

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA

MAPEAMENTO GENÉTICO DO CARÁTER NUDA EM AVEIA HEXAPLOIDE

Kelly Pellizzaro
Mestre em Produção Vegetal/UEM

Tese apresentada como um dos requisitos
à obtenção do Grau de Doutor em Fitotecnia
Ênfase Melhoramento e Biotecnologia Vegetal

Porto Alegre (RS), Brasil
Abril de 2014

CIP - Catalogação na Publicação

Pellizzaro, Kelly
Mapeamento genético do caráter nuda em aveia
hexaploide / Kelly Pellizzaro. -- 2014.
82 f.

Orientador: Luiz Carlos Federizzi.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio
Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Programa de
Pós-Graduação em Fitotecnia, Porto Alegre, BR-RS, 2014.

1. Aveia nuda. 2. Mapeamento genético. 3.
Marcador SNP. I. Federizzi, Luiz Carlos, orient. II.
Título.

KELLY PELLIZZARO
Engenheira Agrônoma - UNISUL
Mestre em Agronomia - UEM

TESE

Submetida como parte dos requisitos
para obtenção do Grau de

DOUTOR EM FITOTECNIA

Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia
Faculdade de Agronomia
Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Porto Alegre (RS), Brasil

Aprovado em: 15.04.2014
Pela Banca Examinadora

Homologado em: 14.07.2014
Por

LUIZ CARLOS FEDERIZZI
Orientador - PPG Fitotecnia

GILMAR ARDUINO BETTIO MARODIN
Coordenador do Programa de
Pós-Graduação em Fitotecnia

CARLA ANDRÉA DELATORRE
PPG Fitotecnia/UFRGS

ITAMAR CRISTIANO NAVA
PPG Fitotecnia/UFRGS

CLAUDIA ERNA LANGE
IRGA

IVAN SCHUSTER
COODETEC - Cooperativa Central
de Pesquisa Agrícola/PR

PEDRO ALBERTO SELBACH
Diretor da Faculdade
de Agronomia

DEDICATÓRIA

Wilson (*in memoriam*) e Maria Silvia.
A vocês, que me deram a vida e me
ensinaram vivê-la com hombridade, dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus por ser luz constante em minha vida;

Em especial, ao professor Luiz Carlos Federizzi por ser um orientador incomparável, um pai nos momentos mais difíceis e por todos os conhecimentos, profissionais e de vida que me proporcionou;

A sociedade brasileira e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo apoio financeiro.

Ao professor Itamar C. Nava, pela ajuda imprescindível na realização deste trabalho, e pela amizade sincera;

Aos professores Marcelo T. Pacheco e a professora Carla A. Delatorre pela colaboração e pelos ensinamentos;

Aos funcionários da Estação experimental, Miguel, Adriano e Paulo pela ajuda no trabalho durante os quatro anos. E aos funcionários, Alice, Adroaldo, Karina, Fabio, Gustavo e Marisa pela atenção, colaboração e amizade;

A minha querida professora de Inglês Liane, que participou da caminhada e além dos ensinamentos ofereceu sua amizade;

Aos meus queridos amigos de jornada por terem tornado o caminho mais alegre, Adri, Ana Paula, André, Andrew, Cata, Ceci, Dani, Glacy, Giliardi, Martim, Sibila, Sil, Thanise, Pisoni e Renan. Sem vocês não teria a mesma graça;

A minha família amada, meus irmãos, minha mãe, meu pai e minha grande amiga e irmã de alma, Ivana, que mesmo longe sempre estiveram ao meu lado;

Ao meu namorado pelo apoio, carinho constante e amor verdadeiro;

Aos demais colegas que de alguma forma contribuíram para este trabalho;

MAPEAMENTO GENÉTICO DO CARÁTER NUDA EM AVEIA HEXAPLOIDE ¹

Autora: Kelly Pellizzaro

Orientador: Luiz Carlos Federizzi

RESUMO

A aveia nuda (*Avena sativa* subsp. *nudisativa*) é caracterizada por produzir espiguetas multiflora e grãos sem casca. O caráter nuda em aveia apresenta expressividade incompleta, apresentando grãos com casca junto com grãos sem casca, este fator a torna menos competitiva no mercado em comparação à aveia com casca (*Avena sativa* L.). O objetivo deste trabalho foi estimar o número de genes que governam o caráter multiflora/nuda, desenvolver mapas genéticos de ligação a partir de marcadores SNP e identificar marcadores moleculares ligados a este caráter em duas populações de aveia. As populações de progênes utilizadas, F_{2:5} e F_{2:6} são oriundas dos cruzamentos: UFRGS 01B7114-1-3 (espiguetas normal e grãos com casca) x UFRGS 006013-1 (espiguetas multiflora e grãos sem casca) e URS Taura (espiguetas normal e grãos com casca) x UFRGS 017004-2 (espiguetas multiflora e grãos sem casca). Os genótipos parentais com a característica multiflora/nuda foram avaliados nas estações de crescimento de 2012 e 2013. As linhagens das progênes F_{2:5} e F_{2:6} foram avaliadas visualmente quanto ao tipo de panícula e classificadas em: (i) panícula normal (grãos com casca), (ii) panícula multiflora (grãos sem casca) e, (iii) segregante, quando ambos os fenótipos foram observados entre plantas de uma mesma linhagem. Através da plataforma de genotipagem "GoldenGate Genotyping Assay", foram identificados marcadores SNP nos dois cruzamentos. De acordo com a avaliação fenotípica da característica multiflora/nuda nos genótipos parentais, observou-se que houve variação na expressão desta característica entre os genótipos parentais e entre os anos avaliados. Com a análise genética nas duas populações foi observado que na população UFRGS 01B7114-1-3 x UFRGS 006013-1, um gene governa o caráter multiflora/nuda e na população URS Taura x UFRGS 017004-2, dois genes atuam sobre a característica. Os dados fenotípicos obtidos em cada população foram acrescentados ao conjunto de marcadores moleculares, polimórficos entre os genótipos parentais e com padrão de segregação esperado de acordo com as proporções de Mendel, para o desenvolvimento dos mapas genéticos de ligação. Na população UFRGS 01B7114-1-3 x UFRGS 006013-1, os marcadores fenotípicos foram mapeados no grupo de ligação 32 e na população URS Taura x UFRGS 017004-2, no grupo de ligação 15 juntamente com outros 8 marcadores moleculares. Este resultado é pioneiro em aveia nuda e, embora iniciais, representam avanço significativo no entendimento dos fatores genéticos e moleculares que envolvem a característica multiflora/nuda em aveia hexaplóide.

¹ Tese de Doutorado em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil, (82 p.) Abril, 2014.

GENETIC MAPPING OF NAKED TRAIT IN HEXAPLOID OATS ¹

Author: Kelly Pellizzaro

Adviser: Luiz Carlos Federizzi

ABSTRACT

The naked oat (*Avena sativa* subsp. *Nudisativa*) is characterized by producing multiflora spikelets and naked kernels. The naked oat trait has incomplete expressivity, showing naked kernels with covered grain, this factor makes it less competitive in the market compared to *Avena sativa* L.. The aim of this study was to estimate the number of genes that govern the multiflorous/naked character, developing genetic linkage maps from SNP markers and identify molecular markers linked to this trait in two oat populations. The F_{2:5} and F_{2:6} populations used are derived from the crosses: UFRGS 01B7114-1-3 (normal spikelet and covered grain) x UFRGS 006013-1 (multiflorous spikelet and naked grain) and URS Taura (normal spikelet and covered grain) x UFRGS 017004-2 (multiflorous spikelet and naked grain). Parental genotypes with characteristic multiflorous/naked were evaluated during the growing seasons of 2012 and 2013. The F_{2:5} and F_{2:6} progenies were visually evaluated about the type of panicle and classified as: (i) Normal panicles (covered grain), (ii) panicle multiflorous (naked grain), and (iii) segregating, when both phenotypes were observed between plants of the same progenies. Through genotyping "GoldenGate Genotyping Assay" platform, SNP markers were identified in the two crosses. According to the phenotypic evaluation of multiflorous/naked trait in the parental genotypes, it was observed that there was a variation in the expression of this trait from parental genotypes and the different years. With genetic analysis in both populations was observed in the UFRGS-01B7114 1-3 x UFRGS 006013-1 population that a gene governs the character multiflorous/naked and URS Taura x UFRGS 017004-2 population two genes governs this trait. The phenotypic data obtained for each population were added to a set of molecular markers polymorphic between the parents and with segregation pattern expected according to Mendel's ratios for the development of genetic linkage maps. In the UFRGS 01B7114 1-3 x UFRGS 006013-1 population, the phenotypic markers were mapped on linkage group 32 and the URS Taura x UFRGS 017004-2 population, in linkage group 15 together with 8 molecular markers. This result is a pioneer in naked oats and although early, represent significant advances in understanding the genetic and molecular factors related to characteristic multiflorous/naked in hexaploid oats.

¹Doctoral thesis in Agronomy, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (82 p.) April, 2014.

SUMÁRIO

	Página
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1 <i>Avena sativa</i> L. origem e domesticação	3
2.2 <i>Avena sativa</i> L. como espécie cultivada	4
2.3 Características morfológicas	6
2.4 Aveia nuda.....	7
2.5 Bases genéticas do caráter nuda	11
2.6 Marcadores SNP em plantas.....	15
2.7 Mapeamento molecular em aveia.....	17
2.8 Aspectos moleculares do desenvolvimento floral em cereais.....	20
3 MATERIAL E MÉTODOS	24
3.1 Local, clima e solo	24
3.2 Fenotipagem dos genótipos parentais.....	24
3.3 Avanço de gerações	26
3.4 Avaliação fenotípica das progênies $F_{2:5}$ e $F_{2:6}$ sob condições de campo...29	
3.5 Determinação do número de genes controlando o caráter multiflora/nuda30	
3.6 Avaliação da frequência de espiguetas mosaico em progênies $F_{2:6}$ do cruzamento URS Taura x UFRGS 017004-2 com a característica multiflora.....	31
3.7 Genotipagem com marcadores SNPs em linhagens recombinantes de aveia.....	32
3.8 Construção dos mapas genéticos de ligação	34
3.9 Ancoragem dos grupos de ligação	36
4 RESULTADOS	37
4.1 Avaliações fenotípicas	37
4.1.1 Avaliação da frequência de espiguetas mosaico em genótipos parentais com característica de grãos nuda.....	37
4.1.2 Avaliação fenotípica das progênies $F_{2:5}$ e $F_{2:6}$ sob condições de campo.....	40
4.1.2.1 Cruzamento I: UFRGS 01B7114-1-3 x UFRGS 006013-1	40
4.1.2.2 Cruzamento II: URS Taura x UFRGS 017004-2	41
4.1.3 Avaliação da frequência de espiguetas mosaico em progênies $F_{2:6}$ do cruzamento URS Taura x UFRGS 017004-2 com a característica multiflora.....	42
4.2 Avaliações genotípicas	43

	Página
4.2.1 Mapas genéticos de ligação.....	43
4.2.2 Análise dos dados genotípicos.....	45
4.2.2.1 Cruzamento I: UFRGS 01B71114-1-3 x UFRGS 006013-1.....	45
4.2.2.2 Cruzamento II: URS Taura x UFRGS 017004-2.....	51
4.2.3 Ancoragem dos grupos de ligação ao mapa consenso.....	53
5 DISCUSSÃO.....	56
6 CONCLUSÕES.....	72
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	73
8 VITA.....	82

RELAÇÃO DE TABELAS

	Página
1. Genealogia dos genótipos parentais utilizados nos cruzamentos I e II. EEA/UFRGS. Eldorado do Sul, RS, 2010.....	27
2. Frequências observadas e esperadas para o caráter multiflora em progênes de aveia F _{2:5} e F _{2:6} , do cruzamento UFRGS 01B7114-1-3 x UFRGS 006013-1. EEA/UFRGS, Eldorado do Sul, RS.....	41
3. Frequências observadas e esperadas para o caráter multiflora em progênes F _{2:5} e F _{2:6} . Cruzamento URS Taura x UFRGS 017004-2. EEA/UFRGS, Eldorado do Sul, RS, 2012 e 2013.....	42
4. Frequência de espiguetas mosaico, em porcentagem (%), em linhagens segregantes de aveia do cruzamento URS Taura x UFRGS 017004-2 em progênes F _{2:6} . EEA/UFRGS, Eldorado do Sul, RS, 2012 e 2013.....	43
5. Dados genotípicos e fenotípicos nas linhagens recombinantes. do Cruzamento UFRGS 01B71114-1-3 x UFRGS 006013-1 para o loco GMI_ES17_c5923_221. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2014.....	51
6. Dados genotípicos e fenotípicos nas linhagens recombinantes com alelos dos genótipos parentais. Cruzamento URS Taura x UFRGS 017004-2. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2014.....	52
7. Dados genotípicos e fenotípico nas linhagens com alelos recombinantes. Cruzamento URS Taura x UFRGS 017004-2. UFRGS, Porto Alegre, RS.....	53
8. Ancoragem dos grupos de ligação aos respectivos cromossomos do mapa consenso da aveia.....	54

RELAÇÃO DE FIGURAS

	Página
1. Desenho representativo de uma panícula do genitor multiflora/nuda com formação de espiguetas mosaico. Eldorado do Sul, RS, 2013 e 2014.....	25
2. Tipos de panículas encontradas nas linhagens segregantes. Eldorado do Sul, RS, 2012 e 2013.....	30
3. Porcentagem de espiguetas mosaico na panícula do genitor multiflora/nuda UFRGS 006013-1. Eldorado do Sul, RS, 2012 e 2013.....	38
4. Distribuição das espiguetas mosaico nos terços, superior, médio e inferior em panículas do genitor multiflora/nuda UFRGS 006013-1. Eldorado do Sul, RS, 2012 e 2013.....	39
5. Mapa genético de ligação com marcadores SNP. (I) cruzamento UFRGS 01B71114-1-3 x UFRGS 006013-1; (II) cruzamento URS Taura x UFRGS 017004-2. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2014.....	46
6. Ancoragem do grupo de ligação 15 com o cromossomo 16A do mapa consenso da aveia. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2014.....	55

1 INTRODUÇÃO

A aveia branca, *Avena sativa* L. é um cereal de múltiplos propósitos. Como espécie cultivada oferece inúmeros benefícios para o sistema de produção agrícola, sendo utilizada como alternativa para a rotação de culturas, proporcionando melhoria nas propriedades físicas, químicas e biológicas do solo. Como alimento, possui excelentes qualidades nutricionais e funcionais para alimentação humana e animal. A presença da fibra solúvel β -glicana contribui para a diminuição nos níveis séricos de colesterol total. Além de possuir valores elevados dos aminoácidos essenciais lisina, metionina e cistina, apresenta níveis mais altos de proteínas que outros cereais, como: arroz, milho, cevada, centeio e trigo.

O percentual de casca em aveia, corresponde a mais de 25% do peso total do grão colhido, este valor é considerado alto e muitas vezes indesejável. Uma subespécie da *Avena sativa* L., denominada de aveia nuda (*Avena sativa* subsp. *nudisativa*) apresenta vantagem por produzir grãos sem casca. Apesar de seu cultivo ser relativamente longo na agricultura, a produção de aveia nuda no cenário mundial é baixa e no Brasil ainda não há variedades no mercado.

A aveia nuda possui morfologia diferente da aveia branca comum, além de produzir grãos sem casca, a panícula apresenta formação de espiguetas multiflora. A expressão da característica de grãos sem casca é variável mesmo

em genótipos homozigotos, indicando que esta característica é influenciada pelo ambiente, o que representa uma dificuldade para o melhoramento genético.

Os mecanismos genéticos que controlam a expressão do caráter nuda em aveia já foram investigados em diversos estudos mas, ainda não foram elucidados. Alguns autores sugerem atuação de um único gene, porém outros trabalhos relatam a existência de até quatro genes controlando o caráter. Também há hipóteses da atuação de genes modificadores agindo juntamente com genes maiores. Trabalhos moleculares são escassos na literatura e, até o momento, não há uma resposta clara para o tema. A identificação do número de genes envolvidos no caráter em estudo, bem como o conhecimento da variação na expressão desta característica em diferentes genótipos e a identificação de marcadores moleculares ligados a regiões genômicas associadas a este caráter serão de grande importância para o melhoramento genético.

Diante do exposto, os objetivos deste trabalho foram:

- a) Caracterizar a frequência de espiguetas que possuem grãos com casca nas panículas dos genótipos parentais, UFRGS 006013-1 e UFRGS 017004-2 que possuem a característica multiflora/nuda;
- b) Analisar a segregação da característica multiflora/nuda em progênies $F_{2:5}$ e $F_{2:6}$ oriundas dos cruzamentos: UFRGS 01B7114-1-3 x UFRGS 006013-1 e URS Taura x UFRGS 017004-2 e estimar o número de genes que controlam esta característica nas duas populações;
- d) Desenvolver mapas genéticos de ligação nas populações de mapeamento, UFRGS 01B7114-1-3 x UFRGS 006013-1 e URS Taura x UFRGS 017004-2, a partir de marcadores SNP e identificar marcadores ligados aos marcadores fenotípicos da característica multiflora/nuda.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 *Avena sativa* L. origem e domesticação

O gênero *Avena* pode apresentar espécies com três níveis de ploidia: diplóides ($2n=2x=14$ cromossomos), tetraplóides ($2n=4x=28$ cromossomos) e hexaplóides ($2n=6x=42$ cromossomos), com número básico de cromossomos igual a sete (Matz, 1969). A aveia branca (*Avena sativa* L.), pertence à família Poaceae, tribo Avenae, é hexaplóide e dentre as gramíneas cultivadas tem o maior genoma (Thomas, 1992). O genoma hexaplóide da aveia é uma combinação de três diferentes genomas AA, CC, DD provenientes de três espécies ancestrais diplóides (Loskutvov & Rines, 2011). A formação da espécie hexaplóide se deu naturalmente por meio de dois eventos distintos. Primeiramente, o cruzamento entre duas espécies diplóides, formando um híbrido, seguida da duplicação cromossômica formando uma espécie tetraplóide (provavelmente AACC). Posteriormente, o cruzamento da espécie tetraplóide com uma espécie diplóide formando um híbrido, acompanhado da duplicação cromossômica para formar a espécie hexaplóide (AACCCDD). Estudos citogenéticos a partir de populações selvagens do Mediterrâneo concluíram que *Avena pilosa* e *Avena strigosa* são as variantes básicas dos genomas C e A, respectivamente (Rajhathy, 1963). O genoma DD é bastante similar ao genoma A e é provável que seja apenas uma variação do mesmo, sendo que nenhuma espécie diplóide conhecida o possui (Rines *et al.*, 2006).

Como o trigo e a cevada, a maioria das espécies de aveia são nativas da bacia do Mediterrâneo ou da região do Crescente Fértil no Sudoeste da Ásia e do Oriente Médio (Murphy & Hoffman, 1992). No entanto, estudos mais recentes relatam que a espécie *Avena sativa* L. juntamente com outras espécies de *Avena*, originaram-se na Ásia Menor (Loskutov, 2008), hoje denominada de península de Anatólia, situada entre o mar Negro e o mar Mediterrâneo. A domesticação ocorreu muito mais tarde que o trigo e a cevada e provavelmente fora do centro de diversidade (Murphy & Hoffman, 1992). Diversas espécies de *Avena* dispersaram-se a partir do centro de origem como planta invasora do trigo e da cevada no final do período pré-histórico, como ocorreu com *A. strigosa* na Espanha, *A. byzantina* na Etiópia e *A. sativa* na Turquia (Loskutov, 2008).

2.2 *Avena sativa* L. como espécie cultivada

Os primeiros registros de aveia cultivada são do período da ocupação Romana na Europa. Escritos do século 18 descrevem a aveia sendo utilizada como ração para cavalos e gado na Inglaterra e outras partes da Europa. E como importante alimento da dieta humana na Escócia, País de Gales e Irlanda. Primeiramente a *Avena sativa* L. de primavera foi levada pelos colonizadores do Norte da Europa para os Estados Unidos, Sul do Canadá, Austrália e Nova Zelândia onde se tornou uma importante cultura de inverno (Rines *et al.*, 2006).

A aveia deixou de ter importância somente como forragem e alimentação animal, devido ao reconhecimento de suas propriedades benéficas para a saúde humana (Campbell, 1996). A aveia branca supera outros cereais nos níveis de proteína, variando entre 12% e 20% na semente descascada e 9-15% no grão inteiro, dependendo do genótipo e das condições ambientais de desenvolvimento (Peterson, 1992). A aveia também apresenta teores elevados dos aminoácidos

essenciais lisina, metionina e cisteína, de lipídeo o qual é constituído principalmente por ácidos graxos insaturados oléico (C18:1) e linoléico (C18:2) (Morris, 1990; Welch, 1995). Estas características tornam a aveia importante fonte para uma alimentação saudável.

Na América Latina, sua introdução provavelmente ocorreu através dos imigrantes espanhóis, principalmente no Uruguai e Argentina, para a alimentação animal. Hoje no Brasil, a aveia representa uma ótima alternativa agrônômica e econômica nos cultivos de inverno, proporcionando aos agricultores a adoção da semeadura direta, contribuindo diretamente na conservação do solo e maior sustentabilidade dos sistemas agrícolas (Federizzi, 2002).

Na produção mundial, a aveia é a sexta espécie mais cultivada entre os cereais. Na safra de 2012, a área colhida foi de 10 milhões de hectares (ha), com produção de cerca de 21 milhões de toneladas, sendo que a Rússia foi o maior produtor com 4 milhões de toneladas, seguido pelo Canadá, Polônia, Austrália e Finlândia. O Brasil ocupa o 17º lugar no ranking mundial (Faostat, 2013). No Brasil, a área plantada de aveia em grão nas safras de 2012/2013 e 2013/2014 foi em torno de 169 e 170 mil ha, nos dois anos e a produção total foi de 361 e 379 mil toneladas, respectivamente. A região Sul do país foi responsável por cerca 96% da área plantada, destacando-se os estados do Rio Grande do Sul e Paraná com produções de 275 e 94 mil toneladas, respectivamente (Conab, 2014).

O melhoramento genético de aveia é recente no Brasil, com pouco mais de 30 anos, mas os avanços obtidos possibilitaram aumentos significativos no rendimento da cultura e fizeram com que o país alcançasse a autosuficiência, aliada à boa qualidade do produto final (Federizzi, 2002).

2.3 Características morfológicas

A planta de aveia possui colmos lisos e eretos formados por bainhas foliares. Os colmos são constituídos por 4 a 5 nós e internós, sendo que o último internó é denominado de pedúnculo. As folhas constituem de uma lâmina plana, pecíolo e bainha com lígula. Possui raízes pequenas, numerosas, fibrosas e cobertas com pelos radiculares (Leonard & Martin, 1963).

A inflorescência em forma de panícula é uma característica diferente da maioria dos outros cereais. Em *Avena sativa* L., a panícula possui um eixo principal do qual surgem ramos axilares laterais agrupados ou alternados junto aos nós. Cada um destes termina em uma espiguetas única. Cada panícula possui de 20 a 120, espiguetas sendo que cada uma destas geralmente contém de 2 a 4 flores que são compostas de lema, pálea e órgãos reprodutivos, isto é, o ovário e três estames. A lema é uma redução das duas brácteas que fecham e ficam aderidas na base da semente (Martin *et al*, 1975), sendo mais rígidas que as glumas. As duas glumas possuem tamanhos similares e apresentam textura fina como papel após o amadurecimento. Na base da flor estão duas lodículas, que no início do florescimento incham, forçando a abertura da lema e pálea e permitem a polinização. Após a polinização, as lodículas murcham e as flores fecham. Geralmente somente as duas flores basais na espiguetas são férteis (White, 1995).

Na parte externa do grão está a casca, que consiste de duas camadas, a pálea e a lema. Esta fornece proteção para o grão e contém estruturas fotossintéticas e vasculares importantes para o desenvolvimento. Com a maturação do grão a casca perde esta atividade metabólica. Na *Avena sativa* L., a casca compreende a lema e a pálea e constitui aproximadamente 25% do peso do grão colhido. Esta é uma grande proporção quando comparada com cevada onde a lema e a pálea constituem aproximadamente 10% do peso do grão colhido

(White, 1995). A alta proporção de lema e pálea no grão de aveia incrementa seu conteúdo de fibra e reduz o conteúdo de carboidratos digeríveis quando comparado com trigo e cevada (Welch, 1995).

2.4 Aveia nuda

Uma variante da espécie *Avena sativa* L. é denominada de aveia nuda, que como o nome sugere, é caracterizada pela produção de grãos sem casca. Inicialmente foi classificada como sendo uma espécie separada, denominada de *Avena nuda* L., no entanto, atualmente é considerada uma subespécie da *A. sativa* L. e designada de *Avena sativa* subsp. *nudisativa* (Rodionova *et al.*, 1994). Originada da região montanhosa do Noroeste da China, sua história é relativamente longa na agricultura. Relatos na literatura indicam que a aveia nuda foi conhecida na China no século cinco A.D. (Zhukovsky, 1964). Com análises de dados de diversidade de aveia nuda foi identificado, entre as amostras coletadas, que três variedades botânicas tiveram origem na China e quatro na Mongólia, das quais, duas são estritamente endêmicas da região da Mongólia. As restantes formas de aveia nuda, representando duas variantes mais comuns, foram originárias da parte ocidental da Rússia ou outros países Europeus (Loskutov, 2008).

Uma das características morfológicas na panícula da aveia nuda que difere da aveia com casca, é o fato de não ter a lema e a pálea aderida à cariopse, possuindo debulha livre. Outra característica importante é que, enquanto a aveia com casca possui duas, ocasionalmente três e raramente quatro flores por espiguetas, a aveia nuda apresenta uma espiguetas multiflora com até 12 flores. O hábito multiflora possui a presença de ráquulas longas entre o eixo da gluma e a primeira espiguetas, e entre a primeira e segunda espiguetas. As ráquulas da aveia

nuda são mais alongadas, provavelmente por que continuam a crescer de acordo com o padrão de desenvolvimento dos ramos da panícula. A presença de aumento no pedicelo, equivalente ao ponto de fixação da lema, fornece uma evidência adicional de que as ráquias da aveia nuda são estruturas semelhantes aos ramos da panícula (Helen *et al.*, 1996).

Uma vez que a lema da aveia nuda é uma estrutura semelhante a gluma, a deposição de lignina está em conformidade com a distribuição típica dentro de uma gluma ao invés de uma lema normal (como ocorre na aveia com casca). Uma hipótese relatada é que durante a evolução da aveia nuda a unidade de bráctea primitiva sofreu alteração para produzir a lema, que substitui a gluma para encobrir as flores dentro da espiguetta (Helen *et al.*, 1996). Onde o caráter nuda é expresso plenamente, parece que uma gluma ou estrutura equivalente à gluma é produzida no ponto em que normalmente haveria uma lema.

Durante o desenvolvimento da espiguetta de aveia com casca ocorre a formação de primórdios com seis flores, no entanto, somente algumas se desenvolvem (Bonnett, 1995). Desta forma, pode-se afirmar que nos estádios iniciais de desenvolvimento, a aveia com casca tem característica multiflora. A lignificação da lema na aveia nuda acontece mais tarde, na maturação da panícula, enquanto que na aveia com casca ocorre pouco antes da emergência da panícula na bainha foliar. Isso foi manifestado como uma mudança na especificidade no tecido de deposição de lignina e não como uma falha na lignificação ou atraso na deposição (Helen *et al.*, 1996).

Para iniciar o processo de lignificação, as células vegetais primeiramente apresentam expansão da parede celular primária, seguindo de novas deposições de celulose, hemicelulose, pectina e proteínas estruturais. A lignina das gramíneas é formada pela desidrogenação dos alcoóis conferil, sinapil e cumaril.

As monocotiledôneas utilizam tanto fenilalanina como tirosina como precursor preferencial para a síntese de monolignanos, portanto, as gramíneas podem utilizar qualquer um dos dois aminoácidos para a síntese de lignina. Os aminoácidos aromáticos fenilalanina e tirosina, que são os precursores dos alcoóis, são formados a partir do ácido shiquímico. O processo de lignificação abrange desde a biossíntese de monolignóis, seu transporte do citoplasma para a parede celular e a polimerização na parede celular. Inicialmente, a lignificação ocorre em locais definidos da parede celular e da lamela média. Depois, a propagação ocorre em polímeros através da parede celular (Araújo & Cavali, 2006).

A aveia nuda retém a capacidade metabólica para síntese de depósito de lignina e o tempo fisiológico do início da lignificação é semelhante em aveia nuda e com casca. No entanto, nas lemas de aveia nuda, a deposição de lignina é mais restrita que em aveia com casca, tanto na distribuição como na quantidade. Este efeito torna a lema mais fina e menos rígida para envolver o grão (Ougham *et al.*, 1996). É observada expressão parcial desta característica, ocorrendo variação no grau de expressão da característica nuda dentro de uma única planta e até mesmo em uma única panícula. São quatro principais fenótipos de aveia nuda: i) grãos completamente sem casca; ii) parcialmente sem casca; iii) parcialmente com casca e iv) completamente com casca. Foi sugerido que a variação no fenótipo é devido ao efeito de genes modificadores sobre o gene que controla o caráter (Jenkins & Hanson, 1976).

Grãos com casca tendem a ocorrer no verticilo basal da inflorescência e em partes terminais dos ramos da inflorescência. Em casos extremos o grão terminal da espiguetta pode ser com casca. Quando ocorre a formação de grãos com casca em espiguetas que normalmente seriam formadas somente por grãos

sem casca tem-se um fenótipo mosaico. A formação de espiguetas com fenótipo mosaico é afetada pelo ambiente e o sinal de desenvolvimento é atenuado com o tempo, tornando-se mais intensa na parte basal da inflorescência, que é desenvolvida mais tarde (Boland & Lawes, 1973).

Estudos relatam que temperaturas baixas durante o período de lignificação da lema, podem influenciar na expressão do caráter nuda. Com temperatura controlada há maior proporção de grãos sem casca do que em condições normais de campo (Lawes & Boland, 1974). Em temperatura de 25°C a expressão de grãos sem casca foi completa nas cultivares estudadas, enquanto que a 20°C algumas cultivares apresentaram grãos parcialmente sem casca, e a 15°C somente uma cultivar apresentou grãos completamente sem casca. O desenvolvimento das plantas de aveia em condições de seca também aumenta o número de grãos com casca (Cuddeford, 1995).

A utilização de aveia como alimento funcional tem aumentado gradativamente, especialmente pelas qualidades nutricionais. As fibras solúveis de aveia, cujo componente principal é a β -glicana, possuem propriedades fisiológicas únicas que contribuem para a redução do colesterol. Além de conter compostos secundários, como avenantramidas, que possuem propriedades antioxidantes (Burnette *et al.*, 1992; Peterson, 1992).

A aveia nuda produz grãos de maior energia, proteínas e lipídios e menores teores de fibra em comparação com a aveia que possui casca. Cultivares nudas possuem maior quantidade de ácido linoléico, amido e aminoácidos essenciais que as cultivares com casca (Givens *et al.*, 2003). Cultivares de aveia nuda apresentaram valores de proteína bruta de 18,79 a 23,41% (Alves *et al.*, 2005), já em cultivares de aveia com casca q quantidade de proteína varia em torno de 12,4%, estes valores podem variar dependendo das

condições de cultivo (Welch, 1995). Estes resultados evidenciam a importância da aveia nuda para a alimentação humana e animal. Neste sentido, muitos esforços estão voltados para a redução no conteúdo da casca na aveia convencional e no melhoramento de variedades nudas (Campbell, 1996).

A aveia nuda apresenta a vantagem de não possuir casca e alternativamente ser oferecida na dieta de aves, por apresentar alto teor de ácidos graxos poli-insaturados, que conferem características importantes para a produção de ovos e carne (Lopez-Bote *et al.*, 1998). Possui também grande potencial na participação das dietas de suínos, aves e equinos, uma vez que a aveia convencional não é adequada para monogástricos, devido a baixa digestibilidade e ao baixo conteúdo de energia metabolizável da casca (Peltonen-Sainio *et al.*, 2004). Além das aplicações alimentares, a aveia nuda pode ser usada em processo como a malteação (Peterson, 1998; Wilhelmson *et al.*, 2001) onde fornece um sabor especial para o processamento adicional de produtos à base de malte de aveia (Heinio *et al.*, 2002).

2.5 Bases genéticas do caráter nuda

O mecanismo genético que controla o caráter nuda em aveia é pouco conhecido tanto em termos de localização cromossômica, sequência de nucleotídeos do DNA, a estrutura dos genes envolvidos, como o padrão de expressão destes genes. O número de genes envolvidos no caráter nuda não é consenso, sendo descritos na literatura de um a quatro genes.

Trabalhos realizados com populações F_2 propuseram que este caráter é governado por um único gene com proporção de segregação para o caráter nuda de 1 planta com grãos sem casca : 2 plantas mosaico: 1 planta com casca, o que sugere atuação de um único gene codominante sobre o caráter (Love &

McRosstie, 1919; Chou *apud* Jensen (1966); Kibite & Taylor, 1994). Em outros trabalhos foi obtido segregação nas proporções de 3:1 (3 plantas com grãos sem casca ou mosaico: 1 planta com casca), sendo que panículas com fenótipo mosaico produziram grãos sem e com casca. As proporções de plantas com grãos sem casca e plantas mosaico variaram de cruzamento para cruzamento, mas, constituíram cerca de 75% das plantas F_2 . A proporção de 3:1 sugere que o caráter nuda é monogênico (Norton, 1907; Zinn & Surface, 1917; Gaines, 1917; Clamot *apud* Hoekstra *et al.* 2003).

A informação de que o caráter nuda é governado por um gene é também apoiada pelo trabalho de Boland & Lawes (1973), que analisaram três gerações (F_1 , F_2 e F_3) dos cruzamentos de uma linhagem com casca e outra nuda. O caráter nuda seria governado por um gene principal, o qual é influenciado por genes modificadores, proporcionando as classes nuda e mosaico. Fenótipos sem casca seriam determinados pelo alelo dominante $N-1$ e fenótipos com casca seriam influenciados pelo alelo recessivo $n-1$, entretanto, é sugerida a existência de dois genes modificadores com dominância incompleta (Moule, 1972). Com base nas proporções observadas na geração F_2 foi proposto o modelo de um gene maior, $N-1$, e três genes modificadores na expressão do caráter nuda. Este modelo assume relação epistática e resulta em razão de segregação de 35 plantas com grãos sem casca mais plantas mosaico: 29 plantas com casca (Jenkins & Hanson, 1976).

O gene $N-1$ possui importante papel na expressão do caráter de espiguetas nudas e multifloras em aveia hexaplóide. Genótipos que possuem o gene $N-1$ produzem uma lema não lignificada e fina, como a gluma, proporcionando debulha livre aos grãos (Simons *et al.*, 1978). Neste sentido, aveia nuda é semelhante ao trigo e centeio (Valentine, 1995). Quando o gene $N-1$ está

presente em um determinado genótipo, algumas características são percebidas durante o desenvolvimento como: hábito multiflora, alongamento das ráquias e redução da lignificação da lema (Ougan *et al.*, 1996). A presença de espiguetas multifloras está associada com a presença de grãos sem casca e é utilizada como um marcador morfológico para a seleção desta característica (Marshall & Shaner, 1992).

Apenas um trabalho propôs que os caracteres nuda e multiflora são condicionados por dois locos gênicos diferentes (Kibite & Taylor, 1994), discordando de Simons *et al.* (1978) que propunham que as duas características eram controladas por um único gene. Foi proposto o símbolo *Mf-1* para descrever o gene dominante que condiciona espiguetas multifloras (Kibite & Taylor, 1994). No mesmo trabalho os autores relatam que os dados de segregação conjunta para os locos *N-1* e *Mf-1* mostraram um efeito epistático de *N-1* sobre o loco *Mf-1*, de tal forma que quase todos os genótipos com espiguetas multifloras (*Mf-1/-*) foram nus e as plantas com espiguetas normais (*mf-1/mf-1*) possuíam grãos com casca.

Porfim, o caráter nuda em aveia foi proposto como uma característica complexa controlada por alelos em quatro diferentes locos (designados como *N-1*, *N-2*, *N-3* e *N-4*). *N-1* sendo o principal deles que condiciona grãos sem casca. Os alelos dos outros três locos interagem com *N-1* e entre si para modificar o grau de expressão do caráter. Um fenótipo completamente nuda se expressaria quando os alelos dominantes estão presentes nos locos *N-1* e *N-2*. Genótipos com alelos homocigotos recessivos (*n-1/n-1*) para o loco *N-1* sempre teriam grãos com casca, genótipos *N-1/n-1* podem ter um fenótipo nuda ou mosaico dependendo dos alelos presentes nos demais locos (Kibite, 2002). A ocorrência de grãos com casca se dá em diversas proporções dependendo dos alelos presentes nos locos *N-2* e *N-3*. O loco *N-4* reverte os efeitos dos outros três. Em uma condição

homozigota recessiva ($n-4/n-4$) sofre a inibição de qualquer alelo dominante nos outros três locos. Quando o loco $N-4$ é homozigoto dominante ($N-4/N-4$) e o loco $N-1$ está em uma condição heterozigota, será produzido um fenótipo com casca (Kibite, 2002).

Em cruzamentos com genitores brasileiros de aveia nuda e com casca, foi proposto que o caráter nuda em aveia é governado por um gene dominante de grande efeito, não sendo sugerida a interferência de genes modificadores para o caráter. Foram observadas três classes distintas na geração F_2 , 1:2:1 sendo nuda, mosaico e com casca, respectivamente (Brenner, 2007). Este autor também relata que assim como o caráter nuda, a característica multiflora possui herança monogênica sendo que os dois caracteres são fortemente ligados. Recentemente, Valentini *et al.* (2014), estudando o número de genes que controla a herança da característica nuda em aveia hexaplóide, em uma população segregante (gerações F_2 e F_3), observou na geração F_2 proporção fenotípica de 3:9:4 (nuda:segregante:casca). Na geração F_3 os resultados mostraram concordância com a geração anterior sugerindo que o caráter nuda é herdado por dois genes, sendo que a maior expressão deste caráter ocorre no terço superior das panículas.

Um dos fatores limitantes para a aceitação da aveia nuda no mercado é a expressão incompleta do caráter nuda que impede as indústrias de utilizarem os grãos diretamente, sem processamento, para a produção de flocos. A não existência de cultivares de aveia nuda no Brasil é devido a expressão incompleta do caráter que ainda não é bem compreendida e necessita de estudos. Com o conhecimento dos fatores que influenciam a característica nuda será possível direcionar o melhoramento genético desta subespécie na busca por novas variedades com expressão completa do caráter (Brenner, 2007).

2.6 Marcadores SNP em plantas

Marcadores SNP (*single nucleotide polymorphism*) é o polimorfismo de sequência de DNA mais comum entre alelos, no qual ocorre a substituição de uma base nucleotídica por outra. Nestes polimorfismos também estão inclusos pequenas inserções ou deleções (*indels*) que diferenciam os alelos, determinando importante e abundante fonte de diversidade intra e interespecífica de sequência de nucleotídeos do DNA (Ferreira & Grattapaglia, 2009). No geral, a frequência de SNPs em plantas é de 1 a cada 100-300 pares de bases (Edwards *et al.*, 2007; Xu, 2010).

Os SNPs são distribuídos em regiões como íntrons, éxons, regiões intergênicas, promotores ou *enhancers*. A localização de um SNP no genoma de um organismo pode ser um fator relevante na formação de determinado fenótipo, por exemplo, quando localizado na região codificadora de um gene pode mudar a formação da proteína. Já quando localizado no íntron pode modificar o *splicing* do mRNA, assim como, se estiver localizado no promotor pode mudar a expressão gênica (Krawezak *et al.*, 1992). A descoberta de SNPs em espécies com genomas diploides é um processo relativamente simples quando comparado com genomas poliploides, que possuem vários obstáculos para desenvolver estes marcadores. Um dos grandes problemas nos genomas poliploides é a natureza altamente repetitiva (Meyers *et al.*, 2001).

A utilização de marcadores SNP em estudos genéticos tem aumentado significativamente a densidade de mapas de ligação em vários organismos e facilitado o mapeamento de genes candidatos e/ou QTLs associados com características de interesse. Muitas características importantes para o melhoramento genético de plantas são controladas por QTLs de pequeno efeito e a seleção genômica, utilizada no melhoramento animal (Meuwissen *et al.*, 2001),

tem ganhado interesse no melhoramento de plantas. Neste sentido, a genotipagem com grande número de marcadores é fundamental (Ganal *et al.*, 2012).

Entre os sistemas mais utilizados em plantas, baseado no sistema de matriz, está o ensaio GoldenGate que consiste de protocolos em várias etapas, baseado na tecnologia Illumina's BeadArray/BeadChip. O sistema GoldenGate permite a genotipagem de um grande número de amostras usando um único ensaio multiplex que pode incluir um grande número de amostras (Deschamps *et al.*, 2012). Esta tecnologia envolve a geração de centenas de amostras usando extensão alelo-específica, seguido da ligação e amplificação com oligonucleotídeos universais. Subsequentemente, os produtos fluorescentes são hibridizados com esferas pré-revestidas em uma matriz e intensidades de sinais são então determinadas usando o *software* Illumina's BeadArray Reader. Um genótipo que é homocigoto para um alelo SNP exibirá um sinal em ambos os canais. Além disso, a intensidade de sinal é quantificada e combinada para alelos específicos usando o *software* BeadStudio (Illumina, San Diego, CA) (Eckert *et al.*, 2008; Hyten *et al.*, 2008).

Matrizes de genotipagem estão sendo frequentemente desenvolvidas para um grande número de espécies, tanto para obter informações mais precisas sobre a constituição genética, como para auxiliar no melhoramento de plantas. Para muitas espécies, matrizes de primeira geração com número de marcadores entre 5000 e 100000 foram ou estão sendo desenvolvidas. Através do uso de tecnologias de sequenciamento de alto rendimento e o aumento na disponibilidade de sequências de referência genômicas de alta qualidade, pode-se esperar que as matrizes de genotipagem com grande número de SNPs estarão

disponíveis nos próximos anos para praticamente todas as principais espécies de plantas cultivadas (Ganal *et al.*, 2012).

O conhecimento genômico de aveia está em desvantagem com relação a outras espécies de cereais. No entanto, o uso de técnicas moleculares no melhoramento de aveia pode ser uma ferramenta importante que facilitaria o conhecimento e a seleção de algumas características complexas. Embora os programas de melhoramento assistidos por marcadores moleculares ainda estão em andamento (Tinker *et al.*, 2009), a falta de progresso é principalmente atribuída ao número limitado de marcadores mapeados disponíveis nesta cultura. Outros fatores negativos, que complicam o desenvolvimento de trabalhos moleculares em aveia, é o fato de ser hexaplóide e não possuir o genoma sequenciado.

2.7 Mapeamento molecular em aveia

A construção de mapas genéticos detalhados e com alto nível de cobertura do genoma é o primeiro passo para algumas das aplicações dos marcadores moleculares no melhoramento genético de plantas, entre elas: i) permite análise detalhada de características quantitativas e qualitativas e a localização de genes ou QTLs; ii) facilita a introgressão de genes desejáveis ou QTLs através da seleção assistida; iii) permite o mapeamento comparativo entre diferentes espécies, para avaliar a similaridade e função entre genes na expressão do fenótipo; iv) fornece estrutura para ancorar com mapas físicos baseados na translocação de cromossomos, sequência de nucleotídeos do DNA ou outras medidas diretas e v) é o primeiro passo para a clonagem posicional de genes responsáveis por características importantes (Semagn *et al.*, 2006).

O primeiro mapa genético em aveia hexaplóide foi desenvolvido em uma população proveniente do cruzamento entre Kanota x Ogle (O'Donoghue *et al.*, 1995). Posteriormente, Wight *et al.* (2003), atualizou este trabalho incluindo mais marcadores e linhagens na população, obtendo um mapa com 29 grupos de ligação. Em trabalho utilizando germoplasma de aveia originário de diversos países, foi construído um mapa integrado no qual foram utilizados 1010 marcadores DArT (*Diversity Arrays Technology*) (Tinker *et al.*, 2009) e 287 marcadores identificados previamente por Wight *et al.* (2003).

Recentemente foi desenvolvido o mapa consenso em aveia no qual foram utilizados dados de mapeamento em 6 diferentes populações, incluindo 985 marcadores SNPs e 68 marcadores DArT previamente identificados, formando 21 grupos de ligação com um mapa de 1838,8 cM. Os grupos de ligação foram atribuídos para os 21 cromossomos usando análise de deleções SNP em linhagens monossômicas. Neste trabalho também foram realizados alinhamentos cromossômicos com espécies modelos como arroz e *Brachypodium* para identificar possíveis regiões sintênicas entre as espécies (Oliver *et al.*, 2013).

Os trabalhos de mapeamento de QTLs em aveia normalmente estão associados a características agronômicas e se observa que há poucos registros na literatura de trabalhos com genótipos brasileiros. Entre estes, pode-se destacar, trabalhos como a identificação de 16 QTLs associados a 9 características agronômicas, na população oriunda do cruzamento UFRGS 8 e UFRGS 930605 (Cover *et al.*, 2011). Para a característica do florescimento e resposta a vernalização foram identificados QTLs associados na população UFRGS 8 x UFRGS 930605 e UFRGS 881971 x Pc68/5*Starter (Nava *et al.*, 2012) e em outras três populações de linhagens recombinantes (Locatelli *et al.*, 2007).

De modo geral, em aveia também são encontrados outros trabalhos com análise de QTLs. Entre estes foram identificadas QTLs associados ao conteúdo de óleo, que foram identificados em uma população de linhagens recombinantes do cruzamento entre Dal (alto teor de óleo) x Exeter (baixo teor de óleo). Para esta população foi desenvolvido um mapa de 1271,8 cM a partir de marcadores DArT. Além do conteúdo de óleo foram identificados QTLs associados a outras características agrônômicas nesta população (Hizbai *et al.*, 2012).

O mapeamento de QTLs para resistência a alguns patógenos também tem sido realizado na cultura da aveia. Recentemente foi identificado uma região genômica no cromossomo 17A/7C que confere resistência para a acumulação da micotoxina deoxynivalenol (DON) causada pelo patógeno *Fusarium* spp. A população utilizada foi genotipada com marcadores DArT, AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*), SSR (*Simple Sequence Repeats*) e SNP (He *et al.*, 2013). Em outro estudo, foram detectados QTLs para resistência parcial de ferrugem da folha (*Puccinia coronata* f. sp. *avenae* Eriks). O mapa foi gerado em uma população de 158 linhagens segregantes F₆ (MN841801-1 (resistente) x Noble-2 (suscetível), foram utilizados marcadores RFLP e AFLP e o mapa apresentou 1509,0 cM (Portyanko *et al.*, 2005).

Em aveia nuda, em um trabalho realizado com uma população derivada do cruzamento entre Terra (nuda) x Marion (com casca), foi identificado no grupo de ligação TM_5, quatro marcadores DArT (opt-0334, opt-0719, opt-5047 e opt-13594) que estavam fortemente associados com o fenótipo nuda (Gardner *et al.*, 2010). Em uma população com os mesmos genótipos parentais, Terra x Marion, foi desenvolvido um mapa de ligação com 430 marcadores do tipo AFLP, RFLP, RAPD (*Random amplification of polymorphic DNA*) e SCAR (*Sequence Characterized Amplified Region*). Neste trabalho foram identificados diversos

QTLs associados a características agrônômicas e também o loco (*N-1*) que controla o caráter nuda/casca. O gene *N-1* foi localizado no grupo de ligação TM_5 e está entre os marcadores RFLP, cd0482 e act_cta133 (DeKoeyer *et al.*, 2004).

A *Avena sativa* L. assim como a *Avena sativa* subsp. *Nudisativa* apresentam grande potencial como cultura para alimentação humana e animal. Neste sentido, é de grande importância o avanço nos estudos moleculares para um melhor entendimento dos mecanismos envolvidos em determinadas características bem como a utilização de novas tecnologias que facilitem a seleção destas características importantes para o melhoramento genético.

2.8 Aspectos moleculares do desenvolvimento floral em cereais

Em monocotiledôneas, a arquitetura da inflorescência depende da iniciação de meristemas específicos (McSteen *et al.*, 2000). Em milho o processo ocorre na seguinte ordem: Meristemas de ramificações (MR), meristemas par de espiguetas (MPE), meristema de espiguetas (ME) e por fim o meristema floral (MF). A espiguetas é a unidade floral fundamental de todas as monocotiledôneas (Clifford, 1987), esta consiste de duas folhas brácteas, chamadas de glumas, que abrangem um número variável de flores. Os MPEs e MEs em milho são determinados. O MPE produz um ME e então termina a sua atividade através da própria diferenciação em ME. Da mesma forma, o ME produz um MF e então termina se tornando um MF.

No arroz, a arquitetura da panícula é basicamente controlada por dois fatores principais: (i) o número de ramos primários, que são regulados pelo ritmo de abortamento do meristema da inflorescência, e (ii) o número de meristemas laterais em cada ramo principal, o qual é determinado pelo tempo de conversão

dos meristemas dos ramos no meristema da espiguetas. As espiguetas em arroz iniciam seu desenvolvimento a partir do primeiro ou segundo ramo da inflorescência. Tem destino determinado e consistem de duas glumas rudimentares e uma única flor funcional.

A identidade do ME é controlada pela ação dos genes ortólogos *branched silkless 1 (bd1)* em milho (Chuck *et al.*, 2002) e *frizzy panicle (fzp1)* em arroz (Komatsu *et al.*, 2003). Em mutantes BD1 e *fzp1*, o meristema da espiguetas determinado é substituído por um meristema de ramificação indeterminado. Os genes *fzp1* e *BD1*, codificam membros da família de fatores de transcrição ERF/APETALA2 (AP2), e possuem função de reprimir o destino do meristema de ramificação lateral indeterminado. Outros dois genes parólogos AP2-like, *INDETERMINATE SPIKELET1 (IDS1)* e *SISTER OF INDETERMINATE SPIKELET1 (SID1)*, desempenham múltiplos papéis na arquitetura da inflorescência em milho. A perda de função em mutantes *IDS1* retarda o tempo de conversão do meristema da espiguetas para o meristema floral e faz com que ocorra perda na determinância das espiguetas, gerando múltiplas flores (Chuck *et al.*, 1998). O gene *SNB (Supernumerary Bract)* em arroz está estreitamente relacionado com *SID1* e *IDS1* do milho e a perda de função de *SNB* também provoca o atraso na transição do meristema espiguetas para o meristema floral, produzindo glumas extras antes de iniciar as flores (Lee *et al.*, 2006).

Em arroz, o gene *SNB* é importante no controle da determinância das espiguetas e no desenvolvimento das flores (Zhu *et al.*, 2009). Um dos papéis de *SNB* e *OsIDS* (gene *IDS* em arroz) pode ser o de prevenir a determinação precoce da inflorescência e meristemas de ramificação. Devido ao fato de que *SNB* e *OsIDS1* serem expressos ao longo dos meristemas de ramificação e espiguetas, é sugerido que ocorra uma regulação pós-transcricional, que reduz a

ação dos genes AP2 no meristema da espiguetas. Quando estes meristemas começam a se desenvolver, a expressão de miR172 é recrutada e posteriormente os transcritos de SNB e OsIDS1 são esgotados, garantindo o desenvolvimento das espiguetas na posição e no tempo correto. Portanto, é sugerido que o miR172 funciona como um dos principais determinantes da ramificação, no desenvolvimento das espiguetas e destino das células do meristema (Lee & An, 2012).

Em milho, foi identificado um mutante, denominado de *ts6*, este carrega uma mutação no sítio de ligação do miR172 no gene *ids1*. Neste caso, ambos, MPEs bem como MEs no pendão e espigas dão origem a um número incrementado de espiguetas e flores, respectivamente, pois os meristemas tornam-se indeterminados (Chuck *et al.*, 2007). Em cevada foi identificado um mutante em que um elemento transponível Ds modificado, foi inserido na sequência madura miRNA de um suposto miR172 ortólogo na cevada, impedindo a produção de um miRNA maduro funcional que parece ser um componente regulatório no modelo ABC do desenvolvimento floral. O fenótipo de espiguetas indeterminadas, ocasionado por esta mutação é semelhante ao observado no mutante *ts6* em milho (Brown & Bregitzer, 2011).

Estudos em milho, arroz e cevada mostram que o miR172 é um importante regulador na fase de transição a na determinação da identidade dos órgãos florais em monocotiledôneas (Chuck *et al.*, 2007; Zhu *et al.*, 2009; Nair *et al.*, 2010). O miR172 foi um dos primeiros genes MIRNA em plantas a ser identificado. Ele gera uma sequência madura miR172 com 21 nucleotídeos que regula a abundância e/ou tradução de genes fatores de transcrição APETALA2 (AP2), específicos de plantas (Park *et al.*, 2002; Chen, 2004).

No arroz, a família miR172 contém quatro membros (MIR172a-d) e tem como alvo 5 genes AP2-like: Os03g60430, Os04g55560, Os05g0340, Os06g43220 e SNB. A expressão dos diferentes membros da família MIR172 e consequentemente seus miRNAs maduros dependem do estágio de desenvolvimento e tipo de tecido. O nível de expressão é controlado pelo comprimento do dia e pela temperatura (Lee *et al.*, 2010). A expressão do miR172 em arroz varia consideravelmente durante os estágios de desenvolvimento e órgãos reprodutivos (Zhu *et al.*, 2009). A super-expressão de miR172 em arroz provoca atraso na reinteração de estruturas semelhantes a bráctea. Também podem ser observadas alterações morfológicas na lema e palea tais como: múltiplas camadas, estruturas torcidas, degeneradas ou a substituídas por estruturas semelhantes a folhas. Alteração no número e/ou morfologia das lodículas podem afetar o desenvolvimento floral e consequentemente a formação de grãos nus (Zhu *et al.*, 2009).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local, clima e solo

Os experimentos foram conduzidos na Estação Experimental Agronômica (EEA) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). A EEA está localizada no município de Eldorado do Sul, RS a 30° 05' 27" de latitude Sul e 51° 40' 18" de longitude Oeste, com altitude de 46m (Bergamaschi & Guadagnin, 1990). O solo da região segundo a classificação brasileira de solos é do tipo argissolo vermelho distrófico típico (Embrapa, 1999). O clima é do tipo Cfa (subtropical úmido), de acordo com a classificação de Köppen-Geiger. A precipitação média anual é de 1400mm, sendo que os meses de junho, julho e agosto são os mais chuvosos (Bergamaschi & Guadagnin, 1990).

3.2 Fenotipagem dos genótipos parentais

Os genótipos parentais UFRGS 017004-2 e UFRGS 006013-1, que possuem a característica multiflora/nuda, foram caracterizados quanto à formação de espiguetas mosaíco. O fenótipo de espiguetas mosaíco é caracterizado quando ocorre a presença de grãos com casca e grãos sem casca na mesma espiguetas. Este fenótipo é observado em espiguetas que normalmente seriam formadas somente por grãos sem casca. A análise fenotípica foi realizada nos anos de 2012 e 2013. De cada genitor foram trilhadas dez panículas, das quais,

cada uma foi derivada de uma planta diferente. Desta forma, a análise foi composta por 10 plantas de cada genótipo parental em cada ano de avaliação.

Cada panícula foi separada em três partes antes de ser trilhada, sendo elas: terço superior, médio e inferior. A divisão foi realizada através da observação de dois entrenós mais extensos em comprimento (Valentine, *et al.*, 2014). A presença destes entrenós facilita a divisão da panícula em três partes semelhantes. Em cada terço as espiguetas foram trilhadas separadamente observando-se o tipo de grão (sem casca ou com casca) que era formado. Quando foi observada a presença de grãos com e sem casca na mesma espiguetas, este fenótipo foi denominado de mosaico (Figura 1). Os resultados da quantidade de espiguetas mosaico em cada terço (superior, médio e inferior) foram expressos em porcentagem, com relação ao número total de espiguetas naquele terço.

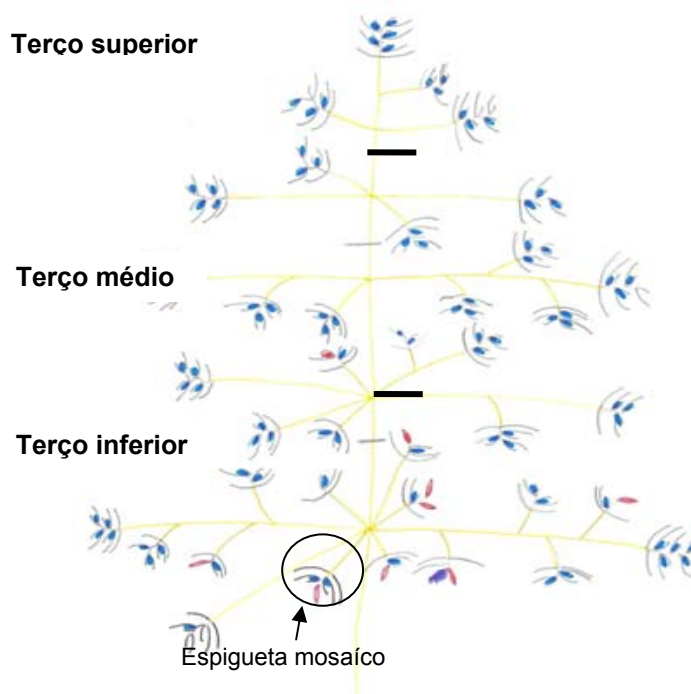


FIGURA 1. Desenho representativo de uma panícula do genitor multiflora/nuda com formação de espiguetas mosaico. Eldorado do Sul, RS, 2013 e 2014.

Legenda: Grãos vermelhos = Grãos com casca; Grãos azuis = Grãos sem casca.

3.3 Avanço de gerações

Em todas as gerações, a adubação de base foi de 300 kg/ha⁻¹ da fórmula 5-30-15 NPK e as adubações de cobertura consistiram em duas aplicações de 90 kg/ha⁻¹ de ureia (37,8 kg de N), quando as plantas atingiram o estágio de quatro e seis folhas expandidas. O controle de plantas daninhas foi realizado através de capinas manuais. O controle de doenças fungicas foi realizado com o fungicida Tebuconazole, na concentração de 200 g de ingrediente ativo por litro (dose de 750 mL/ha⁻¹ do produto comercial). Também, foi realizado o controle de insetos, principalmente pulgões, através do inseticida Dimetoato, na concentração de 500 mg/litro (dose de 500 mL/ha⁻¹ do produto comercial). O tratamento de sementes foi realizado com inseticida Imidacloprid na dose de 60 mL.kg⁻¹ do produto comercial Gaucho FS (suspensão concentrada de 600 g.L⁻¹).

O avanço de gerações foi conduzido a partir da geração F₂ até progênies F_{2:6}. O método utilizado foi o SPD (*Single Panicle Descent*). Este método consiste em utilizar todas as sementes de uma única panícula, ao acaso/sem seleção, para o próximo plantio. O avanço de geração foi realizado em duas populações obtidas pelos seguintes cruzamentos: cruzamento I: UFRGS 01B7114-1 (panícula normal e grãos com casca) x UFRGS 0060131 (panícula multiflora e grãos sem casca) e cruzamento II: URS Taura (panícula normal e grãos com casca) x UFRGS 017004-2 (panícula multiflora e grãos sem casca). O número de genótipos no cruzamento I foi de 144 genótipos e no cruzamento II de 191 genótipos.

A genealogia dos genótipos parentais está representada na Tabela 1. Em 2008, estes genitores foram semeados em parcelas de quatro linhas de três metros de comprimento, espaçadas 30 centímetros uma da outra. Durante a fase reprodutiva foi realizado o cruzamento entre os genótipos pelo método da flor

fechada (Bertagnolli & Federizzi, 1994). Em 2009, as sementes F_1 obtidas dos cruzamentos foram semeadas a campo, em uma linha. Todas as plantas foram colhidas em "*bulk*", dando origem às sementes F_2 , na qual foi dado início o avanço de gerações.

TABELA 1. Genealogia dos genótipos parentais utilizados nos cruzamentos I e II. EEA/UFRGS, Eldorado do Sul, RS, 2010.

	Genitores	Genealogia	Grão	Espiguetas
Cruz. I	UFRGS 01B7114-1-3	(PC68/5*STARTER F_4) x UFRGS 10	Com casca	N
	UFRGS 006013-1	(COCKER492/STARTER-1 F_3) x UFRGS 10	Sem casca	MF
Cruz. II	URS TAURA	UFRGS 970216-2 x UFRGS 970461	Com casca	N
	UFRGS 017004-2	(COCKER 492/STARTER-1 F_3) x UFRGS 8	Sem casca	MF

Legenda: N = Normal; MF= Multiflora; Cruz.= Cruzamento.

Geração F_2 : O experimento foi instalado no dia 15 de julho de 2010, sob sistema de plantio direto, sobre resteva de soja. Os genótipos foram conduzidos na forma de plantas espaçadas, em linhas de três metros de comprimento e espaçamento de 0,30 m entre linhas. Em cada uma das linhas foram semeadas manualmente dez sementes, com distância média de 30 cm entre plantas. Para cada população, os genótipos parentais foram semeados nas duas primeiras linhas seguidos pelas linhas dos genótipos segregantes F_2 . Na geração F_2 , cada planta dentro de cada linha, foi colhida separadamente e em *bulk*, isto é, as panículas de uma mesma planta foram colhidas todas juntas. Uma panícula, ao acaso, de cada *bulk* deu origem a uma progênie $F_{2:3}$ (progênie F_3 derivada de F_2)

Progênie $F_{2:3}$: Para compor a progênie $F_{2:3}$, foi retirada uma panícula ao acaso, de cada *bulk* de panículas colhido na geração F_2 . Cada panícula inteira foi trilhada separadamente e deu origem a uma linha de 1 metro. Cada linha

correspondendo a um indivíduo na progênie $F_{2:3}$. O plantio foi realizado a mão com espaçamento de 0,30 m entre linhas, no dia 03 de janeiro de 2011 no telado da EEA/UFRGS. No início e no final de cada população foram semeadas duas linhas de cada genótipo parental. Ao atingirem a maturação fisiológica, cada progênie $F_{2:3}$ (linha) foi colhida separadamente em *bulk*, isto é, todas as panículas de todas as plantas de cada linha foram colhidas junto. Este critério foi adotado porque as panículas produzidas foram pequenas e com baixa produção de sementes, devido ao cultivo ter sido realizado durante o verão, isto é, fora da estação normal de cultivo da aveia. Cada *bulk* foi trilhado separadamente e todas as sementes do *bulk* foram utilizadas para cultivar a geração seguinte.

Progênie $F_{2:4}$: A semeadura das progênies $F_{2:4}$, foi realizada no dia 05 de julho de 2011. As sementes obtidas no *bulk* da geração anterior foram semeadas em covas com espaçamento de 0,30 m entre covas. No início e no final de cada população foram semeados os genótipos parentais. Cada cova foi colhida separadamente e em *bulk*.

Progênie $F_{2:5}$: O plantio das progênies $F_{2:5}$ foi mecanizado e realizado no dia 29 de junho de 2012. De cada *bulk*, colhido na geração anterior foi retirada uma panícula ao acaso e trilhada separadamente. Todas as sementes de cada panícula foram semeadas em uma linha dupla de 3 metros com espaçamento de 0,30 m, cada linha correspondente a um genótipo. No início e final de cada população foram semeadas duas linhas com os genótipos parentais. Ao atingirem a maturação fisiológica cada linha (genótipo) foi colhida separadamente em *bulk*, isto é, todas as panículas de todas as plantas da linha foram colhidas junto.

Progênie $F_{2:6}$: O plantio das progênies $F_{2:6}$ foi realizado mecanicamente no dia 18 de junho de 2013. De cada *bulk*, colhido na geração anterior, foi retirado uma panícula ao acaso e trilhada individualmente. As sementes obtidas em cada

panícula foram semeadas em linhas duplas de 3 metros de comprimento com espaçamento de 0,30 m. Cada linha correspondendo a um genótipo. Os genótipos parentais foram semeados no início e no final de cada população. Na maturidade fisiológica foi realizada a colheita de 2 a 3 panículas de cada planta da linha. Foram colhidas de 5 a 10 plantas dentro de cada linha (genótipo).

3.4 Avaliação fenotípica das progênes $F_{2:5}$ e $F_{2:6}$ sob condições de campo

As linhagens recombinantes avaliadas neste item participaram do avanço de geração como relatado no item 3.3. A avaliação fenotípica foi realizada em progênes $F_{2:5}$ (2012) e $F_{2:6}$ (2013). Todas as plantas de cada linhagem recombinante, oriundas dos cruzamentos: UFRGS 01B7114-1 x UFRGS 006013-1 e URS Taura x UFRGS 017004-2, foram avaliadas visualmente de acordo com o tipo de panícula que produziam. Desta forma, cada linhagem recombinante foi classificada em: (i) normal (com casca), quando todas as plantas da linhagem apresentavam panículas normais, (ii) segregante, quando ambos os fenótipos, panícula multiflora e panícula normal foram observados entre as plantas de uma mesma linhagem recombinante e, (iii) multiflora, quando todas as plantas da linhagem recombinante apresentavam o fenótipo de panícula multiflora. Entende-se por panícula normal aquela que não é multiflora, normalmente são produzidas duas flores férteis. Em panículas normais ocorre a formação de grãos com casca (Figura 2A). Panícula multiflora é aquela em que se observa espiguetas com pelo menos uma lema mais fina (menos lignificada) e semelhante a gluma. Normalmente, espiguetas multiflora possuem mais que três flores e formato mais alongado que espiguetas normais (Figura 2B). Com as proporções observadas foi

calculado o teste do chi-quadrado (χ^2), para testar a aderência das hipóteses genéticas às proporções fenotípicas esperadas, como descrito no item 3.5.



FIGURA 2. Tipos de panículas encontradas nas linhagens segregantes.
A: Panícula Normal; B: Panícula Multiflora. EEA, Eldorado do Sul, RS, 2013.

3.5 Determinação do número de genes controlando o caráter multiflora/nuda

Para a determinação do número de genes que influencia o caráter multiflora/nuda foram utilizadas as duas populações obtidas como descrito no item 3.3. Os testes foram realizados nas progênies $F_{2:5}$ e $F_{2:6}$ de cada uma das populações utilizando a fenotipagem descrita no item 3.4. A partir das proporções observadas foi realizado o teste do qui-quadrado (χ^2) para testar a aderência das hipóteses genéticas às proporções fenotípicas esperadas de acordo com a equação descrita por Steel & Torrie (1980):

$$\chi^2 = \sum (F_o - F_E)^2 / F_E. \text{ Com } n-1 \text{ graus de liberdade}$$

Em que:

FO= Número de linhagens observados para determinada classe fenotípica;

FE= Número de linhagens esperado para determinada classe fenotípica;

n = número de classes fenotípicas.

Para calcular a proporção esperada de genótipos em homozigose e heterozigose nas progênies $F_{2:5}$ e $F_{2:6}$ foi expandido o binômio, descrito por Allard (1999).

$$[1+(2^m-1)]^n$$

Em que:

n = número de genes

m = número de gerações de autofecundação.

A proporção esperada de genótipos em homozigose e heterozigose para o caráter em progênies $F_{2:5}$ e $F_{2:6}$ depende da hipótese do número de genes testados. Para um gene foi testada a hipótese de segregação 1:1 e para dois genes a hipótese de segregação 3:1.

3.6 Avaliação da frequência de espiguetas mosaico em progênies $F_{2:6}$ do cruzamento URS Taura x UFRGS 017004-2 com a característica multiflora

A análise foi realizada em panículas de 23 linhagens recombinantes do cruzamento URS Taura x UFRGS 017004-2, que apresentaram a característica de panícula multiflora, tanto na progênie $F_{2:5}$ quanto na $F_{2:6}$ nos anos de 2012 e 2013, respectivamente. Para cada linhagem recombinante foram avaliadas 5 panículas (cada panícula era proveniente de uma planta diferente). Em cada panícula, as espiguetas foram analisadas separadamente e foi avaliada a formação de grãos com casca em espiguetas que normalmente seriam de grãos sem casca, o que caracteriza uma espiguetas com fenótipo mosaico. O número

total de espiguetas mosaico de cada panícula foi representado em porcentagem com relação ao total de espiguetas com grãos sem casca na panícula.

3.7 Genotipagem com marcadores SNPs em linhagens recombinantes de aveia

3.7.1 Material vegetal

A genotipagem foi realizada nos genótipos parentais (Tabela 1), e em 94 linhagens recombinantes de cada uma das respectivas populações $F_{2:5}$ (UFRGS 01B7114-1-3 x UFRGS 006013-1 e URS Taura x UFRGS 017004-2), que foram obtidas conforme descrição no item 3.3. O critério de analisar um número menor de linhagens recombinantes foi adotado para diminuir custos e obter resultados em duas populações de cruzamentos diferentes. Para a genotipagem, as 94 linhagens recombinantes de cada população, foram selecionadas de acordo com a porcentagem de linhagens em cada classe: multiflora/nuda, normal/casca e segregante (multiflora e normal), com base no total de genótipos da população.

Devido ao fato de que nas progênies $F_{2:5}$ as panículas de todas as plantas em cada linhagem recombinante foram colhidas juntas (*bulk*), para a extração de DNA genômico, foi realizado um *bulk* de sementes de forma que todas as panículas, de cada linhagem recombinante, colhidas na progênie $F_{2:5}$ fossem representadas. Em cada linhagem recombinante foram retiradas duas sementes de cada panícula colhida. O *bulk* de sementes foi colocado para germinar em papel germitest umedecido, por 7 dias em câmara incubadora do tipo B.O.D (*Biochemical Oxygen Demand*), sob temperatura de 22°C. Após este período, uma pequena amostra de tecidos de todas as plantas de cada linhagem foi coletada. O material vegetal foi armazenado em tubo *ependorf* de 1,5 mL e macerado com nitrogênio líquido. Procedeu-se então a extração de DNA genômico.

3.7.2 Extração de DNA genômico

A extração de DNA foi realizada através do método modificado de Lodhi *et al.* (1994). Em cada amostra de tecido vegetal macerado foi adicionado 600 μ L de tampão de extração (CTAB 1%; PVP 2%; Tween 0,5%; [1M] Tris-HCl pH 8,0 50 mM; [0,5M] EDTA (mL) 20 mM; [5M] NaCl 1,1M; [10M]LiCl 0,4 M e β -mercaptoetanol) com uma pequena quantidade de pvpp (polivinilpolipirrolidona) e agitado em vórtex para completa homogeneização. Após as amostras permanecerem incubadas em banho maria a 60°C por 25 minutos, adicionou-se 600 μ L de CIA (clorofórmio:álcool isoamílico 24:1) e misturou-se gentilmente por inversão de tubo por 4 minutos para formar uma emulsão.

Após a incubação, as amostras foram centrifugadas a 10000 G por 10 minutos em temperatura ambiente e a fase aquosa superior foi transferida para um novo tubo devidamente identificado. Na sequência, adicionou-se 250 μ L de NaCl 5M na solução aquosa recuperada da etapa anterior. As amostras foram agitadas em vórtex e se adicionou 750 μ L de isopropanol gelado (-20°C). Após agitar novamente em vórtex, foram refrigeradas a 4°C por 15-20 minutos. Nesta etapa ocorre a precipitação do DNA e formação do pellet.

Posteriormente, centrifugou-se a 10000 G por 10 minutos em temperatura ambiente. O sobrenadante foi descartado e o pellet lavado em etanol 75% gelado (1000 μ L). Após eliminar todo o excesso de álcool da amostra, o pellet foi secado à 37°C em estufa por 10 minutos e em seguida resuspenso em 50-100 μ L de TE (10 mM Tris-HCl pH 8,0 - 1 mM EDTA pH 8,0) + RNase 20 μ g/mL (Qiagen Inc., Chatworth, CA) . Para correta ação da RNase, as amostras foram incubadas em banho maria a 50°C por 15 minutos. Os parâmetros de qualidade e concentração do DNA foram determinados em gel de agarose 1,5% e em espectrofotômetro.

3.7.3 Concentração e submissão do DNA para genotipagem de alta densidade por marcadores SNP

O DNA de todas as linhagens foi diluído para a concentração de trabalho de 50 ng/ μ L. Uma alíquota composta por 20 μ L de DNA de cada linhagem foi submetida para análise genotípica no Biosciences Research Laboratory, United States Department of Agriculture (USDA) - Agricultural Research Service (ARS), localizado em Fargo, ND. Marcadores SNP foram detectados entre as linhagens utilizando a plataforma de genotipagem "GoldenGate Genotyping Assay". Esta plataforma é composta por 6.000 marcadores SNP desenvolvidos para aveia e comercializada pela empresa Illumina (<http://www.illumina.com>).

3.8 Construção dos mapas genéticos de ligação

Os grupos de ligação foram construídos utilizando o programa computacional JoinMap, versão 4.0 (Van Ooijen, 2006). Através deste programa foi possível determinar a ordem e a distância de ligação entre os marcadores. Os grupos de ligação foram determinados usando-se LOD (*Logarithm of the odds*) 6.0 e frequência de recombinação máxima de 40%. As frequências de recombinação foram convertidas em distâncias genéticas (*centiMorgans* - cM) através da função Kosambi disponível no próprio aplicativo (Kosambi, 1944).

O mapa genético foi desenvolvido com dados genotípicos de 93 linhagens recombinantes, na população do cruzamento UFRGS 01B7114-1-3 x UFRGS 006013-1. Nesta população, uma das linhagens genotipadas foi excluída do mapeamento por conter mais de 50% de dados perdidos. Na população do cruzamento URS Taura x UFRGS 017004-2 o mapa genético foi desenvolvido com dados genotípicos de 94 linhagens. Para o desenvolvimento do mapa da foram utilizados marcadores polimórficos entre os genótipos parentais e com

padrão de segregação conforme esperado para a geração $F_{2:5}$. No total, para a população UFRGS 01B7114-1-3 x UFRGS 006013-1 foram utilizados 633 marcadores SNP, e para a população URS Taura x UFRGS 017004-2, 614 marcadores.

Os dados fenotípicos obtidos para cada linhagem nas duas populações, conforme relatado no item 3.4, foram incorporados aos dados genotípicos para o desenvolvimento do mapa genético. Para cada classe fenotípica foi atribuído um código, de acordo com as exigências do programa JoinMap, versão 4.0. Desta forma: às linhagens que apresentaram característica fenotípica de panícula normal foi atribuído o código "a" ; às linhagens que apresentaram característica fenotípica de panícula multiflora, o código "b" e às linhagens que apresentaram característica segregante (presença de panículas multiflora e panículas normais nas plantas de uma mesma linhagem), foi atribuído o código "h". Os marcadores fenotípicos do cruzamento UFRGS 01B7114-1-3 x UFRGS 006013-1 foram denominados de Naked01_2012 (fenotipagem em progênies $F_{2:5}$, ano de 2012) e Naked02_2013 (fenotipagem em progênies $F_{2:6}$, ano de 2013). Já no cruzamento URS Taura x UFRGS 017004-2 foram denominados de Naked03_2012 (fenotipagem em progênies $F_{2:5}$, ano de 2012) e Naked04_2013 (fenotipagem em progênies $F_{2:6}$, ano de 2013).

Após a construção individual dos mapas genéticos em cada cruzamento foi realizada a integração entre os dois mapas, utilizando aplicativo do próprio programa JoinMap. Foram integrados somente os grupos de ligação, que possuíam pelo menos 2 marcadores em comum com algum grupo de ligação do outro cruzamento. A integração deu origem a grupos de ligação consenso entre os dois cruzamentos. Além destes, cada cruzamento possui grupos de ligação próprios, que não foram agrupados.

3.9 Ancoragem dos grupos de ligação

Após a integração dos dois mapas, foi realizado a ancoragem de cada grupo de ligação ao mapa consenso da aveia, desenvolvido a partir de seis populações com marcadores SNP e DArT (Oliver *et al.*, 2013). Esta análise foi realizada utilizando o programa excel através da busca por marcadores em comum, entre cada grupo de ligação e o grupo de marcadores correspondentes a cada cromossomo no mapa consenso. A ancoragem do grupo de ligação 15 do cruzamento II com o cromossomo 16A foi representada graficamente utilizando o programa MapChart (Voorrips, 2001).

4 RESULTADOS

4.1 Avaliações fenotípicas

4.1.1 Avaliação da frequência de espiguetas mosaico em genótipos parentais com característica de grãos nuda

Na análise fenotípica realizada nos genótipos parentais multiflora/nuda (UFRGS 017004-2 e UFRGS 006013-1) foi possível observar expressão diferenciada da característica nuda entre os dois genótipos nos dois anos de avaliação. No ano de 2012, o genitor UFRGS 017004-2 apresentou em todas as espiguetas somente grãos sem casca. No ano de 2013 o resultado foi igual ao ano anterior. Em todas as 10 panículas trilhadas não houve formação de grãos com casca em nenhuma espiguetas.

Na avaliação fenotípica realizada para o genitor UFRGS 006013-1 observou-se a ocorrência de grãos com casca em espiguetas multiflora, que normalmente formariam grãos sem casca, formando espiguetas mosaico. No ano de 2012, das 10 panículas analisadas, metade apresentaram espiguetas mosaico. A porcentagem de espiguetas mosaico nestas panículas variou de 8 a 29% (Figura 3). No ano de 2013, no mesmo genitor, houve um incremento na ocorrência de espiguetas mosaico. Todas as 10 panículas trilhadas apresentaram formação de espiguetas mosaico. Nestas, a ocorrência de espiguetas mosaico variou de 9 a 60% (Figura 3).

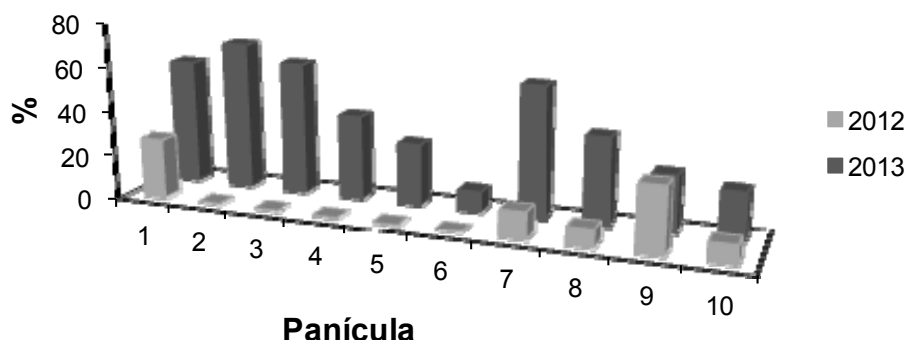


FIGURA 3. Porcentagem de espiguetas mosaico na panícula do genitor multiflora/nuda UFRGS 006013-1. Eldorado do Sul, RS, 2012 e 2013.

No genitor que apresentou variação, a análise das espiguetas foi realizada dividindo a panícula em três terços, superior, médio e inferior. No ano de 2012, no terço superior, das dez panículas trilhadas somente uma apresentou espiguetas mosaico. No ano de 2013, três panículas apresentaram formação de 13 a 38% de espiguetas mosaico no terço superior da panícula (Figura 4A). No ano de 2012, no terço médio foram observadas 5 panículas com presença de espiguetas mosaico, com variação de 13 a 47%. No ano seguinte, no terço médio, todas as panículas analisadas apresentaram formação de espiguetas mosaico, variando de 7 a 71% (Figura 4B).

No terço inferior em 2012, cinco panículas apresentaram espiguetas mosaico, com variação de 6 a 38%. No ano de 2013, todas as panículas apresentaram variação de 20 a 100% na formação de espiguetas mosaico (Figura 4C). No ano de 2013 a ocorrência de espiguetas mosaico no genitor UFRGS 006013-1 foi maior do que no ano de 2012. Tanto na porcentagem de espiguetas mosaico como no número de plantas que apresentaram tais variações (Figura 4).

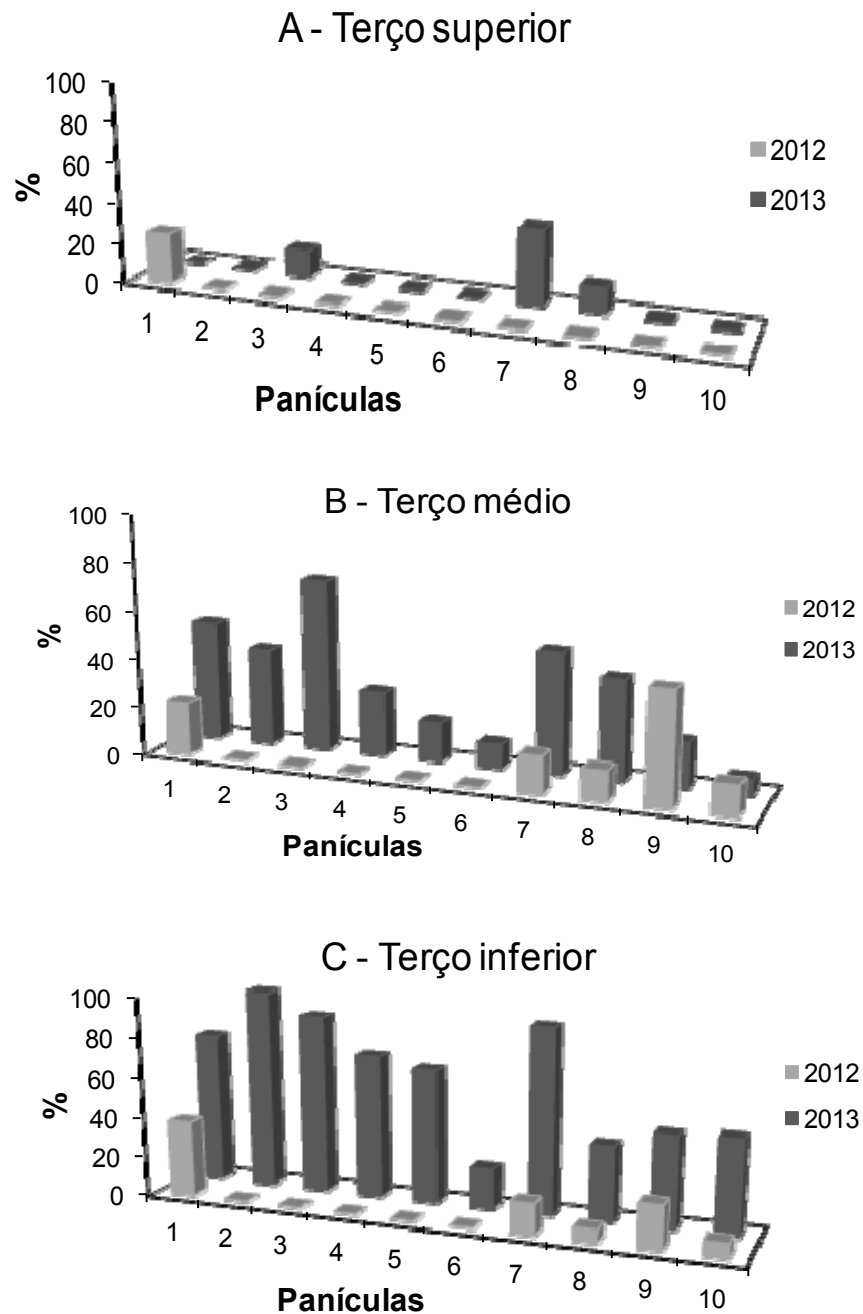


FIGURA 4. Distribuição das espiguetas mosaico nos terços, superior, médio e inferior em panículas do genitor multiflora/nuda UFRGS 006013-1. Eldorado do Sul, RS, 2012 e 2013.

4.1.2 Avaliação fenotípica das progênies $F_{2:5}$ e $F_{2:6}$ sob condições de campo

A análise fenotípica das linhagens obtidas dos cruzamentos: UFRGS 01B71114-1-3 x UFRGS 006013-1 e URS Taura x UFRGS 017004-2 foi realizada nos anos de 2012 e 2013. Durante os dois anos foi identificado o tipo de panícula que cada linhagem produzia (multiflora/nuda, normal/casca ou segregante (multiflora e normal na mesma linhagem)). Para facilitar o entendimento, as populações oriundas dos dois cruzamentos serão apresentadas separadamente.

4.1.2.1 Cruzamento I: UFRGS 01B7114-1-3 x UFRGS 006013-1

A análise fenotípica das linhagens recombinantes do cruzamento UFRGS 01B7114-1-3 x UFRGS 006013-1 foi realizada nas progênies $F_{2:5}$ e $F_{2:6}$. Devido a proporção observada de genótipos heterozigotos ter sido acima da proporção esperada, foram utilizadas somente as classes de genótipos homozigotos para o cálculo do qui-quadrado.

Nas progênies $F_{2:5}$ (2012), foi observado que 54,0 linhagens apresentaram panículas multiflora/nuda e 63,0 apresentaram segregação para a característica de panículas normais/casca. Considerando a hipótese de que um gene influencia o caráter, as proporções esperadas para progênies $F_{2:5}$ seriam de 67,5 genótipos multiflora e 67,5 genótipos com panículas normais. Na progênie $F_{2:6}$ (2013), foram observadas 55,0 linhagens com a característica multiflora/nuda e 73,0 linhagens com panículas normais/casca. Para esta geração, considerando a hipótese de um gene seria esperado 69,7 linhagens multiflora e 69,7 genótipos com panículas normais. O valor do teste de qui-quadrado foi de 0,7 nas progênies $F_{2:5}$ e de 2,52 nas progênies $F_{2:6}$ ($P > 0,05$) aceitando a hipótese proposta de um gene (Tabela 2).

TABELA 2. Frequências observadas e esperadas para o caráter multiflora em progênies de aveia F_{2:5} e F_{2:6}, do cruzamento UFRGS 01B7114-1-3 x UFRGS 006013-1. EEA/UFRGS, Eldorado do Sul, RS, 2012 e 2013.

Fenótipo	FO	FE	χ^2	P	FO	FE	χ^2	P
	F _{2:5}				F _{2:6}			
Multiflora	54	58,5			55	64		
Normal	63	58,5			73	64		
Total	117		0,7	0,4	128		2,5	0,11

Legenda: FO= Frequência observada; FE= Frequência esperada; χ^2 = qui-quadrado; P= Probabilidade

4.1.2.2 Cruzamento II: URS Taura x UFRGS 017004-2

A análise fenotípica das linhagens recombinantes do cruzamento URS Taura x UFRGS 017004-2 foi realizada nas progênies F_{2:5} e F_{2:6}. Como na população do cruzamento I, devido a proporção observada de genótipos heterozigotos ter sido acima da proporção esperada, foram utilizadas somente as classes de genótipos homozigotos para o cálculo do qui-quadrado. Nas progênies F_{2:5} foi observado que 48 linhagens apresentavam a característica de panícula multiflora e 112 apresentavam panícula do tipo normal. Nestas progênies, considerando a atuação de dois genes influenciando o caráter, é esperado que, aproximadamente 88% dos indivíduos apresentem locos em homozigose nos dois locos.

Os resultados observados sugerem uma proporção de 3:1 (normal: multiflora), sendo assim, os resultados esperados nestas condições, em progênies F_{2:5} são: 120 linhagens com panículas normais e 40 linhagens com panícula multiflora. O valor do qui-quadrado obtido para progênies F_{2:5} foi de 2,1 que se adequou satisfatoriamente (P>0,05) à hipótese proposta de dois genes (Tabela 3). Para a progênie F_{2:6}, testando o modelo de dois genes é esperado que 94% das linhagens estejam em homozigose. Desta forma, os resultados esperados para esta geração foram: 43 linhagens para a classe de panícula

multiflora e 129 linhagens para a classe de panícula normal. O valor do qui-quadrado obtido foi de 1,5 que se adequou satisfatoriamente ($P > 0,05$) à hipótese proposta de dois genes (Tabela 3).

TABELA 3. Frequências observadas e esperadas para o caráter multiflora em progênies $F_{2:5}$ e $F_{2:6}$. Cruzamento URS Taura x UFRGS 017004-2. EEA/UFRGS, Eldorado do Sul, RS, 2012 e 2013.

	FO	FE	χ^2	P	FO	FE	χ^2	P
Fenótipo	$F_{2:5}$				$F_{2:6}$			
Multiflora	48,0	40,0			50	43,0		
Normal	112,0	120,0			122	129,0		
Total	160,0		2,1	0,05	172		1,5	0,22

Legenda: FO= Frequência observada; FE= Frequência esperada; χ^2 = qui-quadrado; P= Probabilidade

4.1.3 Avaliação da frequência de espiguetas mosaico em progênies $F_{2:6}$ do cruzamento URS Taura x UFRGS 017004-2 com a característica multiflora

Foram analisadas 23 progênies ($F_{2:6}$) que apresentaram característica de panícula multiflora nas progênies $F_{2:5}$ e mantiveram este fenótipo na geração seguinte. De cada linhagem foram avaliadas 5 panículas e foi observado que em algumas panículas houve a formação de espiguetas mosaico. Na Tabela 4 estão listados os seis genótipos que apresentaram esta variação. Na linhagem 150, as panículas 1, 2, 4 e 5 apresentaram a formação de espiguetas mosaico nas proporções de 13,64, 22,03, 31,25 e 13,21%, respectivamente. Nas linhagens 158 e 185 somente uma panícula de cada linhagem apresentou proporção de espiguetas mosaico de 27 e 15%, respectivamente. Nas linhagens 202 e 272 foram observadas duas panículas com espiguetas mosaico em cada linhagem com proporções de 12,5 e 62,5% (linhagem 202), 21 e 43% (linhagem 272). Já na linhagem 340 quatro das cinco panículas apresentaram proporções de 25,6, 32,3,

6,4 e 10,3% de espiguetas mosaico (Tabela 4). Nas demais 17 linhagens analisadas, não foi observado a formação de espiguetas mosaico.

TABELA 4. Frequência de espiguetas mosaico, em porcentagem (%), em linhagens segregantes de aveia do cruzamento URS Taura x UFRGS 017004-2 em progênies F_{2:6}. EEA/UFRGS, Eldorado do Sul, RS, 2012 e 2013.

Linhagem	Panícula				
	1	2	3	4	5
150	13,6	22,0	0	31,25	13,2
158	0	0	0	0	27,0
185	0	0	15,0	0	0
202	12,5	0	0	0	62,5
272	0	0	21,0	0	43,0
340	25,6	32,3	6,4	0	10,3

4.2 Avaliações genóticas

4.2.1 Mapas genéticos de ligação

Polimorfismos genéticos de marcadores SNP foram detectados nas linhagens recombinantes das duas populações de aveia: UFRGS 01B71114-1-3 x UFRGS 006013-1 e URS Taura x UFRGS 017004-2. Estes resultados permitiram a construção de mapas genéticos de ligação nos dois cruzamentos. No cruzamento UFRGS 01B71114-1-3 x UFRGS 006013-1, dos 633 marcadores SNP, identificados como polimórficos entre os genótipos parentais, 501 apresentaram padrão de segregação mendeliana e foram utilizados na formação dos grupos de ligação do mapa genético. Para o cruzamento URS Taura x UFRGS 017004-2, dos 614 marcadores SNP polimórficos entre os genótipos parentais, 435 segregaram de acordo com as proporções mendelianas e foram agrupados em grupos de ligação.

Nos mapas genéticos foram identificados grupos de ligação que possuíam pelo menos 2 marcadores em comum entre as duas populações, permitindo o

agrupamento entre tais grupos. No mapa do cruzamento UFRGS 01B71114-1-3 x UFRGS 006013-1, 23 grupos de ligação e no cruzamento URS Taura x UFRGS 017004-2, 25 possuíam marcadores em comum. Desta forma, com o agrupamento foram obtidos 20 grupos de ligação consenso entre as duas populações (Figura 5). Além dos grupos de ligação consenso das duas populações, o cruzamento UFRGS 01B71114-1-3 x UFRGS 006013-1 possui 19 grupos de ligação e o cruzamento URS Taura x UFRGS 017004-2 possui 22 grupos de ligação que não foram agrupados. Sendo assim, os mapas genéticos possuem 39 e 42 grupos de ligação, respectivamente. O tamanho abrangido pelo mapa da população do cruzamento UFRGS 01B71114-1-3 x UFRGS 006013-1, foi de 1265,4 cM. Na população do cruzamento URS Taura x UFRGS 017004-2, o mapa genético foi de 1213,7 cM, considerando os grupos de ligação integrados entre os dois cruzamentos mais os grupos de ligação dos respectivos cruzamentos. (Figura 5).

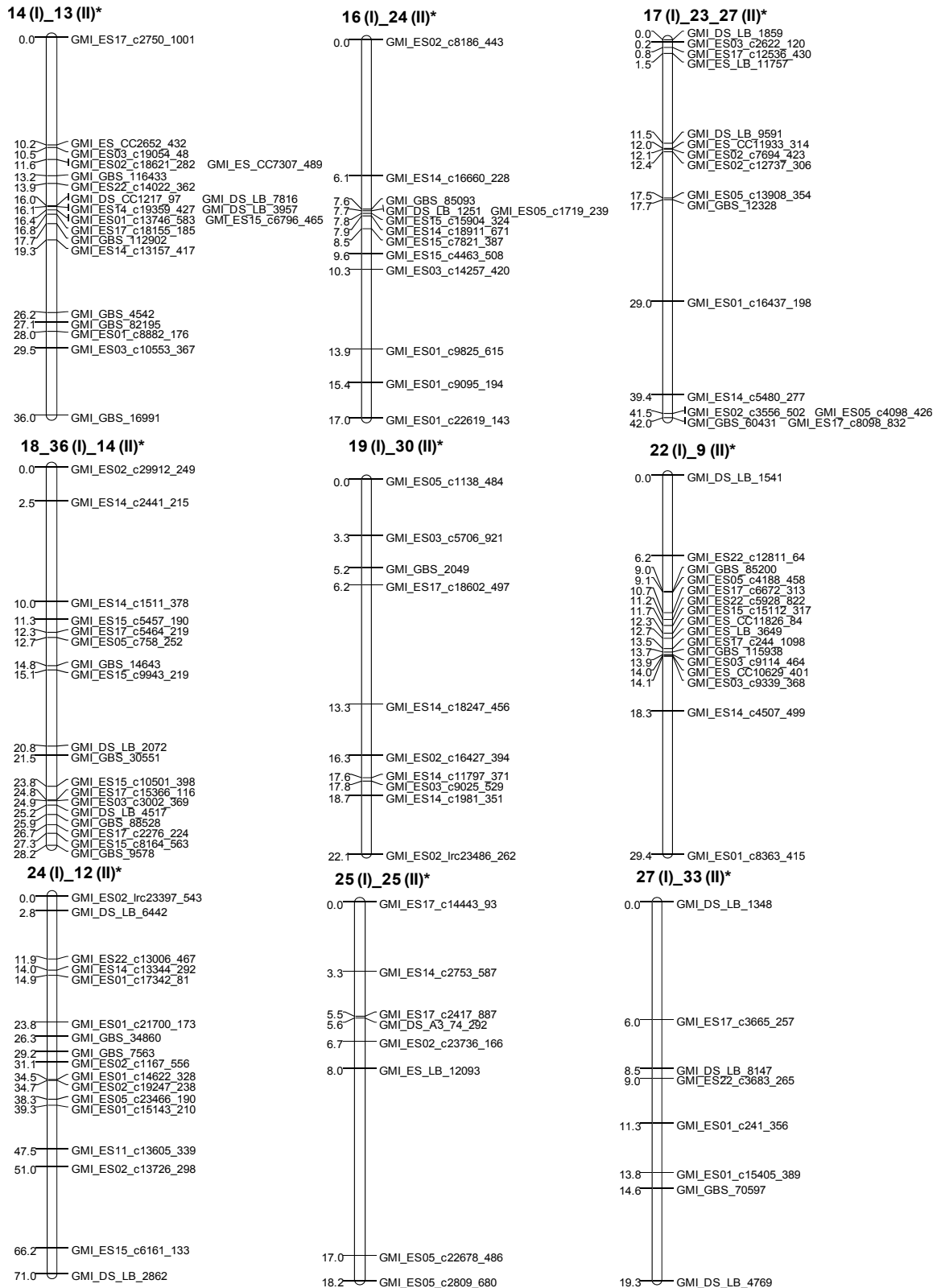
Os dados fenotípicos obtidos nas linhagens recombinantes do cruzamento UFRGS 01B71114-1-3 x UFRGS 006013-1, nos anos de 2012 e 2013, foram mapeados no grupo de ligação 32. O marcador fenotípico, Naked01_2012, está a 6,1 cM do marcador GMI_ES_c5923_221, e Naked02_2013 está a 12,5 cM de distância do marcador molecular. Para o cruzamento URS Taura x UFRGS 017004-2, os marcadores fenotípicos Naked03_2012 e Naked04_2013, foram agrupados no grupo de ligação 15, juntamente com os marcadores moleculares: GMI_ES17_c5923_221, GMI_ES22_c7478_431, GMI_GBS_86198, GMI_DS_LB_3908, GMI_ES02_c1538_477, GMI_GBS_31651, GMI_ES_CC18060_346 e GMI_ES22_c7747_621. Os marcadores moleculares mais próximos aos marcadores fenotípicos são: GMI_ES17_c5923_221, GMI_ES22_c7478_431, GMI_GBS_86198, GMI_DS_LB_3908, que estão a 11,5,

16,3, 21,3 e 24,7 cM, respectivamente, distante do marcador Naked03_2012 e 15,1, 19,9, 24,9, 28,3 cM, respectivamente do marcador Naked04_2013 (Figura 5).

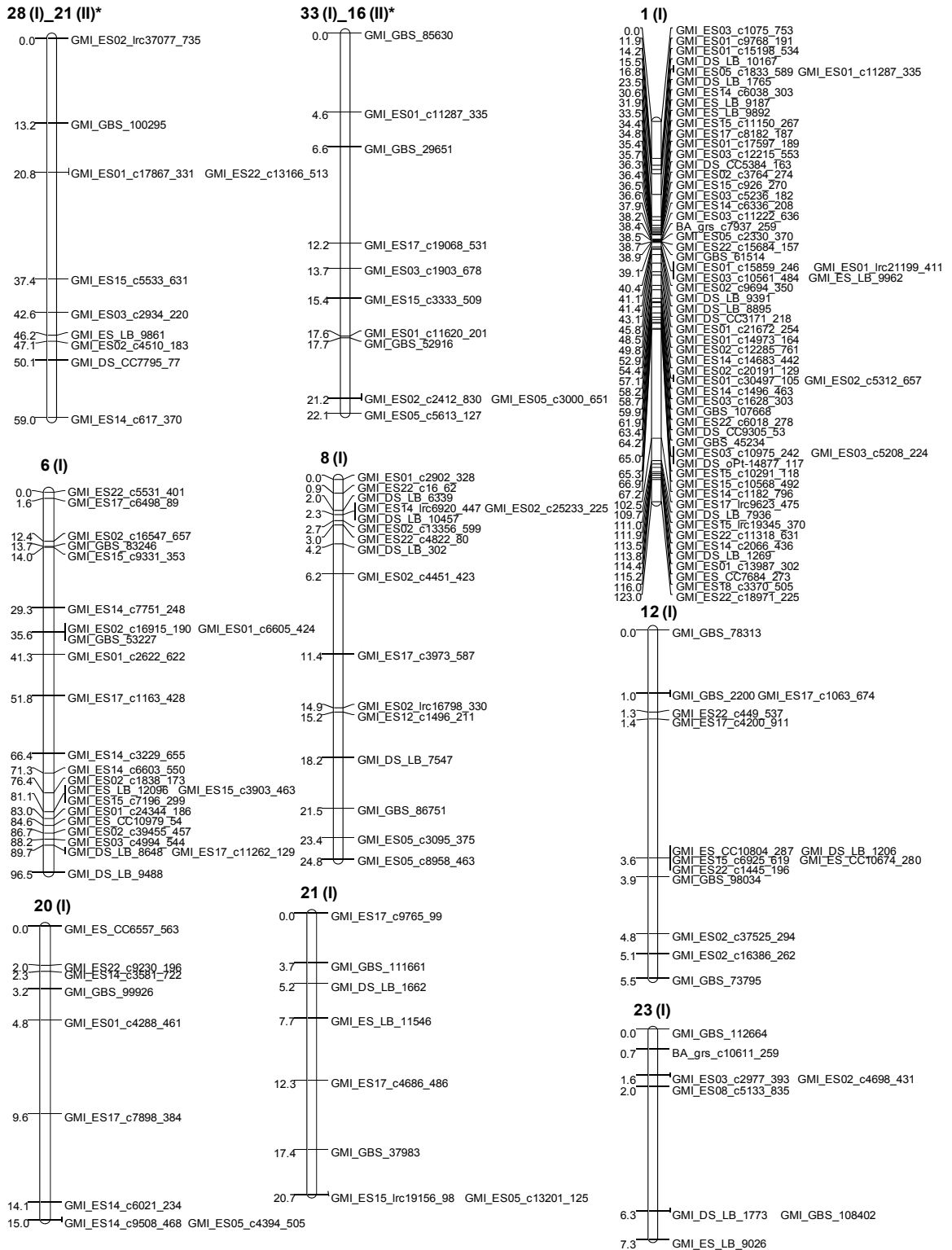
4.2.2 Análise dos dados genotípicos

4.2.2.1 Cruzamento I: UFRGS 01B71114-1-3 x UFRGS 006013-1

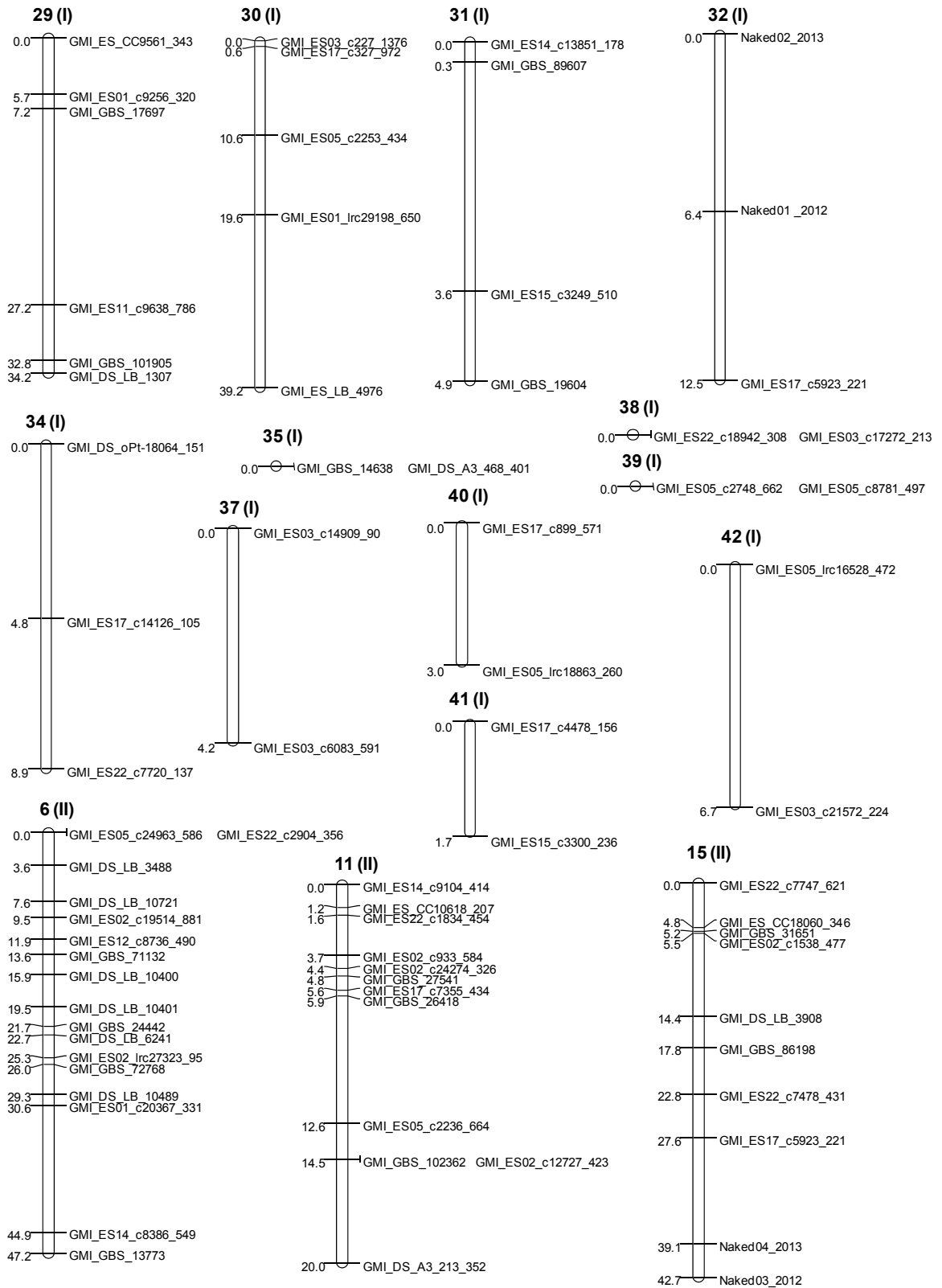
No mapa genético deste cruzamento, foi observado que os marcadores fenotípicos, Naked01_2012 e Naked02_2013, estão ligados ao marcador molecular GMI_ES17_c5923_221 (Figura 5). De acordo com resultados obtidos com a análise genotípica nas 94 linhagens recombinantes, foi observado que das 54 linhagens que apresentaram alelo do genitor UFRGS 01B71114-1-3 (normal/casca) para o loco GMI_ES17_c5923_221, 38 tiveram fenótipo de panícula normal/casca nos dois anos analisados e 16 apresentaram segregação em ambos ou em um dos dois anos analisados. Entre as 36 linhagens recombinantes que apresentaram alelo do genitor UFRGS 006013-1 (multiflora/nuda) no mesmo loco, 30 apresentaram fenótipo de panículas multiflora/nuda nos dois anos e 5 apresentaram segregação em ambos ou em um dos dois anos (Tabela 5).



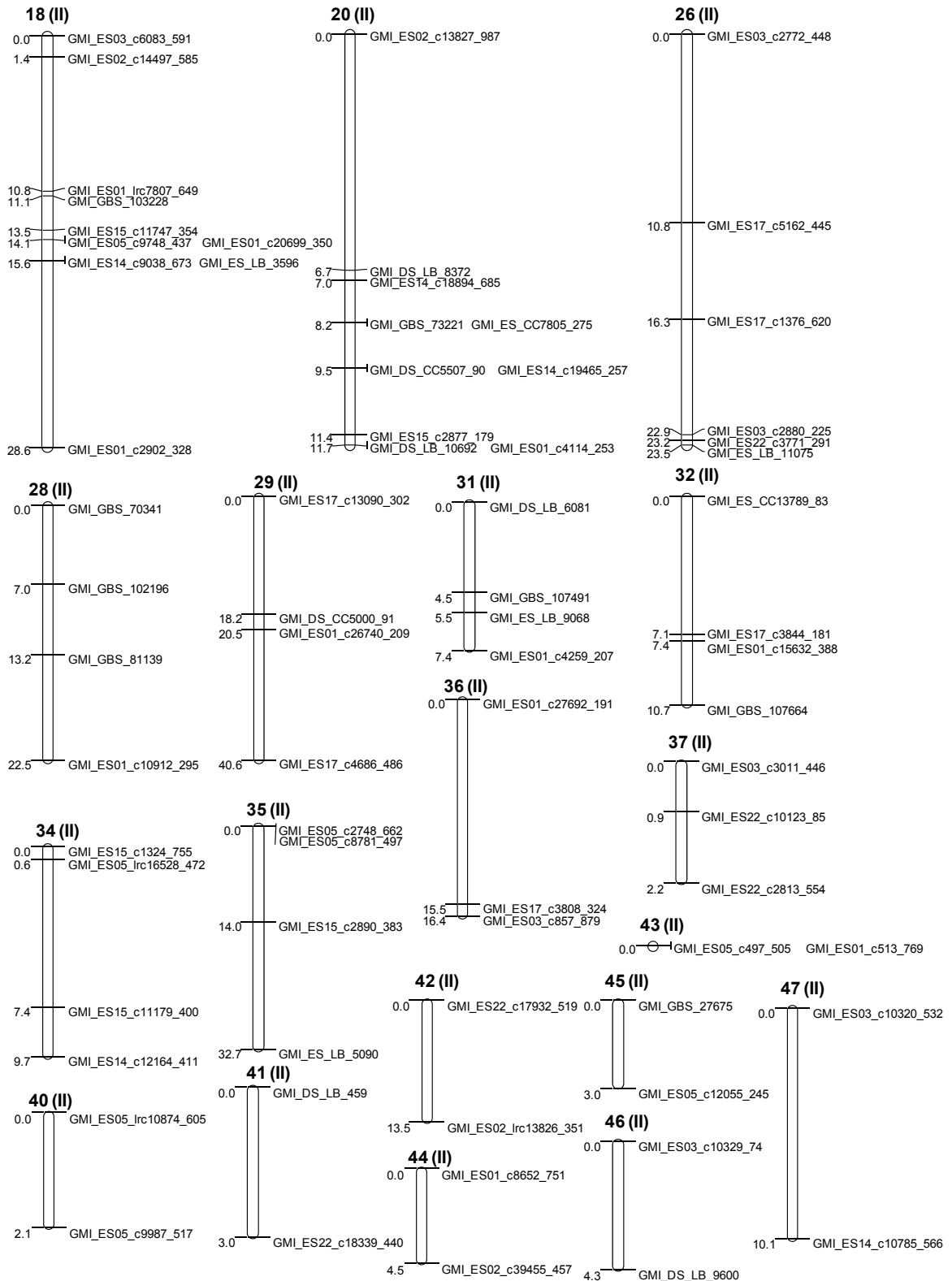
continuação FIGURA 5. Mapa genético de ligação com marcadores SNP. (I) cruzamento UFRGS 01B71114-1-3 x UFRGS 006013-1; (II) cruzamento URS Taura x UFRGS 017004-2; * Integração entre grupos de ligação dos cruzamentos I e II. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2014.



continuação FIGURA 5. Mapa genético de ligação com marcadores SNP. (I) cruzamento UFRGS 01B71114-1-3 x UFRGS 006013-1; (II) cruzamento URS Taura x UFRGS 017004-2; * Integração entre grupos de ligação dos cruzamentos I e II. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2014.



continuação FIGURA 5. Mapa genético de ligação com marcadores SNP. (I) cruzamento UFRGS 01B71114-1-3 x UFRGS 006013-1; (II) cruzamento URS Taura x UFRGS 017004-2; * Integração entre grupos de ligação dos cruzamentos I e II. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2014.



continuação FIGURA 5. Mapa genético de ligação com marcadores SNP. (I) cruzamento UFRGS 01B71114-1-3 x UFRGS 006013-1; (II) cruzamento URS Taura x UFRGS 017004-2; * Integração entre grupos de ligação dos cruzamentos I e II. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2014.

TABELA 5. Dados genotípicos e fenotípicos nas linhagens recombinantes. do Cruzamento UFRGS 01B71114-1-3 x UFRGS 006013-1 para o loco GMI_ES17_c5923_221. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2014

N° de Genótipos	Loco Gênico	Fenótipo	
	GMI_ES17_c5923_221	2012	2013
01B71114-1-3	BB	N	N
UFRGS 006013-1	AA	MF	MF
38	BB	N	N
5	BB	S	S
5	BB	S	MF
6	BB	S	N
30	AA	MF	MF
1	AA	S	S
4	AA	MF	S
1	AA	MF	N

N= panícula normal; MF= panícula multiflora; S= segregante (panículas multiflora e normal).

4.2.2.2 Cruzamento II: URS Taura x UFRGS 017004-2

No mapa genético do cruzamento URS Taura x UFRGS 017004-2, os marcadores fenotípicos, Naked03_2012 e Naked04_2013 apresentaram ligação mais forte com 4 marcadores moleculares: GMI_ES17_c5923_221, GMI_ES22_c7478_431, GMI_GBS_86198 e GMI_DS_LB_3908. Analisando os dados genotípicos destes locos nas linhagens recombinantes deste cruzamento, foram observadas 46 linhagens com alelos do parental URS Taura (normal/casca), nos locos GMI_DS_LB_3908, GMI_GBS_86198, GMI_ES17_c5923_221 e GMI_ES22_c7478_431. Entre estas linhagens 39 apresentaram fenótipo de panículas normais nas duas gerações avaliadas e grãos com casca na geração F_{2:6}. Sete linhagens segregaram, isto é, apresentaram panículas multiflora e panículas normais na mesma linhagem, em uma ou ambas as gerações.

Por outro lado, 33 linhagens apresentaram alelos do parental UFRGS 017004-2 (multiflora/nuda) nos quatro locos (GMI_DS_LB_3908, GMI_GBS_86198, GMI_ES17_c5923_221 e GMI_ES22_c7478_431). Entre estas,

21 possuíam fenótipo de espiguetas multiflora nas duas progênes ($F_{2:5}$ e $F_{2:6}$) e grãos sem casca em $F_{2:6}$; 6 linhagens apresentaram panículas multiflora nas duas gerações e formação de espiguetas mosaico na progênie $F_{2:6}$ e 6 linhagens segregaram, apresentando formação de panículas multiflora e panículas normais, em uma ou ambas as gerações (Tabela 6).

TABELA 6. Dados genotípicos e fenotípicos de linhagens com alelos dos genótipos parentais. Cruzamento URS Taura x UFRGS 017004-2. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2014

N° de genótipos	Locos Gênicos				Fenótipo		
	1	2	3	4	Panícula		Grão
					2012	2013	2013
URS Taura	BB	BB	BB	BB	N	N	casca
UFRGS 017004-2	AA	AA	AA	AA	MF	MF	sem casca
39	BB	BB	BB	BB	N	N	casca
2	BB	BB	BB	BB	S	S	-
4	BB	BB	BB	BB	S	N	-
1	BB	BB	BB	BB	S	MF	-
21	AA	AA	AA	AA	MF	MF	sem casca
6	AA	AA	AA	AA	MF	MF	msc
1	AA	AA	AA	AA	S	N	-
1	AA	AA	AA	AA	N	S	-
2	AA	AA	AA	AA	MF	S	-
2	AA	AA	AA	AA	S	S	-

Legenda: 1= GMI_ES17_c5923_221; 2= GMI_ES22_c7478_431; 3= GMI_GBS_86198; 4= GMI_DS_LB_3908; N= panícula normal; MF= panícula multiflora; S= segregante (panículas multiflora e normal); - não avaliado; msc= mosaico (grãos com casca e sem casca).

Quando analisados os dados genotípicos das linhagens com alelos recombinantes, quanto aos locos GMI_ES17_c5923_221 e GMI_ES22_c7478_431, observa-se que 5 linhagens tiveram alelos do pai com casca nestes dois locos e apresentaram o fenótipo de panícula normal e grãos com casca. Duas linhagens que apresentaram alelos do genitor multiflora/nuda, nestes dois locos, apresentaram o fenótipo de característica multiflora, sendo que uma apresentou grãos sem casca e a outra apresentou fenótipo mosaico (grãos com casca junto com grãos sem casca). Por outro lado, 4 linhagens apresentaram

alelos do pai multiflora/nuda no loco GMI_ES22_c7478_431 e alelo do pai normal/casca no loco GMI_ES17_c5923_221, entre estas, duas segregaram, 1 apresentou fenótipo de panícula normal e grãos com casca e 1 apresentou fenótipo de panícula multiflora e fenótipo mosaico (Tabela 7).

TABELA 7. Dados genotípicos e fenotípico de linhagens com alelos recombinantes. Cruzamento URS Taura x UFRGS 017004-2. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2014.

Genótipo	Locos Gênicos				Fenótipo		
	1	2	3	4	Panícula		Grão
					2012	2013	2013
URS Taura	BB	BB	BB	BB	N	N	casca
UFRGS 017004-2	AA	AA	AA	AA	MF	MF	sem casca
189	BB	AA	AB	AB	S	N	-
209	BB	NC	AB	BB	S	N	-
247	BB	AA	AA	AA	S	S	-
162	BB	BB	BB	AB	N	N	casca
187	BB	BB	BB	AB	N	N	casca
232	BB	BB	BB	AB	N	N	casca
327	BB	BB	BB	AA	N	N	casca
226	BB	BB	AB	AA	N	N	casca
199	BB	NC	AB	AB	N	N	casca
175	BB	AA	AB	AB	N	N	casca
152	AA	AA	AA	BB	MF	MF	sem casca
185	AA	AA	AA	AB	MF	MF	msc
205	BB	AA	AB	AB	MF	MF	msc

Legenda: 1= GMI_ES17_c5923_221; 2= GMI_ES22_c7478_431; 3= GMI_GBS_86198; 4= GMI_DS_LB_3908; NC= Dado perdido; N= panícula normal; MF= panícula multiflora; S= segregante (panículas multiflora e normal); - não avaliado; msc= mosaico (grãos com casca e sem casca).

4.2.3 Ancoragem dos grupos de ligação ao mapa consenso

Após a construção do mapa para as duas populações foi possível identificar a qual cromossomo cada grupo de ligação pertence através da comparação entre os marcadores dos grupos de ligação com os marcadores dos 21 cromossomos do mapa consenso da aveia hexaploide (Oliver *et al.*, 2013). Na tabela 8 estão listados os 21 cromossomos do mapa consenso e os grupos de

ligação deste estudo, que possuem marcadores moleculares em comum com os marcadores localizados em cada cromossomo.

Entre os marcadores mapeados no grupo de ligação 15, que possui os marcadores fenotípicos para o cruzamento II, dois marcadores, GMI_ES02_c1538_477 e GMI_ES_CC18060_346, foram previamente mapeados no cromossomo 16 do mapa consenso em aveia (Oliver *et al.*, 2013). O marcador GMI_ES02_c1538_477 está mais próximo aos marcadores fenotípicos desta população, 33,6 cM de Naked04_2013 e a 37,2 cM de Naked03_2012 (Figura 6).

TABELA 8. Ancoragem dos grupos de ligação aos respectivos cromossomos do mapa consenso da aveia. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2014.

Crom.	Grupo de ligação	Crom.	Grupo de ligação
1C	7,15 (I)_2 (II)*;	12D	17(I)_23,27(II)*, 34 (I)
2C	12 (I)	13A	8 (I); 18 (II); 36 (II)
3C	9 (I)_17 (II)*; 6 (II)	14D	10,26 (I)_10,22 (II)*
4C	23 (I); 11 (II)	15A	25 (I)_25 (II)*; 20 (I); 29 (I); 26(II)
5C	3,5 (I)_39 (II)*; 4(I)_7 (II)*	16A	11 (I)_4(II)*; 15 (II)
6C	28 (I)_21(II)*; 30 (I)	17A-7C	18,36 (I)_14 (II)*
7C-17A	14 (I)_13 (II)*	18D	6(I)
8A	5(I)_1 (II)*	19A	2,3 (I)_19,38 (II)*; 13 (I)_8 (II)*
9D	33 (I)_16 (II)*; 1 (I)	20D	16 (I)_24 (II)*; 20 (II)
10D-F-1	24 (I)_12 (II);	21D	27 (I)_33 (II)*; 35 (I)
11A	22 (I)_9 (II)		

Legenda: Crom.= Cromossomo; (I) cruzamento UFRGS 01B71114-1-3 x UFRGS 006013-1; (II) cruzamento URS Taura x UFRGS 017004-2; * Integração entre grupos de ligação dos cruzamentos I e II.

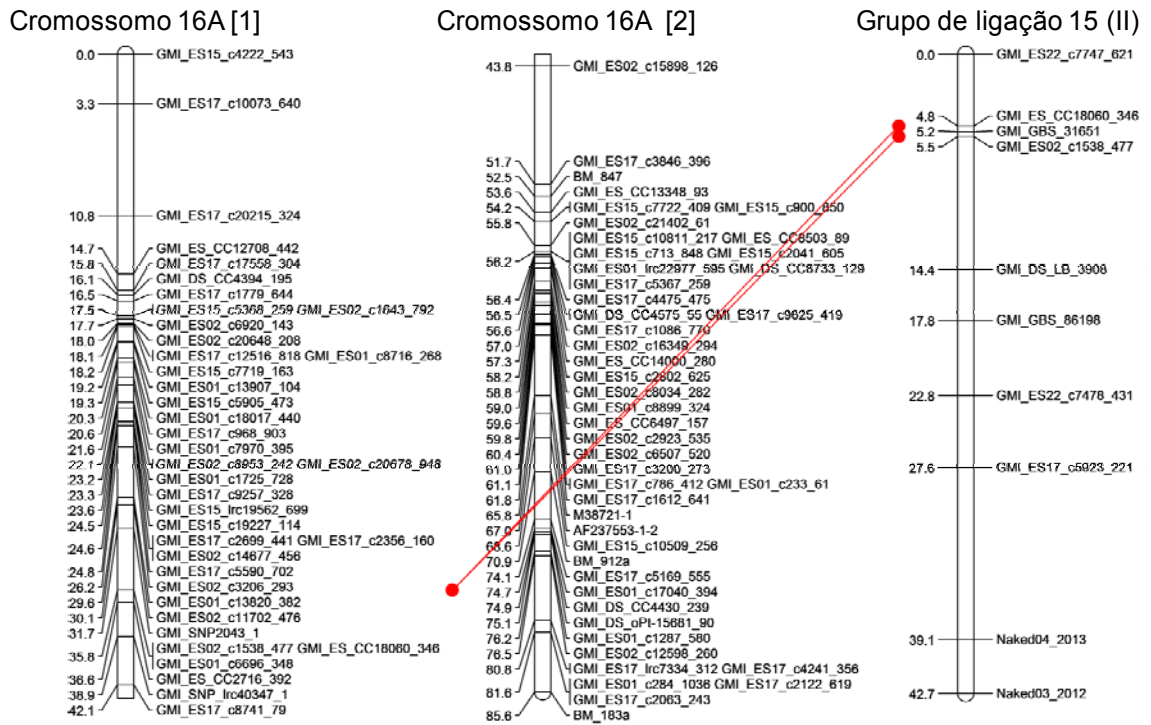


FIGURA 6. Ancoragem do grupo de ligação 15 com o cromossomo 16A do mapa consenso da aveia. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2014

5 DISCUSSÃO

Para facilitar o entendimento na discussão dos resultados, serão abordadas inicialmente as avaliações fenotípicas realizadas nos genótipos parentais com característica multiflora/nuda bem como as diferenças de expressão do caráter entre e dentro dos genótipos. Na sequência serão analisados os resultados obtidos em condições de campo através da classificação das linhagens recombinantes quanto ao tipo de panícula e o modelo genético proposto para as duas populações tratadas neste estudo. Também será discutida a característica multiflora como marcador morfológico para a característica nuda, com base nos resultados obtidos com a observação dos grãos em linhagens multiflora da população URS Taura x UFRGS 017004-2. Na sequência, será abordada a construção do mapa genético de ligação para as duas populações e a identificação de regiões genômicas associadas ao caráter multiflora/nuda em aveia hexaplóide. Na sequência serão abordados os aspectos moleculares, obtidos pela genotipagem com marcadores SNP, proximamente ligados ao caráter multiflora/nuda. Por fim, a ancoragem dos grupos de ligação dos mapas genéticos ao mapa consenso da aveia.

Os genótipos com característica multiflora/nuda apresentam diferenças no nível de expressão desta característica mesmo em gerações avançadas de autofecundação. Desta forma, foi realizada a análise fenotípica nas linhagens parentais multiflora/nuda: UFRGS 006013-1 e UFRGS 017004-2, em dois anos.

No ano de 2012, em todas as espiguetas analisadas do genótipo UFRGS 017004-2, não foi observada a presença de grãos com casca. O mesmo resultado foi observado neste genitor no ano de 2013. Estes resultados mostram que no genótipo UFRGS 017004-2 a característica é estável. Já para o outro genitor UFRGS 006013-1, o resultado foi distinto em comparação ao genitor UFRGS 017004-2. Nos dois anos de avaliação este genótipo apresentou formação de grãos com casca em espiguetas que normalmente seriam de grãos nuda, formando o que se denomina de espiguetas mosaico. No ano de 2013, houve aumento na ocorrência de espiguetas mosaico, sendo que todas as panículas analisadas apresentaram formação de grãos com e sem casca na mesma espiguetas (Figura 3).

Estas observações sugerem que, além da constituição genética, o ambiente é um fator muito importante na expressão do caráter nuda em aveia. Estudos anteriores já relataram a expressão incompleta deste caráter. Em uma análise de 89 genótipos nuda, Lawes & Boland (1974) constataram que somente 10 genótipos produziram 100% de grãos nuda, os demais 79 apresentaram pelo menos 5% de grãos com casca. Os resultados encontrados para o genitor UFRGS 006013-1 corroboram com Valentine *et al.* (2014), que observou que a característica nuda neste genitor não foi nos dois anos estudados. Por outro lado, Valentini *et al.* (2014) encontrou espiguetas com 100% dos grãos com casca, o que não foi encontrado no presente estudo.

Ao considerar cada terço da panícula separadamente no genitor UFRGS 006013-1, foi possível analisar como foram distribuídas as espiguetas mosaico nas panículas, nos dois anos de avaliação. No ano de 2013, no terço superior a formação de espiguetas mosaico ocorreu em um número maior de panículas

(Figura 4A) e nos terços médio e inferior, todas as panículas analisadas apresentaram porcentagens maiores de espiguetas mosaico (Figura 4B e 4C).

A formação de espiguetas somente com grãos sem casca é mais pronunciada no terço superior, sendo que nos terços médio e basal ocorre a formação de espiguetas mosaico. Estes resultados estão de acordo com os resultados encontrados por Brenner (2007) e Valentini *et al.* (2014), que analisaram cada terço da panícula separadamente e concluíram que em ramificações de segunda e terceira ordem no terço inferior a expressão do caráter nuda é menor. Nestas ramificações as espiguetas são formadas por último e possuem menor potencial de desenvolvimento dos grãos, quando comparadas as demais espiguetas da panícula (Rajala & Peltonen-Sainio, 2004). Outros autores também relatam que em aveia nuda, a grande proporção de grãos sem casca ocorre sempre no ápice da panícula enquanto grãos com casca são encontrados na base da panícula (Clamot *apud* Hoekstra *et al.* 2003; Atiyya & William, 1976).

De acordo com observações da atuação de miRNAs durante o florescimento em outras espécies é possível sugerir que em *Avena sativa* L. tenha ocorrido uma mutação em algum gene envolvido na formação da panícula, provavelmente um gene responsável pela determinância do meristema floral, e desta forma ocasionado as características de espiguetas multiflora e grãos sem casca observadas em aveia nuda.

Aproximadamente 180 genes estão envolvidos no controle do florescimento em *Arabidopsis* (Fornara *et al.*, 2010). O gene não-codificante microRNA, *miR172*, é um destes genes que regula a abundância e/ou tradução do mRNA de fatores de transcrição específicos de plantas, como *APETALA2* (*AP2*) e um pequeno grupo de genes *AP2-like* (Aukerman & Sakai, 2003; Schmid *et al.*, 2003; Schwab *et al.*, 2005) que contém sequências complementares ao *miR172*. Para o

desenvolvimento normal das espiguetas é necessário que ocorra a inibição da expressão de alguns genes, envolvidos na formação dos meristemas no tempo correto. Se este processo não acontece, os meristemas tornam-se indeterminados e ocorre a formação de flores extras, como observado em milho (Chuck *et al.*, 2007). Em seus estudos Bonnet (1966) concluiu que tanto a aveia com casca quanto a aveia nuda são multiflora nos primeiros estádios de desenvolvimento da panícula. Posteriormente, Jenkins & Hanson (1976) sugeriram que um gene interruptor inibe o desenvolvimento de flores extras na espiguetas de aveia com casca.

Assim sendo, sugiro que este gene interruptor proposto pelos autores seja um miRNA. Durante a formação das espiguetas é necessário que alguns genes, responsáveis pela determinância dos meristemas, sejam clivados por miRNAs e um miRNA importante durante o desenvolvimento da panícula, é o miRNA 172. Quando a clivagem pelo miRNA não ocorre o gene continua a expressar, desta forma, os meristemas tornam-se indeterminados ocasionando a formação de flores extras. A ocorrência de meristemas indeterminados e a formação de flores extras já foi identificada em mutantes de milho e cevada (Chuck *et al.*, 2007; Brown & Bregitzer, 2011). É plausível especular que em aveia nuda tenha ocorrido uma mutação no sítio de ligação do miRNA em algum gene responsável pela determinância das espiguetas. Esta mutação impede a clivagem do mRNA do gene responsável pela determinância dos meristemas, tornando o meristema floral indeterminado, ocasionando a formação de espiguetas multiflora.

A ocorrência de grãos com casca em espiguetas multiflora, pode estar relacionada a uma disfunção na expressão dos genes responsáveis pela formação da lema, ou mesmo em algum gene responsável pela síntese de lignina. Uma vez que, em aveia nuda a lema é fina e sem capacidade de envolver o grão.

Uma possível explicação para a formação de espiguetas mosaico, pode ser a diferença de atuação do miRNA nos diferentes terços da panícula. Como o miRNA é fortemente afetado pelo ambiente, em algumas espiguetas pode atuar clivando o mRNA de genes alvo e como consequência produzindo grãos com casca, formando espiguetas mosaico. Outro fator importante a ser considerado, é o tempo de duração na formação da panícula. Em aveia, o desenvolvimento da panícula é basípeto, isto é, ocorre do ápice para a base. As espiguetas da parte superior se formam antes que as espiguetas medianas e inferiores. Assim, o ambiente pode influenciar de maneira diferente na formação das espiguetas nos três terços da panícula. A base genética do cruzamento também pode influenciar na diferença de expressão da característica multiflora/nuda. Alguns genótipos são mais estáveis quanto à expressão desta característica, já outros apresentam mais variação como mostrado anteriormente neste trabalho.

Em estudos anteriores de aveia, também foi constatado que a panícula possui desenvolvimento diferenciado em suas três partes. O peso do grão é dependente da posição dentro da espiguetas e os grãos primários são mais pesados que outros grãos da espiguetas. Estes resultados podem ser explicados pelas possíveis diferenças no transporte de assimilados dentro da espiguetas ou pelo controle de regulação hormonal (Rajala & Peltonen-Sainio, 2011).

Em arroz, o desenvolvimento da panícula é semelhante a aveia e estudos comprovaram que a falta de sincronização no desenvolvimento da espiguetas causa variações na qualidade e peso do grão das partes superior e inferior da panícula (Mohapatra & Sahu, 1991; Yang *et al.*, 2000). Como as espiguetas superiores desenvolvem antes, o enchimento do grão também ocorre primeiramente e de forma mais rápida do que nas inferiores, que possuem um desenvolvimento mais lento (Naik & Mohapatra, 2000). Além do fato que as

espiguetas inferiores são mais sensíveis a fatores ambientais do que espiguetas superiores (Qiu *et al.*, 2004; Wu *et al.*, 2007; Zhang *et al.*, 2009).

O conhecimento da variação da característica multiflora/nuda entre genótipos é importante para o melhoramento genético, uma vez que genótipos estáveis devem ser escolhidos como genitores em populações segregantes. A variação dentro do mesmo genótipo não é desejável, pois além de dificultar análises genéticas, estes genótipos instáveis não serão bons genitores, se o objetivo do melhoramento for selecionar para a característica nuda. A maioria dos estudos com aveia nuda relatam que esta característica é influenciada por um ou por poucos genes.

De acordo com os dados fenotípicos obtidos nas progênies, $F_{2:5}$ e $F_{2:6}$, na população do cruzamento UFRGS 01B71114-1-3 x UFRGS 006013-1 foi proposto o modelo de um gene. Pelo teste que qui-quadrado, à hipótese de um gene não pode ser rejeitada ($P > 0,05$), nas progênies avaliadas, $F_{2:5}$ e $F_{2:6}$ (Tabela 2). Neste estudo, foi observado que o número de plantas heterozigotas foi bem maior do que o esperado. Tanto nas progênies $F_{2:5}$ quanto em $F_{2:6}$, a proporção de segregantes observada foi em torno de três vezes mais do que era esperado, para estas gerações. Considerando que houve distorção de segregação na classe de heterozigoto, foi realizada a análise somente com as classes de genótipos homozigotos.

A alta proporção de linhagens heterozigotas pode estar relacionada a atuação de um miRNA fortemente influenciado pelo ambiente, que potencializa a ação principalmente naqueles genótipos com expressão incompleta do caráter nuda. Além disso, pode ocorrer taxa mais elevada de fecundação cruzada entre os genótipos nuda e casca. Segundo Allard (1999), a taxa de fecundação cruzada em plantas autógamas é menor que 5%. Mesmo sendo considerada baixa é

possível que ocorra, aumentando a frequência de heterozigotos. Além disso a distorção de segregação é mais acentuada em populações de linhagens recombinantes (RILs) (Veldboom & Lee, 1994; Xu *et al.*, 1997; Lu *et al.*, 2002). Estes resultados indicam que a distorção de segregação é acumulada com gerações adicionais de meiose.

Desde o início dos estudos genéticos com aveia nuda, os trabalhos foram realizados na tentativa de determinar o número de genes envolvidos nesta característica. Muitos deles afirmam que o caráter nuda é governado por um único gene (Norton, 1907; Zinn & Surface, 1917; Gaines, 1917; Caporn, 1918; Love & McRosstie, 1919; Chou *apud* Jensen (1961); Clamot *apud* Hoekstra *et al.* 2003; Boland & Lawes, 1973; Cabral, 2000), corroborando com os resultados encontrados neste estudo.

No entanto, resultados divergentes foram encontrados na outra população analisada. De acordo com os resultados da população do cruzamento URS Taura x UFRGS 017004-2 foi proposto a atuação de dois genes controlando o caráter nuda. As proporções fenotípicas observadas e esperadas nas progênies $F_{2:5}$ e $F_{2:6}$ deste cruzamento, permitiram aceitar a hipótese de dois genes ($P > 0,05$) (Tabela 3). Entretanto, como na população anterior, o número observado de plantas segregantes foi bem maior do que o esperado. Da mesma forma foi considerado que houve distorção de segregação, interferindo a estimativa genética. Assim como na população do cruzamento I, os cálculos foram realizados eliminando-se os indivíduos heterozigotos.

Os resultados obtidos de dois genes estão de acordo com os resultados encontrados por Valentini *et al.* (2014), que concluiu que são dois genes, um deles com ação modificadora, que atuam na característica nuda. Outros autores também sugerem que além de um gene principal, outros genes modificadores

atuam na formação dos diferentes fenótipos observados em aveia nuda (Moule, 1972; Jenkins & Hanson, 1976) e estes genes modificadores podem agir de maneira independente do gene principal (Cabral *et al.*, 2000). Os diversos resultados de estudos genéticos em aveia nuda encontrados na literatura e a falta de concordância entre estes estudos pode ser atribuída às diferenças na constituição genética dos genótipos utilizados e ao tipo de análise adotado.

A presença de espiguetas multiflora em panículas de aveia é um marcador morfológico da característica nuda, uma vez que grãos sem casca só ocorrem em espiguetas com a característica multiflora. Para confirmar esta afirmação foi realizado a análise de panículas de algumas linhagens, oriundas do cruzamento URS Taura x UFRGS 017004-2. Foram analisadas panículas de linhagens recombinantes que apresentaram característica de panícula multiflora nos dois anos de estudo. Observou-se que nestas panículas, a proporção de espiguetas mosaico foi de aproximadamente 12%. A linhagem UFRGS 017004-2, genitora destas linhagens recombinantes, é estável quanto a expressão do caráter nuda e este genótipo não variou em nenhum dos anos avaliados, no entanto, houve variação em seus descendentes na progênie $F_{2:6}$.

A formação de grãos com casca nas espiguetas de grãos nuda nas linhagens segregantes, da população tratada neste estudo, pode ser explicada pelo fato de que não é possível recuperar cem por cento do genótipo parental na progênie e também na geração $F_{2:6}$ as linhagens não são completamente homozigotas e desta forma pode ocorrer segregação. Outro fator é que mesmo em aveia nuda o conteúdo de casca pode variar de acordo com o genótipo. Geralmente ocorre entre 1 e 6%, atingindo até 13% (Kirkkari *et al.*, 2004), o que condiz com os resultados obtidos neste estudo.

A presença de grãos com casca em genótipos com característica nuda pode ser devido a diversos fatores como variações na temperatura, luz, nutrientes, solo (Lawes & Boland, 1974), utilização de herbicidas (Lanoi *et al.*, 2010) ou como relatado em outras espécies, pela atuação de um miRNA (Chuck *et al.*, 2007; Zhu *et al.*, 2009). Sendo assim, espiguetas multiflora podem ser consideradas como um marcador morfológico da característica nuda e, como relatado anteriormente, pode ocorrer a formação de grãos com casca em espiguetas multiflora. No entanto, não é observada a presença de grãos sem casca em espiguetas normais, isto é, que não são multifloras. Sempre que ocorre a presença de grão sem casca em uma espiguetas, esta apresenta fenótipo multiflora.

Um fator importante é que a característica multiflora pode ser menos pronunciada, como normalmente é observado em espiguetas mosaico. Neste caso, ocorre a formação de duas ou três flores e alguns grãos são totalmente envolvidos pela pálea e lema e, aqueles que não são envolvidos possuem a lema fina. Por outro lado, espiguetas normais, não apresentam grãos sem casca pois apresentam a lema mais espessa e esta envolve totalmente o grão.

Poucos trabalhos foram relatados sobre os mecanismos genéticos e moleculares que atuam na expressão do caráter nuda em aveia hexaplóide. Sendo assim, a identificação de marcadores ligados a característica de panículas multiflora/nuda é de extrema importância para o avanço nos estudos que visam o entendimento deste caráter, uma vez que apresenta expressão complexa.

No mapeamento genético na população do cruzamento UFRGS 01B71114-1-3 x UFRGS 006013-1 o número de marcadores SNP mapeados foi maior, sendo de 47 marcadores a mais que a população URS Taura x UFRGS 017004-2. A falta de ligação de alguns marcadores aos grupos de ligação formados, deve

estar associada ao valor do LOD = 6.0 utilizado na construção do mapa, que não permitiu o agrupamento de marcadores com baixa probabilidade de ligação genética aos grupos formados e também devido a complexidade do genoma da aveia. Para a construção dos mapas genéticos destas populações, outros valores de LOD foram testados, no entanto, na formação dos grupos de ligação ocorreram muitos *gaps* entre os marcadores. Portanto, optou-se pela utilização de LOD = 6.0 devido a melhor organização dos grupos de ligação.

No mapa do cruzamento UFRGS 01B71114-1-3 x UFRGS 006013-1, o número de grupos de ligação formados foi menor que na população do cruzamento URS Taura x UFRGS 017004-2 (Figura 5). Em alguns grupos de ligação das duas populações foi possível fazer o agrupamento, formando grupos de ligação consenso, com um número maior de marcadores moleculares, uma vez que, a integração permite juntar os marcadores de dois grupos em um único.

No entanto, nos dois cruzamentos, alguns grupos não puderam ser integrados por não haver marcadores em comum, ou quando possuíam algum marcador em comum, não houve ligação suficiente entre os demais marcadores do grupo. Nas duas populações o número de grupos de ligação não foi o mesmo que o número básico de cromossomos em aveia, que é de 21. Para se obter um mapa genético de ligação que represente de forma consistente os 21 cromossomos, muitos fatores devem ser melhorados, como o tamanho da população em estudo, número de marcadores e o incremento do poder estatístico na identificação de ligação.

Os mapas desenvolvidos neste estudo abrangeram tamanho menor quando comparado com o mapa consenso de aveia, construído com seis populações de linhagens recombinantes, utilizando marcadores SNP e DArT, que foi de 1838 cM. Neste estudo foi estimado que o genoma da aveia possui

extensão genética de aproximadamente 2000 cM (Oliver *et al.*, 2013). Desta forma, o mapa genético do cruzamento UFRGS 01B71114-1-3 x UFRGS 006013-1 abrangeu aproximadamente 63% e o mapa do cruzamento URS Taura x UFRGS 017004-2 compreendeu aproximadamente 61% da cobertura total do genoma. O primeiro mapa desenvolvido em aveia cobria uma distância de 1482 cM (O'Donoghue *et al.*, 1995) já o mapa desenvolvido por Zhu & Kaepler, 2003 em uma população de Ogle x MAM17-5 apresentou 1396,7 cM, estes resultados são semelhantes aos resultados encontrados neste estudo.

Não há relatos na literatura de trabalhos com aveia nuda utilizando marcadores SNP. Anteriormente foi desenvolvido, em uma população do cruzamento entre os genótipos Terra (nuda) x Marion (com casca), um mapa de ligação com QTLs associados utilizando marcadores AFLP, RFLP, RAPD e SCAR em linhagens recombinantes. Neste estudo foram identificados QTLs associados a algumas características agrônômicas e foi sugerido que o gene *N-1* estava localizado no grupo de ligação 5 (DeKoeper *et al.*, 2004). Posteriormente Gardner *et al.* (2010), encontraram em uma população derivada do cruzamento entre Terra (nuda) x Marion (coberta), um grupo de marcadores DArT (opt-0334, opt-0719, opt-5047 e opt-13594) associado ao caráter nuda. Os trabalhos acima relatados são os únicos em aveia nuda, relacionados a identificação de regiões genômicas associadas ao caráter nuda, encontrados na literatura. No entanto, os marcadores identificados nestes estudos não apresentaram associação com os marcadores do presente estudo e também não foram mapeados no mapa consenso da aveia desenvolvido por Oliver *et al.* (2013).

A aveia é uma espécie hexaplóide, este fato traduz a complexidade de seu genoma, contudo, é importante enfatizar a necessidade de estudos com tecnologias mais recentes e principalmente utilizando genótipos brasileiros. Os

marcadores SNP estão diretamente relacionados com a variação na sequência do DNA, reduzindo erros de genotipagem em comparação com ensaios baseados na discriminação de fragmentos de tamanho ou hibridização. Ensaios com marcadores SNPs também são passíveis de tecnologias de elevada capacidade, tornando-os uma excelente ferramenta para uso em pesquisa genômica (Oliver *et al.*, 2011).

Na população do cruzamento UFRGS 01B71114-1-3 x UFRGS 006013-1 foi encontrado um marcador, GMI_ES17_c5923_221, ligado aos marcadores fenotípicos Naked01_2012 e Naked02_2013. Foi observado que, linhagens recombinantes que possuem alelos do genitor UFRGS 006013-1 (multiflora/nuda) para o loco GMI_ES17_c5923_221 tem maior probabilidade de formar panículas multiflora com grãos nuda (Tabela 5).

Por outro lado, linhagens que apresentam alelo do genitor URS Taura no loco GMI_ES17_c5923_221 tendem a formar panículas normais e grãos com casca. No entanto, de acordo com os dados genotípicos foi observado que somente 83% das linhagens, que possuem alelo do genitor UFRGS 006013-1 no loco GMI_ES17_c5923_221, apresentaram panículas multiflora nos dois anos analisados. Da mesma forma observou-se que, entre as linhagens que possuem alelo do genitor UFRGS 01B71114-1-3 no loco GMI_ES17_c5923_221, 70% apresentaram fenótipo de panículas normais (Tabela 5).

Na população do cruzamento URS Taura x UFRGS 017004-2 foi encontrado uma região genômica associada com o fenótipo de panículas multiflora/nuda (Figura 5). Entre os 8 marcadores moleculares ligados aos marcadores fenotípicos, Naked03_2012 e Naked04_2013, os marcadores GMI_ES17_c5923_221, GMI_ES22_c7478_431, GMI_GBS_86198 e GMI_DS_LB_3908 estão mais próximos. Desta forma, linhagens recombinantes

que possuem alelos do genitor UFRGS 017004-2 para os estes locos, GMI_ES17_c5923_221, GMI_ES22_c7478_431, GMI_GBS_86198 e GMI_DS_LB_3908, contribuem para a formação de panículas multiflora (grãos nuda). Por outro lado, linhagens que possuem alelos do genitor URS Taura em tais locos, apresentam fenótipos de panículas normais e grãos com casca.

No entanto, não é somente a presença do alelo do parental UFRGS 017004-2 nestes quatro locos que garante fenótipo de grãos 100% nuda e formação de panículas multiflora. Foi observado que linhagens com alelos do genitor multiflora/nuda nos quatro locos, apresentaram panículas multiflora, todavia, ocorreu formação de grãos com casca (espiguetas mosaico) em algumas linhagens. Determinadas linhagens com alelos do genitor multiflora/nuda nestes quatro locos foram segregantes em um ou nos dois anos avaliados. Por fim, linhagens que possuem alelos do parental URS Taura nos quatro locos formaram panículas normais e grãos com casca. Mas, também foi observado que algumas linhagens nestas condições, segregaram em ou nos dois anos avaliados (Tabela 6).

Os locos GMI_ES22_c7478_431 e GMI_ES17_c5923_221, parecem ter maior associação para a formação de panículas multiflora e normal. Foi observado que as linhagens que possuíam alelos do genótipo parental URS Taura nestes locos, tiveram o mesmo fenótipo que URS Taura. Da mesma forma, linhagens que possuem alelos do parental UFRGS 017004-2, multiflora/nuda nestes dois locos, apresentaram panículas multiflora mas, foi observada formação de grãos com casca nestas panículas (Tabela 6). A formação de grãos com casca juntamente com grãos sem casca ocorreu mesmo em linhagens com alelos do pai nuda no loco identificado. É possível que outra região esteja envolvida na expressão deste caráter no entanto, não foi possível identificar neste trabalho.

Através do mapeamento comparativo foi possível realizar a ancoragem entre, os marcadores moleculares dos grupos de ligação dos mapas genéticos e os marcadores localizados no mapa consenso da aveia (Oliver *et al.*, 2013). Desta forma foi possível identificar a qual cromossomo cada grupo de ligação pertence (Tabela 8). Esta informação pode ser útil para estudos futuros em aveia nuda, uma vez que as gramíneas compartilham longas regiões genômicas, muitas vezes correspondendo a todo um braço cromossômico, fato denominado de sintenia.

Mesmo que os genomas similares apresentem níveis diferentes de complexidade, pode-se utilizar informações obtidas com um genoma menos complexo para obter resultados nos estudos genômicos em outras espécies. A sintenia entre espécies também pode ser útil para a clonagem de genes localizados nas regiões sintênicas. A clonagem destes genes pode ser realizada em espécies com genoma mais simples e em seguida ser utilizada como sonda na busca do gene homeólogo na espécie de interesse (Pereira *et al.*, 2009). Neste estudo, a região genômica associada ao caráter multiflora/nuda em aveia foi identificada no grupo de ligação 15 do mapa genético do cruzamento II.

O grupo de ligação 15 possui dois marcadores em comum com o cromossomo 16A. Este cromossomo possui 85,6 cM de comprimento e diversos marcadores SNP localizados que possuem homologia com espécies de gramíneas modelo, como por exemplo, os marcadores GMI_ES02_c1538_477 e GMI_ES_CC18060_346 que apresentam colineriedade com os cromossomos 2 e 1 de *Brachypodium* e arroz, respectivamente (Oliver *et al.*, 2013). Estas informações podem ser úteis nos estudos da região do grupo de ligação 14, identificada neste trabalho como contendo marcadores associados ao caráter multiflora/nuda.

Com os resultados moleculares obtidos nas duas populações, foi possível identificar uma única região associada ao caráter multiflora/nuda. Na análise genética obtida com os estudos a campo, foi demonstrado que em uma das populações o caráter multiflora/nuda é governado por um gene, apresentando proporção de aproximadamente 1:1 (normal/casca:multiflora/nuda) em progênies $F_{2:5}$ e $F_{2:6}$.

Na população URS Taura x UFRGS 017004-2 foi observada a proporção fenotípica de 3:1 (normal/casca:multiflora/nuda) que indica a presença de 2 genes atuando sobre o caráter. No entanto, é possível que tenha ocorrido distorção de segregação em favor do fenótipo panícula normal/casca. Este fato pode ter sido influenciado pela amostragem durante a condução das populações segregantes ou mesmo por desfavorecimento dos genótipos multiflora/nuda por apresentarem menor porcentagem de germinação. Desprovida de casca, a aveia nuda é mais sensível a danos mecânicos o que pode comprometer a germinação das sementes e pode, desta forma, ter diminuído o número de linhagens recombinantes com o caráter multiflora/nuda.

Este trabalho fornece o primeiro conjunto de dados com marcadores SNP associados a característica multiflora/nuda e pode auxiliar no desenvolvimento de genótipos nuda com mais eficiência nos programas de melhoramento genético de aveia. A busca e localização de uma região genômica no genoma de aveia é importante para o conhecimento da expressão do caráter. Neste trabalho não foram estudadas as causas da variação na expressão fenotípica dos genótipos homocigotos para o caráter multiflora/nuda. No entanto, trabalhos futuros devem ser realizados para identificar as causas desta variação. Como a herança genética é bastante simples, métodos clássicos de melhoramento podem ser utilizados para a incorporação do caráter.

Os resultados obtidos com este trabalho representam uma base para estudos futuros que busquem a elucidação dos mecanismos envolvidos no controle do caráter multiflora/nuda em aveia hexaplóide. As populações desenvolvidas poderão ser utilizadas em estudos baseados em diferentes temperaturas durante o desenvolvimento da panícula, para identificar se a temperatura é realmente um fator importante na expressão deste caráter. Além disso, poderá ser realizada uma análise da formação de casca nos grãos de genótipos com a característica multiflora, e baseado nestas informações, avaliar o número de genes envolvidos na característica.

Por outro lado, pode-se construir oligonucleotídeos iniciadores (*primers*), com as sequências dos marcadores identificados neste estudo, e validar em outros genótipos que possuem a característica multiflora/nuda. Através do alinhamento de sequências do miRNA172 em outras espécies de gramíneas, como arroz e cevada, pode-se construir *primers* que amplifiquem em aveia e identificar o gene precursor deste miRNA nesta espécie. Identificando o gene precursor do miRNA, pode-se fazer estudo de expressão deste gene, durante as diferentes fases de desenvolvimento das espiguetas em panícula em aveia. Genes alvos do miRNA172 como: *SNB* e *OsIDS* (arroz), *IDS1* e *SID1* (milho), também são genes importantes para serem identificados em aveia nuda. Outra alternativa é a realização de estudos de expressão destes genes durante o desenvolvimento da panícula. Com o desenvolvimento destes trabalhos será possível esclarecer muitas questões e obter uma resposta mais clara sobre os mecanismos que controlam a característica multiflora/nuda em aveia hexaploide.

6 CONCLUSÕES

1. Existem diferenças na expressão do caráter nuda, entre anos e entre genótipos homocigotos do germoplasma brasileiro;
2. O caráter multiflora/nuda possui herança simples com um ou dois genes atuando sobre o caráter;
3. Foram identificados marcadores moleculares ligados aos marcadores fenotípicos do caráter multiflora/nuda de dois anos de estudo, em duas populações de linhagens recombinantes, originárias de cruzamentos contrastantes.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLARD, R. W. **Principles of plant breeding**. 2nd edition. New York: John Wiley & Sons, 1999. 254 p.

ALVES, L. L. et al. Composição bromatológica de linhagens de *Avena nuda*. In: REUNIÃO DA COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA EM AVEIA, 15., 2005, Ponta Grossa. **Resumos...** Ponta Grossa: IAPAR, 2005. p. 265-266.

ARAÚJO, S. M. C.; CAVALI, J. Fundamentos e avaliação comparativa de métodos para análise de lignina em forragens. **REDVET. Revista Eletrônica de Veterinária**, vol. VII, n. 11, p. 1-13, 2006. Disponível em:
< <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=63612653012>>. Acesso em: 02 mar. 2014.

ATIYYA H. S.; WILLIAMS W. Genetic control of the nuda character complex in the genus *Avena*. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 86, n. 2, p. 329-334, 1976.

AUKERMAN, M. J.; SAKAI, H. Regulation of flowering time and floral organ identity by a microRNA and its *APETALA2-like* target genes. **The Plant Cell**, Rockville, v. 15, n. 11, p. 2730-2741, 2003.

BERGAMASCHI, H.; GUADAGNIN, M. R. **Agroclima da Estação Experimental Agronômica/UFRGS**. Porto Alegre: Departamento de Plantas Forrageiras e Agrometeorologia da UFRGS, 1990. 60 p.

BERTAGNOLLI P. F.; FEDERIZZI L. C. Genética do tipo de panícula em aveia (*Avena sativa* L.). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 8, p. 1237-1242, 1994.

BOLAND, P. P.; LAWES, D. A. The inheritance of the naked grain character in oats studied in a cross between the naked variety Caesar and the husked variety BO 1/11. **Euphytica**, Wageningen, v. 22, n. 3, p. 582-59, 1973.

BONNETT, O. T. Development of the oat panicle, in inflorescences of maize, wheat, rye, barley and oats: Their initiation and development. In: WELCH, R. W. (Ed.). **The Oat Crop: Production and Utilization**. London: Chapman and Hall, 1995. p. 504-527.

BRENNER, E. **Genética da distribuição de grãos nuda em panículas de aveia hexaploide (*Avena sativa* L.)**. 2007. 90 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de

Pós-Graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.

BROWN, R. H.; BREGITZER, P. A *Ds* Insertional Mutant of a Barley *miR172* Gene Results in Indeterminate Spikelet Development. **Crop Science Society of America**, Madison v. 51, n. 4, p. 1664-1672, 2011.

BURNETTE, D. et al. Processing and uses of oat for food. In: MARSHALL, H. G.; SORRELLS, M. E. (Co-Ed.). **Oat Science and Technology**. Madison: Crop Science Inc. Publishers, 1992. p. 247-263.

CABRAL, C. B. et al. Genetics of naked grain oats in crosses with Brazilian genotypes. **Genetics and Molecular Biology**, São Paulo, v. 23, n. 4, p. 851-854, 2000.

CAMPBELL, G. L. Oat and Barley as livestock feed – the future. In: INTERNATIONAL OAT CONFERENCE E INTERNATIONAL BARLEY GENETICS SYMPOSIUM, 5., 1996, Saskatoon. **Proceedings...** Saskatoon: University Extension Press, 1996. p. 77-81.

CAPORN, A. S. The inheritance of tight and loose palea in *Avena nuda* crosses. **Journal of Genetics**, Bangalore, v. 7, n. 1, p. 229-246, 1918.

CHEN, X. A microRNA as a translational repressor of APETALA2 in Arabidopsis flower development. **Science**, New York, v. 303, n. 5666, p. 2022-2025, 2004.

CHOU, C. Y. **A study of the inheritance of hull character and resistance to loose smut in oats from a cross between *Avena sativa* var. Smut Resistant and *Avena nuda* var. Hulless**. 1932. 407 f. Thesis, (Ph.D) - Cornell University, Ithaca, NY, 1932.

CHUCK, G.; MEELEY, R. B.; HAKE, S. The control of maize spikelet meristem fate by the *APETALA2-like* gene indeterminate spikelet1. **Genes and Development**, New York, v. 12, n. 8, p. 1145-1154, 1998.

CHUCK, G. et al. The control of spikelet meristem identity by the branched silkless1 gene in maize. **Science**, New York, v. 298, n. 5596, p. 1238–1241, 2002.

CHUCK, G. et al. The maize tasselseed4 microRNA controls sex determination and meristem cell fate by targeting Tasselseed6/indeterminate spikelet1. **Nature Genetics**, Salt Lake City, v. 39, n. 12, p. 1517-1521, 2007.

CLAMOT, G. Étude de l'hérédité du caractère 'grain nu' chez l'avoine. **Bulletin Recherche Agronomiques Gembloux**, Gembloux, v. 4, n. 2, p. 323-338, 1969.

CLIFFORD, H. Spikelet and floral morphology. In: SODERSTROM, T. R. (Ed.) et al. **Grass systematics and evolution**. Washington, DC: Smithsonian Institution, 1987. p 21-30.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira, grãos**: SAFRA 2013/2014. Brasília: v. 1, n. 4, p. 1-67, 2014. Disponível em:

<http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/14_01_10_15_07_19_boletim_graos_janeiro_2014.pdf>. Acesso em: 02 mar. 2014.

COVER, C.; FEDERIZZI, L. C.; PACHECO, M. T. et al. Caracterização fenotípica e genotípica de caracteres agrônômicos em uma população de linhagens recombinantes de aveia (*Avena sativa* L.). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 4, p. 573-579, 2011.

CUDDEFORD, D. Oats for animal feed. In: WELCH, R. W. (Ed.). **The oat crop, production and utilization**. London, UK: Chapman e Hall, 1995. p. 321-368.

DEKOEYER, D. L. et al. A molecular linkage map with associated QTLs from a hulless x covered spring oat population. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 108, n. 7, p. 1285-1298, 2004.

DESCHAMPS, S.; LLACA, V.; MAY, G. D. Genotyping-by-Sequencing in Plants. **Plos Biology**, Davis, v. 1, n. 3, p. 460-483, 2012.

ECKERT, A. J. et al. High-throughput genotyping and mapping of single nucleotide polymorphisms in loblolly pine (*Pinus taeda* L.). **Tree Genetics Genomes**, Quebec, v. 5, n. 1, p. 225-234, 2008.

EDWARDS, M. D. et al. What is SNPs? In: ORAGUZIE, N. C. et al. (Ed.). **Association Mapping in Plants**. Berlin: Springer. 2007. p. 41-52.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisas de Solos. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Brasília: EMBRAPA, 1999. 412 p.

FAOSTAT. **Food and Agricultural commodities production, 2013**. Disponível em: <[http://faostat3.fao.org/home/index.html#VISUALIZE TOP 20](http://faostat3.fao.org/home/index.html#VISUALIZE_TOP_20)>. Acesso em: 22 jan. 2014.

FEDERIZZI, L. C. Progresso no melhoramento genético de aveia no Brasil; história, principais resultados e perspectivas futuras. In: REUNIÃO DA COMISSÃO BRASILEIRA DE AVEIA, 22., 2002, Passo Fundo. **Anais...** Passo Fundo: UPF, 2002. p. 45-63.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. Genética de associação em plantas. In: BORÉM, A.; CAIXETA, E. T. **Marcadores moleculares**. Viçosa: UFV, 2009. p. 327-370.

FORNARA, F. et al. SnapShot: control of flowering in Arabidopsis. **Cell**, Maryland Heights, v. 141, n. 3, p. 550-550, 2010.

GAINES, E. F. **Inheritance in wheat, barley and oat hybrids**. Washington: Agricultural Experiment Station, 1917. 47 p.

GANAL, M. W. et al. Large SNP arrays for genotyping in crop plants. **Journal Bioscience**, Uberlândia, v. 37, n. 5, p. 821-828, 2012.

GARDNER, K. M. et al. Fine scale genetic and association mapping of the hullless trait in cultivated oat, *Avena sativa*. In: PLANT & ANIMAL GENOME CONFERENCE, 18., 2010, San Diego. **Proceedings...** San Diego: [s.n.], 2010. p. 336.

GIVENS, D. I. et al. Effect of variety, nitrogen fertiliser and various agronomic factors on the nutritive value of husked and naked oats grain. **Animal Feed Science and Technology**, New York, v.113, n. 1, p.169-181, 2003.

HEINIO, R. L. et al. Differences between sensory profiles and development of rancidity during long-term storage of native and processed oat. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v. 79, n. 3, p. 367-375, 2002.

HIZBAI, B. T. et al. Quantitative trait loci affecting oil content, oil composition, and other agronomically important traits in oat. **The plant genome**, Malden, v. 5, n. 3, p. 164-175, 2012.

HOEKSTRA, G. J.; BURROWS, V. D.; MATHER, D. E. Inheritance and expression of the naked-grained and fatuoid characters in oat. **Crop Science**, Madison, v. 43, n. 1, p. 57-62, 2003.

HYTEN, D. L. et al. High-throughput genotyping with the GoldenGate assay in the complex genome of soybean. **Theoretical Applied Genetics**, Berlin, v. 116, n. 7, p. 945-952, 2008.

JENKINS, G.; HANSON, P. R. The genetics of naked oats (*Avena nuda* L.). **Euphytica**, Dordrecht, v. 25, n. 1, p. 167-174, 1976.

JENSEN, N. F. Genetics and inheritance in oats. **American Society of Agronomy**, Madison, v. 8, p.125-206, 1966.

KIBITE, S.; TAYLOR, J. S. Inheritance and linkage relationships of genes conditioning hulllessness, multiflorous spikelet, and giantism in oat (*Avena sativa* L.). **Canadian Journal of Plant Science**, Ottawa, v. 74, n. 3, p. 497-500, 1994.

KIBITE, S. An isozyme marker linked to the *N-1* gene concerning nakedness in oat. **Oat Newsletter**, v. 48, 2002. Disponível em: <<http://wheat.pw.usda.gov/ggppages/oatnewsletter/v48/index.html>>. Acesso em: 03 mar. 2014.

KIRKKARI, A. M.; PELTONEN-SAINIO, P.; LEHTINEN, P. Dehulling capacity and storability of naked oat. **Agriculture Food Science**, Jokioinen, v. 13, n. 1, p. 198-211, 2004.

KOMATSU, M. et al. *FRIZZY PANICLE* is required to prevent the formation of axillary meristems and to establish floral meristem identity in rice spikelets. **Development**, Cambridge, v. 130, n. 16, p. 3841-3850, 2003.

- KOSAMBI, D. D. The estimation of the map distance from recombination values. **Annals of Eugenics**, Lander, v. 12, n. 1, p. 172-175, 1944.
- KRAWEZAK, M.; REISS, J.; COOPER, D. N. The mutational spectrum of single base-pair substitutions in mRNA splice junctions of human genes: causes and consequences. **Human Genetics**, Salt Lake City, v. 90, n. 1, p. 41-54, 1992.
- LANOI, N. et al. Covered grains in naked oat: Environment and herbicide effects. **Crop Science**, Madison, v. 50, n. 5, p. 2021-2029, 2010.
- LAWES, D. A.; BOLAND, P. P. Effect of temperature on the expression of the naked grain character in oats. **Euphytica**, Dordrecht, v. 23, n. 1, p. 101-104, 1974.
- LEE, D. Y. et al. The rice heterochronic gene *SUPERNUMERARY BRACT* regulates the transition from spikelet meristem to floral meristem. **Plant Journal**, Oxford, v. 49, n. 1, p. 64-78, 2006.
- LEE, H. et al. Genetic framework for flowering-time regulation by ambient temperature-responsive miRNAs in Arabidopsis. **Nucleic Acids Research**, Oxford, v. 38, n. 9, p. 3081-3093, 2010.
- LEE, D.; AN, G. Two AP2 family genes, supernumerary bract (SNB) and Osindeterminate spikelet 1 (OsIDS1), synergistically control inflorescence architecture and floral meristem establishment in rice. **The Plant Journal**, Rockville, v. 69, n. 3, p. 445-461, 2012.
- LEONARD, W. H.; MARTIN, J. H. Rye, barley and oats. In: LEONARD, W. H.; MARTIN, J. H. **Cereal crops**. New York: The Macmillan Company, 1963. p. 447-603.
- LOCATELLI A. B. et al. Loci affecting flowering time in oat under short-day conditions. **Genome Research**, Ottawa, v. 49, n. 12, p. 1528-1538, 2006.
- LODHI M. A. et al. Um simples e eficiente método de extração de DNA em cultivares de videira, espécies *Vitis* e *Ampelopsis*. **Plant Molecular Biology Reports**, Tucson, v. 12, n. 1, p. 6-13, 1994.
- LOPEZ-BOTE, C. J. et al. Lower lipid oxidation in the muscle of rabbits fed diets containing oats. **Animal Feed Science and Technology**, New York, v. 70, n. 1, p. 1-9, 1998.
- LOSKUTOV, I. G. On evolutionary pathways of Avena species. **Genetic Resources Crop Evolution**, Dordrecht, v. 55, n. 2, p. 211-220, 2008.
- LOVE, H. H.; MCROSSTIE, G. P. The inheritance of hull-lessness in oat hybrids. **American Naturalist**, Chicago, v. 53, n. 624, p.5-32, 1919.
- LU, H.; ROMERO-SEVERSON, J.; BERNARDO, R. Chromosomal regions associated with segregation distortion in maize. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 105, n. 4, p. 622-628, 2002.

MARSHALL, H. G.; SHANER, G. E. Genetics and inheritance in oat. In: MARSHALL, H. G.; SORRELS, M. E. (Ed.). **Oat Science and Tecnology**. Madison: Crop Science Society of America, 1992. p. 756-775.

MARTIN, J. H. et al. Oats. In: MARTIN, J. H. et al. **Principles of field crop production**. New York: Prentice Hall, 1975. p. 521-538.

MATZ, S. A. Oats. In: MATZ, S. A. (Ed.). **Cereal Science**. Westport: Avi Publishing Company, 1969. p. 78-96.

MCSTEEN, P.; LAUDENCIA-CHINGCUANCO, D.; COLASANTI, J. A floret by any other name: control of meristem identity in maize. **Trends Plant Science**, London, v. 5, n. 2, p. 61-66, 2000.

MEUWISSEN, T. H.; HAYES, B. J.; GODDARD, M. E. Prediction of total genetic value using genome wide dense marker maps. **Genetics**, Berlin, v. 157, n. 4, p. 1819-29, 2001.

MEYERS, B. C.; TINGEY, S. V.; MORGANTE, M. Abundance, distribution, and transcriptional activity of repetitive elements in the maize genome. **Genome Research**, Ottawa, v. 11, n. 10, p. 1660-1676, 2001.

MOHAPATRA, P. K.; SAHU, S. K. Heterogeneity of primary branch development and spikelet survival in rice in relation to assimilates of primary branches. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 42, n. 7, p. 871-879, 1991.

MOULE, C. Contribution l'étude de l'héredité Du caractere 'grain nu' chez lávoine cultivée. **Annales Amélioration Plantes**, Paris, v. 22, n. 4, p. 335-361, 1972.

MORRIS J. R. Oats: Naked. In: THACKER, P. A.; KIRKWOOD, R. N. (Ed.). **Nontraditional Feed Sources for Use in Swine Production**. London: Butterworths, 1990. p. 275-284.

MURPHY, J. P.; HOFFMAN, L. A. Origin, history and production of oat. In: MARSHALL, H. G.; SORREL, M. E. (Ed.). **Oat Science and Technology**. Madison: Crop Science Society of America, 1992. p. 1-28, 1992.

NAIK, P. K.; MOHAPATRA, P. K. Ethylene inhibitors enhanced sucrose synthase activity and promoted grain filling of basal rice kernels. **Australian Journal of Plant Physiology**, Collingwood, v. 27, n. 11, p. 997-1008. 2000.

NAIR, S. K. et al. Cleistogamous flowering in barley arises from the suppression of microRNA-guided HvAP2 mRNA cleavage. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 107, n. 1, p. 490-495, 2010.

NAVA, I. C. et al. Tagging and mapping candidate loci for vernalization and flower initiation in hexaploid oat. **Molecular Breeding**, Dordrecht, v. 30, n. 3, p. 1295-1312, 2012.

NORTON, J. B. Notes on breeding oats. **American Breeders Association**, Washington, v. 3, n. 1, p. 280-285, 1907.

O'DONOUGHUE, L. S. et al. A molecular linkage map of cultivated oat. **Genome**, Ottawa, v. 38, n. 2, p. 368-380, 1995.

OLIVER, R. E. et al. Model SNP development for complex genomes based on hexaploid oat using high-throughput 454 sequencing technology. **BMC Genomics**, Iowa, v. 12, n. 77, p. 1-15, 2011.

OLIVER, R. E. et al. SNP Discovery and Chromosome Anchoring Provide the First Physically-Anchored Hexaploid Oat Map and Reveal Synteny with Model Species. **Plos One**, Berlin, v. 8, n. 3, 2013.

OUGHAM, H. J.; LATIPOVA, G.; VALENTINE, J. Morphological and biochemical characterization of spikelet development in naked oats (*Avena sativa*). **New Phytology**, Humnabad, v. 134, n. 1, p. 5-12, 1996.

PARK, W. et al. CARPEL FACTORY, a Dicer homolog, and HEN1, a novel protein, act in microRNA metabolism in *Arabidopsis thaliana*. **Current. Biology**, Cambridge, v. 12, n. 17, p. 1484-1495, 2002.

PELTONEN-SAINIO, P.; KIRKKARI, A. M.; JAUHAINEN, L. Characterising strengths, weaknesses, opportunities and threats in producing naked oat as a novel crop for northern growing conditions. **Agricultural and Food Science**, Jokioinen, v. 13, n. 1, p. 212-228, 2004.

PEREIRA, M. G. et al. Marcadores moleculares no pré-melhoramento In: BOREM, A.; CAIXETA, E. (Ed.). **Marcadores moleculares**. Viçosa: UFV, 2009. p. 104-128.

PETERSON, D. M. Composition and nutritional characteristics of oat grain and products. IN: MARSHALL H. G.; SORRELS, M. E. (Ed.). **Oat science and technology**. Madison: Crop Science Society of America, 1992. p. 265-292.

PETERSON, D. M. Malting oats: effects on chemical composition of hull-less and hulled genotypes. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v. 75, n. 2, p. 230-234, 1998.

PORTYANKO, V. A. et al. Quantitative trait loci for partial resistance to crown rust, *Puccinia coronata*, in cultivated oat, *Avena sativa* L. **Theoretical Applied Genetics**, New York, v. 111, n. 2, p. 313-324, 2005.

QIU, H. M. et al. Changes in the uptake function of the rice root to nitrogen, phosphorus and potassium under brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Stål)(Homoptera: Delphacidae) and pesticide stresses, and effect of pesticides on rice-grain filling in field. **Crop Protection**, Oxford, v. 23, n. 11, p. 1041-1048, 2004.

RAJALA, A.; PELTONEN-SAINIO, P. Intra-plant variation for progress of cell division in developing oat grains: a preliminary study. **Agricultural and Food Science**, Jokioinen, v. 13, n. 1, p. 163-169, 2004.

RAJALA, A.; PELTONEN-SAINIO, P. Pollination dynamics, grain weight and grain cell number within the inflorescence and spikelet in oat and wheat. **Agricultural and Food Sciences**, Jokioinen, v. 2, n. 3, p. 283-290, 2011.

- RAJHATHY, T. A standard karyotype for *Avena sativa*. **Canadian Journal of Genetics and Cytology**, Ottawa, v. 5, n. 2, p. 127-132, 1963.
- RINES, H. W. et al. Oat. In: KOLE, C. (Ed.). **Genome Mapping and Molecular Breeding in Plants**, Berlin: Springer, 2006. p. 211-237.
- RODIONOVA, N. A. et al. **Cultivated flora: oat**. Moscow, 1994. v. 2, p. 3.
- SCHMID, M. et al. Dissection of floral induction pathways using global expression analysis. **Development Cell**, Cambridge, v. 130, n. 24, p. 6001-6012, 2003.
- SCHWAB, R. et al. Specific effects of microRNAs on the plant transcriptome. **Developmental Cell**, Cambridge, v. 8, n. 4, p. 517-527, 2005.
- SEMAGN, K.; BJØRNSTAD, A.; NDJIONDJOP, M. N. Principles, requirements and prospects of genetic mapping in plants. **African Journal of Biotechnology**, Lagos, v. 5, n. 25, p. 2569-2587, 2006.
- SIMONS, M. D. et al. **Oats: A standardized system of nomenclature for genes and chromosomes, and catalog of genes governing characters**. Washington, DC: USDA-SEA, 1978. p. 450.
- STEEL, R. G. D.; TORRIE, J. H. **Principles and procedures of statistics: a biometrical approach**. 2nd edition. New York: McGraw-Hill, 1980. p. 631.
- TINKER, N. A. et al. New DArT markers for oat provide enhanced map coverage and global germplasm characterization. **BMC Genomics**, London, v. 10, n. 39, p. 1-22, 2009.
- THOMAS, C. Cytogenetics of avena. In: MARCHALL H. G.; SORRELS, M. E. (Ed.). **Oat science and technology**. Madison: Crop Science Society of America, 1992. p. 473-507.
- VALENTINI, A P. F. et al. Genetic analysis of the naked trait in panicles of hexaploid oat. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, v. 14, n. 2, p. 116-123, 2014.
- VALENTINI, J. Naked Oats. In: WELCH, R. W. (Ed.). **The oat crop, production and utilization**. London: Chapman & Hall, 1995. p. 279-320.
- VAN OOIJEN, J. W. JoiMap® 4. **Software for the calculation of genetic linkage maps in experimental populations**. Wageningen: Kyazma B.V., 2006.
- VELDBOOM, L. R.; LEE, M. Molecular-marker-facilitated studies of morphological traits in maize. II: Determination of QTLs for grain yield and yield components. **Theoretical and Applied Genetics**, Baltimore, v. 89, n. 4, p. 451-458, 1994.
- VOORRIPS R. E. MapChart version 2.0: Windows software for the graphical presentation of linkage maps and QTLs. **Journal of Heredity**, Oxford, v. 93, n. 1, p. 77-78, 2001.

WELCH, R. W. The chemical composition of oats. In: WELCH, R. W. (Ed.). **The Oat Crop: Production and Utilization**. London: Chapman & Hall, 1995. p. 278-320.

WHITE, E. M. Structure and development of oats. In: WELCH, R. W. (Ed.). **The oat crop: Production and utilization**. London: Chapman & Hall, 1995. p. 88-119.

WIGHT, C. P. et al. A molecular marker map in Kanota x Ogle hexaploid oat (*Avena* spp) enhanced by additional markers and a robust framework. **Genome**, Ottawa, v. 46, n. 1, p. 28-47, 2003.

WILHELMSON, A. et al. Development of a germination process for producing high beta-glucan, whole grain food ingredients from oat. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v. 78, n. 6, p. 715-720, 2001.

WU, C. et al. Genetic Analysis of Grain filling rate in different growth stages of superior and inferior grains in rice. **Scientia Agricultura Sinica**, v. 40, n. 6, p. 1135-1141, 2007.

XU, Y. **Molecular plant breeding**. Cambridge: CAB International, 2010. p. 270.

XU, Y. et al. Chromosomal regions associated with segregation distortion of molecular markers in F₂, backcross, double haploids, and recombinant inbred populations in rice (*Oryza sativa* L.). **Molecular Genetic and Genome**, Göteborg, v. 253, n. 5, p. 535-545, 1997.

YANG, J. et al. Grain filling pattern and cytokinin content in the grains and roots of rice plants. **Plant Growth Regulation**, v. 30, n. 3, p. 261-270, 2000.

ZHANG, H. et al. Hormones in the grains and roots in relation to post-anthesis development of inferior and superior spikelets in japonica/indica hybrid rice. **Plant Physiology and Biochemistry**, Rockville, v. 47, n. 3, p. 195-204, 2009.

ZHU, S.; KAEPLER, H. F. A genetic linkage map for hexaploid, cultivated oat (*Avena sativa* L.) based on an intraspecific cross Ogle/MAM17-5. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 107, n. 1, p. 26-35, 2003.

ZHU, Q. H. et al. Over-expression of miR172 causes loss of spikelet determinacy and floral organ abnormalities in rice (*Oryza sativa*). **BMC Plant Biology**, Pompano Beach, v. 9, n. 149, 2009.

ZHUKOVSKY, P. M. **Kul'turnye rasteniya i ikh sorodichi (Cultivated plants and their relatives)**. Leningrad: Kolos, 1964.

ZINN, J.; SURFACE, F. M. Studies on oat breeding: The F₁ and F₂ generations in a cross between a naked and a hulled oat. **Agricultural Experiment Station**, New Haven, v. 10, n. 6, p. 293-312, 1917.

8 VITA

Kelly Pellizzaro, filha de Wilson Pellizzaro e Maria Sílvia Pellizzaro, nasceu em 19 de janeiro de 1981, em Campos Novos, Santa Catarina, Brasil.

Concluiu o Ensino Médio no Colégio Estadual Paulo Blasi em Campos Novos, SC. Em 2002 ingressou na Faculdade de Agronomia da Universidade do Sul de Santa Catarina, onde desenvolveu atividades como bolsista de iniciação científica no laboratório de produção vegetal sob orientação do professor Dr. Gilmar P. Plá e foi monitora da disciplina de Tecnologia de Sementes sob orientação da professora Rosicler M. Vanti. Realizou estágio de conclusão de curso na Cooperativa Central de Pesquisa Agrícola (COODETEC), na qual, posteriormente, trabalhou como auxiliar de pesquisa. no laboratório de biotecnologia. Ingressou no curso de mestrado no departamento de Agronomia da Universidade Estadual de Maringá no ano de 2008 sob orientação do professor Alessandro Braccini, concluindo o curso no ano de 2010.

Iniciou o curso de doutorado em Fitotecnia, ênfase em Melhoramento de Plantas e Biotecnologia na Universidade Federal do Rio Grande do Sul em março de 2010 sob orientação do professor Luiz Carlos Federizzi.