

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

ASSOCIAÇÃO GENÔMICA AMPLA PARA A QUALIDADE FÍSICA DOS
GRÃOS EM AVEIA ADAPTADA AO SUBTRÓPICO

Guilherme Oliveira
Engenheiro Agrônomo/UFRGS

Dissertação apresentada como um dos requisitos
à obtenção do Grau de Mestre em Fitotecnia
Área de concentração em Recursos Genéticos, Biotecnologia e Melhoramento
Vegetal

Porto Alegre (RS), Brasil
Agosto de 2022

CIP - Catalogação na Publicação

Oliveira, Guilherme
ASSOCIAÇÃO GENÔMICA AMPLA PARA A QUALIDADE FÍSICA
DOS GRÃOS EM AVEIA ADAPTADA AO SUBTRÓPICO / Guilherme
Oliveira. -- 2022.
90 f.
Orientador: Marcelo Teixeira Pacheco.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Programa de
Pós-Graduação em Fitotecnia, Porto Alegre, BR-RS,
2022.

1. Avena sativa. 2. Associação genômica ampla. 3.
Qualidade física de grãos. 4. Marcadores moleculares.
5. Agricultura subtropical. I. Pacheco, Marcelo
Teixeira, orient. II. Título.

GUILHERME OLIVEIRA
Engenheiro Agrônomo - UFRGS

DISSERTAÇÃO

Submetida como parte dos requisitos
para obtenção do Grau de

MESTRE EM FITOTECNIA

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

Aprovado em: 24.08.2022
Pela Banca Examinadora

Marcelo Teixeira Pacheco
Orientador
PPG Fitotecnia/UFRGS

CARLA ANDRÉA DELATORRE
Coordenadora do Programa de
Pós-Graduação em Fitotecnia

Cristiano Mathias Zimmer
Corteva Agriscience do Brasil Ltda

Carla Andréa Delatorre
PPG Fitotecnia/UFRGS

Luiz Carlos Federizzi
PPG Fitotecnia/UFRGS

CARLOS ALBERTO BISSANI
Diretor da Faculdade de
Agronomia

DEDICATÓRIA

À todos os melhoristas de plantas do passado, do presente e do futuro que de certa forma auxiliaram, auxiliam e auxiliarão a sociedade através de experimentos, pesquisas e cultivares lançadas.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais e à minha irmã, pelo apoio incondicional, por estarem sempre ao meu lado, por serem os grandes responsáveis por eu ser quem eu sou hoje, por serem meu porto seguro e por serem as melhores pessoas que eu conheci na minha vida. Obrigado pelo exemplo e pela educação, meu eterno amor a vocês!

À minha esposa Bruna Oliveira de Vargas, por ser a grande incentivadora do meu sonho e por deixar os dias difíceis mais alegres, sempre me ajudando na medida do possível em todas as minhas tarefas cotidianas com um sorriso no rosto. A tua companhia é um dos maiores presentes que já recebi na minha vida. Te amo muito!

Ao restante da minha família e a família da minha esposa, por terem me ajudado ao longo da minha vida de diferentes formas, sem essa ajuda e apoio, com certeza não estaria aonde estou hoje. Gratidão eterna!

Ao meu orientador e amigo Marcelo Teixeira Pacheco, por ser uma pessoa incrível, por ser um grande melhorista, por todo o suporte durante minha jornada acadêmica, por todos ensinamentos transmitidos tanto em sala de aula como no campo. O Brasil necessita de professores e melhoristas como você e muito obrigado pela oportunidade de ter sido seu orientando, foi uma experiência inigualável!

Aos amigos Emilio Ghisleni Arenhardt e Cristiano Mathias Zimmer, por terem contribuído e me auxiliado no início da minha jornada acadêmica, por toda a amizade e conversas produtivas sobre o melhoramento de plantas, meus singelos agradecimentos!

Aos professores da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), especialmente Luiz Carlos Federizzi e Carla Andrea Delatorre, por me proporcionarem momentos ímpares dentro da universidade e por terem contribuído na minha formação como aluno e futuro profissional.

À UFRGS, pela possibilidade de ter obtido uma educação de qualidade e gratuita. A todos os funcionários e colegas do Departamento de Plantas de Lavoura da UFRGS, por toda a ajuda em momentos que precisei.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelas bolsas de estudos durante a minha graduação e durante meu mestrado.

A todos que de certa forma contribuíram para eu alcançar meus objetivos.

ASSOCIAÇÃO GENÔMICA AMPLA PARA A QUALIDADE FÍSICA DOS GRÃOS EM AVEIA ADAPTADA AO SUBTRÓPICO¹

Autor: Guilherme Oliveira

Orientador: Marcelo Teixeira Pacheco

RESUMO

O consumo diário de produtos à base de aveia branca (*Avena sativa L.*), em quantidade adequadas, resulta em inúmeros benefícios à saúde, contribuindo para o aumento do consumo humano deste cereal. Desta forma, caracteres relacionados à qualidade física dos grãos de aveia, requeridos pela indústria de beneficiamento, tornaram-se alvo de seleção do melhoramento de aveia. O objetivo deste trabalho foi identificar regiões genômicas responsáveis por influenciar a qualidade física dos grãos de aveia, através de um estudo de associação genômica ampla. O estudo utilizou um painel de 383 genótipos de aveia branca, na maioria adaptados à zona subtropical, avaliado em três ambientes. A análise genômica investigou a associação entre 11,559 marcadores moleculares SNPs e os caracteres peso de mil sementes, peso de hectolitro e facilidade de descasque. O painel utilizado apresentou grande variabilidade fenotípica para qualidade física de grãos, sendo que o peso de mil grãos foi caráter mais estável entre ambientes, enquanto o peso do hectolitro foi o mais instável. Noventa e um marcadores moleculares foram associados com os caracteres analisados. Considerando-se a proximidade entre os marcadores, foram identificadas 34 regiões genômicas associadas aos caracteres estudados. Destas, 23 regiões genômicas foram consideradas como mais promissoras, dispostas em 15 grupos de ligação e localizadas nos cromossomos 1A, 2A, 3A, 5A, 6A, 7A, 1C, 2C, 5C, 7C, 1D, 2D, 4D, 5D, 6D e 7D do genoma de referência “OT3098 v2”. Entre as regiões identificadas, destacam-se os marcadores posicionados nos cromossomos 1A, 2A, 3A, 6A, 2C, 5C e 7D. A região do cromossomo 1A foi recentemente descoberta como potencialmente importante para o controle da qualidade física dos grãos em aveia. Marcadores localizados nos cromossomos 3A e 2C apresentaram significância estatística forte e estável, através de ambientes, para o peso de mil grãos. Ao analisar os genes próximos aos marcadores altamente significativos, em grande parte, esses genes atuam em respostas a estresses abióticos e bióticos, evidenciando sua importância na determinação da qualidade física de grãos em ambiente subtropical. Os resultados revelam a elevada complexidade genética do controle de caracteres de qualidade física dos grãos em aveia, uma vez que o controle genético está associado a regiões genômicas amplamente distribuídas em 16 dos 21 cromossomos da aveia.

¹ Dissertação de Mestrado em Fitotecnia em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (90f.) Agosto, 2022.

GENOME-WIDE ASSOCIATION STUDY FOR GRAIN MILLING QUALITY IN OATS ADAPTED TO THE SUBTROPIC¹

Author: Guilherme Oliveira
Adviser: Marcelo Teixeira Pacheco

ABSTRACT

The daily consumption of oat (*Avena sativa* L.) products, in adequate amounts, results in several health benefits, contributing to the increase in human consumption of products from this cereal. Thus, physical quality traits of the oat grain, required by the milling industry, became a selection target in oat breeding. The objective of this study was to identify genomic regions controlling milling quality traits of the oat grain, through a genome-wide association study. The study used a panel of 383 oat genotypes, mostly adapted to the subtropical zone, evaluated in three environments. The genomic analysis investigated the association among 11.559 SNPs molecular markers and the traits thousand kernel weight, test weight and hullability. The panel showed large phenotypic variability for the evaluated traits, with thousand kernel weight being the most stable trait among environments, while test weight was the most unstable. Ninety-one molecular markers were associated with the analyzed traits. Considering the proximity between markers, 34 genomic regions were identified as associated with the studied traits. Of these, 23 genomic regions were considered the most promising, arranged in 15 linkage groups and located on chromosomes 1A, 2A, 3A, 5A, 6A, 7A, 1C, 2C, 5C, 7C, 1D, 2D, 4D, 5D, 6D, and 7D of the “OT3098 v2” reference genome. Among the identified genomic regions, molecular markers positioned on the chromosomes 1A, 2A, 3A, 6A, 2C, 5C, and 7D stand out. The chromosome 1A region was recently discovered as potentially important for the control of oat grain quality. Markers located on chromosomes 3A and 2C showed a strong and stable statistical significance across environments for thousand kernel weight. When analyzing genes closely located to the highly significant molecular markers identified in this study, most of them act in responses to abiotic and biotic stress, evidencing their importance in determining oat grain milling quality under subtropical environments. The results reveal the high genetic complexity of the control of oat grain milling quality traits, since genetic control is associated with genomic regions widely distributed in 16 of the 21 oat chromosomes.

¹ Master Dissertation in Plant Science, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (90p.) August, 2022.

SUMÁRIO

	Página
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
2.1 Aveia hexaplóide cultivada (<i>Avena sativa</i> L.).....	4
2.2 Relação do rendimento industrial com a qualidade física de grãos.....	6
2.3 Correlação entre os caracteres da qualidade física de grãos.....	10
2.4 Interação genótipo x ambiente na determinação da qualidade física de grãos.	11
2.5 Regiões genômicas associadas a qualidade físicas de grãos	13
2.6 Estudos de associação genômica ampla	16
3 MATERIAL E MÉTODOS	19
3.1 Local de condução dos experimentos.....	19
3.2 Germoplasma utilizado.....	19
3.3.Implantação e condução dos experimentos	20
3.4 Fenotipagem	20
3.5 Genotipagem	22
3.6 Análises fenotípicas.....	22
3.7 Análises genotípicas	24
4 RESULTADOS.....	26
4.1 Caracterização fenotípica da qualidade física de grãos no painel de diversidade genética de aveia da UFRGS.....	26
4.2 Caracterização genotípica da qualidade física de grãos no painel de diversidade genética de aveia da UFRGS.....	35
5 DISCUSSÃO	60
6 CONCLUSÕES	72
REFERÊNCIAS.....	74

RELAÇÃO DE TABELAS

	Página
1. Valor mínimo, média, valor máximo, desvio padrão e coeficiente de variação dos diferentes caracteres avaliados nos três experimentos envolvendo o painel de diversidade genética da UFRGS. Eldorado do Sul, 2020-2021.....	27
2. Marcadores moleculares associados significativamente para os diferentes caracteres de qualidade física dos grãos, avaliados nos três experimentos envolvendo o painel de diversidade genética de aveia da UFRGS. Eldorado do Sul, 2020-2021.....	36
3. Localização dos principais marcadores moleculares associados aos caracteres de qualidade física dos grãos, avaliados nos três experimentos envolvendo o painel de diversidade genética de aveia da UFRGS. Eldorado do Sul, 2020-2021.	55
4. Designação e posição cromossômica dos principais genes localizados próximos aos marcadores moleculares fortemente associados aos caracteres de qualidade física dos grãos, identificados no painel de diversidade genética de aveia da UFRGS. Eldorado do Sul, 2020-2021.	59

RELAÇÃO DE FIGURAS

	Página
1. Composição morfológica de uma espiguetta de aveia hexaplóide cultivada contendo grão primário, secundário e terciário. Adaptado de Kampffmeyer (2013).	8
2. Comparação esquemática de análise de ligação (a) com o mapeamento por associação (b)	16
3. Distribuições de frequências das médias, por genótipo, do peso de mil sementes, peso de hectolitro e facilidade de descasque, nos três experimentos envolvendo o painel de diversidade genética de aveia da UFRGS. Eldorado do Sul, 2020-2021	28
4. Regressão linear simples entre as médias de peso de mil sementes de cada genótipo de aveia nos três ambientes de estudo.	29
5. Regressão linear simples entre as médias do peso de hectolitro de cada genótipo de aveia nos três ambientes de estudo.	30
6. Regressão linear simples entre as médias de facilidade de descasque de cada genótipo de avei nos três ambientes de estudo.	31
7. Correlação fenotípica de Pearson entre os caracteres de qualidade física de grãos. PMS = Peso de mil sementes; PH = Peso de hectolitro; FAC = Facilidade de descasque. *** = Significativo a 0,1% de probabilidade; * Significativo a 5% de probabilidade; ausência de asteriscos = Não significativo estatisticamente.....	32
8. Biplot da análise de componentes principais do painel de diversidade genética da UFRGS para o peso de mil sementes, peso de hectolitro e facilidade de descasque em 2020.1..	42
9. Biplot da análise de componentes principais do painel de diversidade genética da UFRGS para o peso de mil sementes, peso de hectolitro e facilidade de descasque em 2020.2..	34
10. Biplot da análise de componentes principais do painel de diversidade genética da UFRGS para o peso de mil sementes, peso de hectolitro e facilidade de descasque em 2021..	35
11. Gráfico Quantile-Quantile (Q-Q) para os valores p observados e esperados para o peso de mil sementes em três ambientes e na análise multiambiente.	42
12. Gráfico Manhattan para marcadores associados com o peso de mil sementes em três ambientes e na análise multiambiente.....	44

	Página
13. Gráfico Quantile-Quantile (Q-Q) para os valores p observados e esperados para o peso de hectolitro em três ambientes e na análise multiambiente.	45
14. Gráfico Manhattan para marcadores associados com o peso de hectolitro em três ambientes e na análise multiambiente.	47
15. Gráfico Quantile-Quantile (Q-Q) para os valores p observados e esperados para a facilidade de descasque em três ambientes e na análise multiambiente.	48
16. Gráfico Mannhattan para marcadores associados com a facilidade de descasque em três ambientes e multi ambientes.	50
17. Captura de tela de parte do cromossomo 2C do genoma da aveia branca, mostrando ± 500 kb da região genômica que contém o marcador ‘avgbs2_38402.1.29’ e 6 genes anotados dentro dessa região. Imagem capturada de https://wheat.pw.usda.gov/jb/?data=/ggds/oat-ot3098v2-pepsico	58

1 INTRODUÇÃO

No início do século 20, a aveia branca (*Avena sativa* L.) foi uma das culturas agrícolas com maior relevância ao redor do mundo. Principalmente, por ser a principal fonte de alimentação dos cavalos, os quais eram amplamente utilizados como meio de locomoção e de trabalho. No entanto, a área plantada e, por conseguinte, a produção de aveia branca, diminuiu drasticamente, em escala global, a partir da década de 1960, uma vez que, iniciou-se a substituição dos cavalos por maquinários com motores a combustão, e culturas agrícolas, como soja e milho, começaram a conquistar mercado em países temperados.

O cenário de queda de produção de aveia branca, contudo, não foi observada no Brasil, que observou a expansão da cultura a partir do início da década de 1970, com maior impulso a partir da década de 1980. Contribuiu de modo significativo para tal fato, a fundação dos programas brasileiros de melhoramento genético de aveia branca na década de 1970. Com destaque para os programas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), iniciado em 1974, e da Universidade de Passo Fundo (UPF), iniciado em 1976, que disponibilizaram as primeiras cultivares de aveia em 1982 e 1981, respectivamente. Essas cultivares foram selecionadas para maior adaptação ao ambiente subtropical, do sul do Brasil, e para maior produtividade e qualidade de grãos, contribuindo para adesão de agricultores ao seu uso, aumento da área cultivada, produção e produtividade ao longo dos anos.

Atualmente, com a maturidade dos programas de melhoramento e a disponibilidade constante de cultivares elites de aveia branca no mercado, a área plantada e a produção se encontram em uma crescente no país. De modo que o Brasil passou da produção de 20 mil toneladas no início da década de 1960 para 1,14 milhão de toneladas em 2021. Diante desse cenário, de maior oferta de aveia branca no território brasileiro, com excelente qualidade de grãos, a demanda também aumentou, tanto para alimentação animal como para alimentação humana, resultando no aumento do número de indústrias beneficiadoras de aveia branca nos últimos anos. Portanto, os programas de melhoramento, além de selecionar para caracteres agrônômicos, passaram a objetivar caracteres de qualidade de grãos voltados para a indústria de beneficiamento, no intuito de entregar cultivares superiores para essa indústria crescente.

A indústria beneficiadora de grãos requer cultivares com boa qualidade física de grãos, para alcançar a maior quantidade de produto final, relativo à quantidade de grãos que entram na indústria (rendimento industrial). A qualidade física consiste em grãos de tamanho adequado ao processo industrial, uniformes, grandes e densos, resistente ao quebramento durante o descasque, com maior proporção de cariopse, relativo à casca do grão, além de maior facilidade de retirada dessa casca. A obtenção de cultivares de aveia branca com qualidade física elevada, especialmente voltada para a indústria moageira, exige experiência e a seleção criteriosa dentro do germoplasma dos programas de melhoramento. Há caracteres de interesse industrial que exigem amostras de tamanho que estão disponíveis somente após as linhagens encontrarem-se em estágios de avaliação para rendimento de grãos. Assim como, devido ao efeito da influência ambiental, exige avaliação em diferentes ambientes.

Uma das soluções propostas nos últimos anos por melhoristas e pesquisadores da área de melhoramento para contornar a dificuldade de seleção em caracteres complexos, como os caracteres de qualidade física de grãos, é a utilização de análises genômicas. Essas análises permitem identificar regiões genômicas que afetam esses caracteres, assim como compreender a arquitetura genética dos mesmos, de modo que essa informação seja utilizada em conjunto com as análises fenotípicas. Dessa forma, pesquisas que busquem identificar regiões genômicas envolvidas nos caracteres de qualidade física de grãos em aveia hexaploide, assim como procurem compreender como esses caracteres são relacionados entre si e são formados em condições ambientais complexas, contribuirão para avanço do conhecimento sobre esses caracteres, além de se tornarem fonte de informação e utilização por melhoristas de aveia branca.

Dessa forma, os objetivos desse estudo foram:

- i) caracterizar fenotipicamente um painel de 383 genótipos de aveia branca para qualidade física de grãos;
- ii) compreender como o ambiente atua sobre os caracteres de qualidade física de grãos, através de análises fenotípicas e genotípicas em diferentes ambientes;
- iii) identificar regiões genômicas associadas com a qualidade física de grãos;
- iv) identificar genes que estão próximos das regiões genômicas significativas encontradas, além de identificar as respectivas funções desses genes;

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Aveia hexaploide cultivada (*Avena sativa* L.)

O gênero *Avena* pertence à tribo *Aveneae*, subfamília *Poideae* e família botânica *Poaceae*. O gênero contém 28 espécies que formam uma série poliploide, com número básico de cromossomos igual a sete, havendo espécies diploides, tetraploides e hexaploides. Nos três grupos de ploidia ocorre a presença de espécies cultivadas (Baum, 1977; Ladizinsky, 1998; Loskutov, 2008). A aveia hexaploide cultivada (*Avena sativa* L.) possui 42 cromossomos, dispostos em seis conjuntos básicos ($2n = 6x = 42$), formados a partir da agregação de três diferentes conjuntos de genomas nucleares, denominados A, C e D (Yan *et al.*, 2016).

A evolução e origem da aveia hexaploide cultivada ocorreu através de cruzamentos interespecíficos e eventos de duplicação cromossômica. Inicialmente ocorreu um evento de tetraploidização de um indivíduo oriundo do cruzamento entre as espécies diploides *Avena ventricosa* (genoma CC) e *Avena canariensis* (genoma DD) (Yan *et al.*, 2016; Fu *et al.*, 2018). Posteriormente, houve um evento de hexaploidização de um indivíduo oriundo do cruzamento entre a espécie diploide *Avena longiglumis* (genoma AA) e a espécie tetraploide *Avena insularis* (genoma CCDD) (Yan *et al.*, 2016; Fu *et al.*, 2018). A *Avena sterilis* (genoma AACDD), possivelmente é a espécie originária do evento de hexaploidização e a progenitora ancestral da aveia hexaploide cultivada (Zhou *et al.*, 1999).

A aveia hexaploide cultivada apresenta como possível centro de origem a região da Ásia Menor (Loskutov, 2008). No entanto, a domesticação ocorreu na Europa, quando agricultores de trigo (*Triticum dicoccum Schulub.*) e cevada (*Hordeum vulgare* L.) observaram que a aveia, infestante das suas lavouras comerciais, apresentava boa adaptabilidade para o clima temperado europeu (Coffman, 1961; Murphy & Hoffman, 1992). Registros arqueológicos de aveia na Suíça, Alemanha e Dinamarca datam de 2000 a 1000 anos antes do presente. Desde a mudança da condição de planta invasora para espécie cultivada, houve uma expansão de cultivo na Europa. A introdução da *Avena sativa* na América do Norte ocorreu entre os séculos 16 e 17 de nossa era, para as regiões de Newfoundland, no Canadá, e da Norte Carolina e Virgínia, no nordeste dos Estados Unidos da América (E.U.A.), pelos Ingleses e outros europeus. Além dessa espécie, a *Avena byzantina* foi introduzida, pelos espanhóis, em latitudes mais ao sul dos E.U.A. (Murphy & Hoffman, 1992). A introdução da aveia na América Latina ocorreu através da chegada de imigrantes espanhóis ao continente (Federizzi, 2002). Especificamente no Brasil, o início da expansão do cultivo de aveia ocorreu na década de 1970 com o surgimento de programas de melhoramento genético da cultura na região sul do país (Federizzi *et al.*, 2005).

Atualmente, pela disponibilidade de cultivares altamente produtivas e adaptadas ao ambiente subtropical brasileiro, a aveia hexaploide cultivada tem se mostrado uma excelente alternativa de cultivo na estação fria para agricultores do sul do Brasil. A área cultivada e a produção total no ano de 2021 foram de 503 mil hectares e 1,143 milhão de toneladas, respectivamente, representando os maiores patamares obtidos com a cultura no país (CONAB, 2022). Além disso, o consumo de aveia é recomendado por pesquisadores e profissionais da saúde, uma vez que os grãos de

aveia apresentam fibras solúveis, denominadas de beta-glicanas, as quais estimulam melhor funcionamento do sistema imune (Kim *et al.*, 2011), e auxiliam na redução dos níveis de colesterol e dos índices glicêmicos (Tiwari & Cummins, 2011).

A relação entre a elevada produção por parte dos agricultores e maior conscientização de consumo pela sociedade, não ocorre de forma direta, mas pelo intermédio da indústria de beneficiamento, responsável pelo processamento e transformação da aveia em produtos para consumo humano. Desse modo, no caso específico da aveia, não é suficiente as cultivares apresentarem elevados rendimentos e/ou altos conteúdos de beta-glicanas, também é necessário que as cultivares apresentem boa qualidade física de grãos, para que a indústria alcance alto rendimento industrial (Yan *et al.*, 2013).

2.2 Relação do rendimento industrial com a qualidade física de grãos

O rendimento industrial em aveia pode ser definido como a massa de grãos inteiros para obter 100 kg de produto final, após as etapas de limpeza, classificação, descasque e separação (Ganssmann & Vorveck, 1995; Girardet & Webster, 2011). Para que a indústria processadora de aveia alcance elevados patamares de rendimento industrial é necessário que o lote de grãos apresente uma boa qualidade física, ou seja, o lote deve apresentar grãos com boa uniformidade de tamanho, grãos pesados e densos, além de grãos com pouca quantidade de casca, relativo à quantidade de cariopse, e fácil remoção da casca (Doehlert, 2002).

O tamanho dos grãos em aveia hexaploide cultivada é naturalmente desuniforme, devido ao hábito multiflora das espiguetas que compõem a panícula, a inflorescência composta da espécie, com desenvolvimento parcial das flores dentro de cada espiguetas, onde somente duas ou três flores mantêm-se férteis (Bonnet, 1961).

Desta forma, as espiguetas podem conter de um a três grãos, de modo que o grão mais externo, denominado de grão primário, possui maior massa e tamanho, enquanto o grão terciário possui menor massa e menor tamanho (Figura 1) (Bonnet, 1961). Lotes com grande desuniformidade de grãos são indesejáveis, uma vez que grãos menores necessitam maior força de impacto na etapa de descasque, em comparação com os grãos maiores, e maior força de impacto resulta em maior porcentagem de quebra dos grãos (Doehlert *et al.*, 2004; Doehlert *et al.*, 2006). Desta forma, a produção de grãos terciários não é desejada para indústria, pois a sua presença no lote contribui para baixo rendimento industrial (Doehlert *et al.*, 2002). Por outro lado, a produção de espiguetas somente com grãos primários não é desejada por sua correlação negativa com outras características de qualidade física de grãos, de modo que, cultivares que apresentam boa relação de grãos primários e secundários são desejados pela indústria (Doehlert *et al.*, 2002).

O peso do grão é um dos componentes que compõe o rendimento final em aveia hexaplóide cultivada (Grafius, 1956). Peso dos grãos, assim como a uniformidade dos grãos, está correlacionado positivamente com o tipo de grão, de modo que os grãos primários são os mais pesados (Doehlert *et al.*, 2004). Deste modo, grãos terciários são indesejáveis para indústria também devido ao seu baixo peso (Doehlert *et al.*, 2004).

O peso de hectolitro refere-se a uma medida de densidade, de modo a determinar a massa de grãos acondicionada dentro de um volume conhecido (Doehlert & McMullen, 2008). Entre as características relacionadas à qualidade física de grãos, o peso de hectolitro é a mais analisada e utilizada universalmente pelas indústrias, principalmente devido à sua fácil determinação (Doehlert, 2002). A ampla utilização dessa medida de densidade ocorre por sua alta correlação com as outras características físicas de grão (Doehlert *et al.*, 2006). Estudos com cultivares de aveia branca,

evidenciaram que cultivares com grãos grandes e baixa porcentagem de casca, também apresentam elevado peso de hectolitro (Pomeranz et al., 1979, Doehlert *et al.*, 1999; Doehlert *et al.*, 2006).

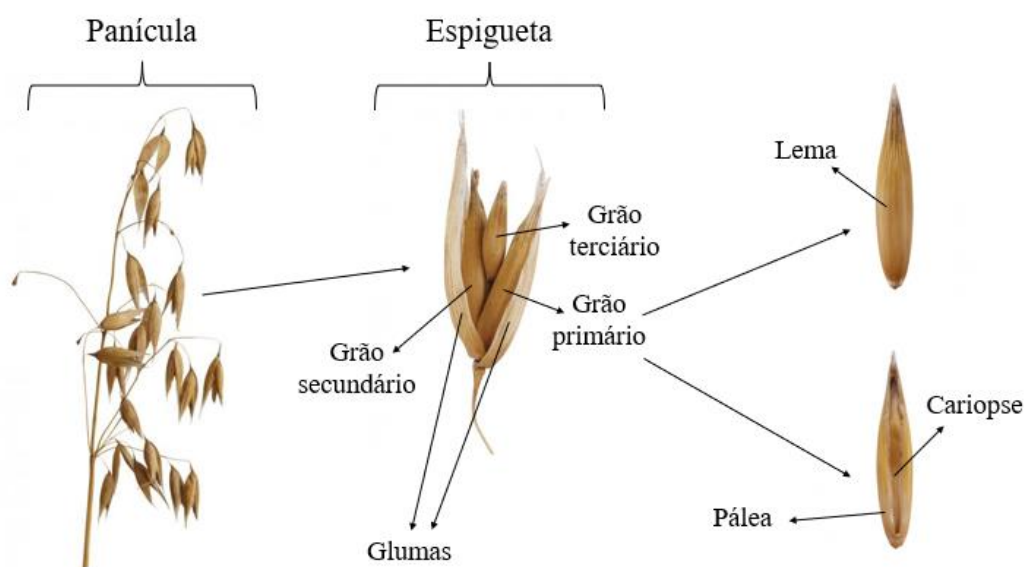


FIGURA 1. Composição morfológica de uma espiguetta de aveia hexaploide cultivada contendo grão primário, secundário e terciário. Adaptado de Kampffmeyer (2013).

Em aveia hexaploide cultivada, o grão é classificado como um fruto do tipo cariópse, devido a formação de somente um fruto por ovário e pelo pericarpo revestir o fruto inteiro (Pomeranz, 1995). A cariópse, durante seu desenvolvimento, mantém a estruturas foliáceas denominadas de pálea e lema, as quais constituem a casca dos grãos (Hoseney, 1994). As porcentagens de cariópse e de casca são aproximadamente de 70% e 30% da massa total do grão, respectivamente, em cultivares de aveia hexaploide cultivada (Ronald *et al.*, 1999). A elevada porcentagem de cariópse em detrimento da formação de casca afeta positivamente o rendimento industrial, uma vez que o produto econômico é somente cariópse e a casca não é utilizada após o processo de descasque (Doehlert *et al.*, 2010). Por outro lado, a ausência total ou parcialmente

da casca não é adequada, uma vez que, os processos industriais causam maiores taxas de quebramento da cariopse em grãos sem casca quando comparados com grãos com casca, de modo que, o quebramento causa rancidez oxidativa, resultando em perda de qualidade indústria (Kirkkari *et al.*, 2004). Devido a rancidez oxidativa, justifica-se a baixa adesão ao uso de grãos da subespécie nuda (*Avena sativa subsp. nudisativa* (Husnot.) Rod. et Sold.) por parte da cadeia processadora de aveia, uma vez que os genótipos dessa subespécie não desenvolvem de forma majoritária a casca nos grãos (Kirkkari *et al.*, 2004).

A facilidade na separação entre a cariopse e a casca é uma característica que impacta diretamente na eficiência industrial (Molnar *et al.*, 2011). Em estudo realizado por Doehlert *et al.* (1999), os autores demonstraram que cultivares de aveia cujos grãos apresentam dificuldade em ter a casca removida resultam um aumento de produto não descascado, portanto em perdas no processo industrial. Embora grãos de aveia com casca mais fina tenham a maior percentagem de cariopse, os mesmos tendem a resultar em maior percentagem de grãos quebrados após o descasque, ocasionando perdas de porções quebradas dos grãos, durante a aspiração das cascas.

O requerimento, por parte da indústria, que as cultivares sejam superiores para um elevado número de caracteres, que englobam a qualidade física de grãos, dificulta o trabalho dos programas de melhoramento genético de aveia, uma vez que não é fácil, e, muitas vezes, não é possível medir todos os caracteres voltados para a indústria. Portanto, o entendimento e a existência de correlação entre os caracteres de qualidade industrial são fundamentais para a obtenção de genótipos superiores por parte dos melhoristas de aveia.

2.3 Correlação entre os caracteres da qualidade física de grãos

Em duas populações de retrocruzamento, ao analisar a correlação de inúmeros caracteres, pesquisadores obtiveram correlações positivas entre o peso de mil sementes e o peso de hectolitro, sendo esses valores, 0,35 e 0,64, para a população A e a população B, respectivamente (Hermann *et al.*, 2014)

Ao analisar dez cultivares de aveia branca, os autores evidenciaram que o peso do hectolitro e a maior uniformidade dos grãos, quanto ao seu tamanho, são correlacionados positivamente, com coeficientes aproximados entre 0,55 e 0,75, com a proporção de cariopse obtida após o descasque (Doehlert *et al.*, 1999).

Ao comparar a cultivar de aveia alemã *Pirol*, com porcentagem de cariopse de 76,7%, com uma amostra de cultivares australianas, com porcentagem média de cariopse de 69,2%, foi observada correlação positiva para porcentagem de cariopse e facilidade de descasque, de modo que a cultivar *Pirol* apresentou maior facilidade e eficiência no descasque (Ganssmann & Vorwerck, 1995).

Ao avaliar uma população de 501 genótipos de aveia com alta variabilidade fenotípica, em 13 ambientes distintos, Esvelt-Klos *et al.* (2021) observaram uma baixa correlação positiva, de 0,09, entre o peso de mil sementes e peso de hectolitro, indo de encontro com as correlações observadas em outros estudos.

As discrepâncias encontradas entre os valores de correlação entre os caracteres de qualidade física podem ocorrer devido a quantidade de genótipos avaliados em cada experimento, ou seja, pela variabilidade dos caracteres de qualidade física amostradas em cada experimento, assim como, a quantidade de ambientes que esses genótipos foram amostrados, uma vez que, a interação genótipo x ambiente influencia não somente a correlação entre os caracteres, mas também, como o próprio caráter.

2.4 Interação genótipo x ambiente na determinação da qualidade física de grãos

Estudo realizado por Doehlert *et al.* (2006), com 10 genótipos em 10 ambientes diferentes, evidenciou que em ambientes favoráveis para o cultivo, ocorreu aumento do tamanho dos grãos, além de aumentar a frequência de grãos terciários na espiguetta. Resultados similares foram encontrados por Symons & Fulcher (1988), que encontraram diferenças na uniformidade de grãos seis genótipos de aveia, quando cultivados em dois locais distintos no Canadá.

Ao avaliar 25 genótipos de aveia branca em seis épocas de cultivo, Mut *et al* (2018) identificaram, através da análise da variância, interação ‘genótipo x ambiente’ significativa para peso de mil sementes e porcentagem de cariopse. No ambiente considerado superior para o caráter peso de mil sementes, a médias dos 25 genótipos foi de 35 gramas, enquanto no ambiente considerado inferior, a média foi de 25,4 gramas. Ao passo que, a média de porcentagem de cariopse, variou entre 76,8% e 67,4%, em ambientes que não corresponderam aqueles com os maiores e menores médias do peso de mil sementes, respectivamente.

Na pesquisa realizada por Mut *et al* (2018), as possíveis causas ambientais para a variação dos caracteres estudados foram atribuídas as diferenças de pluviosidade e temperatura entre os ambientes estudados. Essa explicação vai ao encontro dos resultados apresentados por Sadras *et al.* (2018), os quais encontraram correlações significativas, principalmente, entre a amplitude da temperatura com caracteres de qualidade física. Ainda em relação ao estudo realizada por Sadras *et al.* (2018), evidencia-se a interação ‘genótipo x ambiente’ para porcentagem de cariopse, de forma que os genótipos estudados apresentaram média de 75% de cariopse em condições ambientais ideais para a cultura; contudo, em condições menos favoráveis,

determinados genótipos possuíram menor declínio na porcentagem de cariopse (Cultivar Potoroo – 67%), enquanto outros obtiveram maior declínio na porcentagem de cariopse (Cultivar Forester – 60%), relativo aos ambientes favoráveis. Em outro estudo realizado por Doehlert *et al.* (2001), as causas para a variação em caracteres de qualidade física de grãos não foram atribuídas a estresses abióticos, mas à estresse biótico, causado pela ferrugem da folha (*Puccinia coronata* f.sp. *avenae*), de modo que, os genótipos suscetíveis, em ambientes com alta severidade da doença, apresentaram baixos valores de peso de hectolitro, peso de cariopse e porcentagem de cariopse.

Em experimento realizado por Peterson *et al.* (2005), foram utilizados 33 genótipos de programas de melhoramento norte-americanos, em três ambientes de cultivo (Aberdeen, Idaho, USA – Irrigado; Tetonia, Idaho, USA – Irrigado; Tetonia, Idaho, USA – Não-irrigado) e em três anos consecutivos, para avaliar caracteres de qualidade física de grãos, sendo esses: peso de hectolitro, peso de grão, peso de cariopse e porcentagem de cariopse. A análise da variância mostrou que, para os caracteres de qualidade física de grãos, a maior parte da variação foi devido as diferenças entre genótipos, embora houve contribuição da interação tripla (entre genótipos, ambientes e anos) para a variação total observada. Contudo, não foi observado grande variação na média desses caracteres entre os ambientes e os anos avaliados.

Ambientes desfavoráveis para o enchimento de grão resultam em baixa facilidade de descasque, conforme os resultados de Doehlert *et al.* (1999), principalmente em cultivares que apresentaram grãos pesados e grandes nos melhores ambientes. Em contrapartida, Browne *et al.* (2002) não encontraram correlação entre a facilidade de descasque e peso de grão em diferente anos e locais, contudo, deve-se

levar em consideração que o trabalho foi realizado em ambientes favoráveis de cultivo no Reino Unido, diferentemente do trabalho realizado por Doehlert *et al.* (1999).

Diante dos trabalhos apresentados, existem grandes evidências de que o ambiente de cultivo influencia os caracteres de qualidade física de grãos em aveia branca. No entanto, apesar das evidências, ainda não se possui conhecimento claro sobre os efeitos de fatores ambientais específicos, além de que, os trabalhos foram realizados, em grande parte, em condições climáticas temperadas, contrastando com o clima subtropical brasileiro.

2.5 Regiões genômicas associadas a qualidade físicas de grãos

O primeiro estudo realizado na busca por regiões genômicas que afetam a qualidade física de grãos de aveia branca foi desenvolvido por Siripoonwiwat *et al.* (1996), em uma população de 150 linhagens oriundas do cruzamento entre as cultivares ‘Kanota’ (*Avena byzantina*) e ‘Ogle’ (*Avena sativa*). Através de análises de regressão linear múltipla, os quatro principais marcadores associados para peso de hectolitro oriundos de ‘Ogle’ foram responsáveis por 26% da variação fenotípica para esse caráter, enquanto os três principais marcadores do parental ‘Kanota’ foram responsáveis para 16% da variação observada para o peso de hectolitro. Para porcentagem de cariopse foram encontrados sete *QTLs*, sendo que os principais marcadores identificados próximos desses *QTLs*, oriundos dos parentais ‘Ogle’ e ‘Kanota’, resultaram em uma variação fenotípica de 18% e 23%, respectivamente.

Em experimento realizado por Groh *et al.* (2001), foram utilizadas duas populações de aveia para avaliar a morfologia dos grãos e a porcentagem de cariopse. A primeira população foi composta por 136 linhagens recombinantes, derivadas do cruzamento entre ‘Kanota’ (*Avena byzantina*) e ‘Ogle’ (*Avena sativa*), enquanto a

segunda população foi composta por 137 linhagens recombinantes oriundas do cruzamento entre ‘Kanota’ (*Avena byzantina*) e ‘Marion’ (*Avena sativa*). Para morfologia dos grãos foram encontrados quatorze e seis *QTLs* para a primeira e segunda população, respectivamente. Em relação à porcentagem de cariopse, na primeira população foram observados dois *QTLs*, responsáveis por 22% da variância fenotípica. Na segunda população também foram encontrados dois *QTLs* para a porcentagem de cariopse, responsáveis por 20,9% da variância fenotípica, de modo que um desses *QTLs* foi observado na mesma posição do grupo de ligação de um dos *QTLs* encontrados por Siripoonwiwat *et al.* (1996).

Ao realizar cruzamento entre uma cultivar de aveia nuda, com grãos sem casca aderida, denominada de ‘Terra’ com a cultivar ‘Marion’, com casca aderida aos grãos, De Koeyer *et al.* (2004) obtiveram uma população de linhagens recombinantes variando para o caráter casca aderida aos grãos. Porém, os autores realizaram análise de *QTLs* para características físicas do grão nas linhagens com grãos com casca. Nesse estudo foram encontrados dois *QTLs* que também foram observados nos estudos anteriores, incluindo um *QTL* para peso de hectolitro, correspondente ao *QTL* encontrado por Siripoonwiwat *et al.* (1996) e outro *QTL* para morfologia de grão, observado também por Groh *et al.* (2001).

Em uma população de 137 linhagens duplo-haploides, oriundas do cruzamento entre a cultivares de aveia finlandesa ‘Aslak’ e a cultivar sueca ‘Matilda’, foram analisados peso de hectolitro, peso de mil sementes e porcentagem de cariopse, em experimentos conduzidos no Canadá e na Finlândia (Tanhuanpää *et al.*, 2014). Em relação à análise nos experimentos canadenses, nenhum *QTL* foi encontrando para peso de hectolitro, somente um *QTL* foi significativo para peso de mil sementes, explicando 10% da variação fenotípica, e dois *QTLs* foram detectados para

porcentagem de cariopse, explicando 10 e 12% da variação fenotípica. Nos experimentos finlandeses, um *QTL* foi encontrado para peso de hectolitro, em posição similar ao *QTL* descrito por Siripoonwiwat *et al.* (1996), quatro *QTLs* foram observados para peso de mil sementes, cada um deles explicando 10 a 12% da variação fenotípica, enquanto não houve avaliação para porcentagem de cariopse nos ensaios conduzidos na Finlândia.

Algumas limitações não permitiram o uso, na seleção assistida por marcadores moleculares, dos *QTLs* encontrados nos estudos citados a cima. Primeiramente, o parental ‘Kanota’, utilizado como parental em duas populações de estudo, possui necessidade de vernalização para florescer. Diante disso, alguns *QTLs* encontrados podem ser originários das diferenças entre florescimento, enchimento de grão e maturação, ao passo que, em um programa de melhoramento que em grande parte realiza cruzamentos entre parentais com requerimentos similares para vernalização, esses *QTLs* podem ter menor impacto (Molnar *et al.*, 2011). Outro aspecto é a avaliação em populações biparentais (mapeamento por ligação), de modo que somente a diversidade alélica que segrega de dois parentais pode ser testada em uma população de linhagens recombinantes, portanto, os *QTLs* encontrados se tornam relevantes somente para essa população, e a resolução de mapeamento é restrita à taxa de recombinação limitada durante o desenvolvimento da população segregante (Korte & Farlow, 2013). Uma forma de contornar as duas limitações citadas acima é através de estudos de associação genômica ampla, explorando recombinações ao longo da história evolutiva da população amostrada e permitindo um mapeamento de alta resolução, através da diversidade genética natural, conforme representado na Figura 2, onde visualizam-se as regiões cromossômicas em desequilíbrio de ligação como as porções coloridas dentro de cada cromossomo (Zhu *et al.*, 2008).

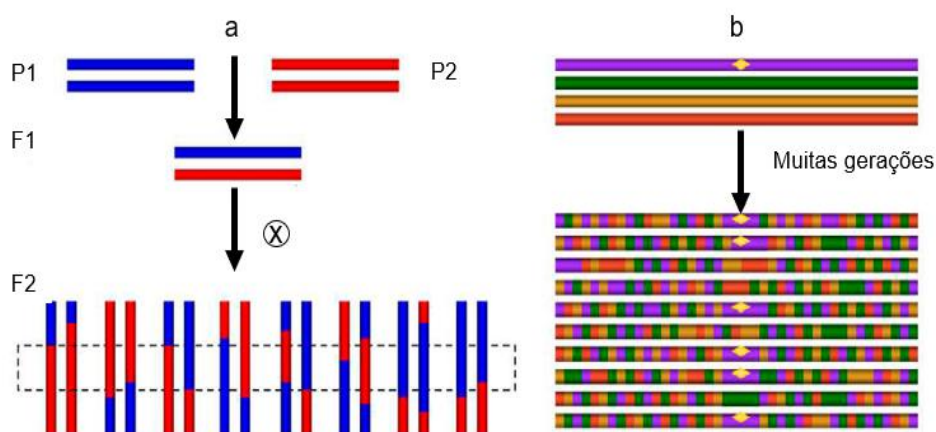


FIGURA 2. Comparação esquemática de análise de ligação (a) com o mapeamento por associação (b)

2.6 Estudos de associação genômica ampla

Muitos dos caracteres de interesse agrícola são controlados por uma grande quantidade de genes de pequeno efeito, ou seja, são de natureza quantitativa (Holland, 2007). Entender a complexidade genética dos caracteres quantitativos sempre foi alvo do melhoramento genético de plantas, de modo que, ao longo das décadas, diferentes metodologias foram implantadas e testadas para a decomposição desses caracteres em espécies vegetais, tais como mapeamento por ligação (Anderson & Torp, 2002) e mapeamento por associação (Breseghello & Sorrels, 2006).

Poucos avanços foram obtidos em programas de melhoramento de plantas através de mapeamento por ligação, muito devido a sua limitação estatística de detecção de *QTLs*, interação *QTL* x ambiente e dificuldade de extrapolação dos *QTLs* observados em uma população biparental para outras populações (Bernardo, 2016). Diante disso, mapeamento por associação é preferido como tecnologia de decomposição dos caracteres quantitativos, justamente por superar as dificuldades dos mapas por ligação (Ibrahim *et al.*, 2020).

Estudos de associação genômica possuem como premissa compreender a variação fenotípica de caracteres quantitativos dentro de um painel de diversidade genética, que corresponde a uma coleção de genótipos com determinada divergência genética entre si, de modo a explorar diversos eventos de recombinação ao longo das gerações e identificar regiões associadas com os caracteres em estudo. Dispondo de um grande número de marcadores moleculares, distribuídos ao longo do genoma, a associação entre o fenótipo e o alelo causal desse fenótipo (*QTL*) é determinada através do desequilíbrio de ligação entre o marcador, ou pequeno grupo de marcadores, e o *QTL* (Zhu et al., 2008; Mammadov *et al.*, 2012). Quanto maior a recombinação dentro de uma determinada região, ou seja, menor a extensão do desequilíbrio de ligação naquela região cromossômica, considerando toda a população de estudo, maior será a proximidade entre o *QTL* e o marcador significativamente associado a ele (Gupta *et al.*, 2005).

Os marcadores moleculares utilizados na grande maioria dos estudos de associação genômica ampla são do tipo *single-nucleotide polymorphism* (SNPs), que corresponde a variação em um único par de bases em uma determinada sequência de DNA. Sua ampla adoção deve-se ao baixo custo de detecção dessa variação e a sua abundância nos genomas vegetais (Mammadov *et al.*, 2012). Os SNPs atuam como marcadores de regiões genômicas, de modo que o objetivo é a identificação entre as centenas de milhares de SNPs, identificados através de técnicas de genotipagem, quais estão associados com os caracteres de interesse, ou seja, com os *QTLs* de interesse (Zhu *et al.*, 2008).

A associação entre SNPs e um possível *QTL* ocorre através do desequilíbrio de ligação entre ambos, conceituado como a associação não aleatória de alelos de diferentes locus (Flint-Garcia *et al.*, 2003; Bush & Moore, 2011). Em outras palavras,

o desequilíbrio de ligação em sua amplitude seria o inverso do equilíbrio de ligação, o qual é similar ao equilíbrio de Hardy-Weinberg, onde diferentes alelos estão aleatoriamente associados, se diferenciando somente que não é atingido em uma geração de cruzamento aleatório (Slatkin, 2008).

Em relação aos estudos de associação genômica ampla para a qualidade física de grãos em aveia, somente um se encontra publicado na literatura, de modo que, Esvelt-Klos *et al.* (2021) identificaram 57 *QTLs* espalhados ao longo do genoma, influenciando caracteres relevantes para a indústria, sendo esses: porcentagem de grãos quebrados, porcentagem de cariopse, peso de mil sementes, peso de hectolitro e tamanho de grão. Apesar do avanço do conhecimento da arquitetura genética dos caracteres de qualidade física realizada por esses pesquisadores, a publicação de somente um trabalho de associação genômica representa uma limitação para o melhor entendimento desses caracteres, além de que, o estudo foi realizado em população adaptado ao ambiente temperado, não condizendo com o ambiente brasileiro de cultivo.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local de condução dos experimentos

Os experimentos foram conduzidos em condições de campo na Estação Experimental Agronômica (EEA) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). A EEA/UFRGS está localizada no km 146 da rodovia BR 290, no município de Eldorado do Sul (Latitude 30° 07' Sul e longitude 51° 41' Oeste), no estado do Rio Grande do Sul, Brasil.

3.2 Germoplasma utilizado

O programa de melhoramento genético da UFRGS possui um painel de 414 genótipos de aveia hexaplóide com ampla variabilidade genética. Entre os genótipos dessa coleção, 361 foram desenvolvidos pelo programa de melhoramento genético da UFRGS, 16 foram desenvolvidos por outros programas brasileiros de melhoramento e 37 genótipos foram desenvolvidos por programas de melhoramento estrangeiros. Para o presente estudo, foi utilizada uma amostra desse painel, a qual, não possui os genótipos de aveia nuda, totalizando 383 genótipos de aveia branca. A exclusão dos genótipos de aveia nuda deve-se a esses genótipos não apresentarem casca aderidas aos grãos, não se enquadrando nos caracteres analisados.

3.3. Implantação e condução dos experimentos

Os experimentos foram realizados nos anos de 2020 e 2021. Em relação ao ano de 2020, a população foi conduzida em duas épocas de semeadura, realizadas em 9 de junho e 10 de julho de 2020. No ano de 2021, a população foi conduzida em uma época única de semeadura, realizada em 18 de junho. Os três experimentos foram conduzidos em delineamento de blocos casualizados, com duas repetições. Cada unidade experimental foi composta por duas linhas de semeadura, de dois metros de comprimento cada, espaçadas 0,20 m entre si e 0,40 m entre as unidades experimentais. A semeadura foi realizada sob sistema de plantio direto sobre palhada de soja, com semeadora mecânica de parcelas experimentais, na densidade aproximada de 60 sementes por metro linear. A adubação de base foi composta por 400 kg.ha⁻¹ de fertilizante químico, na fórmula comercial de 10-20-20 de N-P-K. Além dessa adubação inicial, foram realizadas duas aplicações de nitrogênio em cobertura, na forma de ureia, quando as plantas apresentaram cerca de 4 e 6 folhas completamente expandidas, em uma dose de 30 kg.ha⁻¹ de N por aplicação. A aplicação de produtos fitossanitários (fungicida e herbicida) foi realizada sempre que se julgou necessário.

3.4 Fenotipagem

As avaliações fenotípicas foram concentradas em três caracteres de qualidade física de grãos: peso de mil sementes, peso do hectolitro e facilidade de descasque.

- **Peso de mil sementes (PMS):** foi determinado sobre cinco panículas de colmos principais, de cada unidade experimental, colhidas ao acaso. Essas panículas foram debulhadas de forma individual. Posteriormente, foi feita a contagem de todos os grãos da panícula e a pesagem desses grãos. O peso médio dos grãos das cinco panículas foi transformado em peso de mil sementes.

● **Peso de hectolitro (PH):** a determinação do peso de hectolitro de cada unidade experimental ocorreu através da alocação de uma determinada massa de grãos de cada unidade experimental em uma proveta com volume igual a 0,1 litro, de modo que a massa obtida nesse cilindro fosse transformada para peso de hectolitro (quilogramas/cem litros). Essa transformação foi realizada através de regressão linear estimada, previamente, através da medição do peso do hectolitro de amostras de grãos de 30 genótipos de aveia branca, de diferentes anos e que variavam para esse caráter, em uma balança padrão de determinação do peso do hectolitro e da medição da massa de grãos, das respectivas subamostras, retida na proveta de 0,1 litro. A regressão linear estimada foi:

$$PH = 4,510237273 + 1,028952969 * \text{massa de grãos do cilindro de 0,1 litro}$$

● **Facilidade de descasque (FAC):** uma amostra de 50 gramas de grãos de cada unidade experimental foi descascada em debulhadora de espigas de laboratório WINTERSTEIGER LD 180, em velocidade padronizada de 1085 rotações por minuto (rpm) durante oito segundos. Esse equipamento permite tanto a debulha de grãos como o seu descasque, alterando-se apenas a velocidade de rotação e o tempo de permanência dos grãos no mesmo. Após o processamento, houve uma mistura de grãos descascados e não descascados na amostra. Portanto, a facilidade de descasque foi quantificada através da razão entre a massa de grãos descascados pela debulhadora de espigas (MGDes) e a massa inicial da amostra (MIA), multiplicado por 100.

$$FAC = \frac{MGDes}{MIA} \times 100$$

3.5 Genotipagem

A extração de DNA e a genotipagem foram realizadas em estudos prévios desenvolvidos pelo programa de melhoramento da aveia da UFRGS, conforme a descrição de Zimmer *et al.* (2020).

A partir da genotipagem e conseqüentemente obtenção da matriz de marcadores moleculares, nesse caso, marcadores moleculares do tipo SNP, realizou-se três processos de filtragem desses dados para potencializar a associação entre marcadores/fenótipo.

O primeiro processo se refere a frequência mínima para o alelo de menor porcentagem no *loci*. Marcadores moleculares SNPs com uma baixíssima frequência para o alelo de menor presença, além de não apresentarem poder estatístico para uma possível associação, podem ter sido causados por erros de genotipagem. Portanto, marcadores SNPs com frequências menores de 5% para o alelo de menor porcentagem no *loci* foram excluídos. O segundo processo de filtragem se refere a heterozigosidade dos marcadores. O estudo avaliou indivíduos com alta taxa de homozigosidade (linhas puras), portanto, marcadores com taxas elevadas de heterozigosidade podem ter sido causados por erros de genotipagem, logo, marcadores com heterozigosidade superior a 50% foram descartados. Por último, marcadores com dados perdidos acima de 50% também foram descartados, uma vez que, uma possível utilização desses marcadores causaria falsos positivos e falsos negativos. Após a filtragem, permaneceram 11,559 SNPs para as análises genotípicas.

3.6 Análises fenotípicas

As médias, valores mínimos, valores máximos, desvio padrão e coeficiente de variação dos caracteres avaliados nos três ambientes, utilizando-se os dados por

parcela, foram quantificados através de funções base na linguagem estatística S, utilizada dentro da linguagem de programação R (v. 4. 2. 0., *Development Core Team*).

A distribuição de frequência fenotípica dos caracteres foi representada através de histogramas construídos através do pacote “graphics” linguagem estatística S, utilizada dentro da linguagem de programação R (v. 4. 2. 0., *Development Core Team*), utilizando-se as médias por genótipo, dentro de cada ambiente, para cada caráter. A normalidade dos dados foi testada através do teste de Shapiro-Wilk linguagem estatística S, utilizada dentro da linguagem de programação R (v. 4. 2. 0., *Development Core Team*). As distribuições de frequências não excluíram as médias que estavam fora da normalidade, para representar as distribuições de frequências realmente observadas na população estudada.

Foi realizada uma análise de regressão, dentro de cada caráter, para as três combinações ambientais possíveis (1: ‘2020.1 x 2020.2’, 2: ‘2020.1 x 2021’ e 3: ‘2020.2 x 2021’), no intuito, de observar como os fenótipos desses caracteres se comportam nos diferentes ambientes, ou seja, a estabilidade da expressão dos fenótipos entre ambientes. As regressões foram estimadas através do pacote “ggplot2” na linguagem estatística S, utilizada dentro da linguagem de programação R (v. 4. 2. 0., *Development Core Team*). Para avaliar o grau de associação linear entre os caracteres estudados foi utilizada a correlação de Pearson, sendo essa, calculada através dos valores de cada parcela e estimada através do pacote “psych” na linguagem estatística S, utilizada dentro da linguagem de programação R (v. 4. 2. 0., *Development Core Team*). Além da correlação, também foi realizada uma análise multivariada através dos componentes principais, no intuito de identificar os genótipos superiores para os caracteres estudados, sendo essa, estimada pelo pacote “factoextra” na

linguagem estatística S, utilizada dentro da linguagem de programação R (v. 4. 2. 0., *Development Core Team*)

3.7 Análises genotípicas

A identificação de SNPs associados com os caracteres avaliados foi feita através da função ‘GWAS’ do pacote rrBLUP linguagem estatística S, utilizada dentro da linguagem de programação R (v. 4. 2. 0., *R Development Core Team*). A associação entre um marcador específico e um caráter específico, considerou o controle da estrutura de população e coeficiente de parentesco (*kinship*) (modelo Q + K), caracterizando um modelo misto, proposto por Yu *et al.* (2006). Segundo o modelo descrito abaixo:

$$y = X\beta + S\alpha + Qv + Zu + \varepsilon$$

Em que:

y = Vetor das observações fenotípicas;

X = Matriz de incidência correlacionando o vetor das observações fenotípicas com o vetor de efeito fixos;

β = Vetor dos efeitos fixos;

S = Matriz de incidência correlacionando o vetor de observações fenotípicas com vetor dos efeitos dos SNPs;

α = Vetor dos efeitos dos SNPs;

Q = Matriz de incidência correlacionando o vetor de observações fenotípicas com vetor dos efeitos da população;

v = Vetor dos efeitos da população;

Z = Matriz de incidência correlacionando o vetor de observações fenotípicas com vetor dos efeitos poligênicos aleatórios;

u = Vetor dos efeitos poligênicos aleatórios;

ε = Vetor dos efeitos dos resíduos.

A análise de gráficos quantil-quantil (*Q-Q plot*) foi realizada, possibilitando a visualização de possíveis diferenças entre as distribuições dos valores de probabilidade (p) observados no GWAS com os valores de probabilidade esperados (caso a hipótese de nulidade seja verdadeira) para a associação entre marcadores moleculares e fenótipos observados. Além da análise *Q-Q plot*, foram realizados gráficos de *Manhattan* para a visualização de SNPs significativos e suas localizações nos grupos de ligação consenso do genoma da aveia. Essas duas análises também foram feitas em linguagem estatística S, utilizada dentro da linguagem de programação R (v. 4.2.0., *Development Core Team*) através do pacote “qqman”. Foi utilizado dois pontos de corte estatístico sendo esses, $p < 0,0001$ e $p < 0,001$, de modo que, o ponto estatístico $p < 0,0001$ foi utilizado como principal ponto de corte estatístico para a identificação de marcador molecular SNP específico associado com o(s) caracter(es) de estudo e o ponto estatístico $p < 0,001$ foi utilizado de maneira auxiliar para a validação de regiões genômicas associados com o(s) caracter(es) de estudo.

Os principais marcadores moleculares, identificados como associados aos caracteres de qualidade física analisados, foram localizados no genoma da aveia, através de uma busca direcionada no banco global de dados genéticos da aveia branca (T3/Oat), o qual, disponibiliza as informações do sequenciamento completo do genoma da espécie (<https://wheat.pw.usda.gov/jb/?data=/ggds/oat-ot3098v2-pepsico>). Uma estratégia de posição dependente foi utilizada para os marcadores significativos, identificando os genes mais próximos desses marcadores (± 250 kb).

4 RESULTADOS

4.1 Caracterização fenotípica da qualidade física de grãos no painel de diversidade genética de aveia da UFRGS

Avaliando 383 genótipos de aveia branca em três ambientes, observou-se uma grande variação fenotípica para peso de mil sementes, peso de hectolitro e facilidade de descasque, a qual pode ser observada pelas médias, valores mínimos e valores máximos das observações fenotípicas desses caracteres, em cada ambiente de avaliação (Tabela 1). A variação observada foi mais ampla para os caracteres peso de mil sementes e facilidade de descasque. Para peso de mil sementes, os valores mínimos foram próximos ou abaixo de 20 g enquanto os valores máximos foram acima de 60 g. Destaca-se a variação observada para a facilidade de descasque, com valores mínimos entre 12,1 e 13,2 e valores máximos entre 74,8 e 82,8 nos ambientes de estudo, evidenciando a grande variabilidade fenotípica da população para esse caráter (Tabela 1).

O ambiente de 2021 (Ambiente 3) apresentou médias superiores, em comparação com os outros dois ambientes conduzidos no ano de 2020, para todos os caracteres de qualidade física de grãos analisados, com as maiores diferenças observadas para a facilidade de descasque (Tabela 1).

Para todos os caracteres analisados foram observados coeficiente de variação baixos ou muito baixos. Esse coeficiente de variação foi estimado a partir da análise

de variância, utilizando-se a raiz quadrada do quadrado médio dos resíduos e a média geral de cada caráter. Para peso de mil sementes e peso do hectolitro os coeficientes de variação ficaram abaixo de 4%, enquanto para facilidade de descasque os coeficientes de variação ficaram entre 9 e 12%, demonstrando amostragem adequada dos dados (Tabela 1).

TABELA 1. Valor mínimo, média, valor máximo, desvio padrão e coeficiente de variação dos diferentes caracteres avaliados nos três experimentos envolvendo o painel de diversidade genética da UFRGS. Eldorado do Sul, 2020-2021.

Caráter	Ambiente	Mínimo	Média	Máximo	DP	CV
PMS	1	16,5	36,4	61,4	5,0	3,93
PMS	2	18,9	35,2	60,4	5,0	3,98
PMS	3	20,3	38,9	62,6	5,4	4,00
PH	1	34,7	51,8	59,3	3,1	3,07
PH	2	37,5	54,4	62,0	3,6	2,85
PH	3	42,8	55,1	62,7	3,0	2,94
FAC	1	15,0	48,7	82,8	13,2	9,54
FAC	2	12,2	40,1	74,8	12,1	12,32
FAC	3	11,9	56,2	79,1	13,2	9,26

PMS = Peso de mil sementes (g); PH = Peso de hectolitro (kg/hL); FAC = Facilidade de descasque (%); 1 = Eldorado do Sul 2020.1; 2 = Eldorado do Sul 2020.2; 3 = Eldorado do Sul 2021; DP = Desvio padrão da amostra de dados por parcela; CV = Coeficiente de variação (%) obtido a partir da análise da variância.

As distribuições de frequências dos caracteres analisados nos três ambientes foram representadas através de histogramas (Figura 3), no intuito de visualizar a normalidade dos dados, ao passo que, a normalidade dos dados é requerida para a realização do estudo de associação. Visualmente, os dados obtidos para peso de mil sementes e peso de hectolitro apresentam uma distribuição normal, enquanto, para a facilidade de descasque, os dados apresentam enviesamentos, não configurando uma distribuição normal (Figura 3). Fato confirmado através do teste de Shapiro-Wilk, que detectou falta de normalidade ($p < 0,05$) para facilidade de descasque nos ambientes 1 e 3.

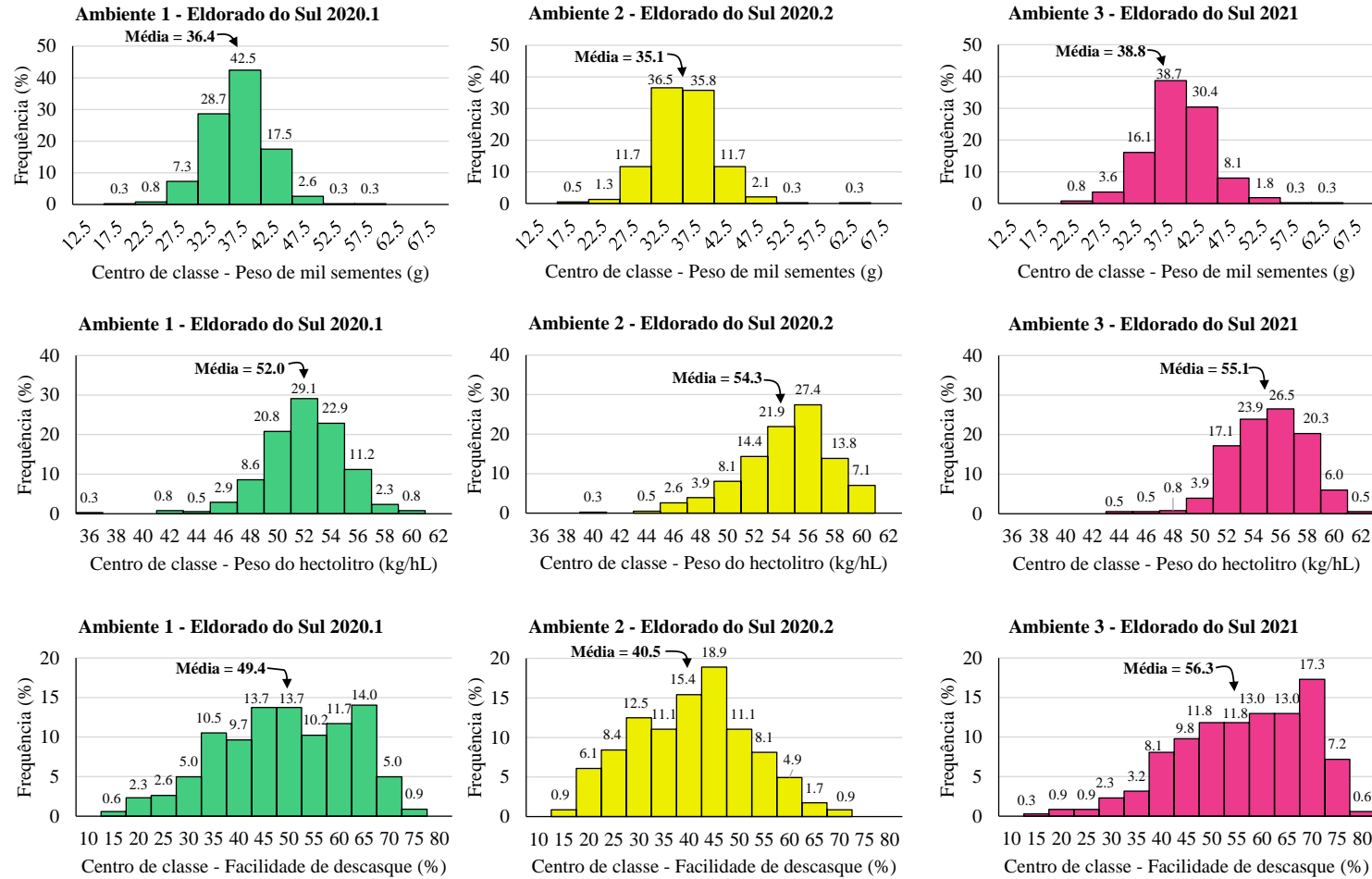


FIGURA 3. Distribuições de frequências das médias, por genótipo, do peso de mil sementes, peso de hectolitro e facilidade de descasque, nos três experimentos envolvendo o painel de diversidade genética de aveia da UFRGS. Eldorado do Sul, 2020-2021.

No entanto, ao realizar os estudos de associação genômica, de forma posterior, não houveram diferenças significativas ao utilizar dados não normais e dados normais (transformados), portanto, optou-se por não transformar os dados, de modo a analisar todos os caracteres da mesma forma.

As associações dos dados fenotípicos entre os respectivos ambientes foram realizadas através de uma análise de regressão simples. Em relação à associação dos dados de peso de mil sementes nos três ambientes de estudo, obteve-se coeficientes de determinação (R^2) acima de 70% (Figura 4), significando uma alta associação entre os dados, ou seja, os valores fenotípicos foram relativamente estáveis entre os ambientes.

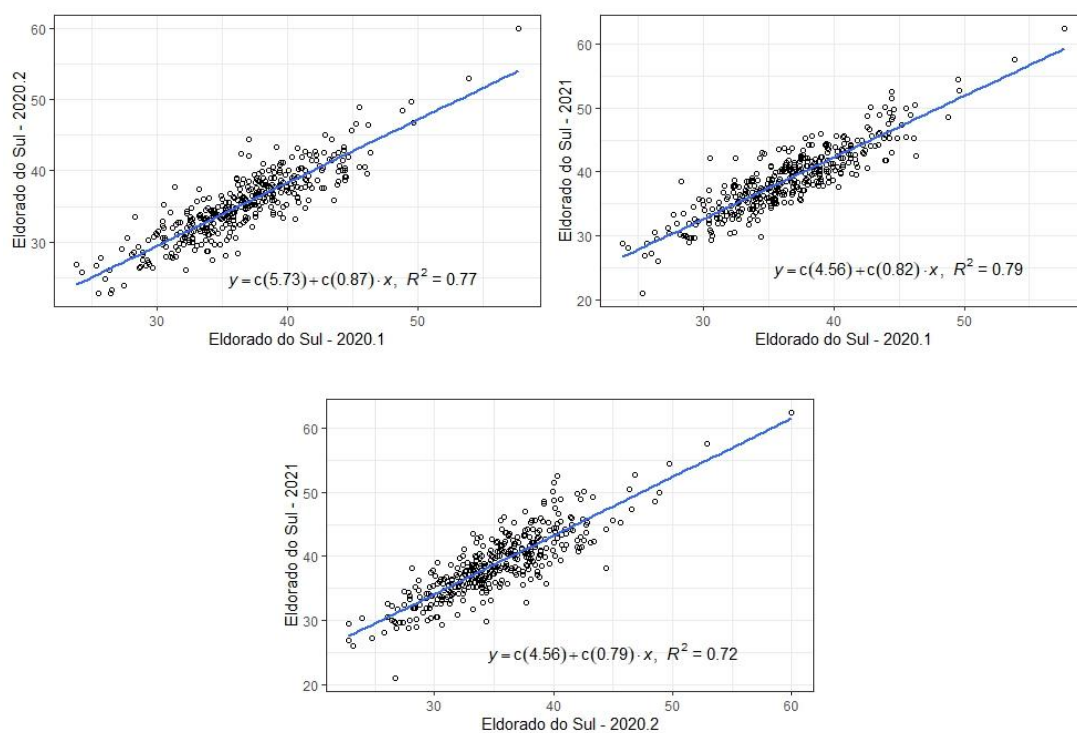


FIGURA 4. Regressão linear simples entre as médias do peso de mil sementes de cada genótipo de aveia nos três ambientes de estudo.

Os valores dos coeficientes de determinação (R^2) para as regressões entre ambientes para as médias, por genótipo, dos caracteres peso de hectolitro e facilidade de descasque foram inferiores, em relação aos observados para peso de mil sementes,

especialmente para peso do hectolitro (Figuras 5 e 6). Esse resultado demonstra maior amplitude do comportamento fenotípico de um mesmo genótipo entre os ambientes, para peso do hectolitro e facilidade de descasque.

Para o peso de hectolitro, o menor coeficiente de determinação (R^2) foi de 28% para a associação dos ambientes conduzidos no ano de 2020 (Figura 5), enquanto a associação dos dados fenotípicos entre o segundo ambiente de cultivo de 2020 (2020.2) e o ambiente de 2021 obteve o maior coeficiente de determinação (R^2), que foi igual a 37% (Figura 5). Já para facilidade de descasque, os coeficientes de determinação foram 44%, 57% e 53%, para a comparação entre os ambientes de cultivo de 2020, entre o primeiro ambiente de cultivo de 2020 (2020.1) e o ambiente 2021 e entre o segundo ambiente de cultivo (2020.2) e o ambiente de 2021, respectivamente (Figura 6).

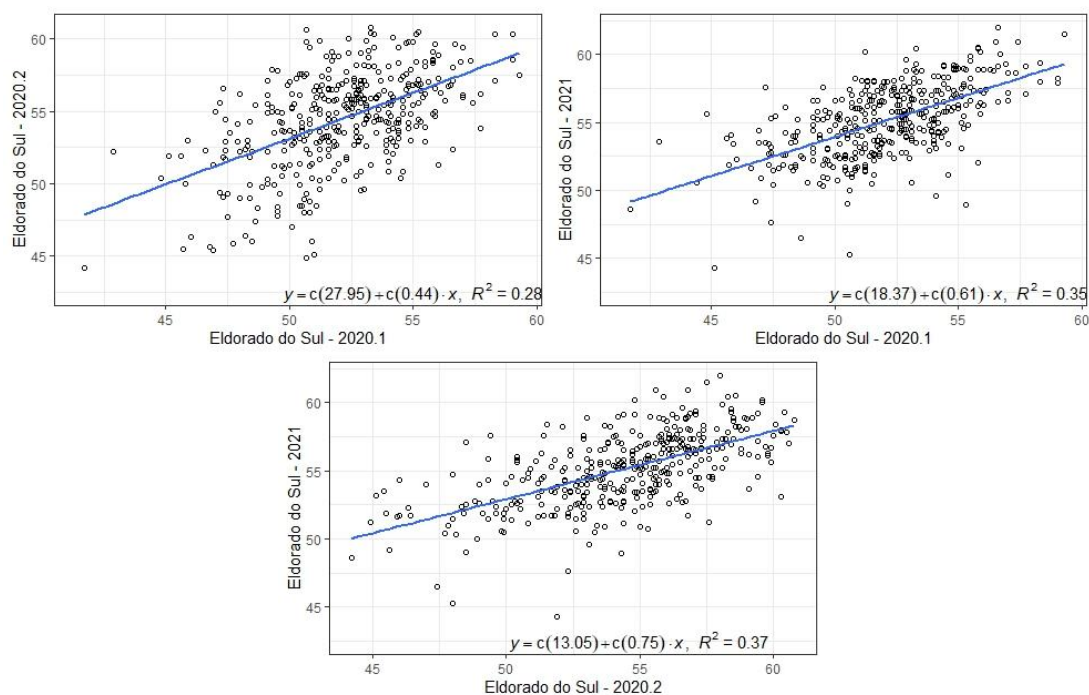


FIGURA 5. Regressão linear simples entre as médias do peso de hectolitro de cada genótipo de aveia nos três ambientes de estudo.

Quanto à correlação entre os caracteres avaliados, a correlação entre o peso de hectolitro e o peso de mil sementes apresentou os menores valores em todos os ambientes do estudo, assim como na análise multiambiental (Figura 4). Destaca-se os valores encontrados são muito próximos a zero (0,02 e 0,14), significando que, genótipos com elevado peso de hectolitro não possuem necessariamente elevado peso de mil sementes, assim como genótipos que possuem elevado peso de mil sementes não possuem elevado peso de hectolitro (Figura 7).

As correlações envolvendo a facilidade de descasque com os outros dois caracteres analisados, peso de mil sementes e peso de hectolitro, variaram entre os valores de 0,25 a 0,37 (Figura 7). Esses valores de correlações, apesar de positivos, são relativamente baixos, uma vez que explicam somente entre 5 e 15 % da variação fenotípica observada.

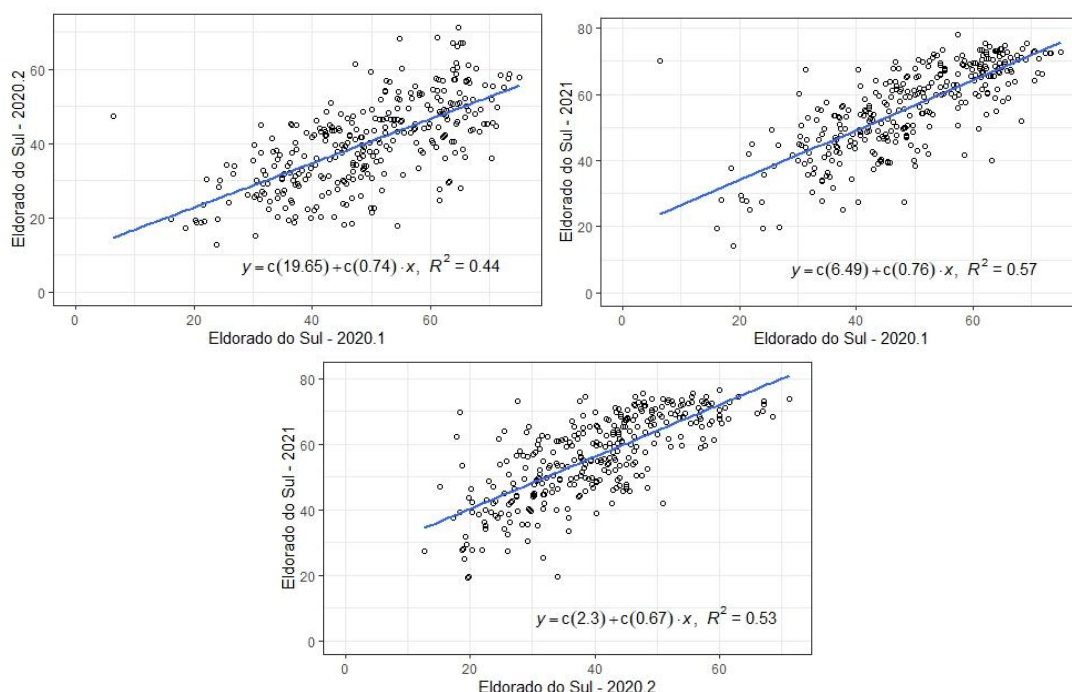


FIGURA 6. Regressão linear simples entre as médias de facilidade de descasque de cada genótipo de aveia nos três ambientes de estudo.

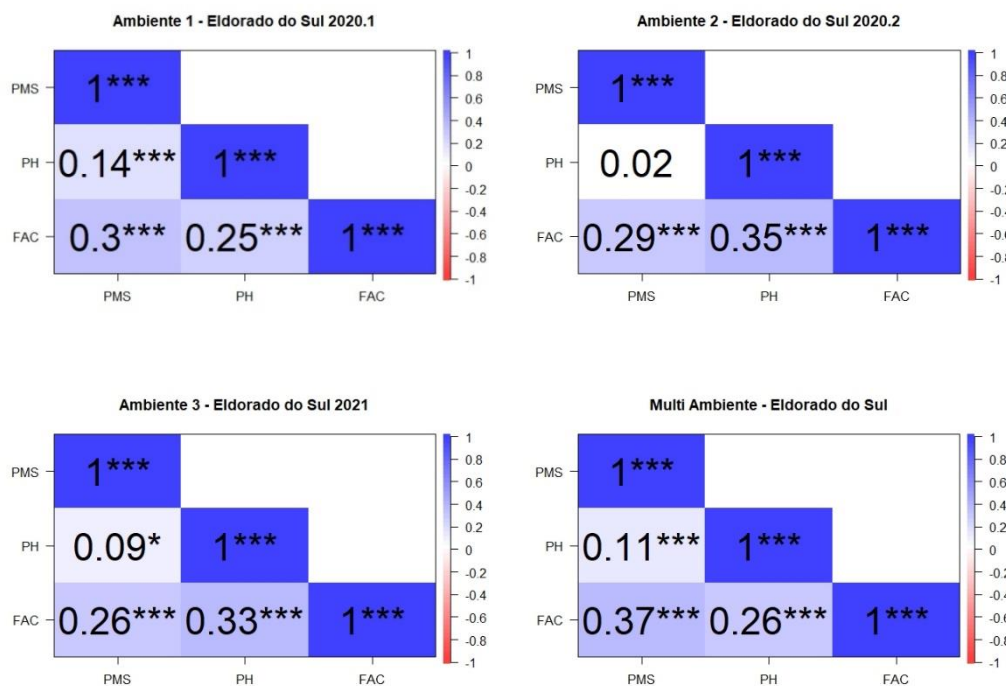


FIGURA 7. Correlação fenotípica de Pearson entre os caracteres de qualidade física de grãos. PMS = Peso de mil sementes; PH = Peso de hectolitro; FAC = Facilidade de descasque. *** = Significativo a 0,1 % de probabilidade; * Significativo a 5 % de probabilidade; ausência de asteriscos = Não significativo estatisticamente.

O primeiro componente principal explicou aproximadamente entre 48% da variância observada para os três caracteres de qualidade física, enquanto, o segundo componente principal explicou 33% da variância observada (Figuras 8, 9 e 10). Ressalta-se que os três caracteres analisados foram associados de forma negativa para o primeiro componente principal no ambiente 2020.1 (Figura 8), sendo associados de forma positiva para os outros dois ambientes analisados (Figuras 9 e 10). Em relação ao segundo componente principal, o peso de hectolitro foi negativamente associado para os ambientes 2020.1 (Figura 8) e 2020.2 (Figura 9), enquanto, o peso de mil sementes foi negativamente associado para o ano de 2021 (Figura 10).

Apesar das diferenças de associação tanto do primeiro, como do segundo componente principal entre os ambientes, observa-se que os genótipos desenvolvidos

pelo programa de melhoramento da UFRGS e por outros programas brasileiros ou estrangeiros apresentam tanto genótipos superiores como inferiores para os caracteres avaliados. Esses genótipos foram localizados nos quatro quadrantes do biplot, formando assim uma “nuvem” de dados nos três biplots realizados, fato que evidencia não somente a presença de variabilidade fenotípica para esses caracteres, como também a eficiência de seleção por parte do programa de melhoramento da UFRGS, ao desenvolver genótipos fortemente associados de forma positiva com os caracteres (Figuras 8, 9, 10).

Os genótipos URS Taura, URS Altiva e URS Brava foram designados como “testemunhas”, uma vez que são genótipos que atingem índices desejados pela indústria beneficiadora de grãos. As testemunhas se aproximaram mais fortemente do peso de hectolitro em comparação com os outros dois caracteres de qualidade física (Figuras 8, 9, 10).

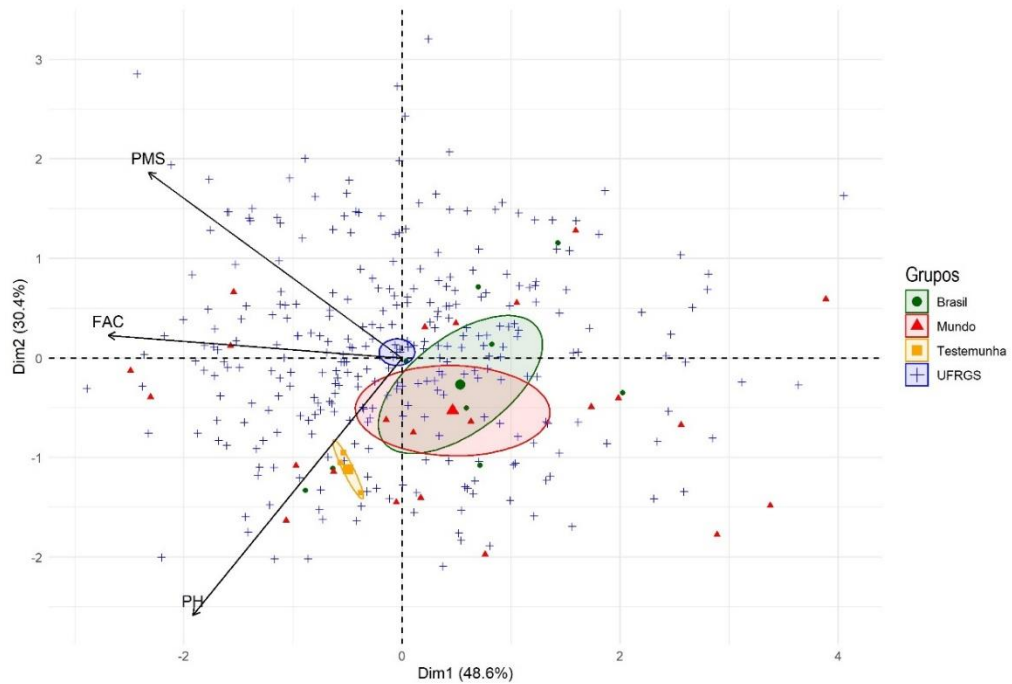


FIGURA 8. Biplot da análise de componentes principais do painel de diversidade genética da UFRGS para o peso de mil sementes, peso de hectolitro e facilidade de descasque em 2020.1.

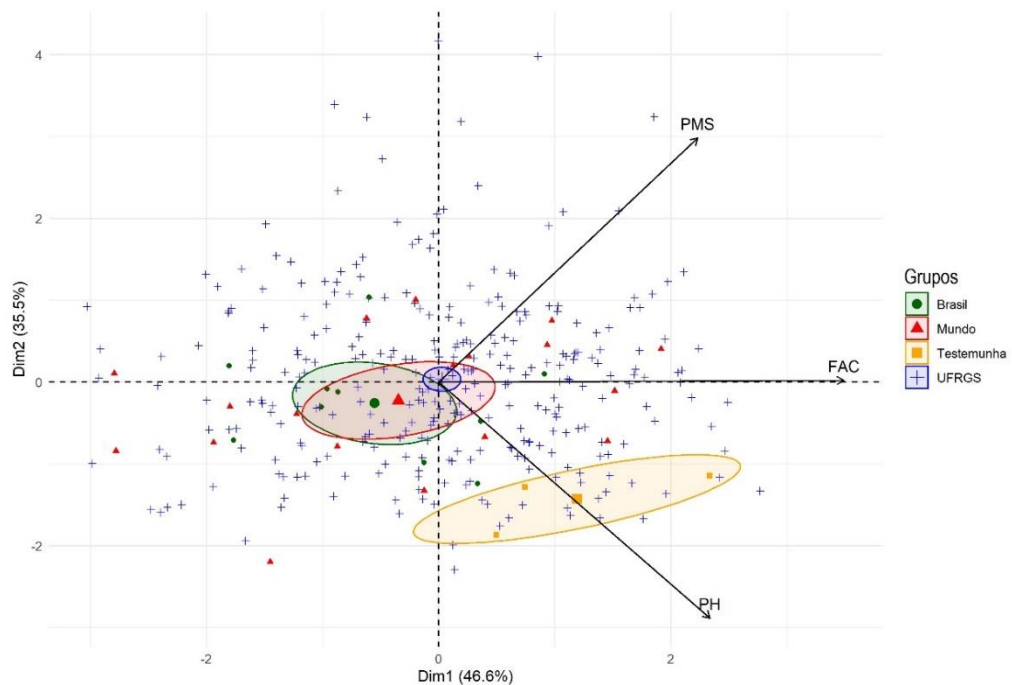


FIGURA 9. Biplot da análise de componentes principais do painel de diversidade genética da UFRGS para o peso de mil sementes, peso de hectolitro e facilidade de descasque em 2020.2.

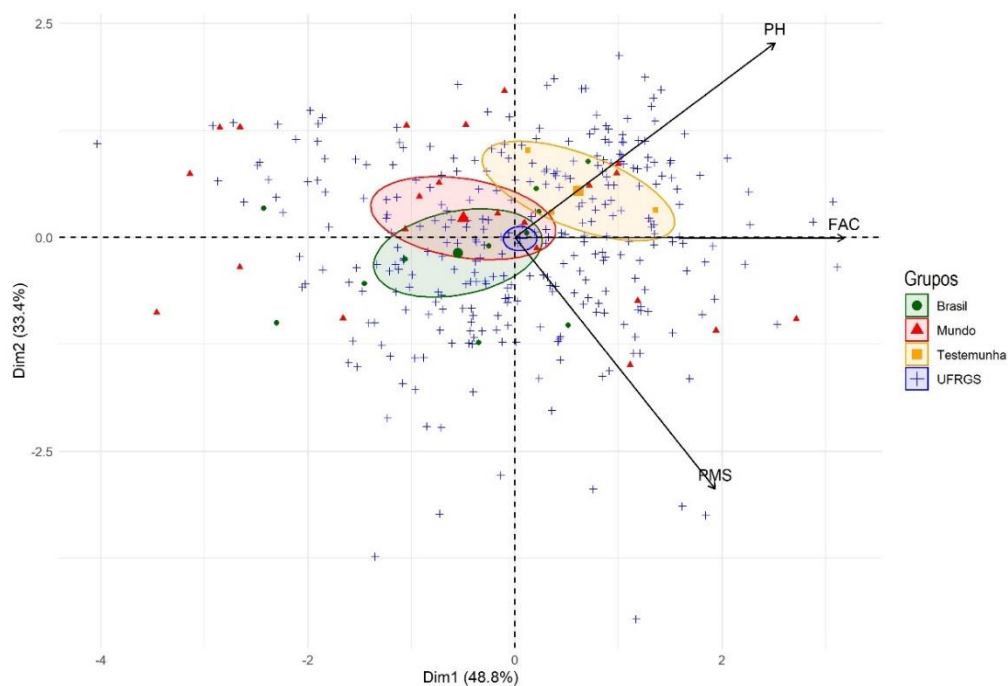


FIGURA 10. Biplot da análise de componentes principais do painel de diversidade genética da UFRGS para o peso de mil sementes, peso de hectolitro e facilidade de descasque em 2021.

4.2 Caracterização genotípica da qualidade física de grãos no painel de diversidade genética de aveia da UFRGS

A associação genômica ampla foi testada entre 11,559 marcadores SNPs, abrangendo três caracteres de qualidade física de grão, para 383 genótipos em três ambientes de cultivo. Um total de 91 marcadores moleculares tiveram associação com pelo menos um caráter e em pelo menos um ambiente ou na análise multiambiente. (Tabela 2).

Considerando os marcadores que possam ser considerados como não ligados, com algum grau de certeza, ou seja, acima de 30 cM, foram contabilizadas 34 regiões genômicas com associação significativa com um ou mais de um caráter de qualidade física dos grãos (Tabela 2). E destas regiões, foram encontradas 23 regiões que foram consideradas de significância múltipla, sendo as mais promissoras para abrigar *QTL(s)*

que contribuam com o controle dos caracteres estudados. Na Tabela 2, cada uma dessas 23 regiões genômicas estão sombreadas com a mesma cor. Foi considerada como um única região genômica de significância múltipla aquela região onde: i) foi observada associação, em nível elevado significância ($p < 0,0001$), entre um marcador molecular e o fenótipo de um determinado caráter; ii) observada associação entre um ou mais marcadores moleculares da região com um determinado caráter em mais de um ambiente, ou em um ambiente e na análise multiambiente (independentemente do nível de significância); iii) verificada associação entre um ou mais marcadores moleculares, da região genômica, com mais de um caráter, em ou um ou mais ambientes (independentemente do nível de significância).

TABELA 2. Marcadores moleculares associados significativamente para os diferentes caracteres de qualidade física dos grãos, avaliados nos três experimentos envolvendo o painel de diversidade genética de aveia da UFRGS. Eldorado do Sul, 2020-2021.

Caráter‡	Grupo de ligação‡	Posição no grupo de ligação (cM)†	log valor p no ambiente				Multi-Ambiente	Marcador molecular§	Nº de ordem das regiões genômicas significativas*	Nº de ordem das regiões genômicas com sig. múltipla‡
			2020-1	2020-2	2021					
PH	1	19,5				3,03	avgbs2_172372.1.26	1		
FAC	1	83,9			3,01		avgbs_110493.1.15	2	1	
FAC	1	92,3	3,80				avgbs2_13713.1.27			
PH	1	113,6				3,03	avgbs_115244.1.38	3	2	
FAC	1	113,6	3,05				avgbs_cluster_34889.1.42			
FAC	1	117,4	3,54			3,20	avgbs2_75392.1.6			
FAC	1	118,9	3,29				avgbs2_80976.1.6			
PH	2	26,8		3,33			avgbs2_82665.2.9	4	3	
PMS	2	34,1			3,20		avgbs_95272.1.27			
PMS	2	67,4			3,53		avgbs_cluster_27700.1.47	5	4	
FAC	2	72,1			3,15		avgbs_72141.1.25			
FAC	2	85,2			3,22		avgbs_28468.1.48			
PMS	2	87,3		3,10	3,41	4,16	avgbs_cluster_12207.1.45			
FAC	2	87,3			3,13		avgbs2_64132.2.23			
PMS	3	37,1				3,17	avgbs2_158430.1.33	6	5	
FAC	3	44,6				3,76	avgbs_6121.1.27			
PMS	3	48,1			4,61		avgbs_cluster_32518.1.64			
PMS	3	73,1		3,50			avgbs_cluster_24907.1.54	7	6	
PMS	3	75,8	3,15	4,14	3,02	3,27	avgbs_14913.1.9			

continuação TABELA 2. Marcadores associados significativamente para os diferentes caracteres de qualidade física dos grãos, avaliados nos três experimentos envolvendo o painel de diversidade genética da UFRGS. Eldorado do Sul, 2020-2021.

FAC	3	80,3	3,20			avgbs_cluster_815.1.62		
PH	3	129,9	4,98		3,27	avgbs_cluster_2367.1.30	8	7
FAC	3	161,7			3,20	avgbs_cluster_15312.1.16	9	
FAC	4	37,9	3,20			avgbs_114541.1.39	10	8
PH	4	43,9	3,68			avgbs_cluster_34775.1.61		
PH	4	54,9		3,19		avgbs_117948.1.11		
PMS	4	60,2	3,27			avgbs_cluster_12181.1.55		
PH	5	56,5	3,08			avgbs_cluster_37065.1.59	11	
PMS	5	80,2		3,17		avgbs_cluster_16617.1.20	12	9
PMS	5	80,2	3,04		3,26	avgbs2_66107.1.6		
PMS	5	80,8		3,89	3,12	avgbs_204191.1.47		
PMS	5	82,0	3,55	3,25	3,13	avgbs2_94017.1.22		
FAC	5	124,1	3,37			avgbs2_146048.1.35	13	10
FAC	5	130,9	3,46			avgbs_10569.1.14		
FAC	5	131,6	4,11	3,71	3,97	avgbs_cluster_22502.1.12		
PMS	6	25,7		3,75		avgbs2_131570.1.41	14	11
PMS	6	27,2		3,56		avgbs_cluster_41192.1.43		
PMS	6	29,1		3,17		avgbs_cluster_17769.1.50		
PH	6	29,1	3,24			avgbs_cluster_179.1.6		
PMS	6	29,4		3,34		avgbs_cluster_26785.1.15		
PMS	6	29,7		3,18		avgbs_53963.1.64		
PH	6	33,7	3,06			avgbs_cluster_26389.1.25		
PH	6	63,2	3,42			avgbs_cluster_4786.1.9	15	12

continuação TABELA 2. Marcadores associados significativamente para os diferentes caracteres de qualidade física dos grãos, avaliados nos três experimentos envolvendo o painel de diversidade genética da UFRGS. Eldorado do Sul, 2020-2021.

PH	6	63,2		3,10			avgbs_cluster_42139.1.55		
PMS	6	102,3				3,24	avgbs_15416.1.22	16	
PH	8	62,4			3,10	3,01	avgbs_3248.1.48	17	13
PH	8	81,4		3,45		3,46	avgbs2_111201.2.43		
FAC	8	121,2				3,70	avgbs_95055.1.44	18	
FAC	9	53,1				3,72	avgbs_cluster_34172.1.35	19	14
FAC	9	59,3			3,92		avgbs_24515.1.10		
FAC	9	63,7			3,22		avgbs_cluster_21745.1.13		
PH	9	132,7			3,09		avgbs_98142.1.36	20	
PH	11	17				3,30	avgbs_cluster_4103.1.29	21	
PH	12	40,2				3,16	avgbs_97551.1.61	22	15
FAC	12	53,5		3,19	3,79	3,24	avgbs2_89433.1.50		
FAC	13	6,2				3,37	avgbs_cluster_39244.1.46	23	
FAC	13	6,9				3,03	avgbs_cluster_30976.1.35		
PMS	13	42,1			3,31		avgbs2_132978.1.39	24	
PH	13	66			3,38		avgbs_106529.1.15		
PMS	13	110,1		4,23	3,60		avgbs_205937.1.31	25	16
PMS	13	110,7			3,66		avgbs2_48205.1.34		
PMS	13	111,7	3,59	5,17	4,65	4,34	avgbs2_38402.1.29		
PMS	13	114,6	3,53	5,09	4,70	4,56	avgbs_21100.1.51		
PMS	13	115,4			3,52	3,43	avgbs_cluster_22640.1.12		
FAC	18	0,8			3,17		avgbs2_106120.1.13	26	17
PH	18	7,3		3,58		3,43	avgbs_2298.1.54		

continuação TABELA 2. Marcadores associados significativamente para os diferentes caracteres de qualidade física dos grãos, avaliados nos três experimentos envolvendo o painel de diversidade genética da UFRGS. Eldorado do Sul, 2020-2021.

PH	18	27,7	3,03				avgbs_11845.1.62	27	18
PH	18	28,6	3,16				avgbs_cluster_21785.1.15		
PH	18	32,5	3,43				avgbs_75039.1.34		
FAC	18	35,5		3,80			avgbs_103787.1.18		
PH	18	37,2	3,76				avgbs2_169286.1.43		
PMS	18	40,0	3,90	3,83	4,11		avgbs_105878.1.11		
FAC	18	40,0		3,07			avgbs_92060.1.20		
FAC	18	41,4		3,56			avgbs2_4578.1.38		
FAC	18	42,1		3,36			avgbs_4932.1.24		
FAC	18	69,0			4,38		avgbs_97740.1.61	28	19
PH	20	21,5		3,76			avgbs_118390.1.35	29	
FAC	21	122,8	3,34				avgbs2_122744.1.55	30	20
PMS	21	125,8		3,69			avgbs2_140037.1.24		
PMS	23	23,2	3,28				avgbs_cluster_16152.1.34	31	21
PMS	23	45,7	5,14	4,82	3,77	5,06	avgbs_cluster_36536.1.50		
FAC	23	45,7	3,29				avgbs_cluster_36536.1.50		
PMS	23	55,2			3,13		avgbs_cluster_418.1.20		
PMS	23	74,4				3,19	avgbs_cluster_1497.1.62		
FAC	24	5,4				3,66	avgbs2_12526.1.8	32	
FAC	24	21,2		3,38			avgbs2_18686.1.62	33	22
FAC	24	29,8			3,92		avgbs2_178770.1.64		
FAC	24	36,9		3,40			avgbs_116951.1.14		
FAC	24	41,0		3,05			avgbs2_122148.1.34		

continuação TABELA 2. Marcadores associados significativamente para os diferentes caracteres de qualidade física dos grãos, avaliados nos três experimentos envolvendo o painel de diversidade genética da UFRGS. Eldorado do Sul, 2020-2021.

FAC	33	26,3	3,66	3,58	3,00	4,32	avgbs_cluster_1090.1.57	34	23
FAC	33	27,0	3,04			3,14	avgbs2_193837.1.36		
PH	33	27,1			3,20		avgbs_cluster_51961.1.31		
FAC	33	44,4				3,08	avgbs_cluster_38171.1.9		

[‡]PMS = Peso de mil sementes; PH = Peso de hectolitro; FAC = Facilidade de descasque.

[£] Grupo de ligação conforme mapa genético consenso de aveia (Bekele *et al.*, 2018)

[†]CentiMorgans.

[§]Marcadores moleculares sombreados com cores iguais foram considerados como pertencentes a uma mesma região genômica. Marcadores moleculares grifados em negrito foram aqueles que tiveram associação altamente significativa ($p < 0,0001$) com um algum caráter, em um ou mais de um ambiente de análise.

*Foram contabilizadas como diferentes aquelas regiões genômicas cujos marcadores moleculares significativos ($p < 0,001$) estivessem a mais de 30 cM entre si.

* Regiões genômicas com significância múltipla, ou seja, associadas com caráter(es) de qualidade de grãos em mais de um ambiente ou em um ambiente e na análise multiambiente, para o mesmo caráter ou para caracteres diferentes, ou ainda elevada significância na análise multiambiente.

Das 23 regiões genômicas que foram consideradas como associadas com os caracteres de qualidade física dos grãos, 11, 11 e 16 regiões foram consideradas associadas com peso de mil sementes, peso do hectolitro e facilidade de descasque, respectivamente, as quais podem ser observadas de forma visual pelos gráficos *Manhattan* (Figuras 12, 14 e 16).

Em relação a associação genômica ampla para o peso de mil sementes, nos três ambientes, assim como, na análise multiambiente, os gráficos Q-Q indicam um bom controle de associações de falsos positivos, além de demonstrar um grande número de SNPs significativos encontrados para esse caráter (Figura 11).

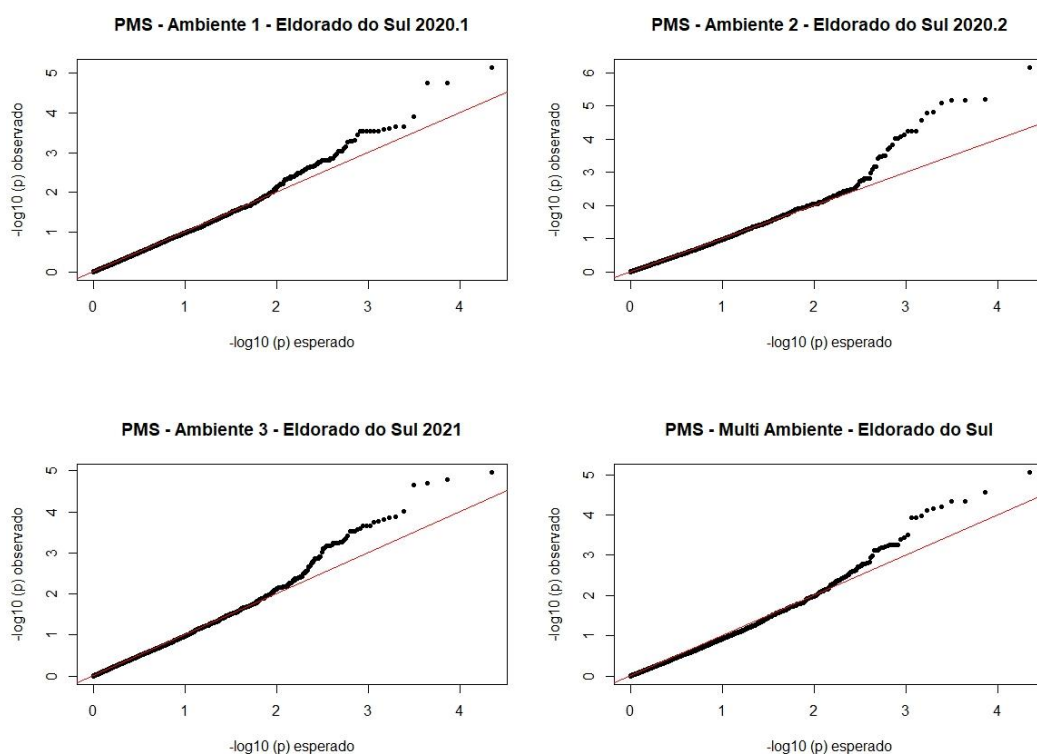


FIGURA 11. Gráfico Quantile-Quantile (Q-Q) para os valores p observados e esperados para o peso de mil sementes em três ambientes e na análise multiambiente.

As regiões associadas com o peso de mil sementes foram: 1) posição 34,1cM do grupo de ligação 2, com significância no ambiente de 2021 (além dessa região

também estar associada com o peso de hectolitro na posição de 26,8 cM; 2) região entre 64,7 e 87,3 cM do grupo de ligação 2, com elevada significância na posição 87,3 cM na análise multiambiental (essa região também apresentou significância para a facilidade de descasque); 3) região entre 37,1 e 48,1 cM do grupo de ligação 3 foi associada, além do peso de mil sementes, com facilidade de descasque, havendo destaque para elevada significância para o peso de mil sementes na posição 48,1 cM no ambiente de 2021; 4) nas posições de 73,1 e 75,8 cM do grupo de ligação 3, sendo observada elevada significância na posição 75,8 cM no ambiente 2020-2, também apresentando significância nos outros ambientes e na análise multi ambiente; 5) a posição de 60,2 cM do grupo de ligação 4, sendo que nesta região, entre 37,9 e 54,9 cM, outros marcadores moleculares foram associados com peso do hectolitro e facilidade de descasque; 6) o grupo de ligação 5 apresentou uma associação de uma região delimitada, entre 80,2 e 82,0 cM, nas duas primeiras épocas de semeadura de 2020 e 2021 e na análise multiambiente; 7) a região entre 25,7 e 33,7 cM do grupo de ligação 6; 8) a região entre 110,1 e 115,4 cM do grupo de ligação 13, que foi a região que apresentou as maiores significâncias para o peso de mil sementes, sendo que dois marcadores moleculares foram significativos nos três ambientes e na análise multiambiente, sendo altamente significativa na maioria das análises; 9) na posição 40 cM do grupo de ligação 18, dentro da região entre 27,7 e 42,1 cM, foi identificado um marcador altamente significativo para o peso de mil sementes; 10) no grupo de ligação 21 foi encontrado um marcador significativo na posição 125,8 cM, no ambiente 2020-2; 11) Dois marcadores moleculares do grupo de ligação 23, nas posições 45,7 e 55,2 cM. Nesta última região, o marcador `avgbs_cluster_36536.1.50`, na posição 45,7, foi associado com peso de mil sementes e facilidade de descasque, sendo associado com o peso de mil sementes nos três ambientes e na análise multiambiente, atingindo

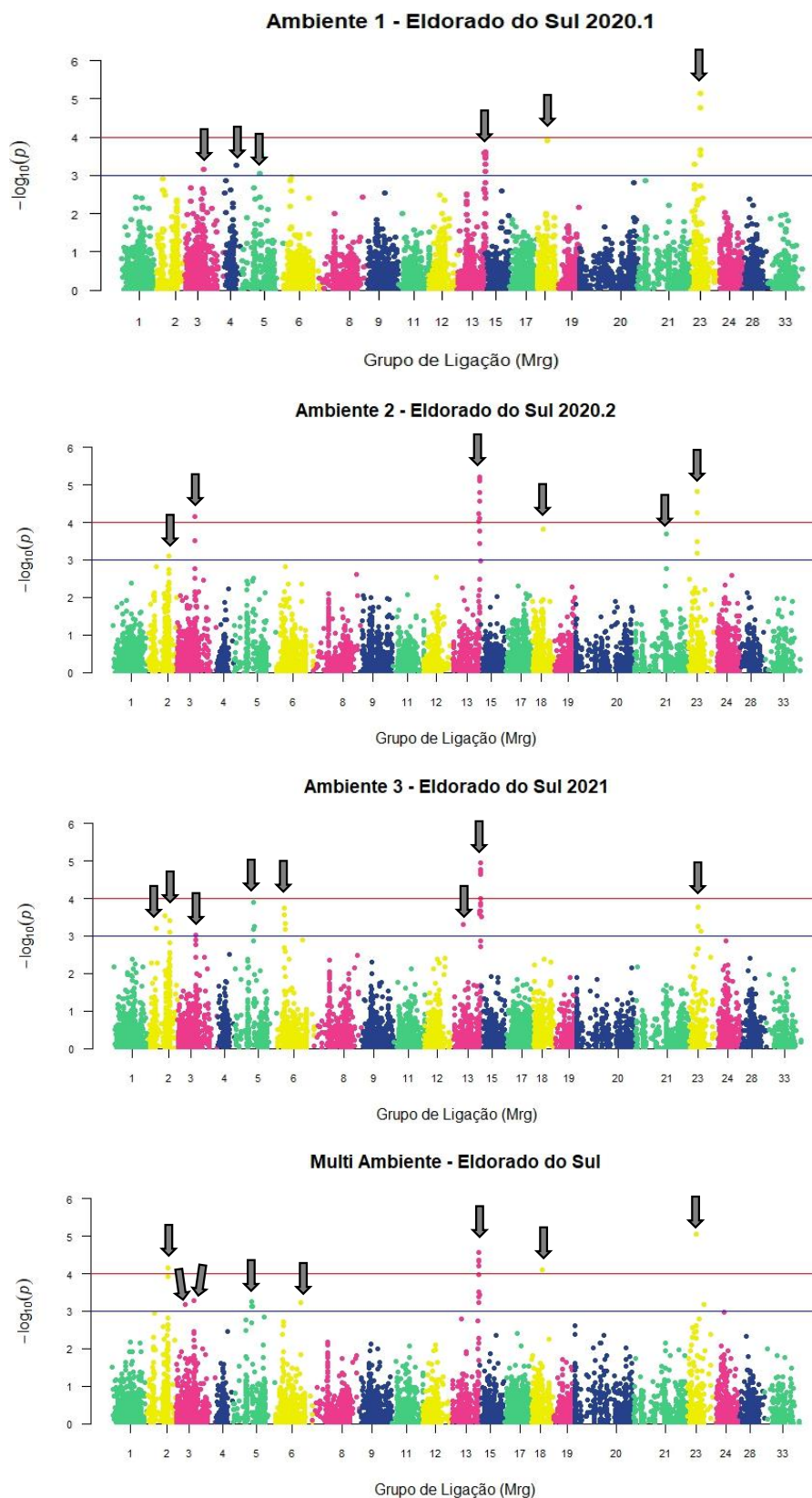


FIGURA 12. Gráfico Manhattan para marcadores associados com o peso de mil sementes em três ambientes e análise multiambiente.

significância elevada em três dessas análises (Tabela 2 e Figura 12).

Os gráficos Q-Q plot para o peso de hectolitro apresentaram um bom controle dos falsos positivos através do modelo utilizado, mas, poucos valores p esperados foram diferentes dos valores observados, evidenciando uma possível baixa associação entre os marcadores e o peso de hectolitro (Figura 13).

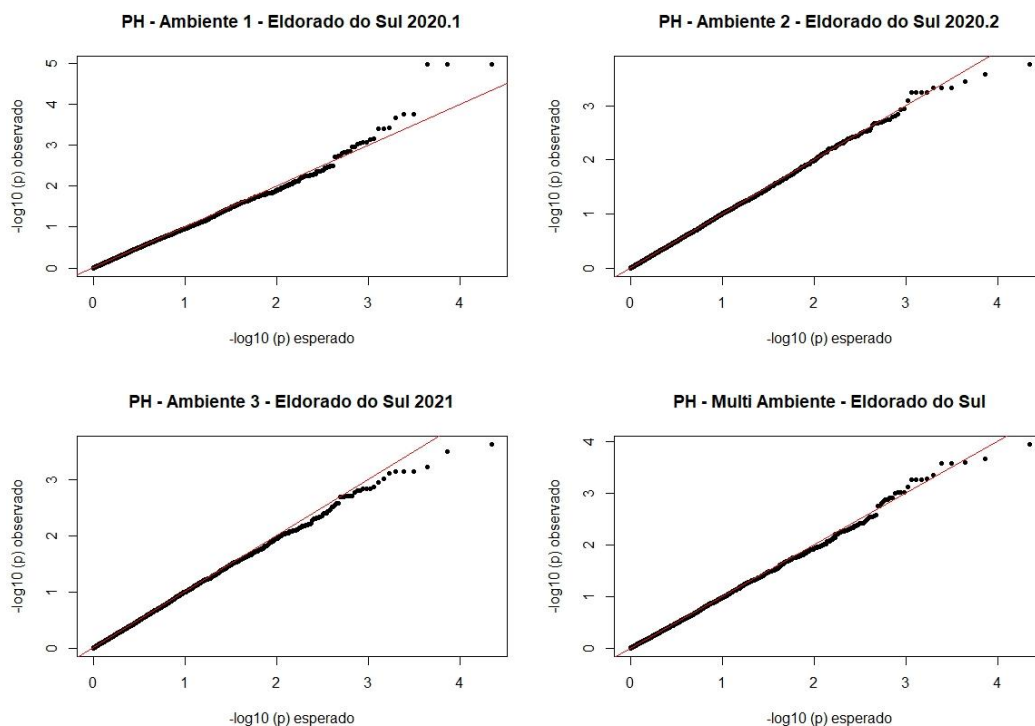


FIGURA 13. Gráfico Quantile-Quantile (Q-Q) para os valores p observados e esperados para o peso do hectolitro em três ambientes e na análise multiambiente.

Para o peso do hectolitro, 11 regiões genômicas foram identificadas como associadas a esse caráter, sendo elas: 1) A posição 113,6 cM do grupo de ligação 1, significativa na análise multiambiente, região que também foi associada com a facilidade de descasque, entre as posições 113,6 e 118,9 cM; 2) posição 26,8 cM do grupo de ligação 2, significativa no ambiente 2020-2, sendo que nesta região um marcador molecular, na posição 34,1 cM foi associado com o peso de mil sementes; 3) região genômica da posição 129,9 cM do grupo de ligação 3, associada com significância elevada na primeira época de semeadura de 2020; 4) marcadores

moleculares nas posições 43,9 e 54,9 cM do grupo de ligação 4, localizados em uma região, entre 37,9 e 60,2 cM, que foi associativa para todos os caracteres avaliados; 5) a região entre 29,1 e 33,7 cM do grupo de ligação 6, região que também foi associada ao peso de mil sementes, entre as posições 25,7 e 33,7 cM; 6) No grupo de ligação 6 dois marcadores moleculares, na posição 63,2 cM, foram associadas com o peso do hectolitro, cada marcador em uma das duas épocas de semeadura de 2020; 7) No grupo de ligação 8 dois marcadores SNP, nas posições 62,4 e 81,4 cM, cada marcador foi associado com peso do hectolitro em um ambiente e ambos os marcadores na análise multiambiente; 8) No grupo de ligação 12, um marcadores molecular, na posição 40,2 cM foi associado ao peso do hectolitro na análise multiambiente, sendo que outro marcador desta região, na posição 53,5 cM foi associado à facilidade de descasque, em mais de um ambiente; 9) Na região mais proximal, à 7,3 cM, do grupo de ligação 18 identificou-se um marcador significativo em 2020-2 e na análise multiambiente; 10) Ainda no grupo de ligação 18, 3 marcadores foram associados para o peso de hectolitro na região entre 27,7 e 37,2 cM, região que também foi associada à facilidade de descasque, entre 35,5 e 42,1 cM; 11) posição 26,3 cM do grupo de ligação 33, que teve um marcador molecular associado com peso do hectolitro no ambiente de 2021, porém, essa região teve 3 marcadores SNP associados com a facilidade de descasque, entre as posições 26,3 e 44,4 cM, em diferentes ambientes de avaliação (Tabela 2, Figura 14).

Os gráficos Q-Q, assim como a visualização dos marcadores SNPs nos gráficos Manhattan, referentes a associação da facilidade de descasque com os marcadores moleculares, se comportaram de forma similar aos gráficos referentes ao peso de mil sementes e de peso de hectolitro, com um bom controle de falsos positivos (Figura 15).

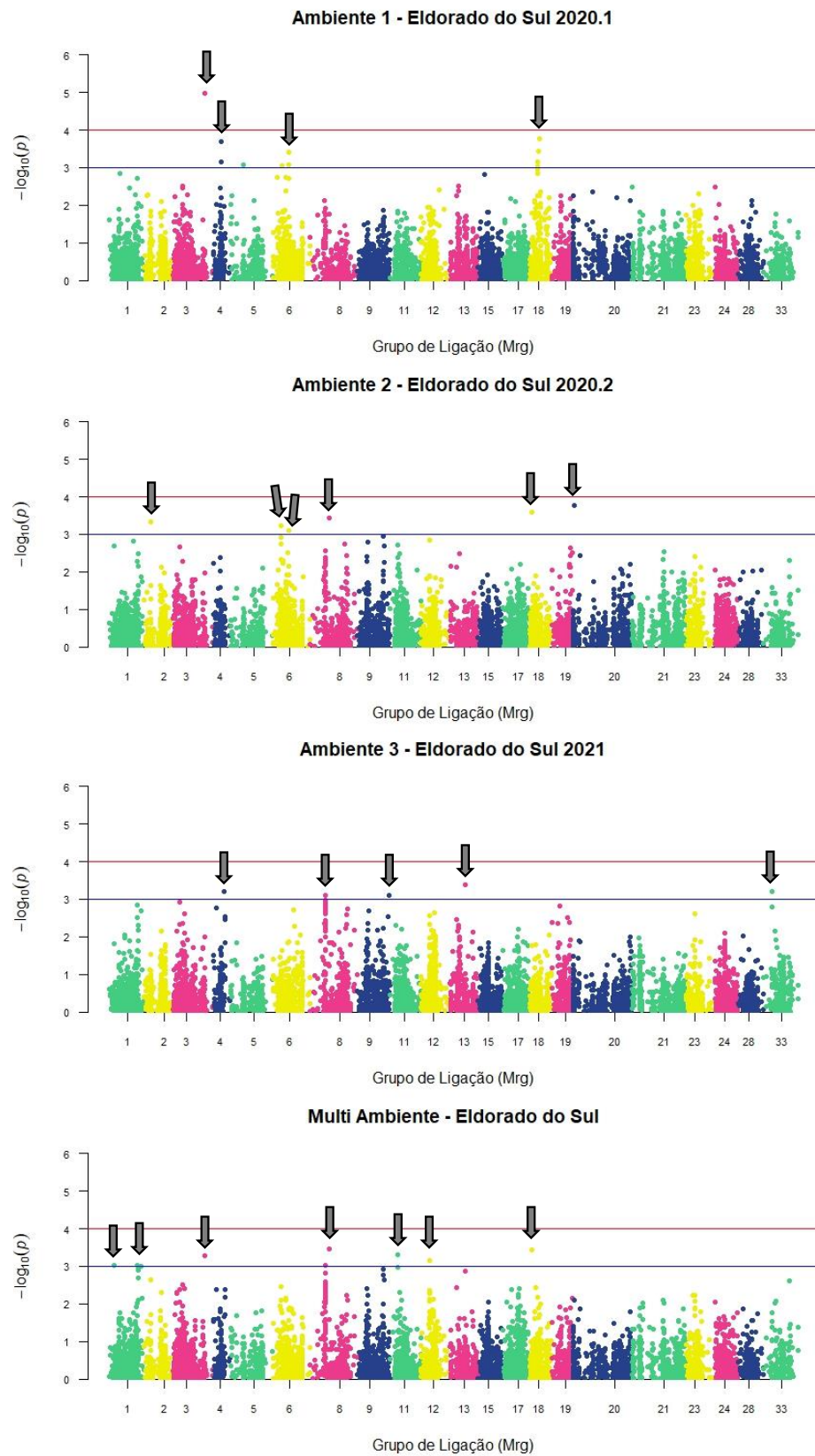


FIGURA 14. Gráfico Manhattan para marcadores associados com o peso de hectolitro em três ambientes e na análise multiambiente.

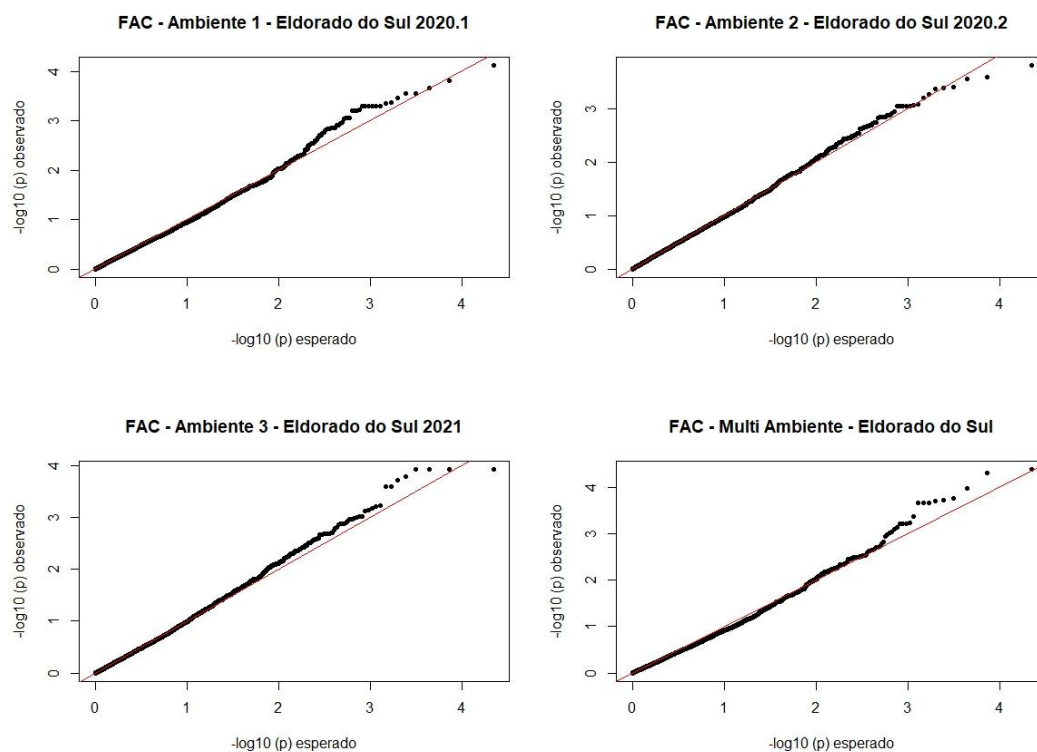


FIGURA 15. Gráfico Quantile-Quantile (Q-Q) para os valores p observados e esperados para a facilidade de descasque em três ambientes e na análise multiambiente.

Um total de 16 regiões genômicas foram consideradas como associadas, em diferentes graus, com a facilidade de descasque, descritas a seguir: 1) no grupo de ligação 1, dois marcadores moleculares, nas posições 83,9 e 92,3 cM, sendo um deles significativo na época de semeadura de junho de 2020 e o outro em 2021; 2) também no grupo de ligação 1, três marcadores SNP, na região entre 113,6 e 118,9 cM, foram significativos, sendo que na posição 113,6 também houve associação com peso de hectolitro; 3) no grupo de ligação 2 houve significância de três marcadores moleculares entre as posições 72,1 e 87,3 cM, correspondendo à região também significativa para peso de mil sementes, entre 67,4 e 87,3 cM; 4) no grupo de ligação 3 o marcador na posição 44,6 cM foi associado com facilidade de descasque, região também associada com o peso de mil sementes, entre 37,1 e 48,1 cM; 5) ainda no grupo de ligação 3 também foi encontrada associação para facilidade de descasque na posição 80,3 cM,

além de associação com o peso de mil sementes nas posições 73,1 e 75,8 cM da mesma região genômica; 6) No grupo de ligação 4, a região entre 37,9 e 60,2 cM foi associada com os três caracteres avaliados, principalmente no ambiente 2020.1, sendo significativa para facilidade de descasque na posição de 37,9 cM; 7) região entre 124,1 e 131,6 cM do grupo de ligação 5, com significância mais elevada na posição 131,6 cM, na primeira época de semeadura de 2020; 8) três marcadores moleculares foram significativos no grupo de ligação 9, entre as posições 53,1 e 63,6 cM, no ambiente de 2021 e na análise multiambiente; 9) no grupo de ligação 12, um marcador molecular, na posição 53,5 cM, foi associado à facilidade de descasque em dois ambientes e na análise multiambiente, nesta região, outro marcador molecular, na posição 40,2 cM foi associado com peso do hectolitro, na análise multiambiente; 10) na porção mais proximal do grupo de ligação 18 foi encontrado um marcador, na posição 0,8 cM, associado à facilidade e, geneticamente, próximo de outro marcador associado ao peso do hectolitro; 11) ainda no grupo de ligação 18, a região genômica entre 27,7 e 42,1 cM foi associada com os três caracteres avaliados, sendo que na região entre 35,5 e 42,1 cM, quatro marcadores foram associados com a facilidade de descasque, todos na segunda época de semeadura de 2020; 12) na porção mais distal do grupo de ligação 18, na posição de 69,0 cM, um marcador molecular foi associado, com alta significância, como a facilidade de descasque na análise multiambiente; 13) no grupo de ligação 21, um marcador molecular, na posição 122,8 cM foi associado com facilidade de descasque, região que também foi significativa para peso de mil sementes; 14) um marcador molecular do grupo de ligação 23, localizado na posição 45,7 cM, além da facilidade de descasque, esse mesmo marcador também foi associado com peso de mil sementes, em todas as análises, além de outro marcador próximo, na

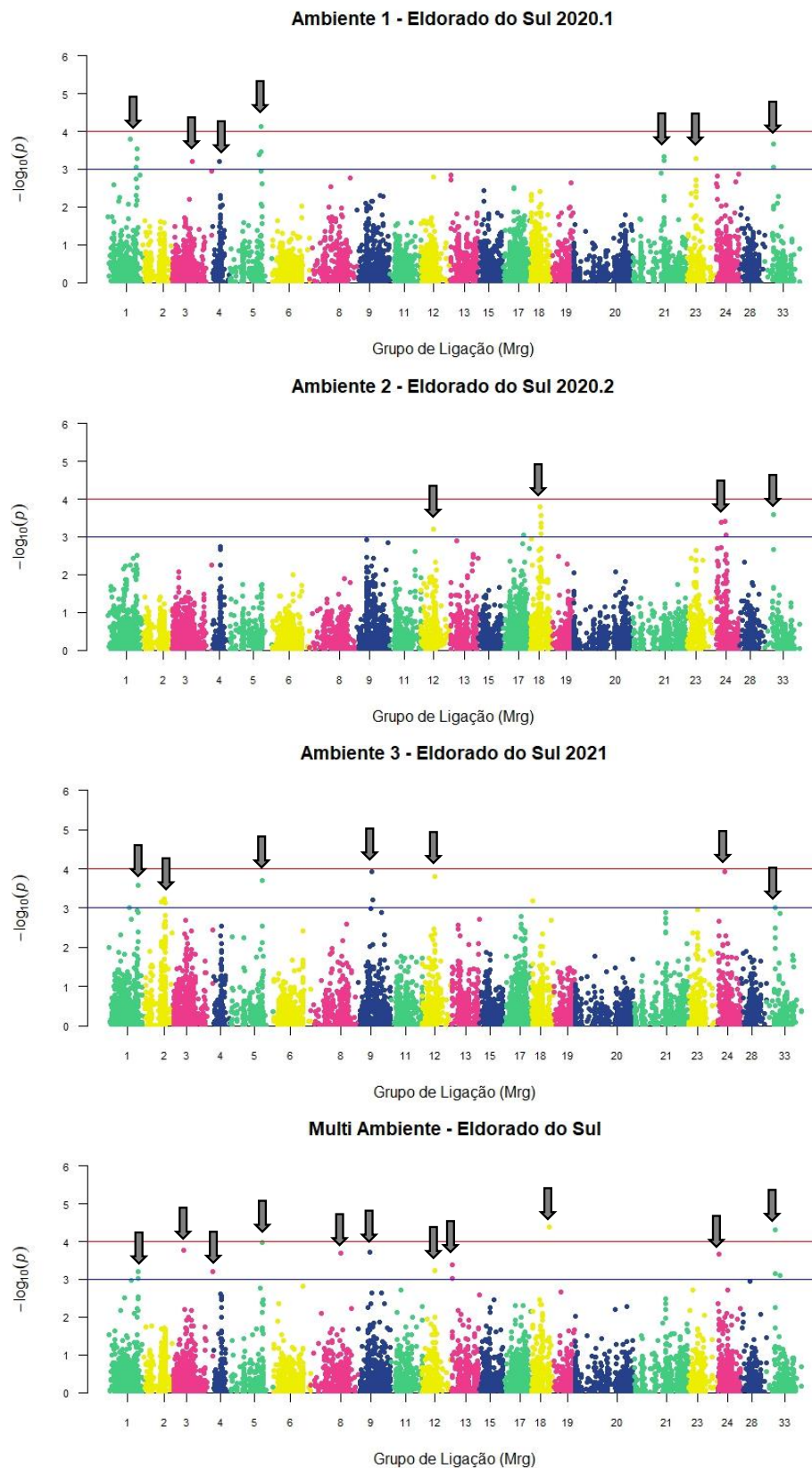


FIGURA 16. Gráfico Manhattan para marcadores associados com a facilidade de descasque em três ambientes e na análise multiambiente.

posição 55,2 cM, associado ao peso de mil sementes em 2021; 15) no grupo de ligação 24, entre as posições 21,2 e 41,0 cM, foram encontrados quatro marcadores associados à facilidade de descasque, na segunda época de semeadura de 2020 e primeira época de semeadura de 2021; 16) no grupo de ligação 33, a facilidade de descasque teve associação significativa com três marcadores moleculares localizados entre as posições 26,3 e 44,4 cM, sendo que o marcador da posição 26,3 foi significativo nos três ambientes e na análise multiambiente, na qual alcançou significância elevada (Tabela 2, Figura 16).

Considerando-se as regiões genômicas onde houve a associação de marcadores moleculares significativa em vários ambientes, juntamente a presença de significância elevada ($p < 0,0001$) para um ou mais caracteres de qualidade física, seis regiões genômicas tiveram destaque no controle genético destes caracteres, sendo localizadas: 1) no **grupo de ligação 3**, entre as posições 73,1 e 80,3 cM; 2) no **grupo de ligação 5**, entre as posições 124,1 e 131,6 cM; 3) no **grupo de ligação 13**, entre as posições 110,1 e 115,4; 4) no **grupo de ligação 18**, entre as posições 27,7 e 42,1 cM; 5) no **grupo de ligação 23**, entre as posições 45,7 e 55,2 cM; 6) no **grupo de ligação 33**, entre as posições 26,3 e 44,4 cM (Tabela 2).

O genoma de referência de aveia hexaploide “OT3098 v2”, disponibilizado na plataforma T3/Oat (GrainGenes, 2022), soma cerca 10,7 Gb, distribuídos em 21 cromossomos do conjunto haploide, mais um conjunto de sequências nucleotídicas que não possuem designação cromossômica definida. A disponibilidade pública deste genoma de referência, possibilitou identificar em que regiões cromossômicas se localizam os marcadores moleculares localizados nas 23 regiões genômicas principais encontradas neste estudo, ou seja, aquelas associadas de forma mais consistente com os caracteres de qualidade física, conforme apresentado na Tabela 3. Todos esses

marcadores foram localizados nos cromossomos de aveia, com exceção de três marcadores moleculares, considerados como de localização não definida na versão 2 do mapa “OT3098”; porém os mesmos tinham localização definida na versão 1 deste mapa de referência, sendo que, para cada marcador, coincidiu com o cromossomo onde os marcadores geneticamente ligados também se localizaram na versão 2 do mapa (Tabela 3).

Os 77 marcadores SNP presentes nas 23 regiões de associação estatística mais consistente com os caracteres de qualidade física de grãos, foram distribuídos em 16, dos 21, cromossomos de aveia hexaploide, sendo eles: 1A, 2A, 3A, 5A, 6A, 7A, 1C, 2C, 5C, 7C, 1D, 2D, 4D, 5D, 6D e 7D. Considerando as regiões cromossômicas que envolvem esses 77 marcadores, e que estão geneticamente ligadas entre si, segundo o painel de diversidade da UFRGS, soma-se o total de 2 Gb, ou seja, cerca de um quinto do genoma de aveia, onde se localizam genes com maior potencial em contribuir para o controle genético dos caracteres estudados (Tabela 3).

Os genomas A e D foram aqueles onde o maior número de marcadores foram encontrados, 33 e 28, respectivamente, enquanto 16 marcadores foram localizados no genoma C (Tabela 3). Considerando apenas os 12 marcadores moleculares com associação altamente significativa com os caracteres estudados: **i)** dois marcadores ligados entre si, **avgbs_97740.1.61** e **avgbs_105878.1.11**, a uma distância de 29 cM, foram localizados no cromossomo **1A**, englobando uma área física de 76 Mbp, sendo um marcador associado à facilidade de descasque e o outro ao peso de mil sementes. Além da extensa região genômica, esta região é citogeneticamente complexa, pois o marcador **avgbs2_169286.1.43**, que é associado ao peso do hectolitro e geneticamente ligado a esses dois marcadores, foi localizado no cromossomo 1C (Tabela 3); **ii)** o marcador **avgbs_cluster_1090.1.57**, associado à facilidade de descasque, foi

localizado no cromossomo **2A**, sendo que outros marcadores desta região foram associados à facilidade de descasque e ao peso do hectolitro, a menos de 1 cM de distância, porém atingindo a extensão de 93,6 Mbp (Tabela 3); **iii**) no cromossomo **3A** está localizado o marcador **avgbs_cluster_36536.1.50** que foi fortemente associado ao peso de mil sementes, além de estar associado, em um ambiente apenas, à facilidade de descasque (Tabelas 2 e 3). Considerando outros dois marcadores, também associados ao peso de mil sementes, a distâncias de 22,5 e 9,5 cM, encontrou-se uma área cromossômica de quase 97 cM associada à qualidade física dos grãos no cromossomo 3A (Tabela 3); **iv**) o marcador **avgbs_cluster_22502.1.12**, fortemente associado à facilidade de descasque, está localizado no cromossomo **6A**. Considerando outros dois marcadores, à distância genética de 0,7 e 7,5 cM, também associados ao mesmo caráter, encontra-se uma extensão cromossômica de 8,9 Mbp associada à facilidade de descasque nesta região do cromossomo 6A (Tabela 3); **v**) uma região bem delimitada, de 3,4 Mbp e 4,7 cM, do cromossomo **2C** foi importante no controle genético do peso de mil sementes, sendo que três dos cinco marcadores dessa região (**avgbs_205937.1.31**, **avgbs_21100.1.51** e **avgbs2_38402.1.29**), tiveram elevada significância na associação com este caráter, se estendendo cerca de 1,4 Mbp e ligados 1,6 cM entre si (Tabela 3); **vi**) o cromossomo **5C** também foi importante para o controle da qualidade física dos grãos, contendo um marcador altamente significativo (**avgbs_cluster_2367.1.30**) associado ao peso do hectolitro, na região proximal do cromossomo, a 4 Mbp do seu início, e outros dois outros marcadores (**avgbs_14913.1.9** e **avgbs_cluster_32518.1.64**), não ligados ao primeiro, fortemente associados ao peso de mil sementes, ocupando posições 27,7 cM entre si e distantes 168,4 Mbp um do outro (Tabela 3). Ainda no cromossomo 5C foi encontrado um marcador associado à facilidade de descasque, apenas na análise multiambiente, e

distante apenas 3,5 cM do marcador `avgbs_cluster_32518.1.64`, que é o mais distal dos três marcadores principais do cromossomo 5C (Tabelas 2 e 3); **vii**) no cromossomo **7D** encontrou-se uma região geneticamente ligada, de 19,9 cM, entre os marcadores `avgbs_cluster_12207.1.45` e `avgbs_cluster_27700.1.47`, que foi associada ao peso de mil sementes e à facilidade de descasque (Tabela 3). Essa região, apesar da ligação genética, abrangeu ampla área física do cromossomo, de 385 Mbp, sendo apenas o marcador mais proximal da região, o **`avgbs_cluster_12207.1.45`**, foi fortemente associado ao peso de mil semente na análise multiambiente (Tabelas 2 e 3). É interessante notar que dois marcadores associados à facilidade de descasque no ambiente 2021, `avgbs2_64132.2.23` e `avgbs_28468.1.48`, foram localizados, respectivamente, a 0,0 cM e 2,1 cM do marcador `avgbs_cluster_12207.1.45`, fortemente associado ao peso de mil sementes (Tabelas 2 e 3). Apesar da pequena distância genética de 0,0 cM e 2,1 cM, a distância física correspondeu à 176.1 Mbp e 294.9 Mbp, respectivamente (Tabela 3).

A estratégia de posição dependente, para busca de genes que potencialmente contribuam para o controle desses caracteres, se mostrou eficaz. Essa estratégia se baseia em fazer uma varredura, na região cromossômica de 500 kb ao redor da localização dos marcadores moleculares associados de modo altamente significativo aos caracteres estudados. Desta forma, foi possível identificar um grande número de genes próximos aos principais marcadores identificados nesse estudo (Figura 17).

TABELA 3. Localização dos principais marcadores moleculares associados aos caracteres de qualidade física dos grãos, avaliados nos três experimentos envolvendo o painel de diversidade genética de aveia da UFRGS. Eldorado do Sul, 2020-2021.

Cromossomo	Posição Inicial do marcador no cromossomo [†]	Grupo de ligação	Posição no grupo de ligação (cM)	Marcador molecular	Nº ordem da região genômica com sig. múltipla*	Caráter(es) [§]
1A	323291705	1	113,6	avgbs_cluster_34889.1.42	2	FAC
1A	327911646	1	113,6	avgbs_115244.1.38	2	PH
1A*	333705879	1	117,4	avgbs2_75392.1.6	2	FAC
1A	381673351	18	69,0	avgbs_97740.1.61	19	FAC
1A**	457713299	18	40,0	avgbs_105878.1.11	18	PMS
1A**	463298864	18	40,0	avgbs_92060.1.20	18	FAC
1A**	475903593	18	35,5	avgbs_103787.1.18	18	FAC
1A	476093177	18	41,4	avgbs2_4578.1.38	18	FAC
1A	477218438	18	42,1	avgbs_4932.1.24	18	FAC
1A	498856878	18	28,6	avgbs_cluster_21785.1.15	18	PH
1A	499780993	18	27,7	avgbs_11845.1.62	18	PH
1A	501305271	18	32,5	avgbs_75039.1.34	18	PH
1A ^h	532164326	18	0,8	avgbs2_106120.1.13	17	FAC
2A	26381631	33	27,1	avgbs_cluster_51961.1.31	23	PH
2A	27084803	33	27,0	avgbs2_193837.1.36	23	FAC
2A	50514699	33	44,4	avgbs_cluster_38171.1.9	23	FAC
2A	120025141	33	26,3	avgbs_cluster_1090.1.57	23	FAC
3A	37007448	23	23,2	avgbs_cluster_16152.1.34	21	PMS
3A	44881626	23	45,7	avgbs_cluster_36536.1.50	21	PMS + FAC
3A	133833814	23	55,2	avgbs_cluster_418.1.20	21	PMS
5A	3646135	24	21,2	avgbs2_18686.1.62	22	FAC
5A	29807722	24	29,8	avgbs2_178770.1.64	22	FAC
5A	137083078	24	41,0	avgbs2_122148.1.34	22	FAC
5A	291594590	24	36,8	avgbs_116951.1.14	22	FAC
6A	293333969	5	82,0	avgbs2_94017.1.22	9	PMS
6A	294067094	5	80,2	avgbs2_66107.1.6	9	PMS
6A	295199340	5	80,2	avgbs_cluster_16617.1.20	9	PMS
6A	297455566	5	80,8	avgbs_204191.1.47	9	PMS
6A	400221862	5	131,6	avgbs_cluster_22502.1.12	10	FAC
6A	402111651	5	124,1	avgbs2_146048.1.35	10	FAC
6A	409134283	5	130,9	avgbs_10569.1.14	10	FAC
7A	64940214	12	40,2	avgbs_97551.1.61	15	PH

continuação TABELA 3. Localização dos principais marcadores associados aos caracteres de qualidade física dos grãos, avaliados nos três experimentos envolvendo o painel de diversidade genética da UFRGS. Eldorado do Sul, 2020-2021.

ND/7A [‡]	387156106 [‡]	12	53,5	avgbs2_89433.1.50	15	FAC
1C [*]	448496701	18	37,2	avgbs2_169286.1.43	18	PH
2C	559291363	13	110,7	avgbs2_48205.1.34	16	PMS
2C	559519674	13	110,1	avgbs_205937.1.31	16	PMS
2C	560803744	13	114,6	avgbs_21100.1.51	16	PMS
2C	560856761	13	111,7	avgbs2_38402.1.29	16	PMS
2C	562688218	13	115,4	avgbs_cluster_22640.1.12	16	PMS
5C	4021019	3	129,9	avgbs_cluster_2367.1.30	7	PH
5C	155209612	3	80,3	avgbs_cluster_815.1.62	6	FAC
5C	364659121	3	75,8	avgbs_14913.1.9	6	PMS
5C	373427587	3	73,1	avgbs_cluster_24907.1.54	6	PMS
5C	533056995	3	48,1	avgbs_cluster_32518.1.64	5	PMS
5C	547489092	3	44,6	avgbs_6121.1.27	5	FAC
5C	564115488	3	37,1	avgbs2_158430.1.33	5	PMS
7C	114167593	9	59,3	avgbs_24515.1.10	14	FAC
7C	114245139	9	63,7	avgbs_cluster_21745.1.13	14	FAC
7C	149160572	9	53,1	avgbs_cluster_34172.1.35	14	FAC
1D [*]	320582646	1	118,9	avgbs2_80976.1.6	2	FAC
ND/1D [‡]	323809893 [‡]	1	92,3	avgbs2_13713.1.27	1	FAC
1D	337548918	1	83,9	avgbs_110493.1.15	1	FAC
2D ^h	186970965	18	7,3	avgbs_2298.1.54	17	PH
2D	189226532	8	81,4	avgbs2_111201.2.43	13	PH
2D	241205020	8	62,4	avgbs_3248.1.48	13	PH
ND/4D ^c	291372042 [‡]	21	125,8	avgbs2_140037.1.24	20	PMS
4D	303587070	21	122,8	avgbs2_122744.1.55	20	FAC
5D	437666356	6	63,2	avgbs_cluster_42139.1.55	12	PH
5D	440886671	6	63,2	avgbs_cluster_4786.1.9	12	PH
5D	472221837	6	33,7	avgbs_cluster_26389.1.25	11	PH
5D	478470152	6	29,4	avgbs_cluster_26785.1.15	11	PMS
5D	479068017	6	29,7	avgbs_53963.1.64	11	PMS
5D	480113052	6	25,7	avgbs2_131570.1.41	11	PMS
5D	480114735	6	29,1	avgbs_cluster_17769.1.50	11	PMS
5D	483384126	6	29,1	avgbs_cluster_179.1.6	11	PH
5D	486998689	6	27,1	avgbs_cluster_41192.1.43	11	PMS
6D	5603794	4	60,2	avgbs_cluster_12181.1.55	8	PMS
6D	13323500	4	54,9	avgbs_117948.1.11	8	PH

continuação TABELA 3. Localização dos principais marcadores associados aos caracteres de qualidade física dos grãos, avaliados nos três experimentos envolvendo o painel de diversidade genética da UFRGS. Eldorado do Sul, 2020-2021.

6D	248729203	4	43,9	avgbs_cluster_34775.1.61	8	PH
6D	256362150	4	37,9	avgbs_114541.1.39	8	FAC
7D	32047807	2	87,3	avgbs_cluster_12207.1.45	4	PMS
7D	208176678	2	87,3	avgbs2_64132.2.23	4	FAC
7D	326985320	2	85,2	avgbs_28468.1.48	4	FAC
7D	382547957	2	72,1	avgbs_72141.1.25	4	FAC
7D	417409184	2	67,4	avgbs_cluster_27700.1.47	4	PMS
7D	506433236	2	34,1	avgbs_95272.1.27	3	PMS
7D	509486086	2	26,8	avgbs2_82665.2.9	3	PH

† Posição no cromossomo, em número de nucleotídeos, no mapa físico de referência de *Avena sativa* “OT3098 v2”.

§ PMS = Peso de mil sementes; PH = Peso de hectolitro; FAC = Facilidade de descasque.

* Número de ordem utilizado na última coluna da Tabela 2, para as regiões genômicas com significância múltipla, ou seja, que foram associadas com caráter(es) de qualidade de grãos em mais de um ambiente ou em um ambiente e na análise multiambiente, para o mesmo caráter ou para caracteres diferentes, ou ainda elevada significância na análise multiambiente.

* Marcadores moleculares ligados no painel de diversidade da UFRGS e localizados em cromossomos diferentes no mapa de referência (1A e 1D).

** Marcadores moleculares ligados no painel de diversidade da UFRGS e localizados em cromossomos diferentes no mapa de referência (1A e 1C)

^ Marcadores moleculares ligados no painel de diversidade da UFRGS e localizados em cromossomos diferentes no mapa de referência (1A e 2D).

ND = posição não definida no mapa físico de referência de *Avena sativa* “OT3098 v2”.

‡ O marcador avgbs2_89433.1.50 foi localizado no cromossomo 7A na versão “OT3098 v1” e não teve localização definida na versão “OT3098 v2” do mapa de referência de *Avena sativa*.

‡ O marcador avgbs2_13713.1.27 foi localizado no cromossomo 1D na versão “OT3098 v1” e não teve localização definida na versão “OT3098 v2” do mapa de referência de *Avena sativa*.

© O marcador avgbs2_140037.1.24 foi localizado no cromossomo 4D na versão “OT3098 v1” e não teve localização definida na versão “OT3098 v2” do mapa de referência de *Avena sativa*.

‡ Posição no mapa de referência versão “OT3098 v1” que não corresponde a mesma posição na versão “OT3098 v2”.

Observação: Os marcadores em negrito apresentaram significância estatística superior a $p < 0,0001$.

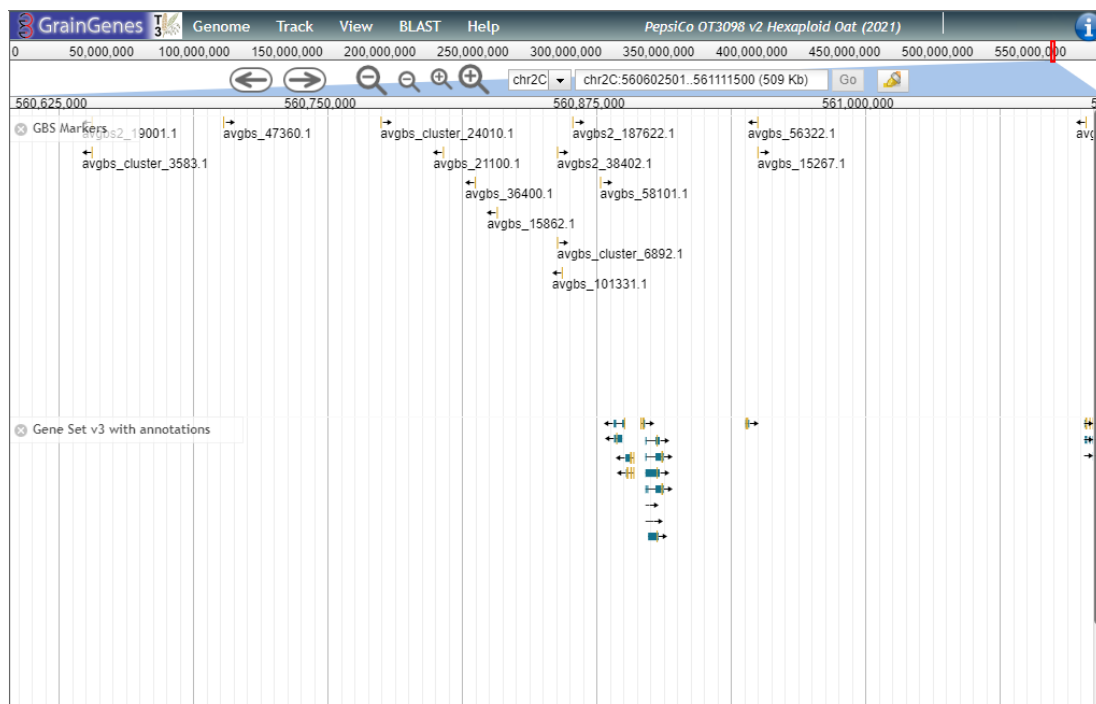


FIGURA 17. Captura de tela de parte do cromossomo 2C do genoma da aveia branca, mostrando ± 500 kb da região genômica que contém o marcador ‘avgbs2_38402.1.29’ e 6 genes anotados dentro dessa região. Imagem capturada de <https://wheat.pw.usda.gov/jb/?data=/ggds/oat-ot3098v2-pepsico>.

No total foram identificados 31 genes com proximidade significativa entre os 12 principais marcadores associados com os caracteres de qualidade física analisados nesse estudo (Tabela 4). Os processos biológicos desses genes englobam as mais diversas funções, no entanto, identificou-se um grande número de genes que atuam sobre a resposta a estresses abióticos e bióticos.

Entre os outros processos biológicos, destacam-se: organização da parede celular, formação do tubo polínico, metilação e ciclo celular.

TABELA 4. Designação e posição cromossômica dos principais genes localizados próximos aos marcadores moleculares fortemente associados aos caracteres de qualidade física dos grãos, identificados no painel de diversidade genética de aveia da UFRGS, Eldorado do Sul, 2020-2021.

Cromosomo	Gene	Posição[§] (cM)
1A	Aspartic proteinase nepenthesin-1	381669935
1A	Serine hydroxymethyltransferase 4	381671797
1A	Jasmonoyl--L-amino acid synthetase GH3.5	381716727
1A	Calcium-dependent protein kinase 15	381465936
1A	Chaperone protein ClpB1	457811879
2A	Serine/threonine protein kinase OSK1	120023266
3A	Probable staphylococcal-like nuclease CAN1	44743169
3A	Putative B3 domain-containing protein Os03g0621600	44760880
6A	Nucleolar protein 56	400081329
6A	Pentatricopeptide repeat-containing protein At1g01970	400085951
6A	Elongation factor 1-beta	400088356
6A	Pre-rRNA-processing protein esf2	400154376
6A	Tyrosine-specific transport protein	400161800
6A	4-alpha-glucanotransferase DPE2	400170440
6A	Berberine bridge enzyme-like Cyn d 4	400295968
2C	Actin-related protein 9	559334592
2C	tRNA (adenine(58)-N(1))-methyltransferase subunit trm6	559367087
2C	Zinc finger protein 804A	559374510
2C	Sister chromatid cohesion 1 protein 1	559408292
2C	Alpha-terpineol synthase, chloroplastic	559494471
2C	UPF0235 protein At5g63440	559504210
2C	Hexokinase-4, chloroplastic	559596762
2C	Disease resistance protein RGA2	560883115
2C	Retrovirus-related Pol polyprotein from transposon TNT 1-94	560897855
2C	Putative 12-oxophytodienoate reductase 5	560944347
5C	G-type-like serine/threonine-protein kinase At1g34300	3866420
5C	Beta-glucosidase 30	533004167
5C	Lipoxygenase 7, chloroplastic	533186644
5C	DNA-directed RNA polymerase III subunit 2	533215571
7D	G-type-like serine/threonine-protein kinase At1g11410	31990524
7D	Protein decapping 5	32216419

[§] = Posição inicial do gene no cromossomo, em centiMorgans (cM).

5 DISCUSSÃO

O presente estudo avaliou três caracteres de qualidade física de grãos em uma população de 383 genótipos de aveia branca. A população avaliada representa a base genética do programa de melhoramento genético de aveia da UFRGS, uma vez que inclui as linhagens e cultivares mais importantes na formação do germoplasma de aveia UFRGS. O painel também inclui genótipos de outros programas de melhoramento, como a cultivar ‘Coronado’, desenvolvida pela *Texas A&M University* e presente na genealogia de muitas cultivares e linhagens, desenvolvidas ao longo das décadas de 1980 à 2010. Apesar de ser composto, em grande parte, por genótipos desenvolvidos na UFRGS, o painel apresenta grande diversidade genética, conforme demonstrado por Zimmer *et al.* (2020).

Portanto, por ser uma população que abrange genótipos de diferentes eras do programa de melhoramento da UFRGS, desde a fundação até os dias atuais, além de genótipos externos ao programa, era esperado encontrar a ampla variação fenotípica observada, em cada um dos ambientes analisados, para os três caracteres avaliados, ou seja, peso de mil sementes, peso de hectolitro e facilidade de descasque. Esperava-se que os ganhos genéticos, ao longo do amadurecimento do programa de melhoramento, contribuíssem para ampla variação observada e até mesmo que houvesse deslocamento da média em direção aos maiores valores observados (Tabela 1, Figura 3). Esse deslocamento da média foi maior em magnitude para o peso do hectolitro e para a facilidade de descasque, em especial para esse último caráter (Figura 3). Esse fato, em

conjunto com a elevada amplitude da variação fenotípica da facilidade de descasque, é uma forte indicação de como esse caráter sofreu impacto da seleção ao longo das décadas, seja de forma direta, seja de forma indireta, através da seleção para outros caracteres que afetam a facilidade de descasque (Tabela 1, Figura 3).

Além da variação fenotípica de cada caráter nos ambientes específicos de estudo, através das medidas de frequência, observou-se diferença desses valores entre os ambientes (Tabela 1). Inúmeras causas ambientais podem ter sido responsáveis para que o ambiente de 2021 tenha apresentado médias superiores às observadas nos ambientes de 2020, uma vez que, conforme descrito por Federizzi *et al.* (1993), as condições ambientais de cultivo de aveia branca no sul do Brasil são extremamente variáveis entre os anos de cultivo. Dentre algumas possibilidades que podem ter contribuído para essas diferenças, destaca-se a pressão de doenças e distribuição de chuvas. Em relação a pressão de doenças, no ano de 2020 observou-se à campo um complexo de doenças, sendo esse complexo composto principalmente pelo vírus-do-nanismo-amarelo-da-cevada e outras doenças foliares, que atingiu diversos genótipos, ao passo que, essa pressão de doenças não foi observada em escalas similares no ano de 2021. Outro ponto a destacar foi a precipitação no momento da colheita no ano de 2020, a qual, não permitiu a colheita de determinados genótipos no momento mais adequado. Portanto, estresses bióticos e abióticos podem ter propiciado as diferenças fenotípicas entre ambientes. Diversos estudos demonstram que a presença de doenças, durante o ciclo da cultura, efeitos de temperatura e distribuição de chuvas, durante o enchimento de grãos, afetam diretamente os caracteres de qualidade física dos grãos de aveia (Doehlert *et al.*, 2001; Howarth *et al.*, 2021).

As associações fenotípicas dos caracteres analisados entre os ambientes de estudo foram obtidas através de regressões lineares simples (Figuras 4, 5 e 6), sendo

assim possível identificar que o peso de mil sementes é um caráter estável, ou seja, os melhores/piores genótipos tendem a ser os mesmos nos diferentes ambientes, enquanto que, o peso de hectolitro e facilidade de descasque são menos estáveis. Em termos práticos de melhoramento, a estabilidade ou a falta de estabilidade de um caráter são primordiais no momento da seleção, pois, um caráter estável, como o peso de mil sementes, permite que o melhorista pratique alta pressão de seleção em ambientes desfavoráveis, enquanto que, para caracteres com certa instabilidade, o melhorista deve diminuir a pressão de seleção.

Desta forma, a seleção somente pelo fenótipo pode apresentar diferenças na sua eficácia, conforme a qualidade do ambiente em que os caracteres são avaliados, além de que a influência ambiental que os caracteres sofrem é variável. Assim sendo, a informação de marcadores moleculares, associados a caracteres de qualidade física dos grãos em aveia, pode auxiliar os melhoristas no processo de seleção. Uma vez que, existem marcadores com grande efeito que são identificados independentemente do ambiente de avaliação, assim como, existem marcadores que são significativos em ambientes específicos, os quais, podem ser utilizados de forma conjunta na seleção assistida por marcadores moleculares, para a obtenção de genótipos superiores e com maior estabilidade na expressão fenotípica dos caracteres de qualidade dos grãos.

A distribuição fenotípica dos caracteres estudados foi caracterizada por ampla variação fenotípica, com distribuição normal ou muito próximo à normalidade, nos diferentes ambientes, sendo um forte indício de que os caracteres que envolvem a qualidade física de grãos possuem arquitetura genética quantitativa e complexa (Figura 3). Contudo, a identificação da normalidade fenotípica depende de fatores como herdabilidade do caráter, número de genes e ação gênica desses genes (Allard, 1960). Porém, esses fatores afetam a distribuição de frequência dos caracteres em populações

cujos indivíduos são geneticamente relacionados entre e, efetivamente, trocam gametas. O fato de que as distribuições de frequência observadas neste estudo se aproximam à normalidade também é um indício de que a amostragem de genótipos, para formar o painel de diversidade, foi adequada.

Apesar de alguns trabalhos publicados apresentarem correlações positivas de elevada magnitude entre o peso de mil sementes e o peso de hectolitro (Doehlert *et al.*, 1999; Hermann *et al.*, 2014), as correlações entre esses caracteres foram próximas à zero na população estudada (Figura 7). Esses resultados vão ao encontro com os resultados apresentados por Esvelt-Klos *et al.* (2021), os quais, também analisaram esses caracteres em uma população com um elevado número de indivíduos e com grande variabilidade fenotípica para o peso de mil sementes e peso de hectolitro.

Uma possível explicação para tal fato é que genótipos que possuem baixo peso de mil sementes, conseqüentemente, possuem grãos menores, de modo que, esses grãos menores ao serem alocados em determinado volume, para a medição do peso de hectolitro, podem apresentar uma melhor acomodação, quando comparados com grãos de maior tamanho e peso. Portanto, grãos maiores podem deixar maior volume ocupado por espaços vazios, durante a medição do peso do hectolitro, resultado em menores valores deste caráter, quando comparados com genótipos com grãos menores. Em adição com a possibilidade de que grãos maiores apresentem pontas mais alongadas, formadas pela prolongação da lema e da pálea, contribuindo ainda mais para formação de espaços vazios entre os grãos. A observação desse fenômeno, provavelmente, se torna mais nítida em estudos que abrangem uma elevada diversidade fenotípica e genotípica, como o caso desse estudo e o estudo realizado por Esvelt-Klos *et al.* (2021).

A ausência de uma correlação forte entre caracteres, seja negativa, seja positiva, dificulta a seleção indireta do peso do hectolitro por parte dos melhoristas, uma vez que a decisão de compra de um lote de grãos leva em consideração o peso de hectolitro. Porém, o peso de grão também é essencial para o rendimento industrial, logo, a cultivar ideal para indústria necessita de peso de mil sementes e peso de hectolitro elevados. Obviamente que o melhoramento realizado através do fenótipo, conseguiu selecionar genótipos que possuem parâmetros adequados para esses dois caracteres, no entanto, com auxílio da informação genotípica, essa seleção poderia ser potencializada devido a correlação fenotípica baixa desses caracteres, conforme apontou esse estudo.

Em relação a correlação dos outros caracteres, houve a identificação de valores positivos baixos, indicando que a seleção para um caráter específico auxilia em pequenas proporções os ganhos genéticos para outro caráter (Figura 7). Portanto, mesmo com os valores baixos de correlações, a intensa seleção durante um longo período de tempo para caracteres específicos de qualidade física de grãos propiciou o sucesso do programa de melhoramento da UFRGS em desenvolver genótipos superiores para a indústria, havendo assim, genótipos superiores para uma alta gama de caracteres de qualidade física de grãos. Essa afirmação é comprovada pela análise multivariada, a qual, demonstrou a presença de diversos genótipos superiores quando considerado os três caracteres de forma simultânea na formação do fenótipo, sendo esses, superiores as cultivares testemunhas, conhecidas por elevada qualidade industrial. Obviamente, a superioridade para a qualidade industrial é necessária para uma linhagem se tornar uma nova cultivar, contudo, outros requisitos agronômicos também são necessários, justificando o fato desses genótipos não terem se tornado

cultivares, contudo, são genótipos elite para a qualidade industrial que podem ser explorados nos blocos de cruzamento do programa de melhoramento da UFRGS.

Foram identificados 91 marcadores moleculares com associação genômica significativa aos caracteres de peso de mil sementes, peso de hectolitro e facilidade de descasque (Tabela 2, Figuras 9, 11 e 13). Esses 91 marcadores foram distribuídos em 19 grupo de ligação, entre os 21 grupos formados pelos 11,559 marcadores SNPs disponíveis, após filtragem, através do seu alinhamento no mapa consenso da aveia (Bekele *et al.*, 2018). Somente os grupos de ligação 17 e 19, do mapa consenso, não apresentaram marcadores associados aos caracteres estudados (Tabela 2). Esses 91 marcadores SNP foram agrupados em um grande número de regiões genômicas, totalizando 34 amplamente distribuídas no genoma da aveia branca (Tabela 2). Dessas 34 regiões, 23 regiões genômicas, contendo 77 marcadores moleculares, foram consideradas como de maior potencial dentro desse estudo, pois, continham marcadores com elevada significância estatística, ou mais de um marcador para o mesmo caráter dentro da região ou mais de um marcador para diferentes caracteres na região (Tabela 3).

Vale ressaltar também que, essas 23 regiões estão presentes em 16 cromossomos no genoma da aveia branca, sendo que, essa espécie possui um total de 21 cromossomos, ou seja, marcadores moleculares associados aos caracteres estudados estão altamente dispersos dentro do genoma (Tabela 3) Essa dispersão de regiões genômicas significativas, assim como elevado número de marcadores identificados, também foi identificada no único estudo publicado de associação genômica ampla para qualidade física de grãos de aveia (Esvelt-Klos *et al.*, 2021). Nesse estudo, apesar de quantificar cinco caracteres de qualidade física de grãos e utilizar um corte estatístico mais restritivo, 57 marcadores moleculares SNPs foram associados, sendo que, esses

marcadores estavam dispersos em 13 cromossomos distintos. Uma explicação para o elevado número de marcadores, assim como, elevada amplitude de regiões genômicas significativas nesse estudo, assim como no estudo de Esvelt-Klos *et al.* (2021), é justamente a possibilidade de herança quantitativa dos caracteres de qualidade física de grãos. Obviamente, foram identificadas regiões com alta significância, além dessa significância apresentar repetibilidade entre os ambientes e na análise multiambiente. Como por exemplo, a região do grupo de ligação 13 para o peso de mil sementes, indicando uma região que, possivelmente, tem grande efeito sobre o caráter. Porém, de forma geral, as regiões significativas estão espalhadas no genoma, de modo que, algumas foram somente presentes em determinados ambientes ou na análise multiambiente para determinado caráter em análise. Portanto, para caracteres quantitativos, em que se possui grande número de genes de pequeno efeito, os resultados obtidos nas análises de associação genômica ampla são esperados, havendo diferentes marcadores e regiões envolvidas na formação do fenótipo, assim como, espera-se, influência do ambiente nesses caracteres.

Apesar das 23 principais regiões genômicas contemplarem de forma similar os caracteres analisados, sendo que, marcadores moleculares associados com peso de mil sementes, peso de hectolitro e facilidade de descasque estão presentes em 11, 11 e 16 das 23 regiões, respectivamente, esse padrão de distribuição não foi identificada para os genomas (Tabela 3). Somente 16 marcadores moleculares significativos foram identificados no genoma C, enquanto 32 marcadores foram identificados no genoma A e 28 marcadores foram identificados para o genoma D (Tabela 3). Esse resultado vai ao encontro com um amplo estudo genômico realizado por Tinker *et al.* (2022), que, ao analisarem caracteres agronômicos e de qualidade física de grãos de aveia, identificaram um grande número de *QTLs* no genoma A e D, mas, por outro lado, um

baixo número de *QTLs* no genoma C. Dentre as possibilidades para esse fenômeno, acredita-se que houve uma perda de genes e/ou supressão na expressão de genes no genoma C, devido ao evento inicial de tetraploidização de um indivíduo contendo o genoma C e D, antes do hexaploide ser formado pela adição do genoma A (Yan *et al.*, 2016).

Em relação aos principais marcadores e principais regiões identificadas, dois marcadores moleculares foram encontrados no cromossomo 1A (Tabela 3), abrangendo uma região genômica grande de 76 Mbp. No entanto, Tinker *et al.* (2022) em um amplo estudo genético utilizando cinco populações de aveia distintas, identificou que o cromossomo 1A possui duas grandes regiões controlando a porcentagem de cariopse, sendo essas, uma região entre 359 Mbp até 419 Mbp, e a outra região se encontra presente entre 435 Mbp até 476 Mbp. Os dois marcadores identificados no presente estudo no cromossomo 1A, com maior significância estatística, *avgbs_97740.1.61* (Peso de mil sementes – 381Mbp) e *avgbs_105878.1.11* (Peso de mil sementes – 457 Mbp) estão dentro dessas duas regiões encontradas por Tinker *et al.* (2022). Apesar da porcentagem de cariopse não ter sido avaliado no presente estudo, diferentes estudos, como o de Ganssmann & Vorwerck (1995), evidenciaram que a porcentagem de cariopse está correlacionada fenotipicamente com o peso de mil sementes. Desta forma, a região genômica identificada no cromossomo 1A, entre as posições entre de 320 e 480 Mbp (Tabela 3), é promissora não somente para a porcentagem de cariopse, como para a qualidade física de grãos, de um modo geral.

Uma das regiões genômicas de maior destaque desse estudo foi a região do grupo de ligação 5 (Cromossomo 6A), a qual, os principais marcadores estão posicionados entre a 124,1 e 131,6 cM (Tabela 2), sendo essa uma região específica

para facilidade de descasque e fisicamente delimitada, com 1,89 Mbp entre os marcadores (Tabela 3). Próximo a essa região, Esvelt-Klos e colaboradores (2021) identificaram um marcador de grande efeito para a porcentagem de quebra de cariopse, sendo esse, localizado em 135,5 cM. Vale também adicionar que, um dos principais marcadores identificados para peso de hectolitro, naquele trabalho, foi localizado no grupo 5, mas, na posição entre 81,7 – 81,9 cM (Esvelt-Klos *et al.*, 2021). Próxima a essa região, foi identificada uma das 23 regiões genômicas do presente estudo, associada ao peso de mil sementes, a qual foi numerada como região número 9, sendo que, os principais marcador dessa região, *avgbs_204191.1.47* e *avgbs2_94017.1.22*, estão posicionados em 80,8 cM e 82,0 cM, respectivamente (Tabela 2), compreendendo uma região fisicamente restrita, de 4,12 Mbp (Tabela 3). Apesar dessas duas regiões no grupo de ligação 5 serem associadas a caracteres diferentes, peso de mil sementes e facilidade de descasque, sua proximidade genética, indica, novamente, regiões promissoras para a qualidade física de grãos.

Retomando as regiões genômicas encontradas por Tinker *et al.* (2022), que englobam diferentes caracteres de qualidade física de grãos, houve a identificação de uma região genômica no cromossomo 2C de 4 Mbp (518 – 522Mbp) responsável pelo controle genético do peso de mil sementes. No presente estudo também foram identificados marcadores moleculares relacionados com o peso de mil sementes no cromossomo 2C. No entanto, os marcadores identificados nesse estudo no cromossomo 2C não estão dentro da região identificada por Tinker *et al.* (2022), que está posicionado na região proximal do cromossomo, a 4,30 cM, enquanto a região encontrada no presente estudo está em posição distal, a 110,10 cM no mapa consenso (Bekele *et al.*, 2018), próximo a 560 Mbp, no mapa físico de referência “OT3098 v2”. Por outro lado, os marcadores identificados nesse estudo no cromossomo 2C, foram

os mesmos marcadores identificados por Zimmer *et al.* (2021), ao avaliar espessura e largura de grãos, na mesma população utilizada nesse estudo. Esses resultados, além de provar indiretamente uma correlação genética entre o peso de mil sementes e a morfologia de grão, confirmam essa região como uma região forte para o controle de caracteres relacionados ao desenvolvimento de grãos em genótipos adaptados ao subtropical, consolidando a mesma como uma região em potencial seleção para qualidade física de grãos.

Outras regiões que apresentaram destaque nesse estudo, como por exemplo a região do cromossomo 3A, a qual, apresentou elevada significância estatística para o peso de mil sementes e estabilidade entre os ambientes de estudo, através do marcador *avgbs_cluster_36536.1.50*, não estão em uma proximidade considerável para estarem em desequilíbrio de ligação com outros marcadores moleculares identificados em outros estudos de associação genômica ampla ou nem mesmo em cromossomos em potencial para abrigar *QTLs* dos caracteres de qualidade física de grãos, citando como exemplo, outros marcadores encontrados por Esvelt-Klos *et al.* (2021). Existem duas possibilidades para determinadas discrepâncias entre os resultados do presente estudo e os estudos que avaliaram caracteres de qualidade física em populações com genótipos de aveia estrangeiros.

A primeira possibilidade é justamente a complexidade dos caracteres de qualidade física, principalmente do peso de hectolitro e facilidade de descasque, os quais, já foram discutidos através dos resultados da associação genômica ampla. Desta forma, devido à ausência de regiões genômicas de grande efeito e/ou presença de grande número de regiões genômicas de pequeno efeito controlando esses caracteres, a detecção dos *QTLs* associados aos mesmos é dificultada pela metodologia dos estudos de associação genômica ampla. A qual pode ter dificuldade em identificar tais

QTLs, tanto pela frequência reduzido dos mesmos entre os genótipos avaliados, como pela influência do ambiente, especialmente sobre os *QTLs* de pequeno efeito sobre o fenótipo, que sofrem fortemente os efeitos da variação ambiental. Todos esses fatores justificam tanto a identificação de grande número de regiões genômicas que influenciam esses caracteres, como a não identificação de algumas regiões genômicas importantes, ou mesmo a identificação de regiões genômicas díspares entre os diferentes estudos.

A outra possibilidade está atrelada justamente aos resultados encontrados neste estudo, quando foram identificados os principais genes nas regiões genômicas associadas aos caracteres de qualidade física de grãos, através da estratégia de posição dependente. Esses genes são anotados como envolvidos na resposta à tolerância a estresses abióticos e à resistência a estresses bióticos. O painel de diversidade genética da UFRGS engloba, em sua maioria, genótipos de aveia adaptados ao ambiente subtropical, diferenciando-se da maioria dos trabalhos que estudam populações adaptada ao ambiente temperado, ou seja, esse tipo de ambiente, devido as suas condições meteorológicas, propicia a ocorrência de um elevado número de estresses. Portanto, a superioridade para caracteres de qualidade física em genótipos de aveia branca adaptados ao ambiente subtropical, pode ser construída não somente por genes que afetam diretamente esses caracteres, mas também por genes que controlam caracteres que afetam indiretamente a qualidade física dos grãos, como a tolerância/resistência a estresses.

O fato de serem encontradas regiões as mesmas regiões genômicas já descritas na literatura, assim como as regiões distintas a estas, reforça a complexidade da herança genética dos caracteres de qualidade física de grãos. Os resultados também indicam que há regiões genômicas importantes no controle genético desses caracteres

e que são mantidas em germoplasma distintos e submetidos à adaptação a diferentes condições ambientais, como a temperada e a subtropical. Assim como, a seleção para adaptação ao ambiente subtropical e elevada qualidade física de grãos, como é o caso do painel de diversidade de aveia da UFRGS, resultou em na manutenção de regiões genômicas distintas e que não devem ser essenciais para germoplasmas mais adaptados ao ambiente temperado.

6 CONCLUSÕES

O painel de estudo da UFRGS, o qual contém 383 genótipos de aveia branca, apresentou grande variabilidade fenotípica para peso de mil sementes, peso de hectolitro e facilidade de descasque, ou seja, o painel possuiu genótipos inferiores, intermediários e superiores para os caracteres analisados, além de variabilidade genética. Fatos que demonstram a forte seleção exercida para esses caracteres dentro do Programa de Melhoramento Genético de Aveia da UFRGS, sem comprometer a variabilidade genética disponível. Assim como, justificam o elevado número de marcadores moleculares associados, com certo grau estatístico, aos caracteres analisados neste estudo.

O ambiente influenciou a dispersão de frequências fenotípicas observadas, de modo que, o ambiente de 2021 apresentou médias superiores para todos os caracteres analisados, quando comparado com os ambientes de 2020. Entre ambientes, o peso de mil sementes foi o caráter mais estável, enquanto, peso de hectolitro e facilidade de descasque foram menos estáveis.

Um total de 91 marcadores moleculares SNPs foram identificados como associados com os três caracteres de qualidade física analisados. Esses marcadores foram agrupados em 34 regiões genômicas. Das quais, 23 regiões genômicas foram consideradas como de maior potencial para exercer controle, de modo mais relevante, sobre os caracteres de qualidade física dos grãos.

Além do grande número de marcadores/regiões identificados, constituir forte indício da complexidade no controle genético dos caracteres de qualidade física de grãos, a dispersão das 23 regiões genômicas em 16 cromossomos, do total de 21 cromossomos do genoma de aveia hexaploide, corrobora com o entendimento que os caracteres de qualidade física são complexos e possuem herança quantitativa.

Dessas 23 regiões genômicas mais importantes, destacam-se a região presente no cromossomo 1A, por ser uma região previamente identificada em outros estudos genômicos para a qualidade física dos grãos de aveia, e as regiões dos cromossomos 3A e 2C, as quais, foram identificadas somente nesse estudo, contudo, foram altamente estáveis e significativas para o peso de mil sementes nos diferentes ambientes.

Utilizando os 12 marcadores moleculares SNPs com maior significância estatística, identificou-se 31 genes próximos a esses marcadores. Majoritariamente, esses genes foram funcionalmente anotados como genes envolvidos na resposta de estresses bióticos e abióticos. Essa informação vai ao encontro com a identificação de regiões genômicas que sejam únicas a esse estudo, que utilizou um germoplasma de aveia adaptado ao ambiente subtropical, uma vez que, a pressão de doenças nesse ambiente é relativamente maior, quando comparado ao ambiente temperado, justificando a identificação desses genes.

Os resultados obtidos nesse estudo contribuem para um maior entendimento da arquitetura genética dos caracteres de qualidade física de grãos, de modo que, tanto a informação fenotípica, mas, principalmente a informação genotípica podem auxiliar programas de melhoramento genético de aveia a selecionar genótipos superiores para a qualidade física de grãos.

REFERÊNCIAS

ALLARD, R. W. **Principles of plant breeding**. New York: John Wiley, 1960. 381p.

ALTSCHUL, S. F. *et al.* Basic local alignment search tool. **Journal of Molecular Biology**, London, v. 215, p. 403-410, 1990.

ANDERSON, S. B.; TORP, A. M. QTL mapping in crop plants. *In*: JAIN, S. M. *et al.* (ed.). **Molecular techniques in crop improvement**. Dordrecht: Springer, 2002. p. 541-562.

AVENA sativa, OT3098 v2, PepsiCo. *In*: **GrainGenes**: a database for triticeae and avena. [Base de dados]. Washington, DC: USDA, 2021. Disponível em: <https://wheat.pw.usda.gov/jb?data=/ggds/oat-ot3098v2-pepsico>. Acesso em: 6 jun. 2022.

BATES, D. *et al.* Fitting linear mixed-effects models using lme4. **Journal of Statistical Software**, Los Angeles, v. 67, p. 1-48, 2015.

BAUM, B. R. **Oats**: wild and cultivated: a monograph of the genus *Avena* L. (*Poaceae*). Ottawa: Minister of Supply and Services Canada, 1977. (Monograph, no. 14).

BEKELE, W. A. *et al.* Haplotype-based genotyping-by-sequencing in oat genome research. **Plant Biotechnology Journal**, Oxford, v. 16, n. 8, p. 1452-1463, 2018.

BERNARDO, R. Bandwagons I, too, have known. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 129, p. 2323-2332, 2016.

BONNETT, O. T. **The oat plant**: its histology and development. Urbana: University of Illinois. Agricultural Experiment Station, 1961. (Bulletin, 672).

BRESEGHELLO, F.; SORRELS, M. E. Association analysis as a strategy for improvement of quantitative traits in plants. **Crop Science**, Madison, v. 46, n. 3, p. 1323-1330, 2006.

BROWNE, R. A.; WHITE, E. M.; BURKE, J. I. Hullability of oat varieties and its determination using a laboratory dehuller. **Journal of Agricultural Science**, Toronto, v. 138, N. 2, p. 185-191, 2002.

- BUSH, W. S.; MOORE, J. H. Chapter 11: Genome-wide association studies. **PLoS Computational Biology**, San Francisco, v. 8, [art.] e1002822, 2012.
- COFFMAN, F. A. **Oat history, identification and classification**. Washington, DC: USDA-ARS, 1977. 356 p.
- CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Safra 2021/22: décimo levantamento. **Acompanhamento da Safra Brasileira: Grãos**, Brasília, DF, v. 9, n. 10, p. 1-88, jul. 2022. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos/boletim-da-safra-de-graos>. Acesso em: 6 ago. 2022.
- DE KOEYER, 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, p. 1285-1298, 2004.
- DOEHLERT, D. C.; MCMULLEN, M. S.; BAUMANN, R. R. Factors affecting groat percentage in oat. **Crop Science**, Madison, v. 39, p. 1858-1865, 1999.
- DOEHLERT, D. C.; MCMULLEN, M. S.; HAMMOND, J. J. Genotypic and environmental effects on grain yield and quality of oat grown in North Dakota. **Crop Breeding, Genetics & Cytology**, Madison, v. 41, p. 1066-1072, 2001.
- DOEHLERT, D. C. Quality improvement in oat. **Journal of Crop Production**, Philadelphia, v. 5, n. 1/2, p. 165-189, 2002.
- DOEHLERT, D. C.; MCMULLEN, M. S.; RIVELAND, N. R. Sources of variation in oat kernel size. **Cereal Chemistry**, St. Paul, v. 79, n. 4, p. 528-534, 2002.
- DOEHLERT, D. C. *et al.* Evaluation of oat kernel size uniformity. **Crop Science**, Madison, v. 44, n. 4, p. 1178-1186, 2004.
- DOEHLERT, D. C.; MCMULLEN, M. S.; JANNINK, J.-L. Oat grain/groat size ratios: a physical basis for test weight. **Cereal Chemistry**, St. Paul, v. 83, n. 1, p. 114-118, 2006.
- DOEHLERT, D. C.; MCMULLEN, M. Oat grain density measurement by sand displacement and analysis of physical components of test weight. **Cereal Chemistry**, St. Paul, v. 85, p. 654-659, 2008.
- DOEHLERT, D. C.; MCMULLEN, M. S.; RIVELAND, N. R. Groat proportion in oats as measured by different methods: analysis of oats resistant to dehulling and sources of error in mechanical dehulling. **Canadian Journal of Plant Science**, Ottawa, v. 90, n. 4, p. 391-397, 2010.
- ENDELMAN, J. B. Ridge regression and other kernels for genomic selection with R package rrBLUP. **The Plant Genome**, Madison, v. 4, p. 250-255, 2011.
- ESVELT-KLOS, K. *et al.* The genetic architecture of milling quality in spring oat lines of the collaborative oat research enterprise. **Foods**, Basel, v. 10, n. 10, [art.] 2479, [p. 1-14], 2021.

FEDERIZZI, L. C. *et al.* Estabilidade do rendimento de grãos em aveia: efeito do uso de fungicidas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 28, n. 4, p. 465-472, 1993.

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. **Resultados experimentais [...]**. Passo Fundo: UPF, 2002. p. 45-63.

FEDERIZZI, L. C. *et al.* Melhoramento da aveia. *In*: BORÉM, A. (ed.). **Melhoramento de espécies cultivadas**. 2. ed. Viçosa, MG: UFV, 2005. p. 141-169.

FLINT-GARCIA, S. A.; THORNSBERRY, J. M.; BUCKLER, E. S. Structure of linkage disequilibrium in plants. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 54, p. 357-374, 2003.

FU, Y. *et al.* Oat evolution revealed in the maternal lineages of 25 *Avena* species. **Scientific Reports**, London, v. 8, [art.] 4225, 2018.

HERMANN, M. H. *et al.* Quantitative trait loci for quality and agronomic traits in two advanced backcross populations in oat (*Avena sativa* L.). **Plant Breeding**, Berlin, v. 133, n. 5, p. 588-601, 2014.

HOSENEY, R. C. **Principles of cereal science and technology**. 2nd ed. Saint Paul: American Association of Cereal Chemists, 1994. 378 p.

HOWARTH, C. J. Genotype and environment affect the grain quality and yield of winter oats (*Avena sativa* L.). **Foods**, Basel, v. 10, [art.] 2356, 2021.

GANSSMANN, W.; VORWERCK, K. Oat milling, processing and storage. *In*: WELCH, R.W. (ed.). **The oat crop: production and utilization**. London: Chapman & Hall, 1995. p. 369-408.

GIRARDET, N.; WEBSTER, F. H. Oat milling: specifications, storage, and processing. *In*: WEBSTER, F. H.; WOOD, P. J. (ed.). **Oats: chemistry and technology**. 2nd. ed. St. Paul: AACC International, 2011. p. 301-320.

GRAFIUS, J. E. Components of yield in oats: a geometrical interpretation. **Agronomy Journal**, Madison, v. 48, p. 419-423, 1956.

GROH, S. *et al.* Analysis of factors influencing milling yield and their association to other traits by QTL analysis in two hexaploid oat populations. **Theoretical Applied Genetics**, Berlin, v. 103, p. 9-18, 2001.

GUPTA, P. K.; RUSTGI, S.; KULWAL, P. L. Linkage disequilibrium and association studies in higher plants: Present status and future prospects. **Plant Molecular Biology**, The Hague, v. 57, p. 461-485, 2005.

HOLLAND, J. B. Genetic architecture of complex traits in plants. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v. 10, p. 156-161, 2007.

HOSENEY, R. C. **Principles of cereal science and technology**. 2nd ed. Saint Paul: American Association of Cereal Chemists, 1994. 378 p.

IBRAHIM, A. K. *et al.* Principles and approaches of association mapping in plant breeding. **Tropical Plant Biology**, New York, v. 13, p. 212-224, 2020.

KIRKKARI, A. M.; PELTONEN-SAINIO, P.; LEHTINEN, P. Dehulling capacity and storability of naked oat. **Agricultural and Food Science**, Jokioinen, v. 13, n. 1/2, p. 198-211, 2004.

KORTE, A.; FARLOW, A. The advantages and limitations of traits analysis with GWAS: a review. **Plant Methods**, London, v. 9, [art.] 29, [p. 1-9], 2013.

LADIZINSKY, G. A new species of *Avena* from Sicily, possibly the tetraploid progenitor of hexaploid oats. **Genetic Resources and Crop Evolution**, Dordrecht, v. 45, p. 263-269, 1998.

KIM, H. S. *et al.* Stimulatory effect of β -glucans on Immune cells. **Immune Network**, Seoul, v. 11, n. 4, p. 191-195, 2011.

LOSKUTOV, I. G. On evolutionary pathways of *Avena* species. **Genetic Resources and Crop Evolution**, Dordrecht, v. 55, p. 211-220, 2008.

MAMMADOV, J. *et al.* SNP markers and their impact on plant breeding. **International Journal of Plant Genomics**, New York, v. 2012, [art.] 728398, [p. 1-11], 2012.

MOLNAR, S. J. *et al.* Molecular genetics of quality in oats: *In*: WEBSTER, F. H.; WOOD, P. J. (ed.). **Oats: chemistry and technology**. St. Paul: Willey, 2011. cap. 4, p. 9-32.

MURPHY, J. P.; HOFFMAN, L. A. Origin, history and production of oat. *In*: MARSHALL, H. G.; SORRELS, M. E. (ed.). **Oat science and technology**. Madison: Crop Science Society of American, 1992. p. 1-28.

MUT, Z.; AKAY, H.; KÖSE, O. D. E. Grain yield, quality traits and grain stability of local oat cultivars. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, Chillán, v. 18, n. 1, p. 269-281, 2018.

PETERSON, D. M. *et al.* Relationships among agronomic traits and grain composition in oat genotypes grown in different environments. **Crop Science**, Madison, v. 45, n. 4, p. 1249-1255, 2005.

POLAND, J. A. *et al.* Development of high-density genetic maps for barley and wheat using a novel two-enzyme genotyping-by-sequencing approach. **PLoS ONE**, San Francisco, v. 7, [art.] e32253, 2012.

POMERANZ, Y. Industrial uses of oats. *In*: WELCH, R.W. (ed.). **The oat crop: production and utilization**. London: Chapman & Hall, 1995. p. 480–503.

POMERANZ, Y. *et al.* Test weight and groat-to-hull ratio in oats. **Cereal Foods World**, St. Paul, v. 24, p. 600-602, 1979.

RONALD, P. S. *et al.* Heritability of hull percentage in oat. **Crop Science**, Madison, v. 39, n. 1, p. 52-57, 1999.

SADRAS, V. O. *et al.* Phenotypic plasticity of grain and hay quality and advanced lines from the Australian oat breeding program. **European Journal of Agronomy**, Amsterdam, v. 102, p. 23-32, 2018.

SIRIPOONWIWAT, W. *et al.* Chromosomal regions associated with quantitative traits in oat. **Journal of Agricultural Genomics**, Madison, v. 16, p. 39-49, 1996.

STRECK, E. V. *et al.* **Solos do Rio Grande do Sul**. 3. ed. rev. e ampl. Porto Alegre: Emater/RS-ASCAR, 2018. 252 p.

SYMONS, S. J.; FULCHER, R. G. Determination of variation in oat kernel morphology by digital image analysis. **Canadian Journal of Plant Science**, Ottawa, v. 7, p. 219-228, 1988.

SUL, J. H.; MARTIN, L. S.; ESKIN, E. Population structure in genetic studies: confounding factors and mixed models. **PLOS Genetics**, San Francisco, v. 14, n. 12, [art.] e1007309, [p 1-22], 2018.

TANHUANPÄÄ, P. *et al.* An updated doubled haploid oat linkage map and QTL mapping of agronomic and grain quality traits from Canadian field trials. **Genome**, Ottawa, v. 55, n. 4, p. 289-301, 2012.

TINKER, N. A.; BEKELE, W. A.; HATTORI, J. Haplotag: software for haplotype-based genotyping-by-sequencing analysis. **G3: Genes, Genomes, Genetics**, Bethesda, v. 6, n. 4, p. 857-863, 2016.

TINKER, N. A. *et al.* Genome analysis in *Avena sativa* reveals hidden breeding barriers and opportunities for oat improvement. **Communications Biology**, London, v. 5, n. 1, [art.] 474, [p. 1-11], 2022.

TIWARI, U.; CUMMINS, E. Meta-analysis of the effect of β -glucan intake on blood cholesterol and glucose levels. **Nutrition**, Tarrytown, v. 27, n. 10, p. 1008-1016, 2011.

YAN, H. *et al.* High-density marker profiling confirms ancestral genomes of *Avena* species and identifies D-genome chromosomes of hexaploid oat. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v.129, n. 11, p. 2133-2149, 2016.

YAN, W. *et al.* Breeding for ideal milling oat: challenges and strategies. *In*: CHU, Y. F. **Oats nutrition and technology**. Chichester: Willey, 2013. p. 9-32.

YU, J. *et al.* A unified mixed-model methods for association mapping that accounts for multiple levels of relatedness. **Nature Genetics**, New York, v. 38, n. 2, p. 203-208, 2006.

ZADOKS, J. C.; CHANG, T. T.; KONZAK, C. F. A decimal code for the growth stages of cereals. **Weed Research**, Oxford, v. 14, n. 6, p. 415-421, 1974.

ZHU, C. *et al.* Status and prospects of association mapping in plants. **The Plant Genome**, Madison, v. 1, p. 5-20, 2008.

ZHOU, X.; JELLEN, E. N.; MURPHY, J. P. Progenitor germplasm of domesticated hexaploid oat. **Crop Science**, Madison, v. 39, n. 4, p. 1208-1214, 1999.

ZIMMER, C. M. *et al.* Genome-wide association for β -glucan content, population structure, and linkage disequilibrium in elite oat germplasm adapted to subtropical environments. **Molecular Breeding**, Dordrecht, v. 40, [art.] 103, 2020.

ZIMMER, C. M. *et al.* Genome-wide association mapping for kernel shape and its association with B-glucan contents in oats. **Crop Science**, Madison, v. 61, n. 6, p. 3986-3999, 2021.