré-fritas congeladas (Zorzella *et al.*, 2003b). Com isso tem aumentado a demanda por novas cultivares para processamento industrial, que proporcionem um produto final de boa qualidade (Salamoni *et al.*, 2000). Devido à ausência de cultivares nacionais com alta qualidade para processamento, é necessária a importação de tubérculos-semente de cultivares pouco adaptadas, desenvolvidas para outras regiões de cultivo, para atender a demanda da indústria nacional (Pereira, 2003; Freitas *et al.*, 2006). Isso justifica o desenvolvimento de novas cultivares que apresentem altos teores de matéria seca e amido, baixos teores de açúcares redutores e coloração clara de chips para atender a demanda nacional.

O rendimento final e a qualidade do produto processado como o sabor e a textura são determinados pelo alto teor de matéria seca presente nos tubérculos (Salamoni *et al.*, 2000), devendo ser igual ou superior a 20% (Zorzella *et al.*, 2003a; Freitas *et al.*, 2006). O teor de matéria seca é um caráter condicionado por fatores genéticos e influenciado pelas condições ambientais e maturidade da planta (Mello, 1999; Zorzella *et al.*, 2003a). O amido é o principal carboidrato armazenado nos tubérculos de batata e corresponde entre 60 a 80% da matéria seca (Feltran *et al.*, 2004; Pastorini *et al.*, 2003). O amido é composto por aproximadamente 20% de amilose e 80% de amilopectina, cujos valores dependem da cultivar, da maturidade dos tubérculos e das condições ambientais, principalmente a temperatura (Noda *et al.*, 2004; Leonel, 2005). A composição do amido determina a utilização tecnológica mais adequada de uma cultivar pela indústria de processamento, seja para produção de flocos ou grânulos ou produtos extrusados (usado na composição de sopas instantâneas) (Ellis *et al.*, 1998). Altos teores de amilose são importantes em tubérculos destinados ao processamento de chips, pois

conferem maior crocância e resistência ao produto (Franco *et al.*, 2002). A coloração dos chips é um caractere importante no julgamento da qualidade dos chips pelo consumidor, sendo que o escurecimento excessivo está associado à baixa qualidade e ao sabor amargo (Pastorini *et al.*, 2003; Freitas *et al.*, 2006). Altos teores de açúcares redutores nos tubérculos determinam o escurecimento indesejável dos produtos processados, principalmente na forma de chips, fritas tipo palito (Coelho *et al.*, 1999). Teores de açúcares redutores entre 0,1% e 0,33% da massa fresca ou entre 10 e 15mg g⁻¹ da massa seca dos tubérculos resultam em chips de coloração adequada e desejável pela indústria (Chapper *et al.*, 2002; Zorzella *et al.*, 2003a).

O objetivo deste trabalho foi avaliar clones avançados de melhoramento para identificar aqueles com potencial para processamento industrial ou consumo de mesa.

4.4. Material e Métodos

O experimento foi conduzido com 19 clones de batata desenvolvidos a partir do cruzamento entre parentais resistentes a requeima com clones adaptados às condições de cultivo da região centro do RS, selecionados anteriormente em gerações de cova única e oito covas e duas testemunhas. Os clones avaliados foram SMA501-1, SMA502-1, SMA503-1, SMA504-2, SMA505-2, SMA505-3, SMA505-7, SMA506-4, SMA508-2, SMA508-4, SMA513-2, SMA514-8, SMA514-10, SMA514-11, SMA516-1, SMA517-2, SMA517-3, SMA519-1, SMA520-5. O clone SMIJ461-1, em função de alta qualidade para processamento, e a cultivar Asterix, por ser considerada padrão para processamento na forma de fritas tipo palito no RS, foram utilizados como testemunhas. Os tubérculos foram produzidos durante o outono (plantio em 24 de março) na área experimental do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Santa Maria, RS, e na primavera de 2006 (plantio em 23 de agosto) na Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária, Fepagro, em Júlio de Castilhos, RS. O manejo das plantas seguiu as recomendações técnicas para a cultura da batata (Bisognin, 1996). Após a colheita, os tubérculos foram armazenados a 20° C por 15 dias para a cura dos tubérculos e após separadas quatro amostras de cinco tubérculos para as avaliações.

Foram avaliados a aparência de tubérculo, coloração de chips, teores de matéria seca, amido e açúcares redutores e porcentagem de amilose no amido. A aparência dos tubérculos foi avaliada em uma escala visual com valores de 1 a 5, onde 1 corresponde à melhor

aparência e 5, à pior aparência. Coloração de chips foi determinada nas amostras de cinco tubérculos, pela fritura de duas fatias transversais centrais de cada tubérculo, com, aproximadamente, 2mm de espessura, em fritadeira industrial a gás (Top Taylor, modelo TTF- 35-G) utilizando-se gordura vegetal hidrogenada na temperatura de 185° C, até cessar a borbulha. Os chips foram avaliados em uma escala visual de 2 a 10, de ordem crescente para coloração escura dos chips, sendo que valores iguais ou inferiores a 5,0 são considerados aceitáveis pela indústria. O teor de matéria seca foi determinado através do acondicionamento das amostras de tubérculos, previamente picados, em estufa a 60°C até atingirem massa seca constante. Os teores de açúcares redutores foram determinados após modificações da metodologia de Long & Chism (2004), diluindo-se 1g de matéria seca em 5ml de água destilada, de onde foram retirados 2ml para reagir com 0,5ml de 2,4-dinitro-fenol (Freitas *et al.*, 2006). O amido foi quantificado em açúcares redutores, obtidos por hidrólise ácida de 250mg de matéria seca de batata em uma solução contendo 10ml de água destilada e 0,5ml de HCL, após autoclavagem por 20 minutos à temperatura de 120°C (1Kgf cm⁻²). A solução foi então neutralizada com NaOH (50%) para pH=7,0 e retirado 1ml para adicionar à outra solução contendo 3ml de água destilada e 0,5ml de 2,4-dinitro-fenol (Freitas *et al.*, 2006). As quantificações de açúcares redutores e amido foram realizadas em espectrofotômetro (Digimed DME-21) utilizando comprimento de onda de 600nm. Os teores de amilose foram quantificados através da medida da absorbância do amido, utilizando-se o iodo como reagente de coloração (Gilbert & Spragg, 1964). Esse método baseia-se na capacidade que a estrutura helicoidal da amilose tem em formar complexos de inclusão com o iodo, apresentando coloração azul. Quanto maior o teor de amilose presente na amostra, maior será a afinidade com o iodo. A leitura dos teores de amilose foi feita em espectrofotômetro em comprimento de onda de 680nm.

Os dados foram submetidos à análise da variância e as médias de clones comparadas pelo teste de Skott Knott (Scott & Knott, 1974) e de épocas de cultivo comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro, segundo o delineamento experimental completamente casualizado.

4.5. Resultados e Discussão

A análise da variância mostrou diferenças significativas para épocas de cultivo e clones para todos os caracteres avaliados (Tabelas 13, 14 e 15). A interação entre clones e épocas de cultivo também foi significativa, exceto para coloração de chips. Na média dos

clones, os tubérculos apresentaram melhor aparência no cultivo de outono (2,8) em relação ao cultivo de primavera (3,1) (Tabela 13). No outono, dos 19 clones avaliados, 15 apresentaram boa aparência de tubérculo, entre os quais SMIJ461-1 e a cultivar Asterix, com valores comercialmente aceitos ($\leq 3,0$). No cultivo de primavera, 13 clones apresentaram boa aparência de tubérculo. Os chips apresentaram média de coloração dentro dos limites aceitáveis para a indústria de processamento ($\leq 5,0$) nos dois cultivos, sendo que na primavera os clones apresentaram média de coloração de chips mais claros (3,8) do que no outono (4,3) (Tabela 13). No cultivo de outono, 18 dos 19 clones avaliados apresentaram coloração aceitável de chips, bem como os clones SMIJ461-1 e Asterix. No cultivo de primavera, 13 clones avançados e o clone SMIJ461-1 apresentaram coloração de chips $\leq 4,0$ e 17 clones apresentaram valores $\leq 5,0$. Somente os clones SMA502-1 e SMA504-2 apresentaram chips com coloração escura, imprópria para o processamento.

O cultivo de primavera proporcionou teores mais adequados de matéria seca comparados com os de outono (Tabela 14). O clone SMA508-2 apresentou o teor mais elevado de matéria seca no outono, seguido dos clones SMA508-4 e SMA514-11, superior aos 20% necessários para o processamento na forma de chips. O teor mais baixo de matéria seca foi observado no clone SMA517-3 no cultivo de outono. Elevados teores de matéria seca ($\geq 20\%$) foram encontrados em nove clones e no clone SMIJ461-1 no cultivo de primavera. Os demais clones, apesar de não apresentarem diferença significativa, apresentaram variação nos teores de matéria seca, considerados baixos, como observado, respectivamente, nos clones SMA517-3 (16,68%), SMA501-1 (16,69%) e SMA506-4 (16,78%) de matéria seca. Os clones SMA514-8 (19,16%), SMA505-3 (19,50%) e SMA517-2 (19,77%) apresentaram teores de matéria seca muito próximos dos 20% desejáveis em cultivares destinadas para processamento. A produção de tubérculos no cultivo de primavera também resultou em teores mais elevados de amido, observado pela diferença de 213,51 mg g⁻¹ de amido na matéria seca a mais do que o teor de amido encontrado nos clones produzidos no cultivo de outono (Tabela 14). No outono, além de os teores de amido ser inferiores, houve uma maior variação entre os teores máximo (SMA503-1) e mínimo (SMA514-10) obtidos entre os clones. Os clones SMA503-1 e SMA504-2 apresentaram o mais alto teor de amido no cultivo de outono e os clones SMA513-2, SMA514-8, SMA514-10, SMA514-11 e SMA516-2 apresentaram os teores mais baixos. Na primavera, 50% dos clones avaliados e o clone SMIJ461-1 e a cultivar Asterix, apresentaram teores de amido significativamente superiores. Os demais clones avaliados apresentaram teores de amido similar, variando entre 569,85 mg g⁻¹ para o clone SMA519-1 a 629,93 mg g⁻¹, encontrado no clone SMA505-3.

Os teores de açúcares redutores foram significativamente mais altos nos tubérculos produzidos no cultivo de outono, com 24,68 mg g⁻¹ a mais do que a média observada entre os clones no cultivo de primavera (Tabela 15). No outono, o clone SMA504-2 apresentou os teores de açúcares redutores mais elevados e os clones SMA501-1, SMA508-4, SMA514-8 e SMA514-10 apresentaram os teores mais baixos, no entanto todos os teores estão bem acima do que é considerado ideal para o processamento (em torno de 15 mg g⁻¹). No cultivo de primavera, somente o clone SMA505-7 apresentou teores de açúcares redutores muito elevados. Os outros 18 clones avaliados apresentaram teores variando de 15,38 mg g⁻¹ matéria seca (SMA508-2) a 35,51 mg g⁻¹ matéria seca (SMA508-4) e não diferiram entre si para esta característica. Os teores de amilose aparente no amido (expressos em porcentagem) foram superiores nos tubérculos produzidos no cultivo de outono em relação aos teores encontrados nos tubérculos produzidos no cultivo de primavera, na média dos clones avaliados (Tabela 15). Os clones SMA504-2, SMA513-2, SMA514-8, SMA514-10, SMA514-11 e SMA516-2 apresentaram maior porcentagem de amilose no amido dos tubérculos no cultivo de outono. No cultivo de primavera, os teores de amilose variaram entre 20,42% (SMA501-1) e 33,91% (SMA505-3), sendo que os clones SMA504-2, SMA505-2, SMA505-3, SMA508-2, SMA508-4 e SMA519-1 apresentaram a maior porcentagem de amilose.

A aparência de tubérculo é uma característica importante para o produtor e para o consumidor que usualmente adquire a batata a granel, embora seja menos importante para a indústria (Andreu, 2005). No cultivo de outono e de primavera, respectivamente, 71% e 52% dos clones apresentaram boa aparência de tubérculo, considerada comercialmente aceita pelo consumidor. A menor porcentagem de clones com boa aparência de tubérculo na primavera pode estar associada à tuberização das plantas sob condições de temperaturas mais elevadas, o que favorece o aumento no número de tubérculos com defeitos externos como embonecamento, rachaduras, casca áspera, piorando a aparência de tubérculo (Menezes *et al.*, 1999; Andreu, 2005).

A média de coloração clara de chips observada nas duas épocas de cultivo mostra que os clones apresentam bom potencial para o processamento de chips nas condições do Rio Grande do Sul. A ausência de interação entre clones e épocas de cultivo reforça que este caráter é influenciado por fatores genéticos (Agblor & Scanlon, 2002). Chips escuros estão associados à baixa qualidade (Burton, 1989; Douches & Freyre, 1994) e relacionados aos elevados teores de açúcares redutores nos tecidos, que provocam o escurecimento durante o processamento em altas temperaturas, tornando-os comercialmente inaceitáveis (Burton, 1989; Chapper *et al.*, 2004). Os açúcares redutores são os principais responsáveis pelo

escurecimento não enzimático que ocorre durante o processamento (Salamoni *et al.*, 2000; Zorzella *et al.*, 2003a; Pastorini *et al.*, 2003), como pode ser observado nos clones SMA502-1, SMA504-2 e SMA505-3. Alguns clones como SMA501-1, SMA508-2, SMA508-4, SMA514-8 e SMA514-10 apresentaram coloração clara de chips e baixos teores de açúcares redutores nos dois cultivos, ou próximos a 15 mg g^{-1} no cultivo de primavera. Coloração clara de chips combinada com boa aparência de tubérculo foi encontrada nos clones SMA503-1, SMA508-2, SMA508-4, SMA513-2, SMA514-8, SMA514-11 e SMA519-1, nos dois cultivos. A relação indireta entre esses dois caracteres pode ser explicada pela positiva correlação entre aparência e componentes do rendimento comercializável, como tamanho, massa e uniformidade de tubérculos (Tai, 1975; Neele *et al.*, 1991; Silva *et al.*, 2006), já que o acúmulo de matéria seca nos tubérculos e, conseqüentemente, de amido, está diretamente relacionado ao grau de maturidade dos tubérculos (Noda *et al.*, 2003; Leonel, 2005). Tubérculos com maior tamanho e massa são mais uniformes e, geralmente, produzidos em plantas que completam a maturidade, conferindo maiores teores de matéria seca e amido e proporcionando chips de melhor qualidade (Zorzella *et al.*, 2003a).

O acúmulo de matéria seca nos tubérculos foi influenciado pela época de cultivo, sendo superior na primavera. Os teores de matéria seca nos tubérculos são classificados em altos, com valores superiores a 20%, intermediários, com valores entre 18% e 19,9% e baixos, com valores inferiores a 17,9 % (Feltran *et al.*, 2004; Freitas *et al.*, 2006). No cultivo de outono, 12 clones apresentaram teores médio a alto de matéria seca, destacando-se os clones SMA508-2, SMA508-4 e SMA514-11, superiores a 20%. O teor médio de matéria seca encontrado nos clones durante primavera (19,91%) foi muito próximo do considerado ideal para processamento, sendo que aproximadamente 50% dos clones avaliados apresentaram altos teores de matéria seca. Altos teores de matéria seca reduzem a absorção de óleo durante a fritura, determinam o maior rendimento do produto processado, melhor textura, sabor e crocância dos chips (Lulai & Orr, 1979; Capezio *et al.*, 1992; Zorzella *et al.*, 2003a; Freitas *et al.*, 2006).

Os teores de amido encontrados neste trabalho podem ser considerados baixos a médios, pois podem chegar a 800 mg g^{-1} de amido na matéria seca (Freitas *et al.*, 2006). Os teores encontrados nos tubérculos de clones produzidos no cultivo de outono foram superiores ao observado em estudos anteriores (Pastorini *et al.*, 2003; Freitas *et al.*, 2006). Além disso, teores superiores de amido eram esperados no cultivo de primavera visto que a composição da matéria seca é influenciada pelas condições ambientais sendo favorecida no cultivo de primavera (Pastorini *et al.*, 2003; Noda *et al.*, 2003; Freitas *et al.*, 2006). A produção de

tubérculos no cultivo de primavera resultou em maiores teores de amido em todos os clones, com uma média de 637,94 mg g⁻¹ de amido na matéria seca, o que corresponde a um aumento de 34,2% nos teores totais de amido em relação ao cultivo de outono. Clones como SMA513-2, SMA514-8, SMA514-10, SMA514-11, SMA517-2 e SMA520-5, que apresentaram baixos teores de amido no cultivo de outono, tiveram um aumento significativo no cultivo de primavera. A alteração nos teores de amido implica também na alteração da composição química da matéria seca, consequentemente na qualidade final do produto processado (Noda *et al.*, 2003; Zorzella *et al.*, 2003a, Freitas *et al.*, 2006). Com a alteração nos teores de amido, uma variação na porcentagem de amilose é esperada, variando entre 23 e 31% de amilose no amido (Kim *et al.*, 1995). No cultivo de outono, mais da metade dos clones apresentaram alta porcentagem de amilose no amido, superior a 31%. Na primavera, 86% dos clones apresentaram a porcentagem de amilose no amido dentro do intervalo esperado. A alta porcentagem de amilose presente em tubérculos produzidos no outono está relacionada aos teores mais baixos de amido e à redução da atividade da enzima de ramificação do amido, envolvida na biossíntese de amilopectina (Andersson, 2001). A redução da atividade desta enzima é proporcional à redução do número de ramificações da amilopectina, aumentando o teor de amilose, como observado em 81% dos clones no cultivo de outono em relação ao de primavera. Somente os clones SMA504-2, SMA505-2 e SMA508-4 apresentaram teor de amilose superior no cultivo de primavera em relação ao outono.

Os clones SMA508-2, SMA508-4, SMA513-2, SMA514-8, SMA514-10, SMA514-11 e SMA519-1 podem ser processados na forma de chips, pois apresentaram teores de matéria seca e amilose relativamente altos nos dois cultivos, caracteres que aumentam a qualidade da batata processada na forma de chips (Franco *et al.*, 2002, Zorzella *et al.*, 2003b). Os clones SMA501-1, SMA504-2, SMA505-2, SMA505-3, SMA505-7, SMA517-2, SMA517-3 e SMA520-5 apresentaram teores médios de matéria seca, amido e amilose dentro do intervalo esperado, podendo ser destinados ao consumo de mesa, para preparo como purês ou saladas, batata assada ou ainda processada na forma de espessantes de caldos e sopas desidratadas (Ellis *et al.*, 1998).

Tabela 13 - Aparência de tubérculo e coloração de chips de clones avançados de melhoramento durante os cultivos de outono e primavera de 2006.

| Clones | Aparência de tubérculo | | Coloração de chips | |
|-----------|------------------------|-----------|--------------------|-----------|
| | Outono | Primavera | Outono | Primavera |
| SMA514-8 | 1,5 a ¹ | 3,0 ab | 3,5 a | 3,0 a |
| SMIJ461-1 | 2,0 ab | 2,0 a | 3,5 a | 3,3 a |
| SMA502-1 | 2,0 ab | 4,0 b | 3,5 a | 6,0 c |
| SMA508-4 | 2,0 ab | 3,0 ab | 5,0 ab | 3,7 a |
| SMA513-2 | 2,0 ab | 2,0 a | 3,0 a | 2,3 a |
| SMA514-10 | 2,0 ab | 3,3 ab | 5,0 ab | 4,7 b |
| SMA503-1 | 2,5 abc | 3,0 ab | 3,0 a | 2,7 a |
| SMA508-2 | 2,5 abc | 3,0 ab | 4,5 ab | 4,0 a |
| SMA520-5 | 2,5 abc | 4,0 b | 4,5 ab | 5,0 b |
| SMA517-3 | 2,5 abc | 4,0 b | 4,0 ab | 3,3 a |
| Asterix | 3,0 abc | 4,0 b | 4,5 ab | 4,3 b |
| SMA514-11 | 3,0 abc | 2,0 a | 5,0 ab | 3,0 a |
| SMA504-2 | 3,0 abc | 3,0 ab | 4,5 ab | 5,3 c |
| SMA517-2 | 3,0 abc | 3,0 ab | 5,0 ab | 3,7 a |
| SMA519-1 | 3,0 abc | 2,0 a | 4,0 ab | 3,3 a |
| SMA501-1 | 3,5 bc | 3,0 ab | 4,0 ab | 4,7 b |
| SMA505-2 | 3,5 bc | 3,0 ab | 5,0 ab | 3,3 a |
| SMA505-7 | 3,5 bc | 4,0 b | 4,0 ab | 3,3 a |
| SMA506-4 | 3,5 bc | 3,0 ab | 4,0 ab | 3,3 a |
| SMA516-2 | 3,5 bc | 2,0 a | 5,0 ab | 3,7 a |
| SMA505-3 | 4,0 c | 4,0 b | 6,0 b | 4,3 b |
| Média | 2,8 A | 3,1 B | 4,3 B | 3,8 A |
| CV(%) | 25,6 | 28,5 | 20,4 | 16,5 |

¹ Médias não seguidas pela mesma letra minúscula e maiúscula nas linhas, diferem entre si respectivamente pelos testes de Scott Knott e Tukey em nível de 5% de probabilidade de erro.

Tabela 14 – Teores de matéria seca e amido de clones de batata avançados de melhoramento durante os cultivos de outono e primavera de 2006.

| Clones | Matéria seca (%) | | Amido (mg g MS ⁻¹) | |
|-----------|------------------|-----------|--------------------------------|-----------|
| | Outono | Primavera | Outono | Primavera |
| SMA508-2 | 21,70 a | 24,07 a | 463,31 b | 664,03 a |
| SMA508-4 | 20,84 b | 22,82 a | 470,54 b | 658,43 a |
| SMA514-11 | 20,25 b | 20,80 a | 334,38 e | 626,86 b |
| SMIJ461-1 | 19,71 c | 23,16 a | 412,50 c | 644,00 a |
| SMA501-1 | 19,68 c | 20,71 a | 490,79 b | 694,69 a |
| SMA514-8 | 19,35 c | 19,16 b | 309,10 e | 644,90 a |
| SMA514-10 | 19,32 c | 22,36 a | 273,80 e | 627,22 b |
| SMA520-5 | 19,00 d | 21,68 a | 422,85 c | 651,22 a |
| SMA505-2 | 18,81 d | 17,90 b | 479,73 b | 608,82 b |
| Asterix | 18,78 d | 18,68 b | 408,14 c | 657,35 a |
| SMA505-7 | 18,50 e | 20,75 a | 486,66 b | 658,07 a |
| SMA502-1 | 18,29 e | 16,69 b | 461,22 b | 624,87 b |
| SMA519-1 | 18,26 e | 20,22 a | 382,05 d | 569,85 b |
| SMA504-2 | 18,04 e | 18,46 b | 524,59 a | 617,12 b |
| SMA503-1 | 17,78 e | 17,35 b | 537,77 a | 620,18 b |
| SMA506-4 | 17,49 f | 16,79 b | 460,68 b | 648,87 a |
| SMA505-3 | 17,33 f | 19,50 b | 453,62 b | 629,93 b |
| SMA517-2 | 17,24 f | 19,77 b | 406,25 c | 663,30 a |
| SMA516-2 | 17,10 f | 18,55 b | 312,10 e | 624,51 b |
| SMA513-2 | 17,04 f | 21,86 a | 394,67 e | 650,31 a |
| SMA517-3 | 15,77 g | 16,78 b | 428,30 c | 612,25 b |
| Média | 18,58 B | 19,91 A | 424,43 B | 637,94 A |
| CV(%) | 1,66 | 8,61 | 8,19 | 3,71 |

¹ Médias não seguidas pela mesma letra minúscula e maiúscula nas linhas, diferem entre si respectivamente pelos testes de Scott Knott e Tukey em nível de 5% de probabilidade de erro.

Tabela 15 - Teores de açúcares redutores e amilose de clones de batata avançados de melhoramento durante os cultivos de outono e primavera de 2006.

| Clones | Açúcares redutores (mg g MS ⁻¹) | | Amilose (% no amido) | |
|-----------|---------------------------------------------|-----------|----------------------|-----------|
| | Outono | Primavera | Outono | Primavera |
| SMA504-2 | 90,50 a ¹ | 30,84 b | 30,04 a | 31,50 a |
| SMA520-5 | 73,32 b | 31,81 b | 28,50 b | 26,20 b |
| SMA505-3 | 67,86 b | 27,20 b | 29,17 b | 33,91 a |
| SMA502-1 | 65,84 b | 32,42 b | 34,76 b | 25,29 b |
| SMA517-2 | 60,60 c | 29,56 b | 28,14 b | 24,63 b |
| SMA505-2 | 57,40 c | 23,88 b | 29,45 b | 31,26 a |
| SMA517-3 | 56,27 c | 15,95 b | 29,66 b | 28,32 b |
| SMA514-11 | 55,17 c | 23,55 b | 38,59 a | 27,90 b |
| SMA516-2 | 53,57 c | 23,48 b | 40,39 a | 26,92 b |
| SMA513-2 | 53,39 c | 20,85 b | 47,32 a | 28,73 b |
| SMA519-1 | 50,84 c | 26,84 b | 34,16 b | 31,20 a |
| SMA505-7 | 50,24 c | 62,17 a | 28,66 b | 25,42 b |
| SMA506-4 | 46,95 d | 23,29 b | 27,38 b | 27,01 b |
| SMA503-1 | 45,80 d | 20,87 b | 36,71 b | 28,61 b |
| SMA508-2 | 39,57 d | 15,38 b | 33,61 b | 32,22 a |
| SMIJ461-1 | 37,55 e | 19,43 b | 35,51 b | 29,02 b |
| SMA514-10 | 35,90 e | 17,15 b | 51,62 a | 28,01 b |
| Asterix | 33,31 e | 18,48 b | 31,80 b | 28,20 b |
| SMA501-1 | 30,30 e | 17,97 b | 29,46 b | 20,42 b |
| SMA508-4 | 29,28 e | 35,51 b | 32,60 b | 33,75 a |
| SMA514-8 | 27,94 e | 26,74 b | 45,37 a | 25,47 b |
| Média | 50,55 A | 25,87 B | 34,42 A | 28,29 B |
| CV(%) | 14,08 | 22,43 | 21,58 | 9,83 |

¹ Médias não seguidas pela mesma letra minúscula e maiúscula nas linhas, diferem entre si respectivamente pelos testes de Scott Knott e Tukey em nível de 5% de probabilidade de erro.

Os resultados deste trabalho confirmam que os clones respondem às variações nas condições de cultivo de outono e primavera, principalmente para qualidade de tubérculo (Pastorini *et al.*, 2003; Freitas *et al.*, 2006). Os clones SMA501-1, SMA508-2, SMA508-4, SMA514-8, SMA514-10 e SMA514-11 combinam boa aparência de tubérculo, coloração clara de chips, baixos teores de açúcares redutores, altos teores de matéria seca, amido e amilose nas duas épocas de cultivo, apresentando alto potencial para processamento industrial. Os clones SMA504-2, SMA505-2, SMA505-7, SMA506-4, SMA513-2, SMA516-2, SMA517-2, SMA519-1 e SMA520-5 combinam boa aparência de tubérculo, aceitável coloração de chips, teores médios de matéria seca, amido e altos teores de amilose, sendo considerados com bom potencial para consumo de mesa, para processamento na forma de fritas tipo palito, superior a cultivar Asterix. Os clones SMA503-1 e SMA517-3 combinaram aparência e coloração de chips aceitáveis e com altos teores de amilose, sendo que SMA503-1 apresentou também alto teor de amido no cultivo de outono.

Além da alta qualidade de tubérculo, necessária para o processamento industrial, observada em alguns clones, todos os clones avançados tem genética para resistência a requeima, pois são oriundos de parentais altamente resistentes (Bisognin & Douches, 2002; Bisognin *et al.*, 2002; Kirk *et al.*, 2005). Os clones com alto potencial para processamento identificados neste estudo podem ser novamente cruzados com cultivares adaptadas, em novos ciclos de seleção recorrente (Bisognin, 2003). A combinação de resistência a requeima e alta qualidade de tubérculo com adaptação as condições de cultivo do Rio Grande do Sul contribui para a redução da importação de tubérculos-semente de cultivares estrangeiras, reduzindo os custos de produção decorrentes da aplicação de grandes quantidades de insumos e agroquímicos, aumentando a sustentabilidade da cadeia produtiva de batata para manter os pequenos produtores em atividade.

5. CAPÍTULO III

OBTENÇÃO DE ISOLADOS DE *PHYTOPHTHORA INFESTANS* (MONT.) DE BARY.

5.1. Resumo

A requeima é a doença mais importante da cultura da batata, podendo levar à perda total da produção. A obtenção de isolados de *P. infestans* é uma etapa fundamental do melhoramento para resistência a requeima, pois são necessários para a avaliação de novos clones. Este trabalho teve como objetivo determinar o meio de cultura que proporcione o maior crescimento e esporulação de isolados de *P. infestans*. Culturas puras de *P. infestans* foram obtidas por isolamento monospórico e repicadas para os meios de centeio B, batata-dextrose-ágar (BDA), suco V8, farinha de milho e cenoura-ágar. Foram avaliados o crescimento do micélio e a produção de esporângios. O crescimento foi medido em intervalos de 24 h, com auxílio de paquímetro digital. Os esporângios foram quantificados com o auxílio de um hemacitômetro. O meio de cultura B de centeio promoveu o rápido crescimento micelial de *P. infestans* e os meios de cultura suco V8 e BDA promoveram a maior produção de esporângios.

Palavras-chave: Requeima, melhoramento para resistência, produção de inoculo.

5.2. Abstract

Late blight is the most important disease that can totally devastate a potato crop. Getting *P. infestans* isolates is a major step for late blight resistance breeding, mostly to assess new clones. The objective of this work was to determine the best medium for growth and sporulation of *P. infestans* isolates. Pure cultures of *P. infestans* were gotten by monosporium isolation. They were inoculated in rye B, potato-dextrose-agar (PDA), juice of eight vegetables (V8), corn flour-agar and carrot-agar culture mediums. Mycelium growth and sporangium production were quantified. The rye B medium increased mycelium growth of *P. infestans* and the culture mediums V8 and PDA increased sporangium production.

Key words: Late blight, resistance breeding, inoculum production

5.3. Introdução

A requeima ou mela da batateira é causada pelo oomiceto *P. infestans*. A requeima ainda é considerada uma ameaça para a bataticultura em todas as regiões produtoras do mundo (Douches *et al.*, 2004; Mizubuti, 2001). Em nível mundial, estima-se que são gastos cerca de 6 bilhões de dólares a cada ano para o controle da requeima e as perdas por baixos rendimentos excedem 2 bilhões de dólares (Kamoun *et al.*, 1999; CIP, 1996). As epidemias resultam da rápida reprodução assexuada do patógeno no tecido da planta (Bisognin *et al.*, 2002) e na rapidez em completar o ciclo, da infecção inicial à produção de esporângios (Fry & Goodwin, 1997). Os esporângios podem germinar diretamente, formando o tubo germinativo, ou indiretamente, através dos zoósporos que são estruturas de propagação assexuada do patógeno (Mizubuti, 2001).

O surgimento de novas raças de *P. infestans* mais agressivas e resistentes a Metalaxil, princípio ativo curativo mais utilizado em várias regiões produtoras de batata da América do Norte, Europa, Ásia e América do Sul (Reis *et al.*, 2002; Peters *et al.*, 2001; Goodwin *et al.*, 1995), fez com que a principal estratégia de controle de requeima passasse do químico para o genético (Bisognin, 2003). Como não existe cultivar com suficiente resistência a requeima, esse tem sido um dos principais objetivos dos programas de melhoramento no Brasil (Reis *et al.*, 2006, Bisognin, 2003) e no mundo (Bisognin *et al.*, 2005; Douches *et al.*, 2004; Colon *et al.*, 1995), com a introgressão de genes de diferentes fontes para aumentar o nível e a durabilidade da resistência (Bisognin *et al.*, 2005).

Em um programa de melhoramento para resistência, são comumente realizados estudos genéticos para identificar os melhores parentais. Além da resistência a requeima, novos clones devem associar maturidade precoce e qualidade de tubérculo. Para a avaliação da resistência em novos clones é necessária a produção de inóculo em escala suficiente. A produção de inóculo depende do isolamento, crescimento e manutenção de culturas de *P. infestans*. Existem várias metodologias para o isolamento e a produção de culturas puras (Drenth *et al.*, 1995), necessitando que sejam avaliadas e ajustadas para as condições locais. O estabelecimento de colônias a partir de esporângios é mais rápido e uniforme, comparado com zoósporos (Caten & Jinks, 1968). Como meio de cultura são usualmente utilizados extratos de grãos de cereais germinados, principalmente centeio e trigo (Caten & Jinks, 1968).

Este trabalho teve como objetivo determinar o meio de cultura que proporcione o maior crescimento e esporulação de isolados de *P. infestans*.

5.4. Materiais e Métodos

Folhas de batata com presença abundante e sintomas característicos de requeima foram colhidas em áreas experimentais da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, no período de abril a junho de 2006 e acondicionadas em câmara úmida por 24 h. Com o auxílio de um estilete de ponta fina, os esporângios foram removidos das lesões e uma suspensão preparada. Aliquotas de 0,6ml a 1ml da suspensão de esporângios foram injetadas em pedaços de tubérculo previamente desinfestados em solução de hipoclorito de sódio a 1% (Mizubuti, 2001; Castro & Tavares, 1985). Os pedaços de tubérculo foram então incubados em câmara úmida até o surgimento dos primeiros sintomas da doença. Em seguida, os pedaços de tubérculo foram cortados em fatias de 4mm de espessura e colocados em placas de Petri contendo papel filtro estéril (Castro & Tavares, 1985). Hifas de *P. infestans* foram subcultivadas para verificar se todos os contaminantes foram eliminados (Mizubuti, 2001). Estruturas reprodutivas e vegetativas foram transferidas para o meio batata-dextrose-ágar (BDA) para obtenção da cultura pura de *P. infestans*, incubados por cinco dias à temperatura de 18°C e as culturas puras foram obtidas pelo isolamento monospórico (Caten & Jinks, 1968; Castro & Tavares, 1985; Mizubuti, 2001). Para tanto, uma suspensão em água estéril foi realizada a partir de um fragmento contendo micélio. Aliquotas de cerca de 1ml foram colocadas em placas de Petri contendo meio ágar-água (AA). Após a germinação dos esporos, esporângios individuais foram transferidos para placas contendo meio B de centeio, com o auxílio de microscópio óptico, (Figura 5) (Caten & Jinks, 1968). As placas foram incubadas a 20°C por sete dias para o desenvolvimento das culturas puras. Essas placas foram repicadas para meios de cultura distintos, para a realização das avaliações.

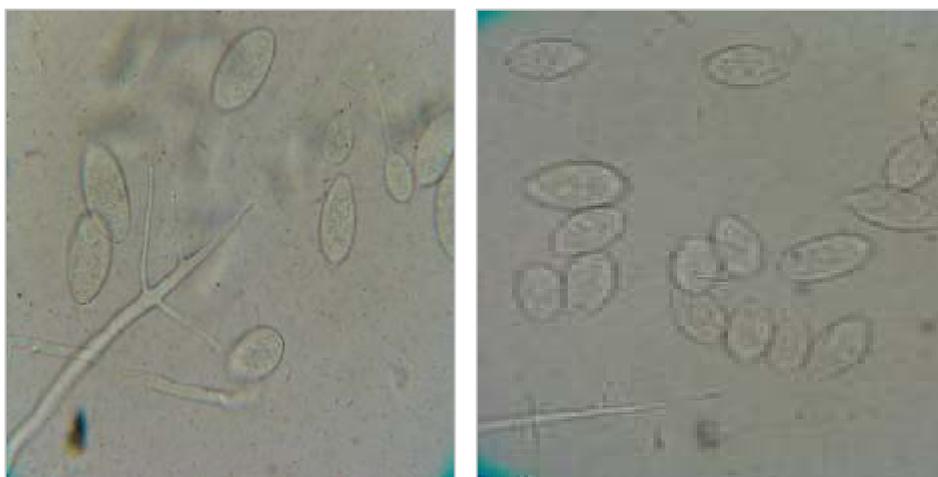


Figura 5 – Esporangióforos e esporângios de *Phytophthora infestans* em placas contendo meio B de centeio.

Para as avaliações de crescimento, discos de 1cm diâmetro do meio de cultura contendo hifas e esporos de culturas puras foram transferidos para placas de Petri contendo diferentes meios de cultura. Foram avaliados os meios de cultura suco V8 (suco feito 100% a base de vegetais contendo a combinação de tomate, beterraba, aipo, cenoura, alface, espinafre, salsa e agrião) (Romero & Gallery, 1963), meio B de centeio (Reis *et al.*, 2006; Caten & Jinks, 1968), batata-dextrose-ágar (BDA) (Mizubuti, 2001; Riker & Riker, 1936), cenoura-ágar (Tuite, 1969) e farinha de milho (Fernandez, 1993).

As culturas de *P. infestans* foram incubadas a 18°C. Foram avaliados o crescimento das colônias e o número de esporângios. O crescimento da colônia foi quantificado a cada 24h até 168h, com o auxílio de um paquímetro digital. Após o término das medições, suspensões de esporângios foram obtidas adicionando-se água destilada estéril (10ml) sobre as culturas nos diferentes meios de cultivo. Com auxílio de uma alça de Drigalski, estruturas vegetativas e reprodutivas formadas sobre o meio foram retiradas e homogeneizadas (Figura 6). Uma alíquota de 0,6ml da suspensão foi retirada para a contagem de esporângios em hemacitômetro, realizadas aos 8 dias após a inoculação (Figura 7).



Figura 6 – Preparo de suspensão de micélio e água destilada estéril para contagem de esporângios de *P. infestans*. a) Diluição e raspagem das estruturas com auxílio da alça de Drigalski; b) Homogeneização.



Figura 7 – Câmara de Neubauer (hemacitômetro) vista através do microscópio ótico (aumento de 10x), contendo hifas e esporângios de *P. infestans*.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com 10 repetições. Os dados foram submetidos à análise da variância e as médias comparadas pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade de erro. Para análise estatística do número de esporângios produzidos, os dados de contagem foram transformados para raiz quadrada de $x + 1,0$.

5.5. Resultados e Discussão

A análise da variância mostrou diferenças significativas entre os meios de cultura avaliados para crescimento e produção de esporângios de *P. infestans* (Tabelas 16 e 17). O crescimento de *P. infestans* depende do meio de cultura e do tempo de incubação. O meio B de centeio proporcionou o maior diâmetro médio das colônias de *P. infestans*, seguido do meio cenoura-ágar. Os meios BDA e V8 proporcionaram um diâmetro intermediário e o meio com farinha de milho foi o que promoveu o menor diâmetro médio da colônia (Tabela 15). Apesar de todos os meios avaliados terem proporcionado o crescimento micelial satisfatório de *P. infestans*, os meios B de centeio e cenoura-ágar proporcionaram o crescimento mais rápido da colônia, superior à taxa de crescimento médio (Figura 8). O meio B de centeio foi o mais eficiente em promover o crescimento da colônia até o completo preenchimento do diâmetro da placa de Petri, que ocorreu as 144 h após a inoculação.

Tabela 16 – Crescimento de *Phytophthora infestans* em diferentes meios de cultura.

| Meios de cultura | Diâmetro da colônia (mm) |
|------------------|--------------------------|
| Centeio B | 60,66 a* |
| Cenoura-ágar | 58,36 b |
| BDA | 53,79 c |
| V8 | 53,23 c |
| Farinha de milho | 47,40 d |
| Média | 54,68 |
| CV% | 3,49 |

* Médias seguidas por letras diferentes nas colunas diferem entre si pelo Teste de Duncan em nível de 5% de probabilidade de erro.

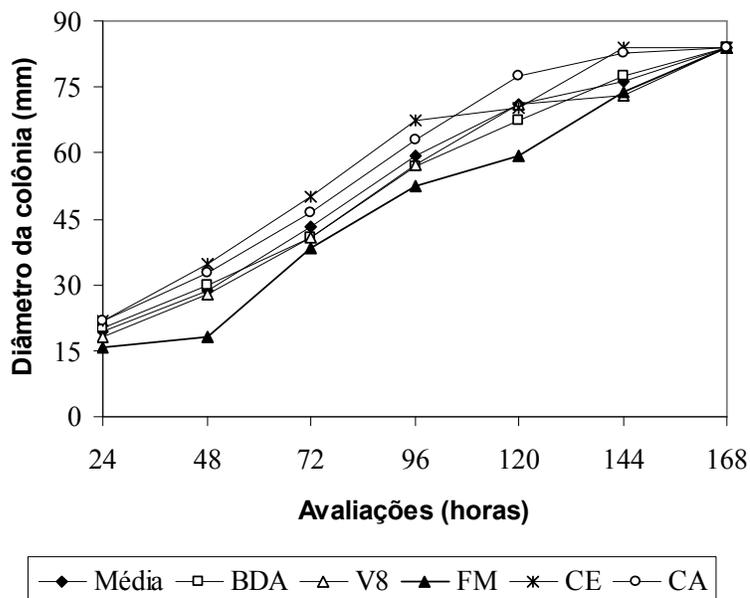


Figura 8 – Comportamento de *Phytophthora infestans* em diferentes meios de cultura. BDA = meio batata-dextrose-ágar; V8 = suco V8; FM = meio farinha de milho; CE = meio centeio B e CA = meio cenoura-ágar.

A composição do meio de cultura também afeta a esporulação de *P. infestans in vitro*. Os meios de cultura BDA e V8 foram os mais eficazes para a produção de esporângios (Tabela 17). Os meios de cultivo V8 e BDA são considerados satisfatórios para a esporulação de outros fitopatógenos, como *Cercospora piaropi* (Ávila & Pitelli, 2004). Nos meios cenoura-ágar e farinha de milho, a produção de esporângios foi muito baixa, com apenas 12% e 9% da produção média de esporângios obtida com o meio BDA, respectivamente. O meio B de centeio, que é comumente empregado para a produção de inóculo (Castro & Tavares, 1985), apresentou comportamento intermediário, com uma produção de 50% de esporângios obtidos com o meio BDA.

Tabela 17 – Produção de esporângios por *Phytophthora infestans* em diferentes meios de cultura aos oito dias após a inoculação.

| Meios de cultura | Número de esporângios | Concentração ajustada (esporângios ml ⁻¹) |
|-----------------------|-----------------------|----------------------------------------------------------|
| Meio BDA | 285,0 a* | 5,7 x 10 ⁻⁵ a |
| Meio V8 | 284,9 a | 5,7 x 10 ⁻⁵ a |
| Meio B de centeio | 134,9 b | 2,7 x 10 ⁻⁵ b |
| Meio cenoura-ágar | 34,9 c | 7,0 x 10 ⁻⁴ c |
| Meio farinha de milho | 26,3 c | 5,3 x 10 ⁻⁴ c |

CV% = 18,0

* Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Duncan a 1% de probabilidade de erro.

Na obtenção de novos isolados, o estabelecimento de colônias puras é mais rápido e uniforme quando é obtido a partir da germinação de esporângios, se comparados àquelas obtidas por culturas de zoósporos (Caten & Jinks, 1968). Culturas puras obtidas pelo isolamento monospórico apresentam variações na taxa de crescimento da colônia e na produção de esporângios, como observado neste estudo, quando mantidas em diferentes meios de cultura (Caten & Jinks, 1968). Variações também podem ocorrer em outras características como morfologia da colônia e viabilidade dos zoósporos em diferentes meios de cultura. Embora a morfologia da colônia e a viabilidade dos zoósporos não tenham sido avaliadas, uma aparente diferença entre a morfologia das colônias e arranjo da colônia na placa pôde ser observada para os diferentes meios de cultura avaliados neste estudo. A distribuição de *P. infestans* nas placas contendo meio BDA, centeio B e V8 foi mais uniforme, em relação aos meios cenoura-ágar e farinha de milho.

Notadamente, o meio B de centeio teve uma alta taxa de crescimento de *P. infestans*, concordando com outros autores (Mizubuti, 2001, Caten & Jinks, 1968). Entretanto, é importante ressaltar se a especificidade do meio de cultura é para o crescimento ou esporulação *in vitro*, já que o meio definido deverá suprir as necessidades metabólicas do patógeno (Mizubuti, 2001). Neste estudo ficou evidente que o maior problema não é o crescimento de micélio e sim a esporulação, como observado nos meios B de centeio, para taxa de crescimento, e BDA e V8, para produção de esporângios, o que confirma os resultados de baixa correlação entre taxa de crescimento e esporulação *in vitro* de um mesmo

grupo de isolados encontrada por Caten & Jinks (1968). Contrariando a literatura, os melhores resultados para a produção de esporângios do isolado de *P. infestans* não foi aquele obtido com extrato preparado a partir de grãos de centeio e trigo (Caten & Jinks, 1968). Além da eficiência do BDA para produção de esporângios é também de fácil obtenção e preparo, comparado com o suco V8 e o B de centeio.

As culturas de *P. infestans* apresentaram-se potencialmente variáveis em função dos meios de cultura. A capacidade para a variação parece estar independente da metodologia de obtenção, ou seja, do isolamento monospórico, em função de ser o mesmo isolado, a mesma cultura clonal. A grande variabilidade de *P. infestans* poderá ser acessada quando as culturas forem propagadas por meio de zoósporos individuais. Para tanto, novas metodologias deverão ser avaliadas e padronizadas, para permitir a germinação direta de zoósporos, que necessitam de condições diferenciadas, como temperaturas mais baixas (<18 °C). Os meios de cultura avaliados foram eficazes em promover o desenvolvimento das colônias de *P. infestans*, sendo que o meio B de centeio permitiu o crescimento máximo em menor tempo de incubação. Os meios BDA e V8 foram os mais eficazes para a produção de esporângios em quantidade suficiente para ser usado como inóculo em testes de resistência a requeima em casa de vegetação ou campo.

6. CONCLUSÕES GERAIS

Neste trabalho foram realizados cruzamentos entre clones ou cultivares resistentes a requeima com clones adaptados as condições de cultivo do Rio Grande do Sul ou de alta qualidade de tubérculo. Dos 2887 clones avaliados, 89 foram selecionados em cova única e avaliados também em oito covas, dos quais foram selecionados 19 clones que combinam aparência de tubérculo com gravidade específica e coloração clara de chips. Os parentais Tollocan, Stirling, SMIJ319-1 e SMIJ456-4Y foram os melhores para selecionar clones de alta qualidade de tubérculo nas primeiras gerações clonais. No entanto, muitos clones não selecionados em cova única teriam sido selecionados em oito covas, discordando de alguns resultados de literatura. Essa maior percentagem de descarte de clones que seriam posteriormente selecionados se deve, provavelmente, a baixa adaptação de alguns parentais e, principalmente, ao baixo número de clones selecionados na primeira geração clonal (89) e de clones de algumas famílias como Tollocan (1) e Stirling (6).

Os 19 clones avançados também foram avaliados para identificar clones potenciais para processamento industrial ou consumo de mesa. Os clones SMA501-1, SMA508-2, SMA508-4, SMA514-8, SMA514-10, SMA514-11 e SMA520-5 apresentaram boa aparência de tubérculo, coloração clara de chips, baixos teores de açúcares redutores, altos teores de matéria seca, amido e amilose em ambos os cultivos, apresentando alto potencial para processamento industrial. Os clones SMA504-2, SMA505-2, SMA505-7, SMA506-4, SMA513-2, SMA516-2, SMA517-2, SMA519-1 e SMA520-5 combinam boa aparência de tubérculo, aceitável coloração de chips, teores médios de matéria seca, amido e altos teores de amilose, sendo considerados com bom potencial para consumo de mesa. Portanto, dentre os clones avançados existem sete com potencial para processamento industrial e nove clones com potencial para consumo de mesa com qualidade de processamento na forma de fritas tipo palito, superior a cultivar Asterix, que é considerada padrão para o mercado do Rio Grande do Sul.

Em um programa de melhoramento para resistência a requeima, além dos estudos realizados para identificar os melhores parentais, populações segregantes são selecionadas para alta qualidade de tubérculo e maturidade precoce. Os clones avançados são então avaliados para acessar o nível de resistência a requeima. Para tal, é necessária a produção de inóculo de *P. infestans* em grandes quantidades para inocular plantas em casa de vegetação e campo. A produção de inóculo depende do isolamento, crescimento e manutenção de culturas puras de *P. infestans*. Neste trabalho foi verificado que os meios de cultura relatados na

literatura foram eficazes em promover o desenvolvimento das colônias de *P. infestans*, sendo que o meio B de centeio permitiu o maior crescimento em menor período de tempo após a incubação. Os meios de cultura BDA e V8 foram os mais eficazes para a produção de esporângios necessários para os testes de resistência a requeima.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGBLOR, A.; SCANLON, M. G. Effect of storage period, cultivar and two growing locations on the processing quality of French fried potatoes. **American Journal of Potato Research**, v. 79, p. 167-172, 2002.

AMARO, G. B. et al. Seleção precoce de clones de batata para caracteres de tubérculo. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 27, n. 3, p. 585-589, 2003.

ANDERSSON, L. **Studies on starch structure and differential properties of starch branching enzymes**. 2001. 36p. Doctoral Thesis. Department of Food Science, Upsala. Swedish University of Agricultural Science.

ANDREU, M. A. Associação entre características agronômicas da batata nos plantios de primavera e outono no Rio Grande do Sul. **Ciência e Tecnologia**, v. 29, n. 5, p. 925-929, 2005.

Associação Brasileira da Batata – ABBA. 2007. Disponível em <<http://abbabatatabrasileira.com.br>> Acesso em 12 de janeiro de 2007.

Batata Show – A revista da batata. Associação Brasileira da Batata. Itapetininga, SP Ano 6, n. 16, dezembro de 2006.

BENEDETTI, M. et al. Quebra de dormência de minitubérculos de batata. **Ciência Rural**, v. 35, n. 1, p. 31-38, 2005.

BISOGNIN, D. A. & DOUCHES, D. S. Early generation for potato tuber quality in progenies of late blight resistant parents. **Euphytica**, n. 127, p. 1-9, 2002.

BISOGNIN, D. A. Desenvolvimento de novas cultivares resistentes a requeima. In.: **IX Reunião Técnica de Pesquisa e Extensão da Cultura da Batata da Região Sul**. Santa Maria, RS, 25 e 26 de julho de 2006. Santa Maria : UFSM, CCR, Departamento de Fitotecnia, 2006. P.10-23.

BISOGNIN, D. A. et al. Half-sib progeny evaluation and selection of potatoes resistant to the US8 genotype of *Phytophthora infestans* from crosses between resistant and susceptible parents. **Euphytica**, v. 125, p. 129-138, 2002.

BISOGNIN, D. A. et al. Mapping Late Blight Resistance in *Solanum microdontum* Bitter. **Crop Science**, v. 45, p. 340-345, 2005.

BISOGNIN, D. A. et al. Quebra de dormência e de dominância apical em batata. **Ciência Rural**, v. 14, n. 1, p. 23-26, 1996

BISOGNIN, D. A. Melhoramento da batata para resistência a requeima. In.: Pereira, A. S. & Daniels, J. **O cultivo da batata na região Sul do Brasil**. Brasília, DF : EMBRAPA Informação Tecnológica. P. 125-142. 2003.

BISOGNIN, D.A. **Recomendações técnicas para o cultivo da batata no Rio Grande do Sul e Santa Catarina. Santa Maria** : Centro de Ciências Rurais, 63p. 1996.

BRADSHAW, J. E.; MACKAY, G. R. Breeding strategies for clonally propagated potatoes. In: Potatoes genetics. CAB International, Wallingford, UK, p. 467-497. 1994.

BURTON, W. G. et al. The physics and physiology of storage. In.: HARRIS, P. M. (Ed) **The Potato Crop: The Scientific Basis for Improvement**. Ed 2. Chapman and Hall, London, UK. 1992. P. 508-727.

BURTON, W. G. **The Potato** (Ed). 3 Ed. Longman Scientific and Technical, Essex. P. 470-504. 1989.

CAPEZIO, S.; HUARTE, M.; CARROZI, L. Selección por peso específico en generaciones tempranas en el mejoramiento de la papa. **Revista Latinoamericana de la Papa**, v. 5/6, n. 1, p. 54-63, 1992/1993.

CASTRO, C. & TAVARES, F. W. Método para isolamento e multiplicação de *Phytophthora infestans*. XVIII Congresso Brasileiro de Fitopatologia. Fortaleza, CE. In.: **Anais...** 1985.

CATEN, C. E. & JINKS, J. L. Spontaneous variability of isolates of *Phytophthora infestans*. I. Cultural variation. **Canadian Journal of Botany**, v. 46, p. 329-348, 1968.

Centro Internacional de la Papa – CIP. 1996. Late Blight: A global initiative. Disponível em: <<http://www.cipotato.org>>. Acesso em março/ 02.

CHALÁ, C. S. A. et al. Variabilidade genética para teor de açúcares redutores em batatas silvestres que ocorrem no sul do Brasil. **Ciência Rural**, v. 31, n. 1, p. 43-47, 2001.

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

CHEONG, W. Y.; GONVINDEN, N. Quality of potato during storage at three temperatures. Disponível em <<http://farc.gov.mu/amas98/s7.htm>> P. 1-5, 2004. Acesso em 08/06/2004.

CIPOTATO - Disponível em < <http://www.cipotato.org> >Consulta em janeiro/ 2007.

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

COLON, L.T & D.J. Budding. Components of resistance to late blight (*Phytophthora infestans*) in eight South American *Solanum* species. **European Journal of Plant Pathology**, v. 101, p. 441–456, 1995.

COSTA, L. C. **Avaliação de clones introduzidos de batata**. 2004. 56f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2004.

- CVIKROVA, M. *et al.* Possible involvement of abscisic acid, ethylene and phenolic acids in potato tuber dormancy. **Plant Physiology and Biochemistry**, n. 32, 685-691, 1994.
- DOUCHES, D. S. & FREIRE, R. Identification of genetic factors influencing chip color in diploid potato (*Solanum spp.*). **American Potato Journal**, v.71, p.581-590, 1994.
- DOUCHES, D. S. *et al.* Foliar reaction to *Phytophthora infestans* in inoculated potato field trials in Michigan. **American Journal of Potato Research**, v. 81, p. 443-448, 2004.
- DOUCHES, D.S.; MAAS, K.; JASTRZEBSKI, K.; CHASE, R.W. Assessment of potato breeding progress in the USA over last Century. **Crop Science**, n.36, p. 1544-1552. 1996.
- DRENTH, A.; JANSSEN, E. M.; GOVERS, F. Fomation and survival of oospores of *Phytophthora infestans* under natural conditions. **Plant Pathology**, v. 44, p. 86-94, 1995.
- ELLIS, R. P. *et al.* Starch production and industrial use. **Journal of science of food and agriculture**, v. 77, p.289-311, 1998.
- FAO** – Food and Agricultural Organization, disponível em < <http://fao.org> >, consulta em 07/12/2006.
- FELTRAN, J. C. *et al.* Esverdeamento em cultivares de batata aliado à escala visual. **Horticultura Brasileira**, v. 22, n. 4,p. 681-685, 2004.
- FERNANDEZ, M. R. **Manual para laboratório de fitopatologia**. Passo Fundo : EMBRAPA – CNPT. 1993. 128p.
- FIGLIORINI, C. A. Batata no Estado do Rio Grande do Sul. *In*: PEREIRA, A.S.; DANIELS, J. **O cultivo da batata na região sul do Brasil**. Brasília, DF : Embrapa Informação Tecnológica, 2003. Parte 1, p.44-52.
- FIGLIORINI, C. A. *In*: **IX Reunião Técnica de Pesquisa e Extensão da Cultura da Batata da Região Sul**. Santa Maria, RS, 25 e 26 de julho de 2006. Santa Maria : UFSM, CCR, Departamento de Fitotecnia, 2006. P.10-23.
- FOLEY, M. E.; FENNIMORE, S. A. genetic basis for seed dormancy. **Seed Science Research**, n. 8, p. 173-182, 1998.
- FONTES, P. C. R.; FINGER, F. L. Dormência dos tubérculos, crescimento da parte aérea e tuberação da batateira. *Informe Agropecuário*, v. 20, n. 197, p.24-29, 1999.
- FRANCIS, D. & SORREL, D. A. The interface between the cell cycle and plant growth regulators: a mini review. **Plant Growth Regulation**, n. 33, p. 1-12, 2001.
- FRANCO, C. M. L. *et al.* **Cultura de tuberosas amiláceas latino-americanas**. São Paulo : Fundação Cargill, v. 1, 2002. 221p.
- FREITAS, S. T. *et al.* Qualidade para processamento de clones de batata cultivados durante a primavera e o outono no Rio Grande do Sul. **Ciência Rural**, v.26, n.1, p. 80-85, 2006.

FRY, W. E. & GOODWIN, S. B. Re-emergence of potato and tomato late blight in the United States. **Plant Disease**, v. 87, 1349-1357, 1997.

FRY, W. E. & S.B. GOODWIN, Resurgence of the Irish Potato famine fungus. **Bioscience**, v.47, p.363-371. 1997.

GILBERT, G. A.; SPRAGG, S. P. Iodometric determination of amylose. In.: WHISTLER, R. L. (Ed). **Methods in carbohydrate chemistry starch**. New York: Academic Press, 1964. V. 4, p. 168-169.

GLENNON, L. The potato in the food business – past to present. 2000. Disponível em: <<http://www.potatocongress.org/articles>>. Acesso em mar/2000.

GOODWIN, S. B.; SCHNEIDER, R. E.; FRY, W. E. Use of cellulose-acetate electrophoresis for rapid identification of allozyme genotypes of *Phytophthora infestans*. **Plant Disease**, v. 79, p. 1181-1185, 1995.

HAYES, R. J. & THILL, C. A. Selection for potato genotypes from diverse progenies that combine 4°C chipping with acceptable yields, specific gravity and tuber appearance. **Crop Science**, n. 42, p. 1343-1349, 2002.

HAYNES, K. G. & WILSON, D. R. Correlations for yield and specific gravity between potato tuberling and second year field generation. **American Potato Journal**, n. 69, p. 817-826, 1992.

HEMBERG, T. Potato rest. In.: LI, P. H. **Potato Physiology**. Orlando : Academic Press, 1985. P. 353-388.

HEMBERG, T. Significance of growth inhibiting substances and auxins for the rest period of potato tuber. **Physiology Plant**, n. 2, p. 24-36, 1949.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE. 2005. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br>>. Acesso em 20 de dezembro de 2006.

KAMOUN, S. et al. A gene encoding a protein elicitor of *Phytophthora infestans* is down-regulated during infection of potato. **Molecular Plant Microbe Interactions**, v. 10, p. 13-20, 1997.

KIM, Y. S. Screening potato starch for novel properties using differential scanning calorimetry. **Journal of Food Science**, v. 60, n. 5, p. 1060-1065, 1995.

KIRK, W. W. et al. Evaluation of potato late blight management utilizing host plant resistance and reduced rates and frequencies of fungicide applications. **Crop Protection**, n. 24, p. 961-970, 2005.

KOOMAN, P. L. et al. Effects of climate on different potato genotypes. 2. Dry matter allocation and duration of the growth cycle. **European Journal of Agronomy**, v. 5, p. 207-217, 1996.

LEONEL, M. Processamento de batata: fécula, flocos, produtos de extrusão. 2005. Homepage:<http://abbabatatabrasileira.com.br/minas2005>. Acesso em 03 de Janeiro de 2007.

LONG, A. R. & CHISM, G. W. Physical and chemical methods of evaluation foods. Acesso em 08 de junho de 2004. Online. Disponível em <http://food.oregonstate.edu/research/test/reducing.html>.

LULAI, E. C. & ORR, P. H. Influence of potato gravity specific on yield and oil content chips. **American Potato Journal**, v. 56, p. 379-390, 1979.

LUNARDON, M. A cadeia produtiva da batata no Paraná. In.: **IX Reunião Técnica de Pesquisa e Extensão da Cultura da Batata da Região Sul**. Santa Maria, RS, 25 e 26 de julho de 2006. Santa Maria : UFSM, CCR, Departamento de Fitotecnia, 2006. P.69-78.

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

MARIS, B. Studies on maturity, yield, under water weight and some other characters of potato progenies. **Euphytica**, v. 18, p.279-319, 1969.

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

MELO, P. E.; BUSO, J. A.; LOPES, C. A. Rede melhor batata: foi dado o primeiro passo! Revista Batata Show. Itapetininga, SP. Ano 6, n. 16, p.7-8, 2006.

MENEZES, C.B.; PINTO, C.A.B.P., NURMBERG, P.L. & LAMBERT, E.S. Avaliação de genótipos de batata (*Solanum tuberosum* L.) nas safras “das águas” e de inverno no sul de Minas Gerais. **Ciência e Agrotecnologia**, 23:776-783. 1999.

MIZUBUTI, E. S. G. Requeima ou mela da batata e do tomate. In.: LUZ, E. D. M. N. et al. **Doenças causadas por *Phytophthora infestans* no Brasil**. Campinas, SP : Livraria e Editora Rural – Ltda. P. 101-171. 2001.

NEELE, A. E. F.; NAB, H. J.; LOUWES, K. M. Components of visual selection in early clonal generations of a potato breeding programme. **Plant Breeding**, n. 106, p. 89-98, 1991.

NODA, T. et al. The effect of harvest dates on the starch properties of various cultivars. **Food Chemistry**, v. 86, n.1, p. 119-125, 2004.

PASTORINI, L. H. et al. Produção e teor de carboidratos não estruturais em tubérculos de batata obtidos em duas épocas de plantio. **Horticultura Brasileira**, v. 21, n.4, p. 660-665, 2003.

PEREIRA, A. S. Melhoramento genético. In.; PEREIRA, A. S.; DANIELS, J. **O cultivo da batata na região sul do Brasil**. Brasília, DF : Embrapa Informação Tecnológica, 2003. Parte 2. P. 105-124.

PEREIRA, A. S.; DANIELS, J. **O cultivo da batata na região sul do Brasil**. Embrapa Clima Temperado. Brasília, DF. 2003. 567 p.

PETERS, R.D. et al. Novel genotypes of *Phytophthora infestans* in Canada during 1994 and 1995. **American Journal Potato Research**, v. 78, p.39-45, 2001.

PINELI, L. L. O. et al. Caracterização química e física de batatas 'Ágata' minimamente processadas, embaladas sob diferentes atmosferas modificadas ativas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, n. 10, p. 1035-1041, 2005.

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

PRANGE, R. K. *et al.* Alternatives t currently used potato sprout suppressants. **Postharvest News & Info**, n. 8, p. 37-41, 1997.

REIS, A. et al. Monitoramento da população de *Phytophthora infestans* na região da zona da mata de minas gerais de 1998 a 2000. **Fitopatologia Brasileira**, v. 27, n. 6, p. 614-620, 2002.

REIS, A.; RIBEIRO, F. H. S.; MIZUBUTI, E. S. G. Caracterização de isolados de *Phytophthora infestans* do Distrito Federal e de Goiás. **Fitopatologia Brasileira**, n. 31, p. 270-276, 2006.

RIKER, A. J. & RIKER, R. S. **Introduction to research on plant diseases**. St.louis, Mo., John S. Swift Co., 1936.

ROMERO, S. & GALLEGLY, M. E. Oogonium germination in *Phytophthora infestans*. **Phytopathology**, v. 53, p. 899-903, 1963.

RYLSKI, I. et al. Dual effects of ethylene on potato dormancy and sprout growth. **Plant Physiology**, v. 53, p.658-662, 1974.

SALAMONI, A. T. et al. Variância genética de açúcares redutores e matéria seca e suas correlações com características agrônômicas em batata. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, n. 7, p. 1441-1445, 2000.

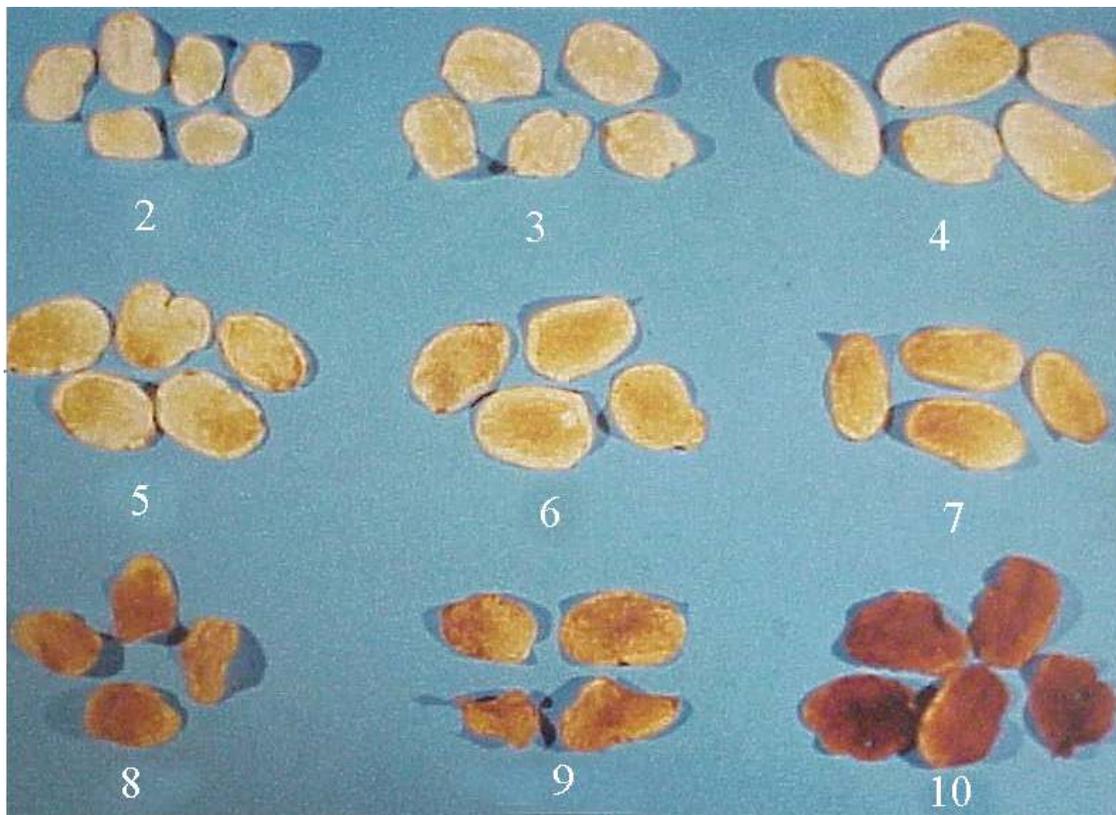
SCOTT, A. J.; KNOTT, M.A. A cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. **Biometrics**, v. 30, n. 2, p. 507-512, 1974.

SILVA, G. O. et al. Early generation selection for tuber appearance affects yield components. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, n. 6, p. 73-78, 2006.

SONNEWALD, U. Control of potato tuber sprouting. **Trends in Plant Science**, v. 6, n. 8, p. 333-335, 2001.

- SORCE, C. R. et al. Changes in free and conjugated IAA during dormancy and sprouting of potato tubers. **Australian Journal of Plant Physiology**, n. 27, p. 371-377, 2000.
- SUTTLE, J. C. & HULSTRAND, J. F. Role of endogenous abscisic acid in potato microtuber dormancy. **Plant Physiology**, n. 105, p. 891-896, 1994.
- SUTTLE, J. C. Auxin-induced sprout growth inhibition: Role of endogenous ethylene. **American Journal of Potato Research**, n. 80, p. 303-309, 2003.
- SUTTLE, J. C. Comparing potato tuberization and sprouting opposite phenomena? **American Potato Journal Research**, 2004. Disponível em < <http://www.findarticles.com> >, acesso em 20/11/2006.
- SUTTLE, J. C. Involvement of endogenous gibberellins in potato tubers dormancy and early sprout growth: a critical evaluation. **Journal of Plant Physiology**, n. 161, p. 157-164, 2004b.
- SUTTLE, J. C. Involvement of ethylene in potato microtuber dormancy. **Plant Physiology**, n. 118, p. 843-848, 1998.
- SUTTLE, J. C. Physiological regulation of potato tuber dormancy. **American Journal of Potato Research**, n. 81, p. 253-262, 2004a.
- SUTTLE, J. C. Postharvest changes in endogenous ABA levels and ABA metabolism in relation to dormancy in potato tubers. **Physiologia Plantarum**, n 95, p. 233-240, 1995.
- TAI, G. C. C. & YOUNG, D. A. Early generation selection for important agronomic characteristics in a potato breeding population. **American Potato Journal**, v. 61, p. 419-434, 1984.
- TAI, G. C. C. Effectiveness of visual selection for early generation seedlings of potato. **Crop Science**, n. 15, p. 15-19, 1975.
- THILL, C. A.; PELOQUIM, S. J. A breeding method for accelerated development of cold chipping clones in potato. **Euphytica**, n. 84, p. 73-80, 1995.
- TUITE, J. Plant pathological methods fungi and bacteria. Minn., Burgess Publish. Co. 1969.
- UMAERUS V. *et al.* Control of Phytophthora by host resistance: problems and progress. In.: ERWIN, D. C.; BARTINICKI-GARCIA, S.; TSAO, P. H. (Eds). **Phytophthora infestans: Its biology, taxonomy, ecology and pathology**. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota. 1983. P. 315-326.
- VAN den BERG. et al. QTL analysis of potato tuber dormancy. **Theory Applied Genetics**, n. 93, p. 317-324, 1996.
- ZORZELLA, C. A.; VENDRÚSCULO, J. L.; TREPTOW, R. O. Qualidade sensorial de "chips" de diferentes genótipos de batatas (*Solanum tuberosum* L.), cultivos de primavera e outono no Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira Agrociência**, v.9, n.1, p. 57-63, 2003a.

ZORZELLA, C. A.; VENDRÚSCULO, J. L. S.; TREPTOW, R. O. ALMEIDA, T. L. Caracterização física, química e sensorial de genótipos de batata processados na forma de chips. **Brasilian Journal of Food Technology**, v.6, p. 15-24, 2003b.

ANEXO A – Escala visual para avaliação da coloração de chips

Fonte: Snack Food Corporation

Valores entre 2 e 4 são considerados excelentes; valores até 5 são considerados aceitáveis para comercialização; valores superiores a 5 são considerados chips escuros, não são aceitáveis para a comercialização.

ANEXO B – Constituição dos meios usados para cultivo e esporulação de *P. infestans*.**Meio cenoura-ágar** (Tuíte., 1969)

200g de cenoura cozida, triturada e peneirada

20g de ágar

1L de água destilada

Meio farinha de milho (Fernandez, 1993)

60g de farinha de milho amarela fina

15g de ágar

1L de água destilada

Misturar a farinha com a água destilada com agitação constante, à temperatura de 70°C por 1 hora. Após este período, restabelecer o volume com água destilada para 1L e adicionar ágar.

Meio contendo o suco de oito vegetais (V8) (Romero & Gallery, 1963)

200ml de suco de oito vegetais (V8) industrializado

3g de carbonato de cálcio (CaCO₃)

17g de ágar

Meio Batata-dextrose-ágar (BDA) (Riker & Riker, 1936)

200g de batata

15g de ágar

As batatas foram cozidas até ponto de salada e coadas. Após o restabelecimento do volume com água destilada para 1L, adiciona-se o ágar.

Meio B de centeio (Caten & Jinks, 1962)

60g de grãos de centeio

15g de ágar

20g de sacarose.

O centeio foi cozido por 1h, coado e, após o restabelecimento do volume com água destilada para 1L, adicionou-se o ágar e a sacarose.

Após o preparo, todos os meios foram autoclavados a 120°C por 20 minutos.