

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

ANÁLISE FENOTÍPICA DO MOMENTO DA TRANSIÇÃO MERISTEMÁTICA  
FLORAL E FLORESCIMENTO EM AVEIA (*Avena sativa* L.)

Vanessa de Freitas Duarte  
Engenheira Agrônoma/UFRGS

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

Porto Alegre (RS), Brasil  
Fevereiro de 2020

### CIP - Catalogação na Publicação

Duarte, Vanessa de Freitas  
ANÁLISE FENOTÍPICA DO MOMENTO DA TRANSIÇÃO  
MERISTEMÁTICA FLORAL E FLORESCIMENTO EM AVEIA (Avena  
sativa L.) / Vanessa de Freitas Duarte. -- 2020.  
143 f.  
Orientadora: Carla Andréa Delatorre.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do  
Rio Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Programa de  
Pós-Graduação em Fitotecnia, Porto Alegre, BR-RS,  
2020.

1. aveia . 2. avena sativa. 3. transição floral. 4.  
florescimento. I. Delatorre, Carla Andréa, orient.  
II. Título.

VANESSA DE FREITAS DUARTE  
Engenheira Agrônoma - 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: 28.02.2020  
Pela Banca Examinadora

CARLA ANDRÉA DELATORRE  
Orientador(a) - PPG Fitotecnia/  
UFRGS

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

MARCELO TEIXEIRA PACHECO  
PPG Fitotecnia/UFRGS

FELIPE DOS SANTOS MARASCHIN  
PPG Genética e Biologia  
Molecular/UFRGS

LEANDRO VIEIRA ASTARITA  
PPG Biologia Celular e  
Molecular/PUCRS

CARLOS ALBERTO BISSANI  
Diretor da Faculdade  
de Agronomia

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, em primeiro lugar, por estar sempre comigo, em todos os momentos.

Obrigada mãe, Maria, por ser minha incentivadora em todos os momentos, e minha fortaleza nos momentos difíceis. Te amo. Obrigada dinda, Cenira, e tias Avani e Gessília (*in memorian*), por todo o apoio. Agradeço também a toda a minha família, pela compreensão nos momentos de ausência.

Obrigada aos meus amigos e colegas do PPG Fitotecnia, especialmente às amigas Bianca, Jéssica, Jacque, Fernanda e Cátia, que sempre me incentivam e apoiam.

Um agradecimento especial para uma grande amiga, Paula, por todos os momentos, bons e ruins, compartilhados.

Agradeço também a todos os professores que passaram pela minha vida, da pré-escola à pós-graduação, que me ensinaram muito mais do que apenas disciplinas, me ensinaram a crescer e caminhar com minhas “próprias pernas”. Obrigada prof.<sup>a</sup> Carla, orientadora e amiga, por todo incentivo e conhecimento compartilhado. Obrigada professor Marcelo, por toda ajuda nesse processo de aprendizado e crescimento.

Obrigada ao PPG Fitotecnia, pelo suporte, e ao CNPq, pela concessão da bolsa de estudos.

Agradecimentos também à banca examinadora, pela contribuição.

# ANÁLISE FENOTÍPICA DO MOMENTO DA TRANSIÇÃO MERISTEMÁTICA FLORAL E FLORESCIMENTO EM AVEIA (*Avena sativa* L.)<sup>1</sup>

Autor: Vanessa de Freitas Duarte

Orientador: Prof.<sup>a</sup> Carla Andréa Delatorre

## RESUMO

O programa de melhoramento genético de aveia da UFRGS tem como um de seus objetivos a redução do ciclo da cultura, para que essa se mantenha como alternativa de cultivo no outono/inverno. Contudo, pouco se sabe sobre a resposta fisiológica dos genótipos desenvolvidos a sinais ambientais que podem afetar o desenvolvimento das plantas de aveia (*Avena sativa* L.). O objetivo geral do presente trabalho foi investigar o papel de estímulos ambientais (temperatura, fotoperíodo e intensidade de radiação) sobre o momento da transição meristemática floral e do florescimento em genótipos de aveia branca. A determinação do momento de início da transição meristemática floral foi influenciada principalmente pelo fotoperíodo e intensidade de radiação. Porém, a resposta a esses sinais é genótipo dependente. Todos os genótipos anteciparam o momento de início da transição meristemática com o aumento do fotoperíodo, porém, as cultivares URS Altiva e URS 21 não responderam ao incremento do fotoperíodo de 16 para 22 horas. Isso demonstra ausência ou baixa juvenildade dos genótipos, especialmente os de ciclo superprecoce. A resposta à intensidade de radiação se mostrou mais variada. Os genótipos de ciclo superprecoce tenderam a atrasar o início da transição meristemática com a redução da intensidade luminosa. Por outro lado, os genótipos de ciclo tardio e supertardio anteciparam o momento de início da transição floral na condição com baixa radiação em fotoperíodo altamente indutivo. A soma térmica se mostrou pouco importante na determinação do momento de início da transição meristemática floral em aveia. Apesar da vernalização não ter apresentado efeitos sobre a determinação do início da transição floral, essa se mostrou importante na redução do período entre o início da transição meristemática e o florescimento nos genótipos responsivos ao estímulo de baixa temperatura. Dessa forma, pode-se sugerir que, ao longo dos ciclos de melhoramento do programa de aveia da UFRGS, a seleção fenotípica provocou alterações significativas no metabolismo das linhagens, alterando o ciclo das plantas ao modificar sua resposta aos diferentes sinais ambientais aos quais essas são expostas em condições de cultivo.

---

<sup>1</sup>Dissertação de Mestrado em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (143f.) Fevereiro, 2020.

# FENOTYPICAL ANALYSIS OF FLORAL TRANSITION AND FLOWERING ON OATS (*Avena sativa* L.)<sup>1</sup>

Author: Vanessa de Freitas Duarte  
Adviser: Prof.<sup>a</sup> Carla Andréa Delatorre

## ABSTRACT

One of the objectives of the UFRGS oat (*Avena sativa* L.) breeding program is to reduce the crop cycle, to keep it as an alternative crop in the fall/winter growing season. However, little is known about the physiological response of recent genotypes to environmental signals that can affect the development of oat plants. The general goal of the present study was to investigate the role of environmental stimuli (temperature, photoperiod and light intensity/irradiance) on the moment of the floral transition and flowering in hexaploid oat genotypes. The moment of the beginning of floral transition was influenced mainly by the photoperiod and light intensity. However, the response to these signals is dependent on the genotype. All genotypes anticipated the beginning of meristematic transition with the increase of photoperiod, but the cultivars URS Altiva and URS 21 did not respond to the photoperiod change from 16 to 22 hours. This demonstrates a low or absent juvenility in the genotypes, especially those with a super-early cycle. The response to radiation intensity was more diverse. Super-early genotypes tended to delay the beginning of floral transition in response to low light intensity. On the other hand, the late and super-late genotypes anticipated the beginning of floral transition in the low radiation condition at a highly inductive photoperiod. The thermal sum was not very important in determining the beginning of the floral meristematic transition in oat. Although vernalization did not have any effect on determining the beginning of floral transition, it proved to be important in reducing the period between the beginning of floral transition and flowering, in genotypes responsive to the low temperature stimulus. Thus, it can be suggested that, throughout the improvement cycles of the UFRGS oat program, phenotypic selection caused significant changes in the metabolism of the lines, changing the cycle of the plants by modifying their response to the different environmental signals present under growing season conditions.

---

<sup>1</sup>Master Dissertation in Plant Science, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (143p.) February, 2020.

## SUMÁRIO

	Página
1 INTRODUÇÃO .....	1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	5
2.1 Importância econômica da aveia .....	5
2.2 Desenvolvimento vegetal e transição meristemática .....	6
2.3 Escalas de desenvolvimento foliar e meristemático .....	14
2.4 Controle ambiental e genético do florescimento em angiospermas ...	17
2.4.1 Juvenilidade .....	19
2.4.2 Rota do fotoperíodo .....	22
2.4.3 Rota da vernalização .....	25
2.4.4 Modelo “ABCDE” do florescimento .....	32
2.5 Referências .....	36
3 CAPÍTULO 1 .....	48
A transição meristemática floral e o florescimento em aveia ( <i>Avena sativa</i> L.) são afetados por fotoperíodo, intensidade de radiação e vernalização .....	48
RESUMO .....	48
ABSTRACT .....	48
3.1. Introdução .....	49
3.2 Material e métodos .....	52
3.3 Resultados .....	58
3.4 Discussão .....	71
3.5 Conclusões .....	84
3.6 Referências .....	85

	Página
4 CAPÍTULO 2 .....	91
Avaliação da técnica de melhoramento “ <i>speed breeding</i> ” em aveia ( <i>Avena sativa</i> L.) .....	91
RESUMO .....	91
ABSTRACT .....	91
4.1 Introdução .....	92
4.2 Material e métodos.....	94
4.3 Resultados .....	97
4.4 Discussão.....	105
4.5 Conclusões .....	111
4.6 Referências .....	112
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	116
6 APÊNDICES.....	118
APÊNDICE 1. Dados climáticos de temperatura média diária (A) e radiação média diária (B) no período de 22/06/2018 (emergência das plântulas na primeira época de cultivo do experimento a campo) a 01/11/2018 (final do florescimento das plantas na segunda época de cultivo do experimento a campo). Emerg. E1 = emergência das plântulas na 1ª época de cultivo; Emerg. E2 = emergência das plântulas na 2ª época de cultivo.....	118
APÊNDICE 2. Número total de folhas (NTF), data de emissão da folha bandeira (DEFB) e data do florescimento (DF) de seis genótipos de aveia ( <i>Avena sativa</i> L.) avaliados a campo na Estação Experimental Agrônômica da UFRGS no ano de 2018.....	119
APÊNDICE 3. Análise de variância das variáveis estágio Haun do início da transição meristemática (Haun), número de dias da emergência ao início da transição meristemática (DED), soma térmica da emergência ao início da transição meristemática (STED), número de horas de luz da emergência ao início da transição meristemática (HLUZ), radiação média diária da emergência ao início da transição meristemática (RAD), número de dias do início da transição meristemática ao início do florescimento (DDF), soma térmica do início da transição meristemática ao início do florescimento (STDF), número de dias da emergência ao início do florescimento (DEF) e soma térmica da emergência ao início do florescimento (STEF) do experimento realizado a campo no ano de 2018.....	121
APÊNDICE 4. Análise de variância das variáveis estágio Haun do início da transição meristemática (Haun), número de dias da emergência ao início da transição meristemática (DED) e soma térmica da emergência ao início da transição meristemática (STED) do experimento de avaliação da do fotoperíodo e intensidade de radiação em aveia.....	124

APÊNDICE 5. Análise de variância das variáveis estágio Haun do início da transição meristemática (Haun), número de dias da emergência ao início da transição meristemática (DED), soma térmica da emergência ao início da transição meristemática (STED), número de dias do início da transição meristemática ao início do florescimento (DDF), soma térmica do início da transição meristemática ao início do florescimento (STDF) e número de dias do início ao final do florescimento (DIFF) do experimento de avaliação do método “ <i>speed breeding</i> ” em aveia.....	125
APÊNDICE 6. Soma térmica acumulada da emergência ao início da transição meristemática de oito genótipos de aveia ( <i>Avena sativa</i> L.) submetidos a dois fotoperíodos (16 e 22h de luz, representados pelas cores azul claro e azul escuro, respectivamente) em condições controladas (experimento “ <i>speed breeding</i> ”). Letras diferentes indicam diferença significativa para a interação Genótipo x Fotoperíodo a 5% pelo Teste de Tukey. Barras de erro = desvio padrão da média.....	126
APÊNDICE 7. Soma térmica acumulada do início da transição meristemática ao início do florescimento de oito genótipos de aveia ( <i>Avena sativa</i> L.) submetidos a dois fotoperíodos (16 e 22h de luz, representados pelas cores azul claro e azul escuro, respectivamente) em condições controladas (experimento “ <i>speed breeding</i> ”). Letras diferentes indicam diferença significativa para a interação Genótipo x Fotoperíodo a 5% pelo Teste de Tukey. “n.f..” = não floresceu. Barras de erro = desvio padrão da média.....	127
APÊNDICE 8. Proposta de modificação da Escala Haun para cereais de inverno .....	127

## RELAÇÃO DE TABELAS

Página

### REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. TABELA 1. Comparação entre genes de arabidopsis, arroz e trigo nas diferentes classes gênicas do modelo "ABCDE". Adaptada de Murai, 2013.....36

### CAPÍTULO 1

1. TABELA 1. Genótipos de aveia hexaploide (*Avena sativa* L.) utilizados nos experimentos e seus respectivos ciclos da emergência ao florescimento.....53

### CAPÍTULO 2

1. TABELA 1. Genótipos de aveia hexaploide (*Avena sativa* L.) utilizados nos experimentos e seus respectivos ciclos de cultivo da emergência ao florescimento.....95
2. TABELA 2. Avaliação do florescimento em oito genótipos de aveia submetidos a duas condições de "speed breeding" (fotoperíodos de 16 e 22 horas de luz) em condições controladas. ....102
3. TABELA 3. Número de plantas com grãos viáveis por panícula no colmo principal dos oito genótipos de aveia avaliados no fotoperíodo de 22 horas.....104

## RELAÇÃO DE FIGURAS

Página

### REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. FIGURA 1. Estrutura do meristema apical do caule (corte longitudinal na região central do meristema). As células concêntricas L1, L2 e L3 são indicadas por diferentes intensidades de cor. A zona central (ZC) é representada em roxo e a zona periférica (ZP) em verde. A posição da região diferenciada do meristema (RD) é indicada abaixo do domínio do meristema. O centro organizador, onde ocorre a expressão do gene *WUS*, encontra-se circulado em vermelho. A seta branca representa o sinal intercelular produzido pelas células que expressam *WUS* para a manutenção da identidade e proliferação celular na zona central. “P” representa os primórdios foliares ao redor do meristema. Sablowski, 2007 .....11
2. FIGURA 2. Esquema da análise do desenvolvimento foliar através da Escala Haun. Adaptado de Haun, 1973.....16
3. FIGURA 3. Regulação da mudança de fase vegetativa na planta modelo *Arabidopsis thaliana* por miR156 e miR172. Durante a fase juvenil, miR156 reprime a expressão de genes *SQUAMOSA PROMOTER BINDING PROTEIN-LIKE (SPL)*, envolvidos na indução de genes das rotas do florescimento (*APETALA 1 – AP1*, *FRUITFULL – FUL*, *SUPPRESSOR OF OVEREXPRESSION OF CONSTANS 1 – SOC1*) e de morfologia foliar (*CUP-SHAPED COTYLEDON 2 e 3 – CUC 2 e 3*, *TEOSINTE BRANCHED 1*, *CYCLOIDEA*, e *PCF 4 – TCP4*) e na repressão de genes de capacidade regenerativa (*B-TYPE AUTHENTIC RESPONSE REGULATOR – B-type ARR*). Na fase adulta, ocorre redução da expressão de miR156, promovendo um aumento de proteínas SPL. As proteínas SPL atuam tanto na indução de miR172 como na indução de genes das rotas do florescimento e morfologia foliar e na repressão de genes de capacidade regenerativa. Setas indicam indução de transcrição e linhas interrompidas (—|) indicam repressão da transcrição. Adaptado de Yu, Lian e Wang, 2015 .....21

4. FIGURA 4. Visão geral da rota de florescimento em *Arabidopsis thaliana*. Componentes que favorecem o florescimento são representados em verde, enquanto aqueles que inibem o florescimento estão representados em vermelho. O florígeno FT está representado em azul. Proteínas são representadas por elipses. Setas indicam indução e linhas interrompidas (—|) representam repressão. Amasino, 2010.....23
5. FIGURA 5. Rotas do fotoperíodo e da vernalização para a promoção do florescimento em cereais de inverno. A resposta ao fotoperíodo é apresentada em laranja. A rota da vernalização é mostrada em azul. O gene *VRN2* é o integrador das rotas do fotoperíodo e da vernalização. Setas indicam indução e linhas interrompidas (—|) representam repressão. Adaptado de Shaw *et al.*, 2019.....29
6. FIGURA 6. Comparação dos modelos do quarteto floral e “ABCDE” de desenvolvimento floral em *Arabidopsis thaliana*. Theißen, Melzer e Rümpler, 2016 .....33

## CAPÍTULO 1

1. FIGURA 1. Escala de desenvolvimento meristemático e da inflorescência de aveia (*Avena sativa* L.). A) Meristema vegetativo (equivale ao estágio “A” de Bonnett (1966)); B) Início da diferenciação meristemática (equivale ao estágio “B” de Bonnett); C) Início da formação das projeções laterais de primeira ordem da panícula; D) Formação das projeções laterais de primeira ordem da panícula (equivale ao estágio “C” de Bonnett); E) Estádio inicial da formação da panícula, mostrando as ramificações de primeira ordem (equivale ao estágio “D” de Bonnett); F) Início da formação das projeções laterais de segunda ordem da panícula (equivale ao estágio “E” de Bonnett); G) Início da diferenciação das espiguetas (equivale ao estágio “F” de Bonnett); H) Espiguetas envoltas pelas glumas; I) Panícula de aveia em desenvolvimento avançado. Barras de escala = 0,1 mm (A-H), 0,5 cm (I). Fonte: autor.....57
2. FIGURA 2. Início da transição meristemática floral em seis genótipos de aveia (*Avena sativa* L.) cultivados a campo na Estação Experimental Agronômica da UFRGS, em Eldorado do Sul/RS, em dois tratamentos (NV – não vernalizado e V – vernalizado por 30 dias a 4°C, representados pelas intensidades de cor clara e escura, respectivamente) e duas épocas de cultivo (1 - época 1 e 2 - época 2, representadas pelas cores azul e laranja, respectivamente). Letras diferentes indicam diferença significativa para a interação Genótipo x Época a 5% pelo Teste de Tukey. Barras de erro = desvio padrão da média.....59
3. FIGURA 3. Dias da emergência ao início da transição meristemática de seis genótipos de aveia (*Avena sativa* L.) cultivados a campo na Estação Experimental Agronômica da UFRGS, em Eldorado do Sul/RS, em dois tratamentos (NV – não vernalizado e V – vernalizado por 30 dias a 4°C) e duas épocas de cultivo (1 - época 1 e 2 - época 2). A. Média do número de dias para a interação tratamento x época.

- B. Média do número de dias entre genótipos. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre as médias a 5% pelo Teste de Tukey. Barras de erro = desvio padrão da média.....60
4. FIGURA 4. Soma térmica acumulada da emergência ao início da transição meristemática de seis genótipos de aveia (*Avena sativa* L.) cultivados a campo na Estação Experimental Agronômica da UFRGS, em Eldorado do Sul/RS, em dois tratamentos (NV – não vernalizado e V – vernalizado por 30 dias a 4°C) e duas épocas de cultivo (1 - época 1 e 2 - época 2). A. Médias de soma térmica para a interação época x tratamento. B. Médias de soma térmica para a interação época x genótipos. Letras diferentes indicam diferenças significativa entre médias a 5% pelo Teste de Tukey. Barras de erro = desvio padrão da média.....61
5. FIGURA 5. Fotoperíodo médio (A) e radiação média diária (B) da emergência ao início da transição meristemática dos seis genótipos de aveia (*Avena sativa* L.) cultivados a campo na Estação Experimental Agronômica da UFRGS, em Eldorado do Sul/RS, em duas épocas de cultivo. Letras diferentes indicam diferença significativa entre épocas de cultivo pelo Teste de Tukey a 5%. Barras de erro = desvio padrão da média. ....62
6. FIGURA 6. Estádio Haun no início da transição meristemática floral de seis genótipos de aveia (*Avena sativa* L.) submetidos a duas condições de fotoperíodo (1 – 9,5 h luz/7 h escuro/0,5 h luz/7 h escuro e 2 – 10 h luz/14 h escuro, representados pelas cores azul e laranja, respectivamente) associadas a duas intensidades de radiação (M – máxima radiação da câmara de crescimento ( $350 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ) e B – baixa radiação ( $150 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ), representadas pelas intensidades de cor clara e escura, respectivamente) em condições controladas. Letras diferentes indicam diferença significativa para a interação tripla Genótipo x Fotoperíodo x Radiação a 5% pelo Teste de Tukey. Barras de erro = desvios padrão da média .....64
7. FIGURA 7. Dias da emergência ao início da transição meristemática floral de seis genótipos de aveia (*Avena sativa* L.) submetidos a duas condições de fotoperíodo (1 – 9,5/7/0,5/7h e 2 – 10/14h, representados pelas cores azul e laranja, respectivamente) associadas a duas condições de radiação (M – máxima radiação da câmara ( $350 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ) e B – baixa radiação ( $150 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ), representadas pelas intensidades de cor clara e escura, respectivamente) em condições controladas. Letras diferentes indicam diferença significativa para a interação tripla Genótipo x Fotoperíodo x Radiação a 5% pelo Teste de Tukey. Barras de erro = desvios padrão da média. ....66
8. FIGURA 8. Soma térmica da emergência ao início da transição meristemática de seis genótipos de aveia (*Avena sativa* L.) submetidos a duas condições de fotoperíodo (1 – 9,5/7/0,5/7h e 2 – 10/14h, representados pelas cores azul e laranja, respectivamente) associadas a duas condições de radiação (M – máxima radiação da

- câmara ( $350 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ) e B – baixa radiação ( $150 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ), representadas pelas intensidades de cor clara e escura, respectivamente) em condições controladas. Letras diferentes indicam diferença significativa para a interação tripla Genótipo x Fotoperíodo x Radiação a 5% pelo Teste de Tukey. Barras de erro = desvios padrão da média. ....68
9. FIGURA 9. Dias entre o início da transição meristemática e o início do florescimento de seis genótipos de aveia (*Avena sativa* L.) cultivados a campo na Estação Experimental Agronômica da UFRGS, em Eldorado do Sul/RS, em dois tratamentos (NV – não vernalizado e V – vernalizado por 30 dias a 4°C) e duas épocas de cultivo (1 – época 1 e 2 – época 2). A. Médias do número de dias para a interação genótipo x tratamento. B. Médias do número de dias para a interação genótipo x época. Letras diferentes indicam diferenças significativas nas médias pelo Teste de Tukey a 5%. Barras de erro = desvio padrão da média.....69
10. FIGURA 10. Soma térmica acumulada entre o início da transição meristemática e o florescimento de seis genótipos de aveia (*Avena sativa* L.) cultivados a campo na Estação Experimental Agronômica da UFRGS, em Eldorado do Sul/RS, em dois tratamentos (NV – não vernalizado e V – vernalizado por 30 dias a 4°C) e duas épocas de cultivo (1 – época 1 e 2 – época 2). A. Médias de soma térmica para a interação genótipo x tratamento. B. Médias de soma térmica para a interação genótipo x época. Letras diferentes indicam diferenças significativas nas médias pelo Teste de Tukey a 5%. Barras de erro = desvio padrão da média.....70
- CAPÍTULO 2**
- 1 FIGURA 1. Estádio Haun no início da transição meristemática de oito genótipos de aveia (*Avena sativa* L.) submetidos a dois fotoperíodos (16 e 22h de luz, representados pelas cores azul claro e azul escuro, respectivamente). Letras diferentes indicam diferença significativa para a interação Genótipo x Fotoperíodo a 5% pelo Teste de Tukey. Barras de erro = desvio padrão da média.....97
- 2 FIGURA 2. Número de dias da emergência ao início da transição meristemática de oito genótipos de aveia (*Avena sativa* L.) submetidos a dois fotoperíodos (16 e 22h de luz, representados pelas cores azul claro e azul escuro, respectivamente). Letras diferentes indicam diferença significativa para a interação Genótipo x Fotoperíodo a 5% pelo Teste de Tukey. Barras de erro = desvio padrão da média.....99
- 3 FIGURA 3. Número de dias do início da transição meristemática ao florescimento de oito genótipos de aveia (*Avena sativa* L.) submetidos a dois fotoperíodos (16 e 22h de luz, representados pelas cores azul claro e azul escuro, respectivamente). Letras diferentes indicam diferença significativa para a interação Genótipo x Fotoperíodo a 5% pelo Teste de Tukey. “n.f.” = não floresceu. Barras de erro = desvio padrão da média.....100

- 4** FIGURA 4. Número de dias do início ao final da emissão da panícula de oito genótipos de aveia (*Avena sativa* L.) submetidos a dois fotoperíodos (16 e 22h de luz, representados pelas cores azul claro e azul escuro, respectivamente). Letras diferentes indicam diferença significativa para a interação Genótipo x Fotoperíodo a 5% pelo Teste de Tukey. “n.f.f.” = não finalizou o florescimento (emissão da panícula); “n.f.” = não floresceu. Barras de erro = desvio padrão da média.....103
- 5** FIGURA 5. Comparação do desenvolvimento foliar do genótipo LA 90105 quando submetido ao fotoperíodo de 16 h (A) e de 22 h (B) em condições controladas, demonstrando alterações no desenvolvimento foliar.....104

## 1 INTRODUÇÃO

A aveia (*Avena sativa* L.) é um cereal alohexaploide de clima temperado, que se destaca, junto ao trigo, como alternativa de cultivo de inverno, por promover elevado aporte de resíduos, que protegem o solo durante a entressafra dos cultivos de verão. Também apresenta boa produtividade de grãos, especialmente no sul do Brasil, aumentando a renda dos produtores no período de inverno. Contudo, devido à antecipação cada vez maior da semeadura das culturas de verão, como soja e milho, há nos programas de melhoramento de aveia elevada pressão de seleção para precocidade. Assim, os programas de melhoramento de aveia têm buscado selecionar plantas cada vez mais precoces. Porém, essa redução no ciclo da cultura, que é baseada principalmente no fenótipo a campo, pode ter alterado também características relacionadas à fisiologia da espécie, como a resposta à temperatura, fotoperíodo e intensidade luminosa, que têm grande influência sobre o crescimento e o desenvolvimento das plantas.

Cereais como a aveia iniciam sua fase reprodutiva com a transição meristemática floral, que é o momento em que o meristema apical do caule deixa de diferenciar folhas para dar início à formação da inflorescência. No entanto, em condições de campo, essa etapa do desenvolvimento das plantas não é facilmente identificada, pois o meristema apical encontra-se protegido pelas

bainhas foliares. Assim, agronomicamente, determinou-se o florescimento como a emissão da inflorescência acima da folha bandeira. Sendo esse o evento visual que marca a transição do estágio vegetativo para o reprodutivo em cereais de inverno, apesar do florescimento ocorrer, em média, cerca de 30 dias após o início da transição meristemática floral.

Buscando identificar os melhores momentos para a adoção de práticas de manejo, como a adubação nitrogenada de cobertura, com base no desenvolvimento foliar, foram desenvolvidas diversas escalas de desenvolvimento de cereais, como a Escala Haun (Haun, 1973). Porém, para que essas práticas de manejo realmente sejam aplicadas no momento correto do desenvolvimento morfofisiológico das plantas, é necessário a associação dessas escalas com os eventos fisiológicos, como por exemplo, a transição meristemática floral, visando a potencialização do rendimento de grãos.

As condições ambientais como temperatura e fotoperíodo apresentam grande influência sobre a determinação do momento de ocorrência da transição meristemática floral, podendo antecipar ou atrasar o seu início. Por ser uma espécie de dias longos, a aveia apresenta uma redução do tempo para o florescimento quando submetida a fotoperíodos maiores que o crítico. No entanto, com a redução do ciclo da cultura buscada pelos programas de melhoramento, essa resposta ao fotoperíodo pode ter sido afetada, alterando a sensibilidade da espécie a alterações fotoperiódicas. Outro importante sinal ambiental para a determinação do momento de transição meristemática e florescimento é a temperatura do ar. Por ser um cereal de clima temperado, supõe-se que a aveia seja responsiva à vernalização, que consiste na exposição das plantas a temperaturas abaixo de 10°C, visando acelerar o florescimento das

mesmas. Da mesma forma, a soma térmica também parece ter influência sobre o florescimento de cereais como a aveia. No entanto, para essa espécie, ainda há uma carência de estudos sobre o efeito desses e outros sinais ambientais na determinação do momento da transição meristemática e florescimento.

O conhecimento sobre os fatores ambientais e genéticos que afetam a transição meristemática floral e o florescimento em aveia têm grande relevância para o melhoramento genético da espécie. Entender as rotas metabólicas envolvidas no florescimento permite aos melhoristas adaptar as condições de cultivo para reduzir o tempo necessário para a obtenção de novas cultivares. Uma das técnicas que pode ser utilizada para esse objetivo é o “*speed breeding*”, que consiste no avanço de populações de melhoramento em câmaras de crescimento com suplementação luminosa para acelerar o ciclo das plantas e, conseqüentemente, acelerar os ciclos de melhoramento. Porém, na cultura da aveia ainda não se encontram disponíveis na literatura dados sobre a eficiência do uso dessa técnica, o que limita sua adoção nessa espécie.

Assim, o objetivo geral deste trabalho foi investigar o papel de estímulos ambientais sobre o momento da transição do meristema apical do caule do estágio vegetativo para o estágio reprodutivo biológico em aveia e sobre a determinação do momento de extrusão da panícula (florescimento). Os objetivos específicos foram: i) avaliar o momento de ocorrência da transição meristemática floral em plantas de aveia vernalizadas e não vernalizadas, verificando se há alteração no momento da transição meristemática em resposta ao tratamento de vernalização; ii) investigar os efeitos da quantidade de radiação e do fotoperíodo, bem como da sua interação, sobre o momento de transição do meristema apical do caule de plantas de aveia; e iii) analisar a viabilidade de utilização da técnica

de melhoramento "*speed breeding*" em aveia, através da análise do momento da transição meristemática e do florescimento em fotoperíodos extremamente longos.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Importância econômica da aveia

A aveia (*Avena sativa* L.) é um cereal alohexaploide de clima temperado. Contudo, devido ao seu grande potencial de adaptação, pode ser cultivada em diferentes latitudes, geralmente concentrando-se entre 35-65°N e 20-46°S (Strychar, 2011). No âmbito nacional, a aveia é cultivada principalmente nos estados do sul do Brasil. A espécie, pertencente à família Poaceae, pode ser utilizada para diferentes finalidades, como alimentação humana e animal e cobertura do solo (Floss *et al.*, 2007). Na alimentação humana, a aveia ganha destaque por seu valor nutritivo e elevado conteúdo de proteínas e fibras solúveis, especialmente beta-glicanas, que auxiliam na redução do colesterol (Singh, De e Belkheir, 2013).

O Rio Grande do Sul é o atual maior produtor brasileiro de aveia, com uma produção de 664,7 mil toneladas no ano de 2019, em uma área 271,1 mil hectares. O Paraná, segundo maior produtor do grão em 2018, produziu 169,3 mil toneladas em 88 mil hectares, seguido pelo estado do Mato Grosso do Sul, com uma produção de 45,1 mil toneladas de aveia em uma área de 37,3 mil hectares. A produtividade média de grãos de aveia na região Centro-Sul em 2019 foi de 2.209 kg.ha<sup>-1</sup>, um aumento de 4,4% em relação ao ano anterior. O Rio Grande do Sul é o estado com a maior produtividade média do grão, com 2.452 kg.ha<sup>-1</sup>, um aumento de 6,9% em comparação à safra de 2018 (CONAB, 2020).

A aveia é uma alternativa de cultura de inverno/primavera, apresentando elevada produção de biomassa, o que favorece o sistema de plantio direto, pelo alto aporte de resíduos e cobertura do solo no período em que não estão sendo produzidos os principais cultivos agrícolas anuais (Floss, 2008; Locatelli *et al.*, 2008). No entanto, como os cultivos de verão, especialmente soja e milho, estão sendo semeados cada vez mais cedo, tem havido maior pressão de seleção para precocidade nos programas de melhoramento de aveia, para que a cultura continue sendo uma alternativa de cultivo sem prejudicar o calendário agrícola das culturas de verão. Dessa forma, os programas de melhoramento de aveia têm selecionado plantas cada vez mais precoces. Porém, essa redução no ciclo da cultura pode ter alterado também outras características da espécie, como a resposta a temperatura, fotoperíodo e intensidade de radiação, que têm grande influência sobre o crescimento e desenvolvimento das plantas.

## **2.2 Desenvolvimento vegetal e transição meristemática**

As angiospermas têm seu desenvolvimento dividido em basicamente dois estádios, vegetativo e reprodutivo (Streck *et al.*, 2003). Em poáceas, a transição do estágio vegetativo para o estágio reprodutivo biológico ocorre com a transição floral do meristema apical do caule, que passa da formação de folhas, no estágio vegetativo, para a formação da inflorescência, no estágio reprodutivo. O estudo do momento em que ocorre a transição do estágio vegetativo para o estágio reprodutivo, associado a escalas de desenvolvimento das plantas, permite adequar as práticas de manejo, como a adubação nitrogenada, de acordo com o desenvolvimento morfofisiológico da planta, visando potencializar o rendimento de grãos (Laitano, 1997; Rosa *et al.*, 2009).

Em aveia, durante o estágio vegetativo, o meristema apical do caule é pequeno, pois ocorre apenas a diferenciação de folhas. O início da transição meristemática pode ser classificado como estágio “B” na escala proposta por Bonnett (1966), quando o meristema se torna mais alongado, preparando-se para o início da formação de projeções laterais. Durante o desenvolvimento da panícula, ocorre o desenvolvimento de projeções laterais no meristema, que correspondem a ramificações de primeira, segunda e terceira ordens da panícula (Bonnett, 1937; Laitano, 1997).

O crescimento e o desenvolvimento das plantas são dependentes das regiões meristemáticas. Segundo Bögre, Magyar e López-Juez (2008), o crescimento ocorre em duas fases: uma fase proliferativa, com aumento da massa celular tanto por divisões celulares nos meristemas quanto pela síntese de macromoléculas, e uma segunda fase onde as células não mais se proliferam, mas passam a se expandir, aumentando individualmente em volume. As células meristemáticas cessam suas divisões mitóticas à medida que são liberadas dos meristemas para, então, serem incorporadas aos tecidos de órgãos específicos, proporcionando a diferenciação e o crescimento de caules e ramos, a formação de folhas e flores, bem como a formação e contínuo desenvolvimento do sistema radicular (Singh e Bhalla, 2006; Bögre, Magyar e López-Juez, 2008).

A origem dos meristemas primários (meristemas apicais do caule e da raiz) está vinculada à definição do eixo apical-basal do embrião por meio do estabelecimento de dois domínios celulares pluripotentes (células-tronco) nas regiões terminais desses (Weijers *et al.*, 2005; Friml *et al.*, 2006). Nas regiões limítrofes dos meristemas apicais há domínios celulares específicos que operam um balanço dinâmico entre a proliferação e a diferenciação das células

produzidas para incorporação destas em órgãos, sendo controlado por padrões hormonais e de expressão gênica. Assim, o destino das células meristemáticas é definido de acordo com a sua localização celular no meristema, pois a divisão de células-tronco leva ao afastamento das células-filhas rumo à periferia, podendo essas, em seguida, se diferenciar após muitos ciclos mitóticos, ou se juntar a outras células para iniciar um novo órgão (Beveridge *et al.*, 2007; Bögre, Magyar e López-Juez, 2008; Rast e Simon, 2008).

Em termos de atividade mitótica, os meristemas apicais possuem basicamente dois sítios com diferentes taxas de divisão celular. O primeiro sítio é ocupado pelas células denominadas de “iniciais estruturais”, que são células que se dividem com menor frequência, encontradas nos centros formadores de células meristemáticas (centro quiescente nas raízes e centro organizador nos caules). Já no segundo sítio encontram-se as células chamadas de “iniciais funcionais”, as quais apresentam taxa mitótica mais elevada e encontram-se ao redor dos centros formadores de células meristemáticas (Barlow, 1997).

As células localizadas nas regiões limítrofes entre o meristema e o órgão em formação desempenham a função de separação e manutenção de ambos os domínios celulares por elas delimitados, mas sua funcionalidade depende de sinais emitidos por células localizadas no centro do meristema. Estas funções são também exercidas por meio da expressão de genes específicos que reduzem a divisão celular nas regiões limitrofes, mas ativam a expressão gênica nas células do centro do meristema (Bögre, Magyar e López-Juez, 2008; Rast e Simon, 2008).

O meristema apical do caule é a fonte de células para a formação dos tecidos e órgãos que compõem a parte aérea vegetal, sendo sua organização e

atividade reguladas por uma cascata de expressão gênica complexa, mas muito bem organizada. Esse complexo sistema de controle assegura o tamanho e a forma característicos do meristema apical do caule, bem como equilibra o balanço entre os processos de automanutenção das células-tronco com a proliferação celular e o fornecimento de novas células para diferenciação e organogênese (Reddy, 2008; Wang e Li, 2008). Os principais participantes desta sequência de expressão gênica, assim como suas inter-relações nas vias de sinalização, foram descritos prioritariamente na planta modelo *Arabidopsis thaliana*, mas também já foram amplamente estudados em cereais como arroz e milho (Schoof *et al.*, 2000; Jackson, 2002; Benková *et al.*, 2003; Bolduc *et al.*, 2012; Tsuda *et al.*, 2014).

As primeiras informações sobre a organização do meristema apical do caule resultaram de estudos histológicos realizados ainda no século XVIII. A partir de então, muitos pesquisadores buscaram interpretar a maneira pela qual as células estariam organizadas no meristema apical. Em 1868, Johannes Hanstein propôs o conceito histogênico de organização e função dos meristemas em angiospermas (Hanstein, 1868, *apud* Steeves, 2006). Em 1924, uma nova proposta levantada por Schmidt se baseou no plano de orientação das divisões celulares (Schmidt, 1924), sendo essa a primeira proposta que considerou que o meristema apical sofria alterações morfológicas de acordo com a fase de desenvolvimento. De acordo com a proposta de Schmidt, o meristema apical do caule é subdividido em duas grandes regiões celulares, denominadas de túnica e corpo. A túnica corresponde ao grupo de células dispostas superficialmente no meristema e que se dividem no plano anticlinal (ou longitudinalmente), enquanto o corpo corresponde às células localizadas em posições mais internas do

meristema apical do caule e que se dividem em todos os planos (Schmidt, 1924; Rösler, 1928; Steeves, 2006).

A divisão simplificada do meristema apical do caule em túnica e corpo pode ser sobreposta por um nível mais complexo de organização, o qual delimita camadas e zonas celulares de acordo com o tamanho das células, arranjo citoplasmático, frequência e plano das divisões mitóticas. Dessa forma, o meristema apical do caule de *arabidopsis*, por exemplo, possui uma região mais superficial caracterizada pela organização das células em três camadas sobrepostas, denominadas de L1, L2 e L3 (do inglês, *layer 1, 2 e 3*), ao passo que na região mais interna do meristema destaca-se um grupo pequeno de células formadoras da zona central (ZC) do meristema apical do caule (Figura 1). As camadas L1 e L2 geram a epiderme e a subepiderme dos caules, folhas e flores, e a camada L3 origina os tecidos internos dos órgãos aéreos. Na região de sobreposição entre a camada L3 e a zona central encontra-se o centro organizador do meristema, cujas células formam, juntamente às suas células iniciais imediatas, o nicho de células-tronco que se autoperpetua por meio de taxas relativamente baixas de divisões mitóticas (Stewart e Dermen; 1970; Steeves, 2006; Wang e Li, 2008).

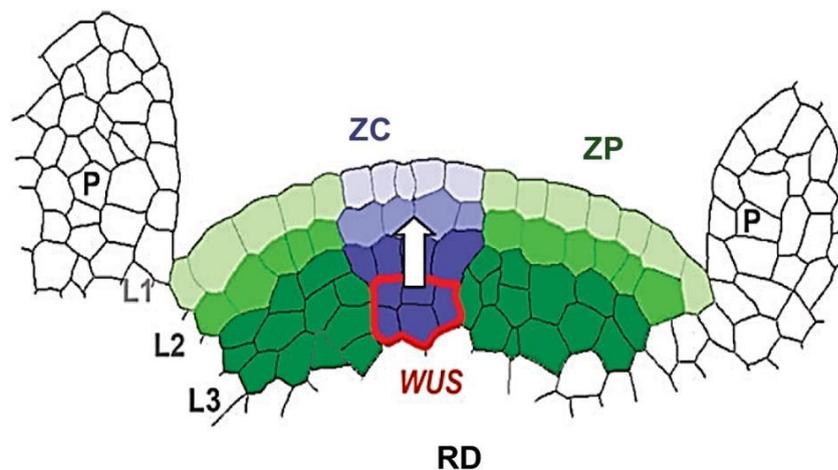


FIGURA 1. Estrutura do meristema apical do caule (corte longitudinal na região central do meristema). As células concêntricas L1, L2 e L3 são indicadas por diferentes intensidades de cor. A zona central (ZC) é representada em roxo e a zona periférica (ZP) em verde. A posição da região diferenciada do meristema (RD) é indicada abaixo do domínio do meristema. O centro organizador, onde ocorre a expressão do gene *WUS*, encontra-se circulado em vermelho. A seta branca representa o sinal intercelular produzido pelas células que expressam *WUS* para a manutenção da identidade e proliferação celular na zona central. “P” representa os primórdios foliares ao redor do meristema. Sablowski, 2007.

Na zona periférica do meristema apical do caule, localizada ao redor deste domínio meristemático, encontram-se as células derivadas, que são morfológicamente indiferenciadas e se dividem mais rapidamente. A diferenciação delas, por sua vez, ocorre em regiões específicas da periferia do meristema para a formação de primórdios foliares, sendo que o acúmulo local de auxina nestas regiões representa um componente-chave na definição dos padrões de filotaxia e de iniciação de novos órgãos caulinares em geral. Além disso, a especificação do destino celular no meristema apical do caule se dá por um processo dinâmico intimamente relacionado a alterações nos padrões de crescimento e mudanças transitórias na ativação e/ou repressão gênica (Furutani *et al.*, 2004; Jonsson *et al.*, 2006; Wang e Li, 2008; Reddy, 2008).

A manutenção do nicho de células-tronco nas imediações do centro organizador do meristema é dependente da expressão de genes reguladores como *WUSCHEL* (*WUS*), que age especificamente no centro organizador, *CLAVATA 3* (*CLV3*), que age na zona central, e *KANADI 1* (*KAN1*), que atua na

zona periférica (Yadav *et al.*, 2013). *WUS* é um fator de transcrição que atua como um sinal primário para a organização das células-tronco, conferindo identidade meristemática caulinar e inibindo a diferenciação. A importância desse gene para a manutenção da estrutura celular do meristema apical foi verificada nos mutantes *wus* de *A. thaliana*, os quais apresentam parada prematura da atividade do meristema apical do caule devido à diferenciação de todas as células-tronco, havendo assim falhas na formação de tecidos e órgãos caulinares envolvidos no desenvolvimento das plântulas (Mayer *et al.*, 1998; Leibfried *et al.*, 2005; Bögre, Magyar e López-Juez, 2008).

A proteína *WUS* exerce sua função na manutenção da funcionalidade do nicho de células-tronco no meristema apical caulinar pela interação com proteínas codificadas pelos genes *CLAVATA 1 (CLV1)*, *2 (CLV2)* e *3 (CLV3)*, a qual se dá pelo trânsito intercelular de *WUS* e *CLV3* via plasmodesmata. Essa interação parece formar um sistema dinâmico de regulação espacial e temporal das divisões celulares no centro organizador do meristema por retroregulação, pois mutantes para genes *CLAVATA* apresentam meristemas maiores, com maior domínio de células-tronco, o que coincide com a expansão da região de expressão de *WUS* e com o centro organizador altamente desorganizado (Schoof *et al.*, 2000; Bäurle e Laux, 2003; Williams e Fletcher, 2005).

Além disso, *WUS* também atua reprimindo a expressão de *KAN1* na zona periférica do meristema apical, o que contribui para a determinação do início da diferenciação das células meristemáticas (Yadav *et al.*, 2013). Para tentar explicar a regulação da manutenção das células-tronco no ápice meristemático, Yadav *et al.* (2013) criaram um modelo computacional integrando as interações

entre WUS e CLVs e entre WUS e KAN1, onde foram identificados os padrões espaciais de expressão de *CLV3* e *KAN1*.

Assim, o modelo vigente para explicar o mecanismo que confere a manutenção da organização e atividade do meristema apical do caule de *A. thaliana* propõe que o gene *WUS* seja expresso no centro organizador, logo abaixo das células que expressam *CLV3*, cuja proteína sinalizadora parece atuar como ligante e ativador do complexo quinase no receptor formado pela interação entre as proteínas CLV1 e CLV2. Uma vez ativado, o sistema CLV1-CLV2-CLV3 restringe o domínio de expressão de *WUS* a poucas células no centro organizador. Como *WUS* também ativa a expressão de *CLV3* na região vizinha ao centro organizador, o sistema proteico CLV1-CLV2-CLV3 acaba então limitando a expressão de seus próprios genes e, conseqüentemente, promovendo a expansão do domínio das células-tronco. Dessa forma, a interação entre as proteínas *WUS* e CLAVATAs parece estabelecer um mecanismo de autorregulação que garante a manutenção de um número aproximadamente constante de células-tronco no meristema apical do caule. Ainda, a regulação da manutenção das células-tronco no meristema também tem a participação de outros genes, como por exemplo, *KAN1*, que é expresso na zona periférica e cuja repressão, mediada por *WUS*, impede a diferenciação prematura de células-tronco (Brand *et al.*, 2000; Schoof *et al.*, 2000; Green *et al.*, 2005; Reddy, 2008; Yadav *et al.*, 2013).

Além do sistema formado pelas proteínas *WUS* e CLAVATAs, a manutenção de células-tronco do meristema apical caulinar também depende da expressão de genes da família *KNOX*, como *SHOOTMERISTEMLESS (STM)*. *STM* codifica um fator de transcrição expresso em toda a extensão do meristema

onde não há diferenciação celular. O gene *STM* atua como um repressor da diferenciação celular no meristema apical, mantendo as células meristemáticas em um estado morfológicamente indiferenciado, bem como permitindo a proliferação celular mais rápida nos flancos do meristema onde não há formação de primórdios foliares (Long *et al.*, 1996; Lenhard, Jurgens e Laux, 2002; Scofield e Murray, 2006; Bögre, Magyar e López-Juez, 2008; Shi *et al.*, 2016; Balkunde *et al.*, 2017). A expressão desse gene parece ser essencial para o correto funcionamento meristemático, uma vez que plantas mutantes *stm* apresentam problemas na manutenção da organização e atividade do meristema apical do caule (Clark *et al.*, 1996; Endrizzi *et al.*, 1996; Long *et al.*, 1996).

Os fenótipos dos mutantes *stm* e *wus* são ligeiramente semelhantes entre si, marcados pela perda precoce do potencial meristemático das células do meristema, levando ao esgotamento da sua atividade e, conseqüentemente, à perda da capacidade de produção de novos órgãos (Endrizzi *et al.*, 1996; Laux *et al.*, 1996). No entanto, tais mutantes diferem no modo com que estes eventos ocorrem, uma vez que, nos mutantes *stm*, as células meristemáticas são direcionadas precocemente à formação de órgãos, enquanto em mutantes *wus* elas são mantidas em um estado desorganizado e não-meristemático em termos histológicos (Endrizzi *et al.*, 1996; Mayer *et al.*, 1998).

### **2.3 Escalas de desenvolvimento foliar e meristemático**

As escalas de desenvolvimento foliar mais conhecidas e utilizadas em cereais de inverno são aquelas propostas por Feekes e modificada por Large (1954), Zadoks, Chang e Konzak (1974) e Haun (1973). A escala Feekes-Large abrange todos os estádios morfológicos dos cereais, da emergência de plântulas

à maturação dos grãos. Estes, por sua vez, são subdivididos, visando obter um maior detalhamento de cada estágio. A escala Zadoks é similar à escala Feekes-Large, porém mais simples e de fácil utilização. Esta escala é baseada em códigos decimais, onde o primeiro dígito compreende a fase principal do desenvolvimento (0 – germinação a 9 – maturação) e o segundo dígito fornece informações adicionais sobre cada estágio. A escala Haun, proposta inicialmente para a cultura do trigo, é um método rápido e fácil de avaliar o desenvolvimento de gramíneas, principalmente durante o estágio vegetativo. A escala Haun é, assim como a escala Zadoks, baseada em códigos decimais, onde o primeiro dígito indica o número de folhas completamente desenvolvidas (com a lígula aparente) no colmo principal e o segundo dígito indica, em percentual, o estágio de desenvolvimento da folha em processo de emissão em relação à folha logo anterior (última folha completamente emitida, Figura 2).

O desenvolvimento do meristema apical de cereais também pode ser mensurado por escalas, porém essas são mais difíceis de serem utilizadas devido à necessidade de dissecação das plantas. As escalas de desenvolvimento de inflorescências mais conhecidas são: Percival (1921), Bonnett (1966) e Nerson, Sibony e Pinthus (1980). A escala apresentada inicialmente por Percival (1921) foi melhor detalhada por Bonnett (1966), que também ilustrou as fases de desenvolvimento da inflorescência de trigo, aveia, cevada e outros cereais. Posteriormente, Nerson, Sibony e Pinthus (1980) sugeriram uma nova escala para trigo, com mais ilustrações além daquelas apresentadas por Bonnett (1966).

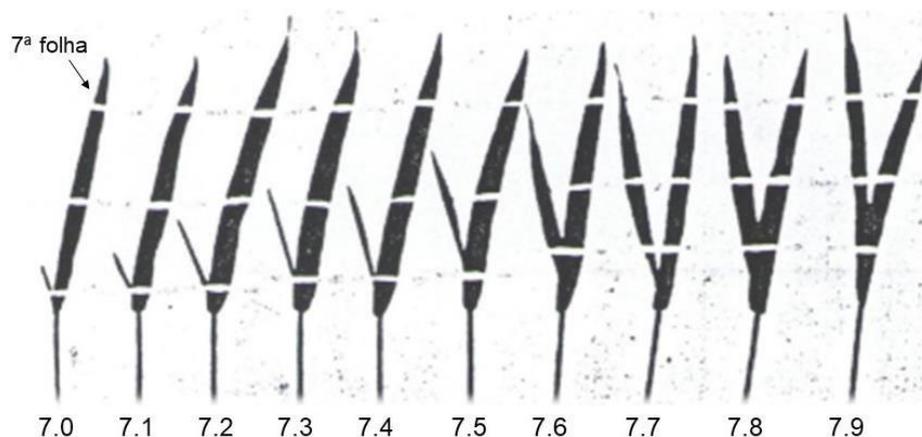


FIGURA 2. Esquema da análise do desenvolvimento foliar através da Escala Haun. Adaptado de Haun, 1973.

As condições ambientais exercem forte influência no momento da transição floral do meristema caulinar, podendo antecipar ou atrasar o seu início, o que impossibilita o uso do tempo de calendário para estimar esse momento. Devido a isso, tem sido buscada a associação do estágio de desenvolvimento do meristema apical com caracteres morfológicos de fácil visualização a campo, para facilitar a identificação aproximada de cada estágio e assim, permitir a adoção das práticas de manejo adequadas em cada momento. Uma das alternativas mais utilizadas para tal consiste na associação do desenvolvimento meristemático com as escalas de desenvolvimento foliar, como realizado por Laitano (1997). Outros caracteres morfológicos também podem ser utilizados para a associação com o desenvolvimento meristemático, como o comprimento da bainha da última folha completamente emitida, o número de afilhos e a predição da massa seca da planta, porém, estes últimos métodos são pouco precisos (Lozano *et al.*, 1984, Salisbury e Ross, 1992).

## 2.4 Controle ambiental e genético do florescimento em angiospermas

Muitos estudos sobre o controle genético e ambiental do florescimento são baseados na espécie modelo das dicotiledôneas *Arabidopsis thaliana*. No entanto, em *arabidopsis*, há um curto período de tempo entre a transição meristemática floral e o florescimento, enquanto que, nos cereais, esse período de tempo pode chegar a mais de trinta dias. Em cereais como a aveia e trigo, o desenvolvimento da inflorescência ocorre internamente ao pseudocolmo (bainhas foliares), de modo que só é possível sua visualização através da dissecação das plantas (Andrés e Coupland, 2012; Gol, Tomé e Korff, 2017). Assim, agronomicamente, considera-se o florescimento (exposição da inflorescência acima da folha bandeira) como o evento que marca a transição do estágio vegetativo para o estágio reprodutivo em cereais de inverno, por ser um evento de fácil visualização a campo, ao contrário do momento de transição meristemática floral, quando a planta entra no seu estágio reprodutivo, que não pode ser facilmente visualizado em condições de campo.

O florescimento é resultado de pelo menos dois processos em aveia: a expressão de genes de identidade meristemática floral, que induzem a transição meristemática, e o alongamento dos entrenós para exposição da inflorescência, que determina o florescimento agrônômico. Aqui caracterizar-se-á o primeiro processo. Os genes de identidade meristemática induzem a diferenciação do meristema apical do caule em tecido meristemático floral, o qual dará origem aos órgãos florais (Liu, Thong e Yu, 2009). De modo geral, há dois tipos de informações essenciais para que as plantas iniciem o processo de florescimento: alterações ambientais e alterações endógenas na planta. As rotas genéticas e

bioquímicas que respondem ao ambiente e estão envolvidas com o florescimento geralmente são denominadas rotas de florescimento. Por outro lado, as rotas endógenas do florescimento são referidas como rotas autônomas, pois essas rotas parecem ser independentes de sinais ambientais (Amasino, 2010). De acordo com Teotia e Tang (2015), os principais sinais ambientais que afetam o florescimento são a temperatura e o fotoperíodo, enquanto que os principais sinais endógenos são a juvenilidade, os níveis hormonais (especialmente giberelinas) e o relógio circadiano.

Os mecanismos fisiológicos, genéticos e moleculares envolvidos no florescimento têm sido amplamente estudados em diferentes espécies de plantas. Em aveia, estudos sobre o florescimento permitiram a identificação de QTL (*Quantitative Trait Loci*) associados à insensibilidade ao fotoperíodo e a resposta à vernalização. Entretanto, ainda é necessário um melhor entendimento de como os sinais ambientais são percebidos pela planta, como interagem e induzem a expressão de genes que desencadeiam o florescimento. A existência de múltiplas rotas bioquímicas no controle do florescimento, juntamente com os diferentes mecanismos de regulação gênica, justifica a grande plasticidade observada para o caráter florescimento em aveia nos mais variados ambientes onde esse cereal é cultivado (Nava, 2008; Nava *et al.*, 2012; Dutra, 2017). No entanto, como o ciclo da cultura da aveia no Brasil foi significativamente reduzido nos últimos anos, visando a manutenção desta como alternativa de cultivo de inverno antes de soja e milho, é relevante compreender como essa redução de ciclo afetou a percepção dos diferentes sinais ambientais pela planta para a indução do florescimento, visando determinar quais fatores ambientais são

realmente importantes para a determinação da transição meristemática floral nos genótipos modernos de aveia e quais as suas respectivas magnitudes.

Em cereais de inverno, como trigo (*Triticum aestivum* L.) e cevada (*Hordeum vulgare* L.), o florescimento é dependente da interação entre os efeitos do fotoperíodo, vernalização e soma térmica (Song, Ito e Imaizumi, 2010). Na espécie modelo *A. thaliana*, a rota do florescimento apresenta complexas interações, que são dependentes de diversos sinais endógenos e ambientais. A percepção destes sinais ativa a expressão dos genes integradores de florescimento *SUPPRESSOR OF OVEREXPRESSION OF CONSTANS* (*SOC1*), *FLOWERING TIME* (*FT*) e *AGAMOUS LIKE 24* (*AGL24*). Estes genes atuam na ativação dos genes de identidade meristemática *LEAFY* (*LFY*), *APETALA 1* (*AP1*), *SEPALLATA 3* (*SEP3*) e *FRUITFULL* (*FUL*), que conferem a transição do meristema vegetativo para o primórdio floral, cujo processo é irreversível, devido à complexidade das rotas bioquímicas e do número de genes envolvidos no seu controle (Amasino, 2010; Blumel, Dally e Jung, 2015).

#### **2.4.1 Juvenilidade**

Alterações endógenas de desenvolvimento são essenciais para conferir às plantas a competência para florescer, ou seja, a capacidade de responder aos estímulos ambientais externos para iniciar a fase reprodutiva. Uma característica endógena requerida para o florescimento em diversas espécies vegetais é a transição durante a fase vegetativa, quando a planta passa da fase juvenil para a adulta. Dependendo da espécie, essa mudança pode ser caracterizada por alterações em várias características morfológicas das plantas, como alteração no tamanho e formato de folhas, presença de tricomas foliares, produção de

raízes adventícias, alteração da arquitetura da parte aérea, entre outras. Em *arabidopsis*, a transição para a fase adulta está associada à produção de folhas grandes, serrilhadas e espatuladas, onde podem ser observados tricomas na face abaxial, enquanto as folhas produzidas durante a fase juvenil são pequenas, redondas, lisas e glabras (Xu, Zhang e Wu, 2018; Fouracre e Poethig, 2019).

Estudos relatam que a regulação da mudança de fase vegetativa em plantas é conferida pelos microRNAs 156 e 172 (miR156 e miR172, respectivamente), tanto em dicotiledôneas, como *arabidopsis* (Figura 3), quanto em monocotiledôneas, como arroz, milho, trigo e cevada (Yu, Lian e Wang, 2015; Tripathi, Bregitzer e Singh, 2018; Wingler, 2018; Xu, Zhang e Wu, 2018; Zhang e Ling, 2018; Fouracre e Poethig, 2019). Durante a fase juvenil há uma elevada expressão de miR156, que atua reprimindo a expressão de genes da família *SQUAMOSA PROMOTER BINDING PROTEIN-LIKE (SPL)*, que codificam fatores de transcrição reguladores do crescimento e desenvolvimento.

A família gênica *SPL* foi identificada inicialmente em *Antirrhinum majus*, mas parece ser conservada entre diferentes espécies. Já foram identificados 17 genes *SPL* em *arabidopsis*, 19 em arroz, 30 em milho, 10 em trigo e 17 em cevada (Shao *et al.*, 1999; Zhang *et al.*, 2014; Tripathi, Bregitzer e Singh, 2018; Wei *et al.*, 2018). Dos 17 genes *SPL* em *arabidopsis*, 10 são regulados negativamente por miR156 (Wu e Poethig, 2006; Zhang e Ling, 2018). Em cevada, observou-se que 7 dos 17 genes *SPL* são regulados negativamente por miR156, mas todos os 17 genes apresentam aumento de expressão após a transição de fase vegetativa, quando miR172 está sendo altamente expresso, demonstrando o envolvimento dos genes *SPL* na transição de fases juvenil-adulta também nas plantas de cevada (Tripathi, Bregitzer e Singh, 2018).

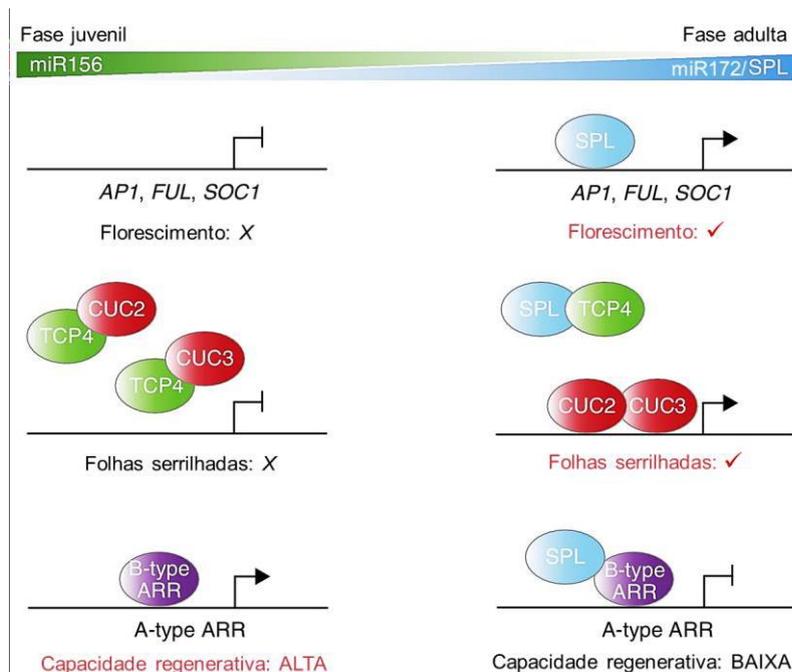


FIGURA 3. Regulação da mudança de fase vegetativa na planta modelo *Arabidopsis thaliana* por miR156 e miR172. Durante a fase juvenil, miR156 reprime a expressão de genes *SQUAMOSA PROMOTER BINDING PROTEIN-LIKE* (SPL), envolvidos na indução de genes das rotas do florescimento (*APETALA 1* – *AP1*, *FRUITFULL* – *FUL*, *SUPPRESSOR OF OVEREXPRESSION OF CONSTANS 1* – *SOC1*) e de morfologia foliar (*CUP-SHAPED COTYLEDON 2* e *3* – *CUC 2* e *3*, *TEOSINTE BRANCHED 1*, *CYCLOIDEA*, e *PCF 4* – *TCP4*) e na repressão de genes de capacidade regenerativa (*B-TYPE AUTHENTIC RESPONSE REGULATOR* – *B-type ARR*). Na fase adulta, ocorre redução da expressão de miR156, promovendo um aumento de proteínas SPL. As proteínas SPL atuam tanto na indução de miR172 como na indução de genes das rotas do florescimento e morfologia foliar e na repressão de genes de capacidade regenerativa. Setas indicam indução de transcrição e linhas interrompidas (—) indicam repressão da transcrição. Adaptado de Yu, Lian e Wang, 2015.

Na ausência de proteínas SPL, as plantas de *arabidopsis* não são aptas a florescer, mesmo na presença de sinais ambientais favoráveis, pois não há a expressão de importantes genes da rota do florescimento, como *AP1*, *FUL* e *SOC1*. Contudo, quando ocorre a transição de fase juvenil e as plantas se tornam adultas, há redução de expressão de miR156, que reprime os genes SPL, aumentando a concentração de proteínas SPL (Fornara e Coupland, 2009). Essas proteínas atuam na indução de expressão de miR172, que, por sua vez, é responsável por reprimir a expressão de genes da família *APETALA 2 – LIKE* (*AP2-like*), como *SCHLAFMÜTZE* (*SMZ*; repressor do florigeno *FT*), *SCHNARCHZAPFEN* (*SNZ*; repressor do florigeno *FT*), *TARGET OF EAT 1 e 2*

(*TOE1* e *TOE2*; repressores de características adultas na epiderme foliar) (Wu e Poethig, 2006; Wu *et al.*, 2009; Tripathi, Bregitzer e Singh, 2018). Além disso, na presença de proteínas SPL, há a indução da transcrição dos genes *AP1*, *FUL* e *SOC1*, conferindo às plantas a capacidade de responderem aos estímulos externos para a indução do florescimento (Wu e Poethig, 2006; Xu, Zhang e Wu, 2018; Zhang e Ling, 2018; Fouracre e Poethig, 2019).

#### **2.4.2 Rota do fotoperíodo**

*Arabidopsis thaliana*, assim como a aveia, é uma planta de dia longo. Em *arabidopsis*, os mutantes para genes que afetam o florescimento são facilmente reconhecidos. Mutantes com comprometimento da indução de florescimento em dias longos formam um maior número de folhas no meristema apical quando comparados às plantas silvestres, florescendo mais tardiamente. De outro modo, mutantes onde a rota do fotoperíodo é “hiperativada” florescem antecipadamente aos genótipos silvestres e com menos folhas quando o fotoperíodo não é indutivo (dias curtos) (Amasino, 2010).

Sob fotoperíodo longo, a proteína CONSTANS (CO) induz a ativação transcricional do gene *FT* nas folhas de *A. thaliana* (Figura 4) (López *et al.*, 2001). O gene *FT* tem um papel específico no processo de transição floral, por constituir, primeiro, o integrador floral de grandes rotas, e segundo, por sua proteína ser um sinal móvel, chamada de florígeno, que vai das folhas, através do floema, para o meristema, onde forma um complexo proteico com o fator de transcrição FLOWERING LOCUS D (FD) para promover o florescimento (Blumel, Dally e Jung, 2015). Esse complexo proteico desencadeia uma cascata de sinais que ativa genes de identidade floral, como os genes *AP1*, *FUL* e *SOC1* (Abe *et*

*al.*, 2005; Michaels *et al.*, 2005; Wigge *et al.*, 2005). A expressão do gene *SOC1* induz genes diretamente envolvidos no desenvolvimento dos órgãos florais (Lee *et al.*, 2008). Além disso, o gene *SOC1* também integra outras duas rotas de resposta na determinação do florescimento, as rotas de giberelinas (Moon *et al.*, 2003) e da juvenilidade (Wang, Czech e Weigel, 2009).

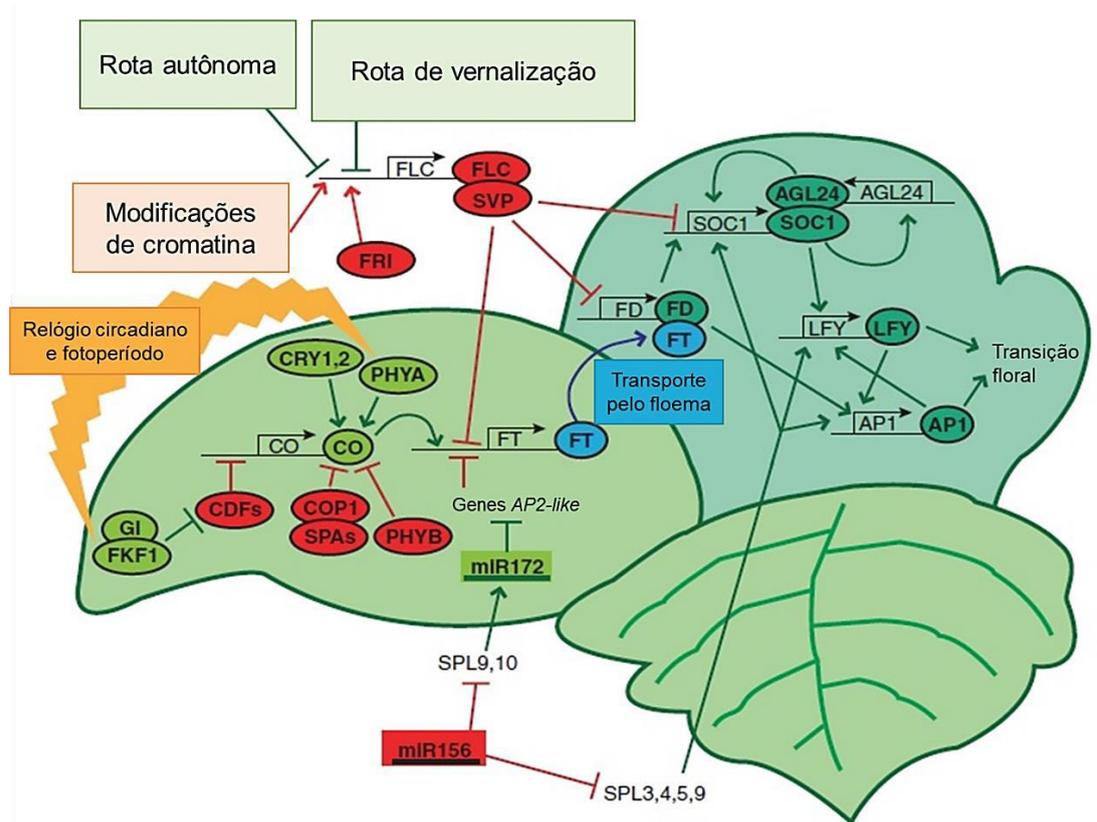


FIGURA 4. Visão geral da rota de florescimento em *Arabidopsis thaliana*. Componentes que favorecem o florescimento são representados em verde, enquanto aqueles que inibem o florescimento estão representados em vermelho. O florigeno FT está representado em azul. Proteínas são representadas por elipses. Setas indicam indução e linhas interrompidas (—) representam repressão. Amasino, 2010.

Em arroz (*Oryza sativa* L.), que diferentemente de *Arabidopsis* e aveia, é uma espécie de dias curtos, a rota do fotoperíodo é similar à de *A. thaliana* (Shrestha *et al.*, 2014). Através da clonagem gênica, foi possível a identificação dos genes *GIGANTEA* (*OsGI*) e *HEADING DATE 1* (*HD1*), os quais são ortólogos aos genes *GIGANTEA* (*GI*) e *CO*, respectivamente, de *Arabidopsis* (Hayama *et al.*, 2003; Andrés e Coupland, 2012). Além disso, *HEADING DATE*

*3a (HD3a)* e *RICE FT-LIKE 1 (RFT1)* são ortólogos ao gene *FT* de *A. thaliana* e, assim como este, atuam como florígenos em plantas de arroz (Komiya, Yokoi e Shimamoto, 2009).

De modo similar ao que ocorre em *A. thaliana*, o controle da expressão de *HD1* é crucial para promover a resposta ao fotoperíodo em arroz (Brambilla e Fornara, 2013). Porém, em arroz, a proteína *HD1* pode atuar tanto como indutora do florescimento, similar ao papel de *CO* em *arabidopsis*, mas também pode reprimir o florescimento em condições de fotoperíodo longo.

O gene *HD1* é regulado tanto por *OsGI* (rota do fotoperíodo) como pela percepção do comprimento do dia pelo fitocromo B (rota do relógio circadiano) (Hayama *et al.*, 2003; Ishikawa *et al.*, 2011). Em dias longos, a maior concentração de fitocromo B inibe a atividade de *HD1*, de modo que a expressão de *HD3a* é reduzida, atrasando o florescimento em arroz (Ishikawa *et al.*, 2011). Porém, em dias curtos, a presença de *OsGI*, associada à menor concentração de fitocromo B, induz a atividade da proteína *HD1*, fazendo com essa atue como ativadora da expressão do gene *HD3a* para promover o florescimento nas plantas de arroz (Ishikawa *et al.*, 2011; Song *et al.*, 2015). Além disso, Nemoto *et al.* (2016) demonstraram que *HD1* interage com a proteína GRAIN NUMBER, PLANT HEIGHT AND HEADING DATE 7 (*GHD7*), que possui um domínio CCT (*CO*, *CO-LIKE* and *TOC1*) e é altamente expresso em dias longos, reprimindo o gene *EARLY HEADING DATE 1 (EHD1)* em longos fotoperíodos.

*EHD1* atua ativando a transcrição de *HD3a* e de *RFT1* em dias curtos, independentemente de *HD1*, mas também pode ser promotor do florescimento em dias longos, quando *HD1* atua como repressor (Doi *et al.*, 2004). Desta forma, a regulação da expressão do gene *EHD1* é importante na determinação do

momento correto do florescimento em arroz, impedindo que esse ocorra em condições de fotoperíodo não-indutivo (dias longos). Até o momento não foram identificados genes ortólogos a *EHD1* e a *GHD7* em arábida (Shrestha *et al.*, 2014).

Trigo e cevada também possuem genes ortólogos aos genes *FT* e *CO* de *A. thaliana*, denominados *FT1/VRN3* (também chamado de *VERNALIZATION 3*) e *CO1*, respectivamente (Nemoto *et al.*, 2003; Yan *et al.*, 2006; Shimada *et al.*, 2009). Consistente com a ativação dependente de luz e de *CO* do gene *FT* em *A. thaliana*, a superexpressão de *HvCO1* resulta na indução de *HvFT1/VRN3* somente em dias longos em cevada (Campoli *et al.*, 2012). Em trigo, no entanto, a expressão de *CO1* diminui à medida que a planta passa do estágio vegetativo para o reprodutivo, tanto em dias longos como em dias curtos, enquanto a expressão de *FT1/VRN3* permanece elevada (Kitagawa, Shimada e Murai, 2012; Shaw *et al.*, 2013).

Em populações de aveia desenvolvidas no Brasil, um QTL de grande efeito sobre o florescimento foi identificado, onde foi localizada sequência apresentando homologia aos genes *HD1* de arroz e *CO* de *A. thaliana*, ambos promotores do florescimento em resposta ao fotoperíodo indutivo. Outros três QTL também foram identificados em aveia, responsáveis em antecipar o florescimento pela insensibilidade ao fotoperíodo ou pela precocidade *per se* das plantas (Locatelli *et al.*, 2006).

### **2.4.3 Rota da vernalização**

Estudos sobre os efeitos da vernalização em plantas de arábida iniciaram a partir da identificação de diferenças no requerimento de frio entre

ecótipos (Amasino, 2010). A vernalização pode ser definida como a capacidade da planta em responder aos sinais ambientais indutores do florescimento após passar por um período de baixa temperatura, que promove alterações na expressão de genes regulatórios da rota do florescimento (Amasino, 2004; Crevillén *et al.*, 2014). Sugere-se que a aquisição ou aceleração da resposta à vernalização ocorre no ápice meristemático (Amasino, 2004). Os estudos de Amasino (2010) permitiram a identificação dos genes *FLOWERING LOCUS C* (*FLC*) e *FRIGIDA* (*FRI*), necessários para a resposta à vernalização. O gene *FLC* tem sua expressão reprimida tanto pela rota autônoma quanto pela rota da vernalização (Sheldon *et al.*, 2008). A proteína FLC atua reprimindo a expressão de *FT* e *SOC1*. Desta forma, na ausência de vernalização ou de expressão de genes da rota autônoma, FLC impedirá a planta de florescer (Michaels e Amasino, 2001; Helliwell *et al.*, 2006). O gene *FRI* codifica uma proteína essencial para a promoção da transcrição de *FLC* e, através do recrutamento de fatores de transcrição e modificadores de cromatina, altera a expressão deste gene (Choi *et al.*, 2011). O estímulo de vernalização é capaz de bloquear a expressão de *FLC*, através de alterações na cromatina, tornando-o insensível a proteína FRI e levando ao desenvolvimento de um meristema apical competente para a transição floral na planta (Amasino, 2010).

Em *A. thaliana*, o mecanismo pelo qual a vernalização reprime o gene *FLC* é induzido pelos genes *VERNALIZATION 2* (*VRN2*) (Gendall *et al.*, 2001) e *VERNALIZATION INSENSITIVE 3* (*VIN3*) (Sung e Amasino, 2004). Outra proteína que é requerida para a vernalização e para mudanças na conformação da cromatina de *FLC* é *VERNALIZATION 5* (*VRN5*) (Greb *et al.*, 2007). O gene *VRN2*, juntamente com *VIN3*, *VRN5* e *VERNALIZATION LIKE 1* (*VEL1*), é

responsável por formar parte do complexo POLYCOMB REPRESSOR COMPLEX 2 (PHD-PRC2), que reprime a expressão do gene *FLC* em condições de vernalização (Holec e Berger, 2012).

O gene *FLC* permanece reprimido até o final do ciclo da planta, mesmo com o aumento da temperatura ambiente, demonstrando que a vernalização é um estímulo inicial para o desencadeamento de alterações epigenéticas, chamadas de memória epigenética ou memória de inverno (Sung e Amasino, 2004). A memória epigenética do gene *FLC* precisa ser apagada em algum momento após a transição floral para garantir a necessidade de vernalização nas gerações seguintes. Entretanto, os mecanismos envolvidos na reativação de *FLC* após a formação da semente ainda não são compreendidos (Berry e Dean, 2015).

Em trigo e cevada, o gene *VRN2* é análogo a *FLC* de arábida, desempenhando a função de reprimir a expressão do gene *FT1/VRN3*, principal responsável pela promoção do florescimento nestas espécies (Trevaskis *et al.*, 2003; Yan *et al.*, 2004). Assim como ocorre com o gene *FLC* em arábida, que é reprimido pela vernalização, *VRN2* em trigo e cevada também é regulado pelo estímulo de frio. Todavia, suas estruturas proteicas não são similares (Amasino, 2010).

A identificação e caracterização dos genes *VERNALIZATION 1 (VRN1)*, *VRN2* e *FT1/VRN3* em trigo e cevada, que estão envolvidos no processo de florescimento em plantas submetidas à vernalização, foram determinantes para um melhor entendimento de como a vernalização afeta o florescimento em genótipos responsivos a este estímulo. A similaridade molecular indica que

esses genes podem estar conservados em outras espécies de cereais, como a aveia (Nava, 2008).

A resposta à vernalização em trigo e cevada, diferentemente de *A. thaliana*, é conferida pela expressão do gene *VRN2*, que reprime *FT1/VRN3* em dias longos, de modo que a ocorrência do florescimento antes da vernalização é evitado (Figura 5) (Trevaskis *et al.*, 2007; Distefeld, Li e Dubcovsky, 2009; Kamran, Iqbal e Spaner, 2014). Durante a exposição ao frio, *VRN2* é reprimido por *VRN1* (Yan *et al.*, 2003; Blumel, Dally e Jung, 2014). O estudo apresentado por Traquilli e Dubcovsky (2000) reforça a ideia de que os genes *VRN1*, *VRN2* e *FT1/VRN3* participam do mesmo sistema regulatório e interagem de modo epistático entre si.

O gene *VRN2* em cereais não possui identidade molecular com o gene *VRN2* de *A. thaliana*. *VRN2* de cereais é um gene responsável por atrasar o florescimento da planta até ela passar pelo processo de vernalização. Ele é regulado pela vernalização e por dias curtos (Yan *et al.*, 2006). Em plantas vernalizadas, os níveis de *VRN2* diminuem durante a exposição ao frio enquanto a expressão do gene *VRN1* é aumentada. A expressão de *VRN1* se mantém elevada mesmo após a temperatura ambiente aumentar, promovendo o florescimento e participando da definição da identidade dos órgãos florais (Trevaskis *et al.*, 2007).

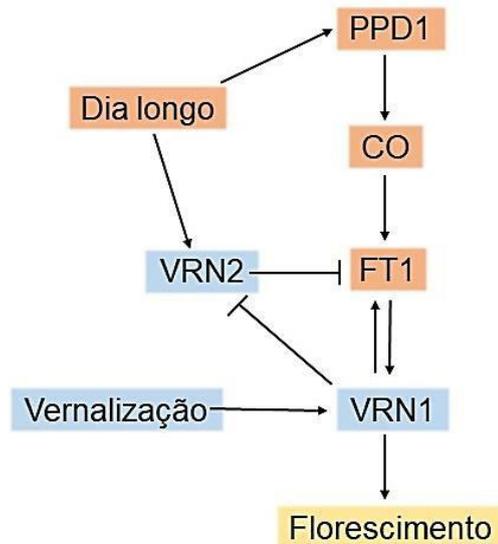


FIGURA 5. Rotas do fotoperíodo e da vernalização para a promoção do florescimento em cereais de inverno. A resposta ao fotoperíodo é apresentada em laranja. A rota da vernalização é mostrada em azul. O gene *VRN2* é o integrador das rotas do fotoperíodo e da vernalização. Setas indicam indução e linhas interrompidas (—|) representam repressão. Adaptado de Shaw *et al.*, 2019.

Em gramíneas como trigo, cevada e *Brachypodium distachyon*, a exposição de plantas jovens a períodos prolongados de baixa temperatura aceleraram o florescimento pela ativação transcricional do gene *VRN1*. Desta forma, esse gene é considerado um regulador direto do florescimento e está conservado em outras espécies vegetais, como *A. thaliana* (Teotia e Tang, 2015). Mutantes de trigo diploide (*Triticum monococcum*) com deleções completas do gene *VRN1* resultam em plantas que permanecem indefinidamente no estágio vegetativo, demonstrando que *VRN1* é um gene essencial para a transição meristemática do estágio vegetativo para o estágio reprodutivo (Shitsukawa *et al.*, 2007). Em cevada, o aumento na expressão do gene *VRN1* ocorre 24 horas após a exposição de plântulas ao tratamento de vernalização. Isto indica que este gene deve ser expresso em níveis basais nos estádios iniciais de desenvolvimento e a sua expressão é regulada por baixas temperaturas (Oliver *et al.*, 2013).

O gene *VRN1* codifica um fator de transcrição que apresenta elevada similaridade com os genes de identidade meristemática *AP1*, *CAULIFLOWER* (*CAU*) e *FUL* de *Arabidopsis* (Preston e Kellogg, 2007; Distefeld, Li e Dubcovsky, 2009; KAMRAN, IQBAL e SPANER, 2014), porém não apresenta nenhuma similaridade molecular ao gene *VRN1* de *Arabidopsis*. A expressão relativa do gene *VRN1* em espécies de gramíneas como cevada, trigo e *B. distachyon* foi caracterizada em diversos estudos nos últimos anos. Em cevada, a expressão do gene *HvVRN1* aumenta gradualmente nas folhas e no meristema apical em resposta ao tratamento de vernalização. A expressão do gene *HvVRN1* em cevada ocorre independente da rota do florescimento em resposta ao fotoperíodo. No entanto, plantas jovens que recebem um tratamento prolongado de baixas temperaturas apresentam níveis superiores de expressão do gene *HvVRN1* em condições de fotoperíodo longo (Trevaskis *et al.*, 2006; Sasani *et al.*, 2009). Respostas similares ao tratamento de vernalização foram observadas em trigo, onde a expressão do gene *TaVRN1* aumenta em tecidos foliares em plantas vernalizadas e crescidas em condições de dias longos (Yan *et al.*, 2003; Preston e Kellogg, 2007). No entanto, em trigo não está totalmente elucidado se a indução do florescimento ocorre em resposta ao tratamento de vernalização ou pelos efeitos combinados de baixas temperaturas e fotoperíodo longo.

*FT1/VRN3* também é importante para integrar as vias de resposta à vernalização e ao fotoperíodo (Yan *et al.*, 2006; Distefeld, Li e Dubcovsky, 2009; Liu *et al.*, 2013). Após a sua indução, *FT1/VRN3* ativa genes envolvidos na transição meristemática, incluindo o gene *VRN1*. Portanto, os genes *VRN1* e *FT1/VRN3* atuam em conjunto para promover o florescimento em cereais de inverno (Distefeld, Li e Dubcovsky, 2009).

Através de estudos com genótipos contrastantes para o caráter florescimento em *B. distachyon* foi possível a identificação de genes ortólogos aos encontrados em rotas do florescimento em outras gramíneas e em *A. thaliana* (Higgins, Bailey e Laurie, 2010). Em plantas com o florescimento tardio, foram identificados níveis baixos de expressão dos genes *VRN1* e *FT1/VRN3*, o que sugere a conservação de função desses genes (Ream *et al.*, 2014). Um ortólogo ao gene *VRN2* foi identificado em *B. distachyon*, e atua como repressor do florescimento. No entanto, esse gene pode não estar envolvido diretamente na resposta à vernalização nesta espécie, uma vez que a expressão de *VRN2* não é controlada por *VRN1* (Woods *et al.*, 2017). A identificação de QTL de menor efeito no florescimento sugere a participação de outros reguladores no controle desta característica em *B. distachyon* (Bettgenhaeuser *et al.*, 2017).

Em plantas de cereais de inverno vernalizadas e expostas a fotoperíodo longo ocorre um aumento da expressão do gene *VRN1* (Trevaskis *et al.*, 2003), diminuição da expressão do gene *VRN2* (Yan *et al.*, 2004) e aumento da expressão do gene *CO* (Putterill *et al.*, 1995). Um modelo de competição entre as proteínas *VRN2* e *CO* pelo sítio de ligação da região promotora do gene *FT1/VRN3* tem sido sugerido, pois as duas proteínas apresentam o mesmo domínio “CO”. Nessas condições haverá uma maior concentração de proteínas *CO* em comparação a *VRN2*, e isso promoverá o florescimento. Caso não haja vernalização, as duas proteínas vão estar presentes em alta concentração, diminuindo a indução do florescimento (Li *et al.*, 2011).

O gene codificante da proteína VERNALIZATION INSENSITIVE 3 – LIKE (*VIL*) é ativado por condições de baixa temperatura em dias curtos. Com o aumento da temperatura, o nível de expressão de *VIL* reduz, voltando aos níveis

anteriores à vernalização. *VIL* é ativado no início do tratamento de frio, precedendo a ativação de *VRN1*. A influência de temperaturas baixas e fotoperíodo curto, bem como a estrutura idêntica do domínio da proteína codificada pelo gene *VIL*, em *Arabidopsis* e em cereais, supõe funções similares entre as espécies (Fu, Dunbar e Dubcovsky, 2007; Koyama *et al.*, 2012).

#### **2.4.4 Modelo “ABCDE” do florescimento**

As espécies *Arabidopsis thaliana* e *Antirrhinum majus* foram utilizadas para a construção do modelo genético “ABCDE” de controle do desenvolvimento floral, onde cinco classes de genes, “A”, “B”, “C”, “D” e “E” são responsáveis pela determinação de cada órgão floral, como sépalas, pétalas, estames, carpelos e óvulos (Figura 6). Em *Arabidopsis*, os genes *AP1* e *APETALA* (*AP2*) representam a classe “A”, os genes *APETALA 3* (*AP3*) e *PISTILLATA* (*PI*) representam a classe “B” e a classe “C” é representada apenas pelo gene *AGAMOUS* (*AG*). A classe “D” é representada pelos genes *SEEDSTICK* (*STK*), *SHATTERPROOF 1* (*SHP1*) e *SHATTERPROOF 2* (*SHP2*) e a classe “E”, pelos genes *SEPALLATA 1* (*SEP1*), *SEPALLATA 2* (*SEP2*), *SEP3* e *SEPALLATA 4* (*SEP4*) e pelo gene *AGAMOUS LIKE 6* (*AGL6*) (Theißen, 2001; Kater, Dreni e Colombo, 2006; Murai, 2013; Theißen, Melzer e Rümpler, 2016).

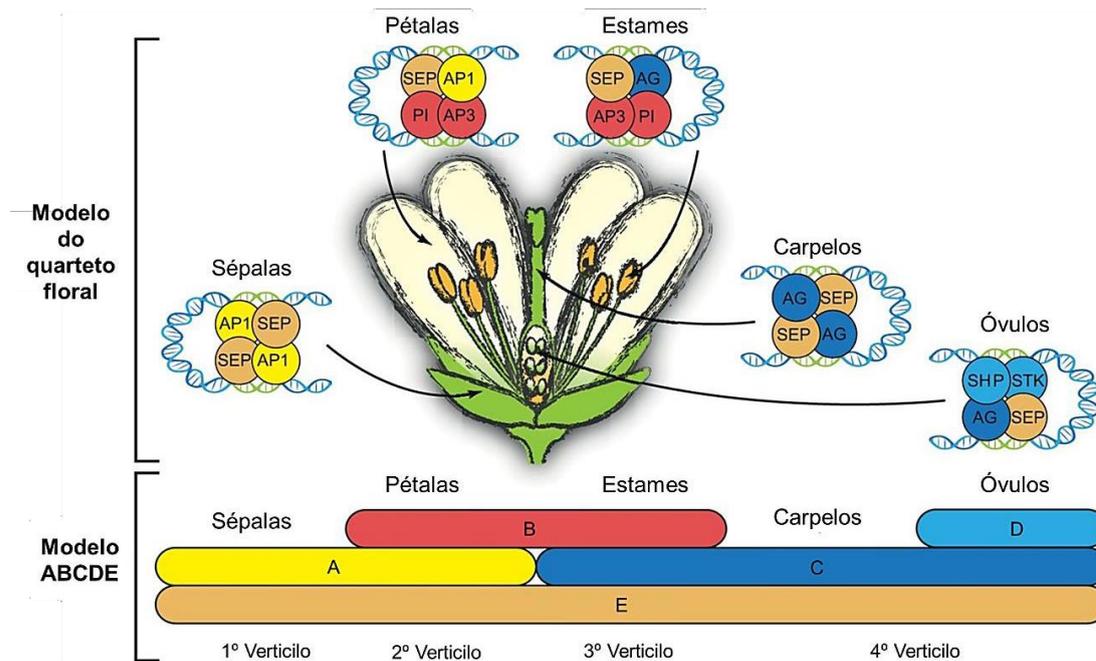


FIGURA 6. Comparação dos modelos do quarteto floral e “ABCDE” de desenvolvimento floral em *Arabidopsis thaliana*. Theißen, Melzer e Rümpler, 2016.

Os genes constituintes do modelo “ABCDE” do florescimento são, em sua maioria, pertencentes à família *MADS-box* (Hemming e Trevaskis, 2011). O gene *PANCILE PHYTOMER 2 (PAP2)*, descrito em arroz, codifica um fator de transcrição da família *MADS-box* similar aos genes *SEPALLATA (SEPALLATA-like)*. *PAP2* é expresso diretamente no meristema apical e constitui o componente principal do modelo “ABCDE” de arroz, pertencendo à classe “E”. Mutantes *pap2* apresentam reversão de órgãos florais em estruturas similares a folhas, que pode ser explicado pela perda parcial da identidade meristemática (Gao *et al.*, 2010; Kobayashi *et al.*, 2012; Bommert e Whippleb, 2018). Além de *PAP2*, outro grupo de genes *MADS-box*, recentemente identificados em arroz, demonstraram estar envolvidos na identidade de inflorescência de meristemas. Estes genes, *OsMADS14*, *OsMADS15* e *OsMADS18*, são ortólogos a *AP1* e *FUL* de *Arabidopsis* e pertencem à classe “A” do modelo “ABCDE” do florescimento (Kobayashi *et al.*, 2012; Murai, 2013; Bommert e Whipple, 2018). Kobayashi *et al.* (2012) demonstraram que estes genes contribuem de forma redundante a

*PAP2* na transição meristemática de arroz, embora ainda não esteja claro se há interação entre eles.

Após a determinação da identidade de inflorescência no meristema, deve haver a determinação do número de conjuntos florais (espiguetas) e flores a serem produzidas na inflorescência (identidade meristemática das espiguetas). O gene *SUPERNUMERARY BRACT (SNB)* de arroz pertence ao grupo de genes *AP2* de *Arabidopsis* e está intimamente relacionado ao gene *INDETERMINATE SPIKELET 1 (IDS1)*, de milho, e ao gene de domesticação *Q*, de trigo. *SNB*, assim como *IDS1*, está envolvido no controle da arquitetura da inflorescência (Lee *et al.*, 2007; Lee e An, 2012). Assim como os genes *OsMADS14*, *15* e *18*, *SNB* também pertence à classe “A” do modelo “ABCDE” (Murai, 2013). Mutantes de arroz com perda de função do gene *SNB* atrasam a transição do meristema das espiguetas e produzem glumas extras antes da iniciação floral, além da transformação de glumas e lodículas em estruturas similares à lema e pálea em algumas espiguetas (Lee *et al.*, 2007). Lee *et al.* (2007) demonstraram também que transcritos *SNB* estão presentes de forma abundante em panículas com até 0,5 cm de comprimento e em baixos níveis em panículas maiores e órgãos vegetativos, sugerindo assim que o gene *SNB* é expresso preferencialmente no início do desenvolvimento da panícula.

Além de *SNB*, os genes *OsIDS1* e *FRIZZY PANICLE (FZP)* também estão presentes no genoma do arroz e têm papel na regulação da identidade meristemática de espiguetas. *OsIDS1* e *FZP* são ortólogos a *IDS1* e *BRANCHED SILKLESS 1 (BD1)* de milho, respectivamente. O gene *OsIDS1* também é similar ao gene *LFY* de *A. thaliana* (Lee *et al.*, 2007; Lee e An, 2012; Bommert e Whipple, 2018). Lee e An (2012) demonstraram que, além dos genes *SNB* e

*OsIDS1* serem redundantes, eles também são responsivos a fotoperíodo, dose-dependentes e regulados por miR172. Estudos do padrão de expressão do miR172 em arroz mostraram que os miRNAs são detectados em meristemas vegetativos, mas seu nível de expressão reduz significativamente após a transição meristemática para o estágio reprodutivo, consistente com seu papel na regulação do desenvolvimento meristemático (Lee e An, 2012).

Em trigo, *TaMADS51* e *TaMADS82* foram os primeiros genes da classe “B” do modelo “ABCDE” a serem descobertos e são homólogos ao gene *TaAP3* (Murai *et al.*, 1998). Além destes, outros genes também fazem parte da classe “B”, como os genes *WHEAT PISTILLATA 1 (WPI1)* e *WHEAT PISTILLATA 2 (WPI2)* (Hama *et al.*, 2004). Na Tabela 1 é apresentada uma comparação entre genes envolvidos no modelo “ABCDE” nas espécies *A. thaliana*, *O. sativa* e *T. aestivum*.

Em relação aos genes envolvidos na identidade meristemática floral de aveia, foram identificadas sequências de DNA de plantas de aveia hexaploide, similares a três genes de identidade meristemática do modelo “ABCDE” presente em outras espécies, *VRN1*, *AP2* (Zimmer *et al.*, 2017) e *AGL6*, demonstrando que estes genes parecem estar conservados também no genoma da aveia.

TABELA 1. Comparação entre genes de arábido, arroz e trigo nas diferentes classes gênicas do modelo “ABCDE”. Adaptada de Murai, 2013.

Classe	Arabidopsis	Arroz	Trigo
Classe “A”	AP1	OsMADS14/RAP1B	WFUL1/VRN1
		OsMADS15/RAP1A	WFUL2
		OsMADS18	WFUL3
Classe “A”	AP2	SNB	TaAP2
		OsIDS1	Q
		MFS1	
Classe “B”	AP3	OsMADS16/SPW1	WAP3/TaAP3 *
	PI	OsMADS2	WPI2/TaPI-2/TaAGL26
Classe “B”		OsMADS4	WPI1/TaPI-1
		OsMADS3	WAG2/TaAG-2/TaAGL39
Classe “C”	AG	OsMADS58	WAG1/TaAG-1
		OsMADS13	WSTK **
Classe “D”	STK		
	SHP1, 2		
Classe “E”	SEP1, 2, 3, 4	OsMADS7/OsMADS45	WSEP
		OsMADS8/OsMADS24	TaMADS1
		OsMADS1/LHS1	WLHS1
		OsMADS5/OSM5	
	(AGL6)	OsMADS34/PAP2	
		OsMADS6/MFO1	TaAGL6 ***
		OsMADS17	

\*TaMADS51 e TaMADS82 são homólogos de WAP3; \*\*TaAGL2/TaAG-3B, TaAGL9/TaAG-3A e TaAGL31 são homeólogos de WSTK; \*\*\*TaAGL6-1A/TaAGL37, TaAGL6- 1B/TaMADS12 e TaAGL6-1C são homeólogos de TaAGL6.

## 2.5 Referências

ABE, M. *et al.* FD, a bZIP protein mediating signals from the floral pathway integrator FT at the shoot apex. **Science**, Washington, v. 309, n. 5737, p. 1052-1056, 2005.

AMASINO, R.M. Seasonal and developmental timing of flowering. **The Plant Journal**, Oxford, v. 61, n. 6, p. 1001-1013, 2010.

AMASINO, R. M. Vernalization, competence and the epigenetic memory of winter. **The Plant Cell**, Rockville, v. 16, n. 10, p. 2553-2559, 2004.

ANDRÉS, F.; COUPLAND, G. The genetic basis of flowering responses to seasonal cues. **Nature Reviews Genetics**, Rhineland, v. 13, n. 9, p. 627-639, 2012.

BALKUNDE, R. *et al.* SHOOTMERISTEMLESS trafficking controls axillary meristem formation, meristem size and organ boundaries in Arabidopsis. **The Plant Journal**, Oxford, v. 90, n. 3, p. 435-446, 2017.

BARLOW, P.W. Stem cells and founder zones in plants, particularly their roots. In: POTTEN, C.S. (ed.). **Stem Cells**, London: Academic, 1997, p. 29-57.

- BÄURLE, I.; LAUX, T. Apical meristems: The plant's fountain of youth. **BioEssays**, New York, v. 25, n. 10, p. 961–970, 2003.
- BENKOVÁ, E. *et al.* Local, efflux-dependent auxin gradients as a common module for plant organ formation. **Cell**, Cambridge, v. 115, n. 5, p. 591–602, 2003.
- BERRY, S.; DEAN, C. Environmental perception and epigenetic memory: mechanistic insight through FLC. **The Plant Journal**, Oxford, v. 83, n. 1, p. 133–148, 2015.
- BETTGENHAEUSER, J. *et al.* Natural variation in *Brachypodium* links vernalization and flowering time loci as major flowering determinants. **Plant Physiology**, Rockville, v. 173, n. 1, p. 256–268, 2017.
- BEVERIDGE, C. A. *et al.* Common regulatory themes in meristem development and whole-plant homeostasis. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v. 10, n. 1, p. 44–51, 2007.
- BLUMEL, M.; DALLY, N.; JUNG, C. Flowering time regulation in crops – what did we learn from *Arabidopsis*? **Current Opinion in Biotechnology**, London, v. 32, p. 121–129, 2015.
- BÖGRE, L.; MAGYAR, Z.; LÓPEZ-JUEZ, E. New clues to organ size control in plants. **Genome Biology**, London, v. 9, n. 7, p. 226, 2008.
- BOLDUC, N. *et al.* Unraveling the *KNOTTED1* regulatory network in maize meristems. **Genes & Development**, New York, v. 26, p. 1685–1690, 2012.
- BOMMERT, P.; WHIPPLE, C. Grass inflorescence architecture and meristem determinacy. **Seminars in Cell & Developmental Biology**, London, v. 79, p. 37–47, 2018.
- BONNETT, O. T. Inflorescences of maize, wheat, rye, barley and oat: their initiation and development. Illinois: **University of Illinois College of Agriculture**, Agriculture Experiment Station, 1966, 105 p.
- BONNETT, O. T. The development of oat panicle. **Journal of Agricultural Research**, Washington, D.C., v. 54, n. 12, p. 927–931, 1937.
- BRAMBILLA, V.; FORNARA, F. Molecular control of flowering in response to day length in rice. **Journal of Integrative Plant Biology**, Weinheim, v. 55, n. 5, p. 410–418, 2013.
- BRAND, U. *et al.* Dependence of Stem Cell Fate in *Arabidopsis* on a Feedback Loop Regulated by CLV3 Activity. **Science**, Washington, v. 289, n. 5479, p. 617–619, 2000.

CAMPOLI, C. *et al.* Expression conservation within the circadian clock of a monocot: natural variation at barley *Ppd-H1* affects circadian expression of flowering time genes, but not clock orthologs. **BMC Plant Biology**, London, v. 12, n. 97, p. 1-15, 2012.

CHOI, K. *et al.* The FRIGIDA complex activates transcription of *FLC*, a strong flowering repressor in Arabidopsis, by recruiting chromatin modification factors. **The Plant Cell**, Rockville, v. 23, n. 1, p. 289-303, 2011.

CLARK, S. E. *et al.* The *CLAVATA* and *SHOOT MERISTEMLESS* loci competitively regulate meristem activity in Arabidopsis. **Development**, Cambridge, v. 122, n. 5, 1996.

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Safra 2019/20: quarto levantamento. **Acompanhamento da safra brasileira**: grãos, Brasília, v. 7, n.4, p. 82-84, janeiro 2020. Monitoramento agrícola. Projeto Observatório Agrícola.

CREVILLÉN, P. *et al.* Epigenetic reprogramming that prevents transgenerational inheritance of the vernalized state. **Nature**, London, v. 515, n. 7528, p. 587-590, 2014.

DISTEFELD, A.; LI, C.; DUBCOVSKY, J. Regulation of flowering in temperate cereals. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v. 12, p. 178-184, 2009.

DOI, K. *et al.* *Ehd1*, a B-type response regulator in rice, confers short-day promotion of flowering and controls *FT-like* gene expression independently of *Hd1*. **Genes & Development**, New York, v. 18, n. 8, p. 926-936, 2004.

DUTRA, L. H. **Expressão dos genes Vrn1 e Vrn3 e identificação de marcadores moleculares associados ao florescimento em aveia hexaploide**. 2017. 91 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2017.

ENDRIZZI, K. *et al.* The *SHOOT MERISTEMLESS* gene is required for maintenance of undifferentiated cells in Arabidopsis shoot and floral meristems and acts at a different regulatory level than the meristem genes *WUSCHEL* and *ZWILLE*. **The Plant Journal**, Oxford, v. 10, n. 6, p. 967–979, 1996.

FLOSS, E. L. *et al.* Crescimento, produtividade, caracterização e composição química da aveia branca. **Acta Scientiarum**. Animal Sciences, Maringá, v. 29, n. 1, p. 1-7, 2007. Disponível em: <<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=303126486008>>. Acesso em: 02 jun. 2018.

FLOSS, L.E. Situação e perspectivas da cultura de aveia. *In*: REUNIÃO DA COMISSÃO SUL-BRASILEIRA DE PESQUISA DE AVEIA, 28., 2008, Pelotas. [Palestras]. Pelotas: UFPEL, 2008. p. 35-45.

- FORNARA, F.; COUPLAND, G. Plant phase transitions make a SPLash. **Cell**, Cambridge, v. 138, n. 4, p. 625-627, 2009.
- FOURACRE, J. P.; POETHIG, R. S. Role for the shoot apical meristem in the specification of juvenile leaf identity in *Arabidopsis*. **PNAS**, Washington, v. 116, n. 20, p. 10168-10177, 2019.
- FRIML, J., *et al.* Apical-basal polarity: why plants cells don't stand on their heads. **Trends in Plant Science**, Kidlington, v. 11, n. 1, p. 12-14, 2006.
- FU, D.; DUNBAR, M.; DUBCOVSKY, J. Wheat *VIN3-like* PHD finger genes are upregulated by vernalization. **Molecular Genetics & Genomics**, Berlin, v. 277, n. 3, p. 301–313, 2007.
- FURUTANI, M. *et al.* *PINFORMED1* and *PINOID* regulate boundary formation and cotyledon development in *Arabidopsis* embryogenesis. **Development**, Cambridge, v. 131, n. 20, p. 5021-5030, 2004.
- GAO, X. *et al.* The *SEPALLATA-like* gene *OsMADS34* is required for rice inflorescence and spikelet development. **Plant Physiology**, Rockville, v. 153, n. 2, p. 728–740, 2010.
- GENDALL, A. *et al.* The *VERNALIZATION 2* gene mediates the epigenetic regulation of vernalization in *Arabidopsis*. **Cell**, Cambridge, v. 107, n. 4, p. 525-535, 2001.
- GOL, L.; TOMÉ, F.; von KORFF, M. Floral transitions in wheat and barley: interactions between photoperiod, abiotic stresses, and nutrient status. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 68, n. 7, p. 1399–1410, 2017.
- GREB, T. *et al.* The PHD finger protein VRN5 functions in the epigenetic silencing of *Arabidopsis* FLC. **Current Biology**, Cambridge, v. 17, n. 1, p. 73–78, 2007.
- GREEN, K. A. *et al.* *CORONA*, a member of the class III homeodomain leucine zipper gene family in *Arabidopsis*, regulates stem cell specification and organogenesis. **Plant Cell**, Cambridge, v. 17, n. 3, p. 691-704, 2005.
- HAMA, E. *et al.* Pistillody is caused by alterations to the class-B MADS-box gene expression pattern in alloplasmic wheats. **Planta**, Berlin, v. 218, n. 5, p. 712–720, 2004.
- HAUN, J. R. Visual quantification of wheat development. **Agronomy Journal**, Madison, v. 65, n. 1, p. 116-119, 1973.
- HAYAMA, R. *et al.* Adaptation of photoperiodic control pathways produces short-day flowering in rice. **Nature**, London, v. 422, n. 6933, p. 719-722, 2003.

HELLIWELL, C. *et al.* The Arabidopsis FLC protein interacts directly in vivo with SOC1 and FT chromatin and is part of a high-molecular weight protein complex. **The Plant Journal**, Oxford, v. 46, n. 2, p. 183-192, 2006.

HEMMING, M. N.; TREVASKIS, B. Make hay when the sun shines: The role of MADS-box genes in temperature-dependant seasonal flowering responses. **Plant Science**, Atlanta, v. 180, n. 3, p. 447-453, 2011.

HIGGINS, J. A.; BAILEY, P.C.; LAURIE, D.A. Comparative genomics of flowering time pathways using *Brachypodium distachyon* as a model for the temperate grasses. **PLoS One**, San Francisco, v. 5, n. 4, [art.] e10065, [p. 1-26], 2010.

HOLEC, S.; BERGER, F. Polycomb group complexes mediate developmental transitions in plants. **Plant Physiology**, Rockville, v. 158, n. 1, p. 35-43, 2012.

ISHIKAWA, R. *et al.* Phytochrome B regulates *Heading date 1 (Hd1)*-mediated expression of rice florigen Hd3a and critical day length in rice. **Molecular Genetics & Genomics**, Berlin, v. 285, n. 6, p. 461–470, 2011.

JACKSON, D. Double labeling of *KNOTTED1* mRNA and protein reveals multiple potential sites of protein trafficking in the shoot apex. **Plant Physiology**, Rockville, v. 129, n. 4, p. 1423-1429, 2002.

JONSSON, H. *et al.* An auxin-driven polarized transport model for phyllotaxis. **PNAS**, Washington, DC, v. 103, n. 5, p. 1633-1638, 2006.

KAMRAN, A.; IQBAL, M.; SPANER, D. Flowering time in wheat (*Triticum aestivum* L.): a key factor for global adaptability. **Euphytica**, Wageningen, v. 197, p. 1-26, 2014.

KATER, M. M.; DRENI, L.; COLOMBO, L. Functional conservation of MADS-box factors controlling floral organ identity in rice and Arabidopsis. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 57, n. 13, p. 3433–3444, 2006.

KITAGAWA, S.; SHIMADA, S.; MURAI, K. Effect of Ppd-1 on the expression of flowering-time genes in vegetative and reproductive growth stages of wheat. **Genes and Genetic System**, Mishima, v. 87, n. 3, p. 161–168, 2012.

KOBAYASHI, K. *et al.* Inflorescence meristem identity in rice is specified by overlapping functions of three *AP1/FUL-like* MADS box genes and *PAP2*, a *SEPALLATA* MADS box gene. **The Plant Cell**, Rockville, v. 24, n. 5, p. 1848–1859, 2012.

KOMIYA, R.; YOKOI, S.; SHIMAMOTO, K. A gene network for long-day flowering activates *RFT1* encoding a mobile flowering signal in rice. **Development**, Cambridge, v. 136, n. 20, p. 3443–3450, 2009.

KOYAMA, K. *et al.* Characterization of three *VERNALIZATION INSENSITIVE3-like (VIL)* homologs in wild wheat, *Aegilops tauschii* Coss. **Hereditas**, London, v. 149, n. 2, p. 62–71, 2012.

LAITANO, C. S. **Desenvolvimento do meristema apical de aveia e trigo e sua relação com características morfológicas**. 1997. 77 f. Dissertação (Mestrado)- Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1997.

LARGE, E.C. Growth stages in cereals – Illustration of the Feekes scale. **Plant Pathology**, London, v. 3, n. 4, p. 128-129, 1954.

LAUX, T. *et al.* The *WUSCHEL* gene is required for shoot and floral meristem integrity in Arabidopsis. **Development**, Cambridge, v. 122, n. 1, p. 87–96, 1996.

LEE, D-Y.; AN, G. Two *AP2* family genes, *SUPERNUMERARY BRACT (SNB)* and *OsINDETERMINATE SPIKELET 1 (OsIDS1)*, synergistically control inflorescence architecture and floral meristem establishment in rice. **The Plant Journal**, Oxford, v. 69, n. 3, p. 445–461, 2012.

LEE, D-Y. *et al.* The rice heterochronic gene *SUPERNUMERARY BRACT* regulates the transition from spikelet meristem to floral meristem. **The Plant Journal**, Oxford, v. 49, n. 1, p. 64–78, 2007.

LEE, J. *et al.* *SOC1* translocated to the nucleus by interaction with *AGL24* directly regulates *LEAFY*. **The Plant Journal**, Oxford, v. 55, n. 5, p. 832-843, 2008.

LEIBFRIED, A. *et al.* *WUSCHEL* controls meristem function by direct regulation of cytokinin-inducible response regulators. **Nature**, London, v. 438, p. 1172-1175, 2005.

LENHARD, M.; JURGENS, G.; LAUX, T. The *WUSCHEL* and *SHOOTMERISTEMLESS* genes fulfil complementary roles in *Arabidopsis* shoot meristem regulation. **Development**, Cambridge, v. 129, n. 13, p. 3195-3206, 2002.

LI, C. *et al.* Wheat flowering repressor *VRN2* and promoter *CO2* compete for interactions with Nuclear Factor-Y complexes. **The Plant Journal**, Oxford, v. 67, n. 5, p. 763-773, 2011.

LIU, C.; THONG, Z.; YU, H. Coming into bloom: the specification of floral meristems. **Development**, Cambridge, v. 136, n. 20, p. 3379-3391, 2009.

LIU, L. *et al.* Emerging insights into florigen transport. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v. 16, n. 5, p. 607-613, 2013.

LOCATELLI, A.B. *et al.* Flowering time in oat: genotype characterization for photoperiod and vernalization response. **Field Crops Research**, Wageningen, v. 106, n. 3, p. 242-247, 2008.

LOCATELLI, A. B. *et al.* Loci affecting flowering time in oat under short-day conditions. **Genome**, Ottawa, v. 49, n. 12, p. 1528-1538, 2006.

LONG, J. A. *et al.* A member of the KNOTTED class of homeodomain proteins encoded by the *SHOOTMERISTEMLESS* gene of *Arabidopsis thaliana*. **Nature**, London, v. 379, n. 6560, p. 66-69, 1996.

LÓPEZ, P. *et al.* CONSTANS mediates between the circadian clock and the control of flowering in *Arabidopsis*. **Nature**, London, v. 410, n. 6832, p. 1116-1120, 2001.

LOZANO, C. M. *et al.* Relación entre los estados de desarrollo apical y características morfológicas en plantas de trigo. **Revista Facultad de Agronomía**, Buenos Aires, v. 5, n. 1, p. 51-63, 1984.

MAYER, K. F. X. *et al.* Role of *WUSCHEL* in regulating stem cell fate in the *Arabidopsis* shoot meristem. **Cell**, Cambridge, v. 95, n. 6, p. 805-815, 1998.

MICHAELS, S.D.; AMASINO, R.M. Loss of *FLOWERING LOCUS C* activity eliminates the late-flowering phenotype of *FRIGIDA* and autonomous pathway mutations but not responsiveness to vernalization. **The Plant Cell**, Rockville, v. 13, n. 4, p. 935–942, 2001.

MICHAELS S. D. *et al.* Integration of flowering signals in winter-annual *Arabidopsis*. **Plant Physiology**, Rockville, n. 137, v. 1, p. 149–156, 2005.

MOON, J. *et al.* The *SOC* MADS-box gene integrates vernalization and gibberellin signals for flowering in *Arabidopsis*. **The Plant Journal**, Oxford, v. 35, n. 5, p. 613-623, 2003.

MURAI, K. *et al.* Cloning and characterization of cDNAs corresponding to the wheat MADS box genes. *In*: INTERNATIONAL WHEAT GENETICS SYMPOSIUM, 9., 1998, Saskatoon, Canada. **Proceedings of the [...]**. Saskatoon: University of Saskatchewan, 1998. v. 1, p. 89–94.

MURAI, K. Homeotic genes and the ABCDE model for floral organ formation in wheat. **Plants**, Basel, v. 2, n. 3, p. 379-395, 2013.

NAVA, I. C. **Caracterização genética e molecular de fatores associados a resposta à vernalização para o florescimento em aveia**. 2008. 117 f. Tese (Doutorado)- Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.

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

NEMOTO, Y. *et al.* Characterization and functional analysis of three wheat genes with homology to the *CONSTANS* flowering time gene in transgenic rice. **The Plant Journal**, Oxford, v. 36, n. 1, p. 82-93, 2003.

NEMOTO, Y. *et al.* *Hd1*, a *CONSTANS* ortholog in rice, functions as an *Ehd1* repressor through interaction with monocot-specific CCT-domain protein Ghd7. **The Plant Journal**, Oxford, v. 86, n. 3, p. 221-233, 2016.

NERSON, H.; SIBONY, M.; PINTHUS, M. J. A scale of the assessment of the developmental stages of the wheat (*Triticum aestivum* L.) spike. **Annals of Botany**, Oxford, v. 45, n. 2, p. 203-204, 1980.

O'CONNOR, D. J. *et al.* Development and application of speed breeding technologies in a commercial peanut breeding program. **Peanut Science**, Perkins, v. 40, n. 2, p. 107–114, 2014.

OLIVER, S. N. *et al.* Low temperatures induce rapid changes in chromatin state and transcript levels of the cereal *VERNALIZATION 1* gene. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 64, n. 8, p. 2413-2422, 2013.

PERCIVAL, J. **The wheat plant**: a monograph. London: Duckworth, 1921. 463p.

PRESTON, J. C.; KELLOGG, E. A. Conservation and divergence of *APETALA1/FRUITFULL-like* gene function in grasses: evidence from gene expression analyses. **The Plant Journal**, Oxford, v. 52, n. 1, p. 69-81, 2007.

PUTTERILL, J. *et al.* The *CONSTANS* gene of *Arabidopsis* promotes flowering and encodes a protein showing similarities to zinc finger transcription factors. **Cell**, Cambridge, v. 80, n. 6, p. 847-857, 1995.

RAST, M. I.; SIMON, R. The meristem-to-organ boundary: more than an extremity of anything. **Current Opinion in Genetics and Development**, London, v. 18, n. 4, p. 287–294, 2008.

REAM, T.S. *et al.* Interaction of photoperiod and vernalization determines flowering time of *Brachypodium distachyon*. **Plant Physiology**, Rockville, v. 164, n. 2, p. 694-709, 2014.

REDDY, G. V. Live-imaging stem-cell homeostasis in the *Arabidopsis* shoot apex. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v. 11, n. 1s, p. 88–93, 2008.

ROSA, H. T. *et al.* Métodos de soma térmica e datas de semeadura na determinação do filocrono de cultivares de trigo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 44, n. 11, p. 1374-1382, 2009.

RÖSLER, P. Histologische studien am vegetationspunkt von *Triticum vulgare*. **Planta**, Berlin, v. 5, p. 28–69, 1928.

SABLOWSKI, R. Flowering and determinacy in *Arabidopsis*. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 58, n. 5, p. 899–907, 2007.

SALISBURY, F. B.; ROSS, C. W. Growth and development. *In*: SALISBURY, F. B.; ROSS, C. W. **Plant Physiology**. 4th ed. Belmont: Wadsworth, 1992. cap. 16, p. 329-356.

SASANI, S. *et al.* The influence of vernalization and daylength on expression of flowering-time genes in the shoot apex and leaves of barley (*Hordeum vulgare*). **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 60, n. 7, p. 2169-2178, 2009.

SCHMIDT, A. Histologische studien an phanerogamen vegetationspunkten. **Botanisches Archive**, Leiden, v. 8, n. 1/2, p. 345-404, 1924.

SCHOOFF, H. *et al.* The stem cell population of *Arabidopsis* shoot meristems is maintained by a regulatory loop between the *CLAVATA* and *WUSCHEL* genes. **Cell**, Cambridge, v. 100, n. 6, p. 635–644, 2000.

SCOFIELD, S.; MURRAY, J. A. *KNOX* gene function in plant stem cell niches. **Plant Molecular Biology**, The Hague, v. 60, n. 6, p. 929-946, 2006.

SHAO, C. X. *et al.* Rice genes encoding the SBP domain protein, which is a new type of transcription factor controlling plant development. **Rice Genetic News**, Mishima, v. 16, p. 114, 1999.

SHAW, L. M. *et al.* *FLOWERING LOCUS T2* regulates spike development and fertility in temperate cereals. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 70, n. 1, p. 193–204, 2019.

SHAW, L. M. *et al.* Mutant alleles of *Photoperiod-1* in wheat (*Triticum aestivum* L.) that confer a late flowering phenotype in long days. **PLoS One**, San Francisco, v. 8, n. 11, [art.] e79459, [p. 1-11], 2013.

SHELDON, C. C. *et al.* Resetting of *FLOWERING LOCUS C* expression after epigenetic repression by vernalization. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 105, n. 6, p. 2214–2219, 2008.

SHI, B. *et al.* Two-step regulation of a meristematic cell population acting in shoot branching in *Arabidopsis*. **PLOS Genetics**, San Francisco, v. 12, n. 7, [art.] e1006168, [p. 1-20], 2016.

SHIMADA, S. *et al.* A genetic network of flowering-time genes in wheat leaves, in which an *APETALA1/FRUITFULL-like* gene, *VRN1*, is upstream of *FLOWERING LOCUS T*. **The Plant Journal**, Oxford, v. 58, n. 4, p. 668-681, 2009.

SHITSUKAWA, N. *et al.* The einkorn wheat (*Triticum monococcum*) mutant, maintained vegetative phase, is caused by a deletion in the *VRN1* gene. **Genes & Genetic System**, Mishima, v. 82, n. 2, p. 167-170, 2007.

- SHRESTHA, R. *et al.* Molecular control of seasonal flowering in rice, Arabidopsis and temperate cereals. **Annals of Botany**, Oxford, v. 114, n. 7, p. 1445–1458, 2014.
- SINGH, M. B.; BHALLA, P. L. Plant stem cells carve their own niche. **Trends in Plant Science**, Kidlington, v. 11, n. 5, p. 241-246, 2006.
- SINGH, R.; DE, S.; BELKHEIR, A. *Avena sativa* (oat), a potential nutraceutical and therapeutic agent: an overview. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Philadelphia, v. 53, n. 2, p. 126-144, 2013.
- SONG, Y. H. *et al.* Photoperiodic flowering: time measurement mechanisms in leaves. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 66, p. 441-464, 2015.
- SONG, Y. H.; ITO, S.; IMAIZUMI, T. Similarities in the circadian clock and photoperiodism in plants. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v. 13, p. 594-603, 2010.
- STEEVES, T. A. The shoot apical meristem: an historical perspective. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 84, n. 11, p. 1629-1633, 2006.
- STEWART, R.; DERMEN, H. Determination of number and mitotic activity of shoot apical initial cells by analysis of mericlinal chimeras. **American Journal of Botany**, Baltimore, v. 57, n. 7, p. 816-26, 1970.
- STRECK, N. A. *et al.* Improving predictions of developmental stages in winter wheat. **Agricultural and Forest Meteorology**, Amsterdam, v. 115, n. 3/4, p. 139-150, 2003.
- STRYCHAR, R. World oat production, trade and usage. *In*: WEBSTER, F. H. e WOOD, P. J. (Ed.) **Oats: chemistry and technology**. 2nd ed., Washington, DC: American Association of Cereal Chemists, 2011. p. 77–94.
- SUNG, S.; AMASINO, R. Vernalization in Arabidopsis thaliana is mediated by the PHD finger protein VIN3. **Nature**, London, v. 427, n. 6970, p. 159-164, 2004.
- TEOTIA, S.; TANG, G. To bloom or not to bloom: role of microRNAs in plant flowering. **Molecular Plant**, Cambridge, v. 8, n. 3, p. 359-377, 2015.
- THEIßEN, G. Development of floral organ identity: stories from the MADS house. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v. 4, n. 1, p. 75–85, 2001.
- THEIßEN, G.; MELZER, R.; RÜMPLER, F. MADS-domain transcription factors and the floral quartet model of flower development: linking plant development and evolution. **Development**, Cambridge, v. 143, n. 18, p. 3259-3271, 2016.
- TRAQUILLI, G.; DUBCOVSKY, J. Epistatic interactions between vernalization genes *Vrn-Am1* and *Vrn-Am2* in diploid wheat. **The Journal of Heredity**, New York, v. 91, n. 4, p. 304–306, 2000.

TREVASKIS, B. *et al.* MADS box genes control vernalization-induced flowering in cereals. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 100, n. 22, p. 13099-13104, 2003.

TREVASKIS, B. *et al.* *HvVRN2* responds to daylength, whereas *HvVRN1* is regulated by vernalization and developmental status. **Plant Physiology**, Rockville, v. 140, n. 4, p. 1397–1405, 2006.

TREVASKIS, B. *et al.* The molecular basis of vernalization-induced flowering in cereals. **Trends in Plant Science**, Kidlington, v. 12, n. 8, p. 352-357, 2007.

TRIPATHI, R. K.; BREGITZER, P.; SINGH, J. Genome-wide analysis of the *SPL/miR156* module and its interaction with the *AP2/miR172* unit in barley. **Nature Scientific Reports**, London, v. 8, [art.] 7085, [p. 1-13], 2018.

TSUDA, K. *et al.* Genome-wide study of *KNOX* regulatory network reveals brassinosteroid catabolic genes important for shoot meristem function in rice. **Plant Cell**, Cambridge, v. 26, n. 9, p. 3488-3500, 2014.

WANG, J. W.; CZECH, B.; WEIGEL, D. miR156-regulated SPL transcription factors define an endogenous flowering pathway in *Arabidopsis thaliana*. **Cell**, Cambridge, v. 138, n. 4, p. 738-749, 2009.

WANG, Y.; LI, J. Molecular basis of plant architecture. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 59, p. 253-279, 2008.

WEI, H. Exploiting *SPL* genes to improve maize plant architecture tailored for high-density planting. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 69, n. 20, p. 4675–4688, 2018.

WEIJERS, D. *et al.* Maintenance of embryonic auxin distribution for apical-basal patterning by PIN-FORMED-dependent auxin transport in *Arabidopsis*. **Plant Cell**, Cambridge, v. 17, n. 9, p. 2517-2526, 2005.

WIGGE, P. A. *et al.* Integration of spatial and temporal information during floral induction in *Arabidopsis*. **Science**, Washington, DC, v. 309, n. 5737, p. 1056–1059, 2005.

WILLIAMS, L.; FLETCHER, J. C. Stem cell regulation in the *Arabidopsis* shoot apical meristem. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v. 8, n. 6, p. 582-586, 2005.

WINGLER, A. Transitioning to the next phase: the role of sugar signaling throughout the plant life cycle. **Plant Physiology**, Rockville, v. 176, n. 2, p. 1075–1084, 2018.

WOODS, D. P. *et al.* Genetic architecture of flowering-time variation in *Brachypodium distachyon*. **Plant Physiology**, Rockville, v. 173, n. 1, p. 269-279, 2017.

WU, G. *et al.* The sequential action of miR156 and miR172 regulates developmental timing in *Arabidopsis*. **Cell**, Cambridge, v. 138, p. 750-759, 2009.

WU, G.; POETHIG, R. S. Temporal regulation of shoot development in *Arabidopsis thaliana* by *miR156* and its target *SPL3*. **Development**, Cambridge, v. 133, n. 18, p. 3539-3547, 2006.

XU, Y.; ZHANG, L; WU, G. Epigenetic regulation of juvenile-to-adult transition in plants. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 9, [art.] 1048, [p. 1-8], 2018.

YADAV, R. K. *et al.* Plant stem cell maintenance involves direct transcriptional repression of differentiation program. **Molecular System Biology**, Heidelberg, v. 9, n.1, [art.] 654, [p. 1-13], 2013.

YAN, L. *et al.* Positional cloning of wheat vernalization gene *VRN1*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, DC, v. 100, n. 10, p. 6263-6268, 2003.

YAN, L. *et al.* The wheat and barley vernalization gene *VRN3* is an orthologue of *FT*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, DC, v. 103, n. 51, p. 19581-19586, 2006.

YAN, L. *et al.* The wheat *VRN2* gene is a flowering repressor down-regulated by vernalization. **Science**, Washington, DC v. 303, n. 5664, p. 1640-1644, 2004.

YU, S.; LIAN, H.; WANG, J-H. Plant developmental transitions: the role of microRNAs and sugars. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v. 27, p. 1-7, 2015.

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.

ZHANG, B. *et al.* Molecular characterization and expression analysis of *Triticum aestivum* squamosa-promoter binding protein-box genes involved in ear development. **Journal of Integrative Plant Biology**, Weinheim, v. 56, n. 6, p. 571-581, 2014.

ZHANG, S-D.; LING, L-Z. Diversification of *SQUAMOSA* promoter binding protein-like (*SPL*) genes by changes of miR156/529 binding sites in land plants. **Plant Gene**, Amsterdam, v. 14, p. 55-63, 2018.

ZHENG, Z. *et al.* A procedure allowing up to eight generations of wheat and nine generations of barley per annum. **Euphytica**, Wageningen, v. 191, p. 311-316, 2013.

### 3 CAPÍTULO 1

**A transição meristemática floral e o florescimento em aveia (*Avena sativa* L.) são afetados por fotoperíodo, intensidade de radiação e vernalização**

#### RESUMO

Dois importantes eventos morfofisiológicos dos cereais, a transição meristemática floral e o florescimento, são fortemente influenciados por sinais ambientais, como temperatura, fotoperíodo e radiação. O objetivo deste trabalho foi identificar possíveis diferenças no momento de início da transição meristemática floral e do florescimento em resposta ao fotoperíodo, intensidade luminosa e vernalização em aveia hexaploide (*Avena sativa* L.). Seis genótipos de aveia foram submetidos a diferentes condições de crescimento, tanto a campo como em condições controladas. Os tratamentos incluíram duas épocas de cultivo e vernalização por 30 dias a 4°C, em campo, e dois fotoperíodos e duas intensidades de radiação, em condições controladas. No campo, o momento de início da transição meristemática foi antecipado na segunda época de cultivo em relação à primeira, mas não sofreu alteração em decorrência do tratamento de vernalização. Porém, a vernalização reduziu o período entre o início da transição meristemática e o florescimento. Em condições controladas, houve interação entre o fotoperíodo e a intensidade de radiação na determinação do momento de início da transição meristemática, sugerindo que ambos os sinais afetam a transição floral em aveia.

#### ABSTRACT

Two important morphophysiological events in cereals, floral transition and flowering, are strongly influenced by environmental signals, such as temperature, photoperiod and radiation. The objective of this study was to identify differences on the beginning of floral transition and flowering in response to photoperiod, light intensity and vernalization in hexaploid oat (*Avena sativa* L.) genotypes. Six oat genotypes were submitted to different growing conditions, both in the field and

under controlled conditions. The treatments included two growing seasons and vernalization for 30 days at 4°C, in the field, and two photoperiods and two radiation intensities, under controlled conditions. In the field, the moment of the beginning of floral transition was anticipated in the second growing season in relation to the first, but it did not change due to the vernalization treatment. However, vernalization caused the reduction of the period between the beginning of floral transition and the flowering. Under controlled conditions, an interaction between the photoperiod and the radiation intensity was found in determining the moment of the beginning of floral transition, suggesting that both signs affect the floral transition in oat.

### 3.1. Introdução

O florescimento tem um importante papel no sucesso reprodutivo das plantas e geralmente é considerado o evento visual que determina a transição do estágio vegetativo para o estágio reprodutivo em angiospermas. No entanto, a transição de estádios de desenvolvimento é determinada biologicamente pela transição meristemática floral, quando o meristema apical do caule para de diferenciar as folhas da planta e passa então a diferenciar os órgãos florais. Nos cereais, o momento de ocorrência da transição meristemática floral e do florescimento pode afetar tanto o rendimento de grãos como a qualidade dos grãos produzidos. Os principais sinais ambientais utilizados pelas poáceas para o ajuste do momento do florescimento são o fotoperíodo, a soma térmica e a vernalização (Distelfeld, Li e Dubcovsky, 2009; Song, Ito e Imaizumi, 2010).

As diferentes rotas envolvidas no florescimento de cereais culminam na regulação do gene *FLOWERING LOCUS T 1 (FT1)*, também conhecido como *VERNALIZATION 3 (VRN3)* em cereais como trigo (*Triticum aestivum* L.) e aveia. *FT1/VRN3* possui um importante papel no processo de transição meristemática floral, não só por ser o integrador floral de grandes rotas, como do fotoperíodo e da vernalização, mas também por sua proteína ser um sinal móvel, chamada de florigeno, que é produzida nas células companheiras do floema das folhas e

migra, através do floema, para o meristema apical, onde forma um complexo proteico com proteínas 14-3-3 e com o fator de transcrição FLOWERING LOCUS D (FD) para promover o florescimento (Corbesier *et al.*, 2007; Mathieu *et al.*, 2007; Turck, Fornara e Cupland, 2008; Blumel, Dally e Jung, 2015; Li, Lin e Dubcovsky, 2015).

O trigo, assim como a aveia, é uma espécie de dias longos, na qual o florescimento é antecipado em condições de fotoperíodo longo (quando as noites são curtas ou há interrupção do período noturno por um pulso de luz) (Pearce *et al.*, 2017). Sob fotoperíodo longo, a proteína CONSTANS 1 (CO1) induz a ativação transcricional de *FT1/VRN3* nas folhas de trigo e cevada (*Hordeum vulgare*), o que desencadeia uma cascata de sinais que ativa genes de identidade meristemática floral, como os genes *VERNALIZATION 1 (VRN1)*, *APETALA 3 (AP3)* e *AGAMOUS LIKE 6 (AGL6)*, que atuam na indução da transição meristemática e formação dos órgãos florais (Abe *et al.*, 2005; Michaels *et al.*, 2005; Wigge *et al.*, 2005).

A identificação e caracterização dos genes *VRN1*, *VERNALIZATION 2 (VRN2)* e *FT1/VRN3* em trigo e cevada, que estão envolvidos no processo de florescimento em plantas submetidas à vernalização, foram determinantes para um melhor entendimento de como a vernalização afeta o florescimento. A resposta à vernalização em trigo e cevada é conferida pela expressão do gene *VRN2*, que reprime *FT1/VRN3*, de modo que a ocorrência do florescimento antes da vernalização é evitado (Trevaskis *et al.*, 2007; Distefeld, Li e Dubcovsky, 2009; Kamran, Iqbal e Spaner, 2014). Durante a exposição ao frio, *VRN2* é reprimido por *VRN1* (Yan *et al.*, 2003; Blumel, Dally e Jung, 2015). Em plantas vernalizadas, os níveis de *VRN2* diminuem durante a exposição ao frio enquanto

a expressão do gene *VRN1* é aumentada. A expressão de *VRN1* se mantém elevada mesmo após a temperatura ambiente aumentar, promovendo o florescimento e participando da definição da identidade dos órgãos florais nas plantas de trigo e cevada (Trevaskis *et al.*, 2007). A similaridade molecular indica que esses genes podem estar conservados em outras espécies de cereais, como a aveia (Nava, 2008).

Além da presença de estímulos ambientais externos, o momento da transição meristemática também é afetado por alterações endógenas na fisiologia das plantas, desencadeadas por sinais hormonais, de juvenilidade e do relógio circadiano, por exemplo. Essas alterações endógenas são essenciais para conferir às plantas a competência para florescer, ou seja, a capacidade de responder aos estímulos ambientais externos, como a temperatura e o fotoperíodo, para iniciar a fase reprodutiva. A competência para o florescimento é adquirida em muitas espécies pela mudança de fase juvenil, que caracteriza a transição do estágio juvenil para o adulto. Em algumas espécies, essa mudança de fase é marcada por alterações em várias características morfológicas das plantas, entre elas a alteração do tamanho e formato de folhas (Xu, Zhang e Wu, 2018; Fouracre e Poethig, 2019).

Em aveia, um dos objetivos dos programas de melhoramento nos ambientes subtropicais tem sido a redução do ciclo da cultura, para que esta possa continuar sendo uma alternativa de cultivo de inverno antes de soja e milho sem prejudicar o calendário agrícola dessas culturas de verão. No entanto, as alterações no desenvolvimento das plantas causadas por essas seleções podem ter alterado as redes regulatórias de genes responsivos a sinais ambientais, como o fotoperíodo e a temperatura, bem como a sensibilidade a

alterações endógenas, como a mudança de fase vegetativa. Além disso, mais recentemente, tem surgido a possibilidade de cultivo no fim do verão/início do outono, antes do plantio do trigo no inverno, o que requererá genótipos com maior juvenilidade, que não respondam imediatamente ao longo fotoperíodo. Assim, os objetivos destes experimentos foram investigar se há diferenças na indução da transição do meristema apical do caule e no momento do florescimento em resposta ao comprimento da noite (fotoperíodo), à intensidade de luz e à vernalização, bem como a suas interações.

### **3.2 Material e métodos**

Foram conduzidos experimentos a campo, na Estação Experimental Agrônômica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (EEA-UFRGS), em Eldorado do Sul/RS (latitude 30° 05 ' 27" Sul, longitude 51° 40' 18" Oeste e altitude de 46 m), e em condições controladas, para avaliar os efeitos da vernalização, fotoperíodo e da quantidade de radiação sobre o momento da transição meristemática floral e do florescimento em seis genótipos de aveia hexaploide (Tabela 1).

Os solos encontrados na EEA-UFRGS são classificados como Argissolos Vermelhos Distróficos, pertencente à Unidade de Mapeamento São Jerônimo (Streck *et al.*, 2008; Bergamaschi *et al.*, 2013). O clima do município se enquadra na classificação de Köppen-Geiger do tipo 'Cfa', que se caracteriza por apresentar verões quentes e precipitações mensais acumuladas de, no mínimo 30 mm. A precipitação média anual da região é de aproximadamente 1400 mm, sendo os meses de junho, julho e agosto os mais chuvosos (Bergamaschi *et al.*, 2013).

TABELA 1. Genótipos de aveia hexaploide (*Avena sativa* L.) utilizados nos experimentos e seus respectivos ciclos da emergência ao florescimento.

Genótipo	Genealogia	Ciclo <sup>2</sup>
UFRGS 137142-3	UFRGS 047053-1 / URS Taura	Superprecoce
UFRGS 146171-1	LEGGETT / UFRGS 953270-4	Superprecoce
URS 21	UFRGS 10 / CTC 84B993	Precoce
URS Corona	UFRGS 987016-1 / UFRGS 970497-1	Precoce
UFRGS 995088-3	UFRGS 881971//Pc68/ 5*STARTER (F <sub>4</sub> )	Tardio
LA 90105 <sup>1</sup>	C716//76-30*3/76-29/3/716*2/CI8026/4/TX82C6023	Supertardio

<sup>1</sup> LA 90105-C4-1-1-1-2-1 foi desenvolvida pelo programa de Melhoramento de Aveia da Universidade do Estado da Louisiana (LSU). Fonte: Marcelo Teixeira Pacheco (Comunicação pessoal);

<sup>2</sup> Ciclos definidos considerando o comportamento em ambiente subtropical em baixa altitude no Brasil.

O experimento a campo avaliou o início da transição meristemática nos seis genótipos de aveia submetidos a dois tratamentos de vernalização (vernalizado e não vernalizado) e avaliados em duas épocas de cultivo. Os genótipos foram escolhidos por serem contrastantes para o caráter ciclo (Tabela 2). O tratamento de vernalização consistiu na pré-germinação de 800 sementes dos seis genótipos à 25°C de temperatura por 24 h em papel *germitest*, seguido da exposição das sementes pré-germinadas à 4°C, sem iluminação, por 30 dias em câmara de crescimento. No tratamento controle (não vernalizado) as sementes foram germinadas por três dias a 25°C em papel *germitest*. As plântulas foram transplantadas à campo em duas épocas, 15/06/18 e 31/07/18, em parcelas com cinco linhas de cultivo de 2 m de comprimento, espaçamento de 0,30 m entre linhas e de 0,05 m entre plantas na linha. A adubação foi dividida em adubação de base (300 kg.ha<sup>-1</sup> da formulação NPK 5:30:15), e duas doses de adubação de cobertura (35 kg de N.ha<sup>-1</sup> cada), quando as plantas estavam aproximadamente nos estádios 3.0 e 6.0 da escala Haun.

Foi realizado, previamente à instalação do experimento a campo, um experimento piloto para a identificação aproximada do momento da transição meristemática nos genótipos escolhidos. Este experimento consistiu na avaliação do momento da transição meristemática em plantas de aveia

vernalizadas (30 dias a 4°C) e não-vernalizadas, utilizando 20 plantas por repetição em um delineamento de blocos ao acaso com três repetições. Devido ao pequeno número de plantas avaliadas, os resultados não foram submetidos a análise estatística, mas auxiliaram na determinação do momento de início das avaliações de cada genótipo de acordo com seu ciclo. Os dados meteorológicos foram gerados por uma estação agrometeorológica de alta precisão da marca Davis, modelo Vantage Pro2™, pertencente ao programa de melhoramento genético de aveia da UFRGS, que se encontra instalada dentro da área experimental, a uma altura de dois metros, próximo à localização dos experimentos. Os sensores de temperatura, umidade do ar, radiação solar global, direção e velocidade do vento e precipitação pluviométrica da estação agrometeorológica são conectados a um registrador de dados (WL datalogger; Davis Instruments), programado para efetuar a leitura dos sensores a cada 10 segundos, com gravação das médias, máximas e mínimas a cada 10 minutos. Semanalmente os dados foram coletados através do software WeatherLink 6.0.3. O fotoperíodo foi calculado considerando o número de horas por dia em que a radiação solar global foi registrada com 5 W.m<sup>-2</sup> ou mais. A intensidade de radiação média diária foi calculada convertendo a radiação global em radiação fotossinteticamente ativa, através da equação:

$$\text{Radiação fotossinteticamente ativa } (\mu\text{mol. m}^{-2}. \text{s}^{-2}) = \\ \text{radiação global } (\text{W. m}^{-2}) * 0,45 * 4,57$$

Fonte: McCree (1972); Blackburn e Proctor (1982).

A data de emergência das plântulas foi considerada quando mais de 50% das plantas da parcela haviam sido expostas acima da superfície do solo após o transplante. O delineamento experimental utilizado nesse experimento foi o de

parcelas subdivididas em blocos ao acaso, com duas repetições. Os genótipos constituíram as parcelas e o tratamento de vernalização (vernalizado e não vernalizado) compuseram as subparcelas.

O experimento em condições controladas foi realizado utilizando uma câmara de crescimento Conviron, modelo BDR16. Os seis genótipos de aveia foram semeados em recipientes plásticos de 500 mL com o substrato comercial Policultura Rosa, que é constituído de casca de arroz carbonizada e composto orgânico. A data de emergência das plântulas foi considerada quando haviam emergido pelo menos três plântulas por recipiente. Após a emergência, as plântulas foram desbastadas para manter somente cinco plantas em cada recipiente. A adubação mineral consistiu na aplicação de 50 mL de solução nutritiva de Hoagland por recipiente a cada quinze dias. Os tratamentos consistiram em dois fotoperíodos (9,5 h de luz contínua mais 0,5 h de luz no meio do período de escuro (9,5 h luz/7 h escuro/0,5 h luz/7 h escuro) e 10 horas de luz contínua (10 h luz/14 h escuro)), combinados com duas condições de luminosidade (aproximadamente  $350 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ , máxima radiação da câmara de crescimento, e  $150 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ , uma redução de cerca de 60% da intensidade luminosa). A temperatura foi mantida em 25°C durante o dia e 20°C durante a noite. Os dados de temperatura no interior da câmara de crescimento foram obtidos com a utilização de um registrador de dados (*data logger*), que foi programado para registrar a temperatura a cada dez minutos. O delineamento experimental adotado foi o completamente casualizado, com quatro repetições. Cada unidade experimental foi composta por 5 recipientes de 500 mL e as unidades de observação foram constituídas de plantas individuais.

O crescimento e desenvolvimento das plantas no campo e na câmara de crescimento foi avaliado duas e três vezes por semana, respectivamente, seguindo a Escala Haun, para verificar a velocidade de emissão de folhas sucessivas no colmo principal (Haun, 1973). Foi contabilizado o número de folhas completamente emitidas (folhas com a lígula aparente) e comparado o tamanho proporcional da folha em processo de emissão com a folha logo anterior. Desta forma, a escala foi obtida com o número de folhas completamente emitidas e a proporção da folha em expansão em relação à anterior. Porém, quando a folha em desenvolvimento ultrapassava o tamanho da última folha completamente emitida, uma característica comum em aveia, a escala Haun foi modificada, sendo anotada como equivalente a 90% de expansão da folha em desenvolvimento até que a lígula dessa se tornasse aparente, indicando a completa expansão da folha. Por exemplo, ao avaliar o desenvolvimento da quinta folha do colmo principal, quando essa se tornava proporcionalmente maior que a quarta folha, porém sem a lígula aparente, a escala anotada era de 4.9 até a completa emissão da quinta folha, caracterizada pelo aparecimento da lígula foliar.

Durante a condução dos experimentos, foram realizadas coletas de plantas duas a três vezes por semana para a determinação do início da transição do meristema apical do caule do estágio vegetativo para o estágio reprodutivo biológico (início da formação da panícula). A avaliação do meristema das plantas coletadas foi realizada com a dissecação de plantas e isolamento do meristema apical com o auxílio de microscópio estereoscópio binocular e bisturi. A determinação do estágio de desenvolvimento do meristema foi baseada na

escala proposta por Bonnett (1966), considerando o estágio “B” dessa como sendo o início da transição meristemática nas plantas de aveia (Figura 1).

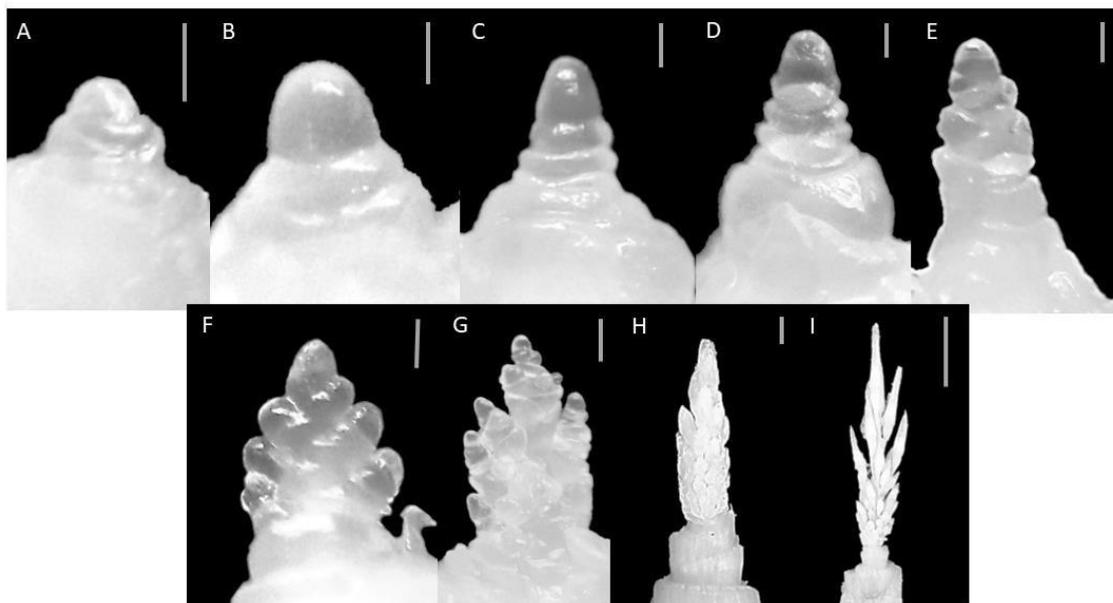


FIGURA 1. Escala de desenvolvimento meristemático e da inflorescência de aveia (*Avena sativa* L.). A) Meristema vegetativo (equivale ao estágio “A” de Bonnett (1966)); B) Início da diferenciação meristemática (equivale ao estágio “B” de Bonnett); C) Início da formação das projeções laterais de primeira ordem da panícula; D) Formação das projeções laterais de primeira ordem da panícula (equivale ao estágio “C” de Bonnett); E) Estádio inicial da formação da panícula, mostrando as ramificações de primeira ordem (equivale ao estágio “D” de Bonnett); F) Início da formação das projeções laterais de segunda ordem da panícula (equivale ao estágio “E” de Bonnett); G) Início da diferenciação das espiguetas (equivale ao estágio “F” de Bonnett); H) Espiguetas envoltas pelas glumas; I) Panícula de aveia em desenvolvimento avançado. Barras de escala = 0,1 mm (A-H), 0,5 cm (I). Fonte: autor.

As variáveis analisadas foram subdivididas em variáveis relacionadas à transição meristemática (estádio Haun no início da transição meristemática, número de dias da emergência ao início da transição meristemática, soma térmica da emergência ao início da transição meristemática, número de horas de luz da emergência ao início da transição meristemática e radiação média diária da emergência ao início da transição meristemática) e variáveis relacionadas ao período entre a transição meristemática e o florescimento (número de dias do início da transição meristemática ao florescimento e soma térmica do início da transição meristemática ao florescimento).

Os dados obtidos foram analisados estatisticamente através de análise de variância (ANOVA) e Teste de Tukey a 5% de significância com o auxílio dos programas SAS 8.0 e Microsoft Excel 2016.

### 3.3 Resultados

Para as variáveis relacionadas ao início da transição meristemática, a ANOVA do experimento a campo indicou efeitos significativos para a interação Genótipo x Época x Vernalização (*p-value* 0,0008) somente para a escala Haun do início da transição meristemática (Apêndice 3). A variável número de dias da emergência ao início da transição meristemática apresentou diferenças significativas entre médias para a interação Época x Vernalização e entre os genótipos. Para a soma térmica da emergência ao início da transição meristemática as interações Época x Vernalização e Genótipo x Época apresentaram diferenças significativas.

A média geral da escala Haun do início da transição meristemática foi de 4,35 folhas e o coeficiente de variação foi de 7,92%. Como esperado, os genótipos de ciclo superprecoce e precoce iniciaram a transição meristemática antes dos genótipos de ciclo tardio e supertardio (Figura 2).

A segunda época de cultivo antecipou o início da transição meristemática em aproximadamente uma folha em todos os genótipos avaliados, independente do tratamento de vernalização. Os genótipos UFRGS 137142-3, UFRGS 146171-1, URS 21 e URS Corona iniciaram a transição meristemática com aproximadamente quatro folhas completamente expandidas na primeira época de cultivo e três folhas completamente expandidas na segunda época de cultivo. Os genótipos UFRGS 995088-3 e LA 90105 iniciaram a transição meristemática

com aproximadamente cinco e quatro folhas completamente expandidas na primeira e segunda época de cultivo, respectivamente. Dentro de cada época de cultivo, o tratamento de vernalização não apresentou diferença significativa nos genótipos avaliados.

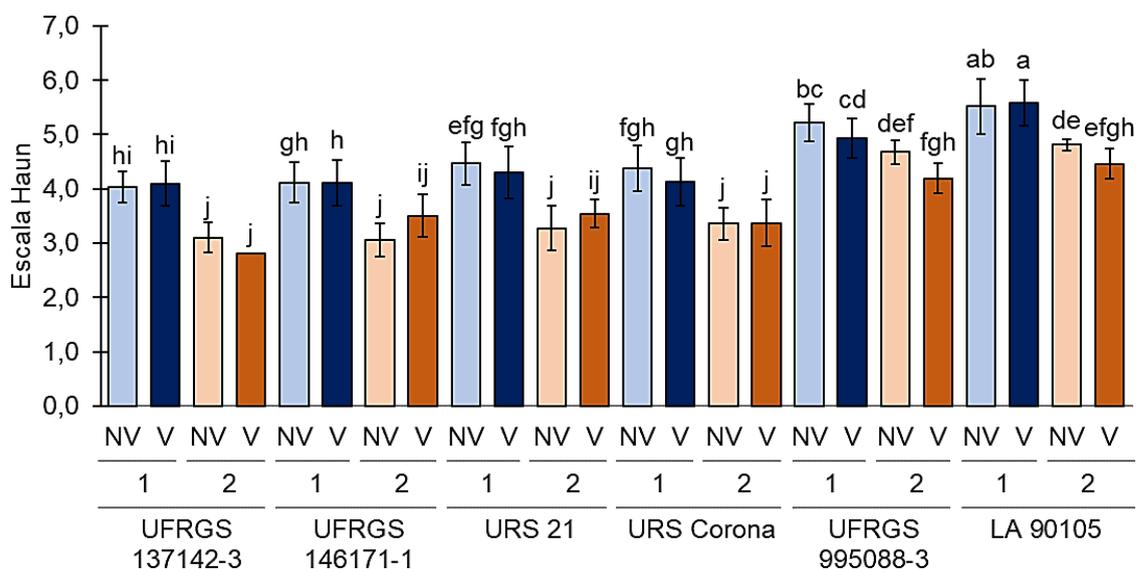


FIGURA 2. Início da transição meristemática floral em seis genótipos de aveia (*Avena sativa* L.) cultivados a campo na Estação Experimental Agronômica da UFRGS, em Eldorado do Sul/RS, em dois tratamentos (NV – não vernalizado e V – vernalizado por 30 dias a 4°C, representados pelas intensidades de cor clara e escura, respectivamente) e duas épocas de cultivo (1 - época 1 e 2 - época 2, representadas pelas cores azul e laranja, respectivamente). Letras diferentes indicam diferença significativa para a interação Genótipo x Época a 5% pelo Teste de Tukey. Barras de erro = desvio padrão da média.

A média geral do número de dias da emergência ao início da transição meristemática foi de 30,4 dias e o coeficiente de variação foi de 5,38% independente da época de plantio. Para a interação Época x Vernalização, se observou um aumento no número de dias para o início da transição meristemática na primeira época de cultivo, enquanto que na segunda época não houve diferença entre os tratamentos (Figura 3A). Ainda, a segunda época de cultivo reduziu o número de dias da emergência ao início da transição meristemática aproximadamente cinco dias, independente do tratamento de vernalização.

Os genótipos de ciclo superprecoce e precoce, UFRGS 137142-3, UFRGS 146171-1, URS 21 e URS Corona, requereram aproximadamente 28 dias após a data de emergência para o início da transição meristemática, enquanto os genótipos tardio e supertardio UFRGS 995088-3 e LA 90105 requereram cerca de 32 dias (Figura 3B).

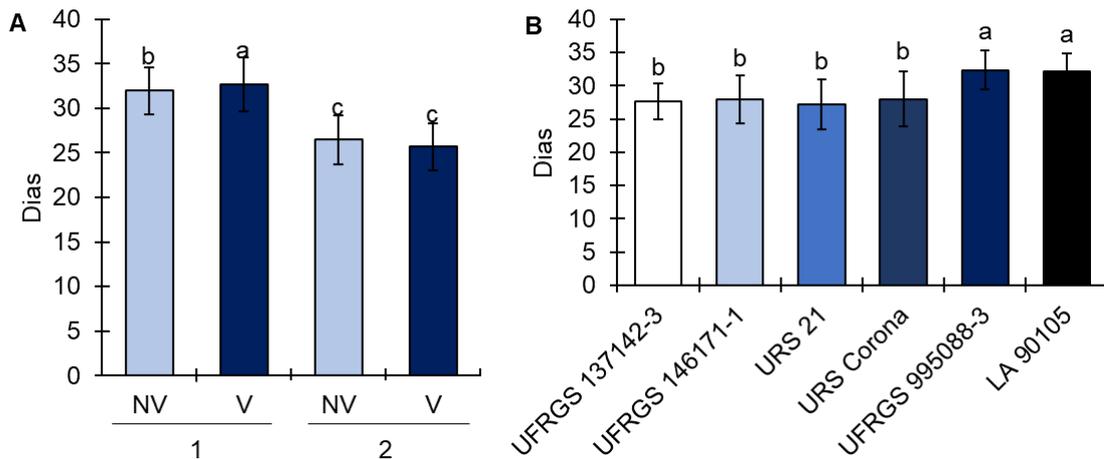


FIGURA 3. Dias da emergência ao início da transição meristemática de seis genótipos de aveia (*Avena sativa* L.) cultivados a campo na Estação Experimental Agronômica da UFRGS, em Eldorado do Sul/RS, em dois tratamentos (NV – não vernalizado e V – vernalizado por 30 dias a 4°C) e duas épocas de cultivo (1 - época 1 e 2 - época 2). A. Média do número de dias para a interação tratamento x época. B. Média do número de dias entre genótipos. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre as médias a 5% pelo Teste de Tukey. Barras de erro = desvio padrão da média.

Para a variável soma térmica da emergência ao início da transição meristemática a média geral do experimento foi de 470,16 graus-dia e o coeficiente de variação foi de 5,26%. Similar ao ocorrido na variável número de dias da emergência ao início da transição meristemática, o tratamento de vernalização aumentou a soma térmica requerida para o início da transição meristemática floral na primeira época de cultivo, porém não apresentou efeito na segunda época (Figura 4A). Entre os genótipos avaliados, a soma térmica da emergência ao início da transição meristemática foi reduzida na segunda época de cultivo em relação à primeira época, sendo as maiores reduções observadas para os genótipos de ciclo superprecoce e precoce (Figura 4B).

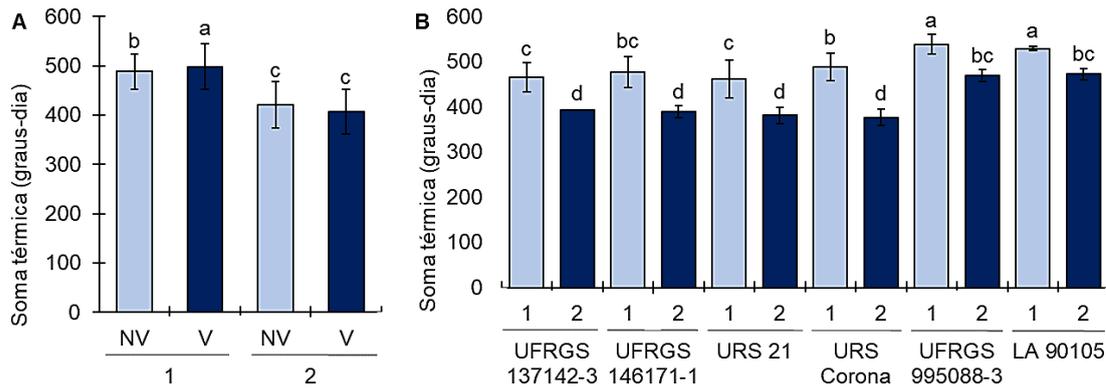


FIGURA 4. Soma térmica acumulada da emergência ao início da transição meristemática de seis genótipos de aveia (*Avena sativa* L.) cultivados a campo na Estação Experimental Agronômica da UFRGS, em Eldorado do Sul/RS, em dois tratamentos (NV – não vernalizado e V – vernalizado por 30 dias a 4°C) e duas épocas de cultivo (1 - época 1 e 2 - época 2). A. Médias de soma térmica para a interação época x tratamento. B. Médias de soma térmica para a interação época x genótipos. Letras diferentes indicam diferenças significativa entre médias a 5% pelo Teste de Tukey. Barras de erro = desvio padrão da média.

Os genótipos UFRGS 137142-3, UFRGS 146171-1, URS 21 e URS Corona requereram soma térmica de aproximadamente 470 e 380 graus-dia na primeira e segunda época de cultivo, respectivamente. Os genótipos UFRGS 995088-3 e LA 90105, por sua vez, requereram soma térmica de aproximadamente 530 e 470 graus-dia na primeira e segunda época de cultivo, respectivamente. Os genótipos UFRGS 995088-3 e LA 90105, em ambas as épocas de cultivo, apresentaram as maiores médias de soma térmica, consistente com os resultados do estágio Haun no início da transição meristemática (Figura 2) e do número de dias da emergência ao início da transição meristemática (Figura 3B).

Entre as épocas de cultivo, observaram-se diferenças significativas para as variáveis fotoperíodo médio da emergência ao início da transição meristemática e radiação média diária da emergência ao início da transição meristemática (Figura 5). O fotoperíodo foi aproximadamente uma hora maior na segunda época de cultivo em relação à primeira época, enquanto a quantidade média diária de radiação aumentou aproximadamente  $200 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  na segunda época de cultivo em relação à primeira época.

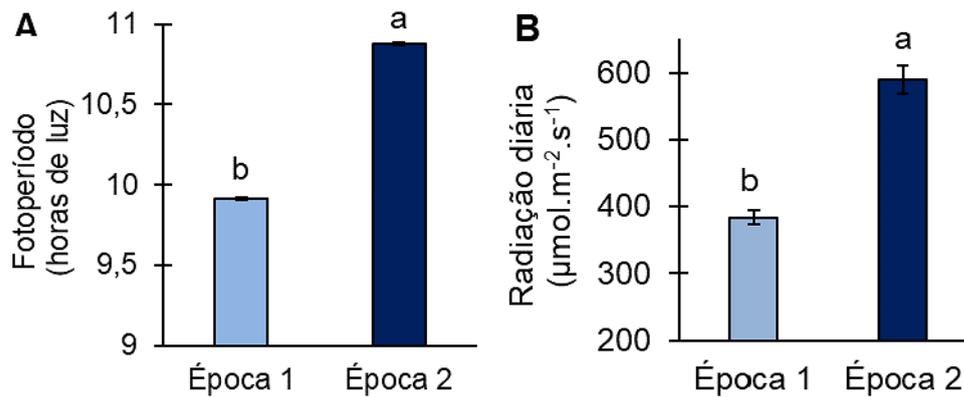


FIGURA 5. Fotoperíodo médio (A) e radiação média diária (B) da emergência ao início da transição meristemática dos seis genótipos de aveia (*Avena sativa* L.) cultivados a campo na Estação Experimental Agronômica da UFRGS, em Eldorado do Sul/RS, em duas épocas de cultivo. Letras diferentes indicam diferença significativa entre épocas de cultivo pelo Teste de Tukey a 5%. Barras de erro = desvio padrão da média.

Uma vez que o fotoperíodo e a quantidade de radiação são fatores chave para o crescimento e desenvolvimento das plantas, estes podem ter causado a antecipação do momento de início da transição meristemática floral na segunda época de cultivo do experimento a campo. Então, para determinar se essas variáveis apresentaram efeitos individuais ou em conjunto sobre a determinação do momento de início da transição meristemática, foram realizados experimentos em condições controladas e identificado o estágio Haun no momento de início da transição floral em dois fotoperíodos associados a duas intensidades de radiação.

No experimento em condições controladas, a ANOVA apresentou efeito significativo para a interação tripla Genótipo x Fotoperíodo x Radiação tanto para o estágio Haun no início da transição meristemática ( $p\text{-value} < 0,001$ ) como para o número de dias da emergência ao início da transição meristemática ( $p\text{-value} 0,009$ ) (Apêndice 4), o que indica que tanto o fotoperíodo como a intensidade de radiação diária afetam a determinação do momento de início da transição meristemática floral em aveia. A média geral do estágio Haun no início da

transição meristemática nesse experimento foi de 2,65 folhas e o coeficiente de variação foi de 7,21%. No fotoperíodo com interrupção do período noturno, a média do estágio Haun na condição de máxima radiação da câmara de crescimento foi 2,20, enquanto que na condição de baixa radiação a média foi 2,07. Da mesma forma, no fotoperíodo de noite contínua as médias do estágio Haun foram 3,18 e 3,55 nas condições de máxima e baixa radiação, respectivamente.

A escolha dos fotoperíodos utilizados ocorreu com o intuito de avaliar a mesma radiação oferecida em fotoperíodos, ou períodos escuros finais, completamente diferentes. Os fotoperíodos de 9,5 h luz/7 h escuro/0,5 h luz/7 h escuro e 10 h luz/14 h escuro, designados como fotoperíodos 1 e 2, respectivamente, fornecem o mesmo número de horas de luz (quantidade de radiação), porém diferem na distribuição do período de luz, uma vez que, no primeiro, há o rompimento do período escuro com 30 min de luz. Resultados de testes piloto sugeriam que a intensidade de luz pudesse afetar a indução da transição meristemática em aveia. Os genótipos superprecoces UFRGS 137142-3 e UFRGS 146171-1, assim como o genótipo precoce URS 21, iniciaram a transição meristemática com somente uma folha completamente expandida no fotoperíodo 1 em ambas as intensidades de radiação, tendo sido os que apresentaram as menores médias do experimento (Figura 6). A maior média foi observada para o genótipo supertardio LA 90105 no tratamento com fotoperíodo 2 e baixa radiação, que apresentou o início da transição meristemática no estágio Haun 4.5.

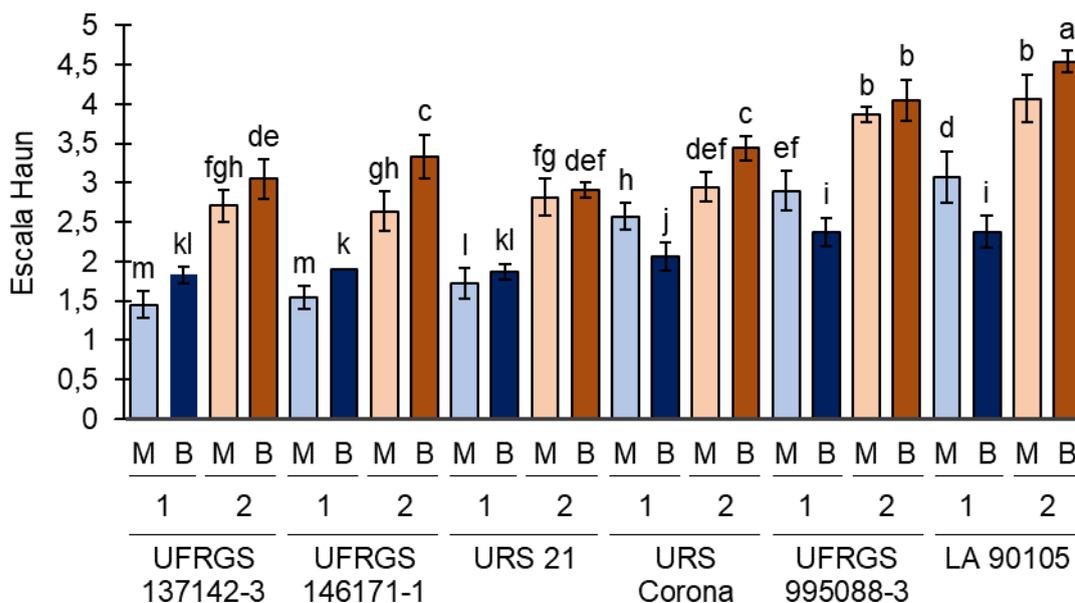


FIGURA 6. Estádio Haun no início da transição meristemática floral de seis genótipos de aveia (*Avena sativa* L.) submetidos a duas condições de fotoperíodo (1 – 9,5 h luz/7 h escuro/0,5 h luz/7 h escuro e 2 – 10 h luz/14 h escuro, representados pelas cores azul e laranja, respectivamente) associadas a duas intensidades de radiação (M – máxima radiação da câmara de crescimento ( $350 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ) e B – baixa radiação ( $150 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ), representadas pelas intensidades de cor clara e escura, respectivamente) em condições controladas. Letras diferentes indicam diferença significativa para a interação tripla Genótipo x Fotoperíodo x Radiação a 5% pelo Teste de Tukey. Barras de erro = desvios padrão da média.

Os genótipos UFRGS 137142-3 e UFRGS 146171-1, de ciclo superprecoce, apresentaram um atraso no momento de início da transição meristemática com o aumento do comprimento da noite (fotoperíodo 2) e também com a redução da intensidade de radiação. O genótipo URS 21 respondeu apenas ao fotoperíodo, mas não à intensidade de radiação. Os genótipos URS Corona e LA 90105, no fotoperíodo de 10 horas de luz, atrasaram o momento de início da transição meristemática na condição de menor radiação em comparação ao tratamento com maior radiação, enquanto que o genótipo UFRGS 995088-3, no mesmo fotoperíodo, não apresentou alteração no momento de início da transição meristemática. Curiosamente, no fotoperíodo com interrupção do período noturno (fotoperíodo 1), os genótipos URS Corona,

UFRGS 995088-3 e LA 90105 anteciparam o início da transição meristemática quando em menor radiação em comparação à maior intensidade de radiação.

Em relação à variável número de dias da emergência ao início da transição meristemática, a média geral do experimento foi de 14,62 dias e o coeficiente de variação foi de 10,72%. A média do número de dias entre a emergência e o início da transição meristemática no fotoperíodo 1 foi de 10,70 e 10,97 dias para as condições de máxima e baixa radiação, respectivamente. No fotoperíodo 2, as médias dessa variável com máxima e baixa radiação foram 16,85 e 19,97 dias, respectivamente. Similar aos resultados baseados no estádio Haun no início da transição meristemática, os genótipos UFRGS 146171-1, em ambos os fotoperíodos, e UFRGS 137142-3, URS Corona e LA 90105, no fotoperíodo 2 (10/14 h) requereram um maior número de dias entre a emergência e o início da transição meristemática quando em baixa radiação (Figura 7).

Nos genótipos URS Corona, UFRGS 995088-3 e LA 90105, os quais apresentaram o início da transição meristemática antecipado (menor desenvolvimento foliar) em baixa radiação no fotoperíodo 1 (9,5/7/0,5/7 h), o número de dias entre a emergência e o início da transição meristemática foi similar em ambas as intensidades de radiação nesse fotoperíodo (Figura 7). Também, o genótipo UFRGS 137142-3 requereu o mesmo número de dias da emergência ao início da transição meristemática independente dos níveis de radiação no fotoperíodo 1 (Figura 7), apesar do estádio Haun no início da transição meristemática ter sido maior na condição de menor radiação (Figura 6).

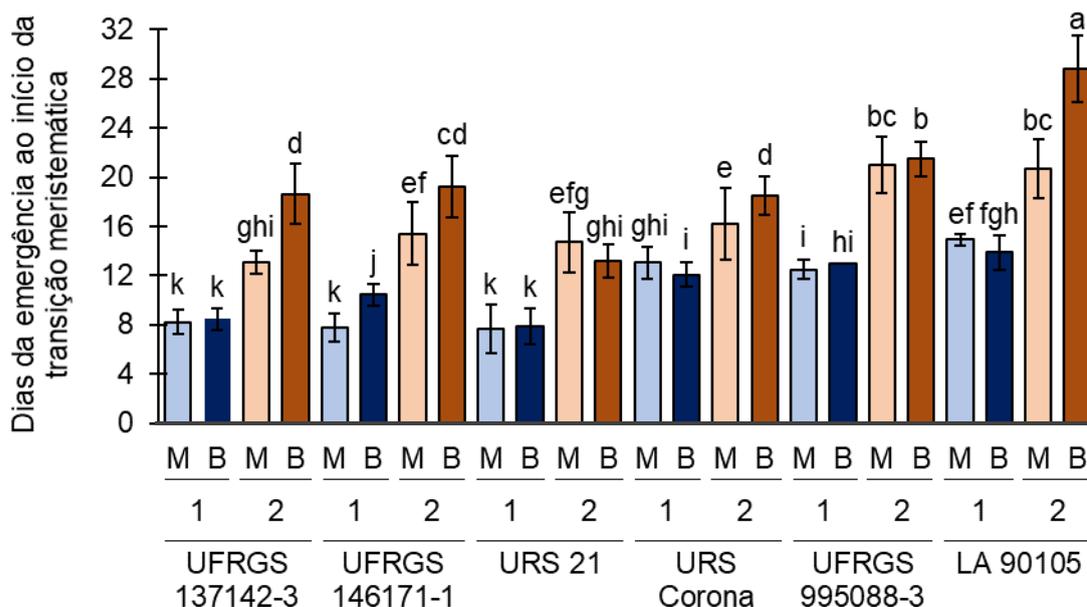


FIGURA 7. Dias da emergência ao início da transição meristemática floral de seis genótipos de aveia (*Avena sativa* L.) submetidos a duas condições de fotoperíodo (1 – 9,5/7/0,5/7h e 2 – 10/14h, representados pelas cores azul e laranja, respectivamente) associadas a duas condições de radiação (M – máxima radiação da câmara ( $350 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) e B – baixa radiação ( $150 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ), representadas pelas intensidades de cor clara e escura, respectivamente) em condições controladas. Letras diferentes indicam diferença significativa para a interação tripla Genótipo x Fotoperíodo x Radiação a 5% pelo Teste de Tukey. Barras de erro = desvios padrão da média.

O início da transição meristemática em condições controladas foi antecipado em número de dias em relação ao campo em todos os genótipos avaliados (Figuras 3 e 7), devido ao maior controle experimental de outros sinais ambientais que tem efeito sobre a determinação do momento de início da transição meristemática, como a temperatura, disponibilidade nutricional e hídrica. Por exemplo, na câmara a temperatura média diária foi aproximadamente  $22^{\circ}\text{C}$  enquanto no campo (entre 20/06 e 21/07) foi aproximadamente  $12^{\circ}\text{C}$ , portanto a mesma soma térmica foi alcançada cerca de 14 dias antes na câmara de crescimento. Em outros experimentos também têm se observado maior precocidade em condições controladas em comparação ao campo (Arenhardt, 2019).

Assim como o estágio Haun no início da transição meristemática e o número de dias da emergência ao início da transição meristemática, a soma

térmica da emergência ao início da transição meristemática também apresentou diferenças significativas para a interação Genótipo x Fotoperíodo x Radiação ( $p$ -value <0,001), com média geral de 323,21 graus-dia e coeficiente de variação de 6,54%. No fotoperíodo 1, a média de soma térmica na condição de máxima radiação foi de 236,64 graus-dia e na condição de baixa radiação foi de 242,57 graus-dia. No fotoperíodo 2, as médias de soma térmica foram 372,27 e 441,36 graus-dia para as radiações máxima e baixa, respectivamente.

Os menores valores de soma térmica da emergência ao início da transição meristemática floral foram observados no fotoperíodo 1 (Figura 8). Nesse fotoperíodo, a quantidade de radiação não apresentou efeito significativo dentro de cada genótipo avaliado, exceto para UFRGS 146171-1. Porém, no fotoperíodo 2, os genótipos UFRGS 137142-3, UFRGS 146171-1 e LA 90105 requereram maior soma térmica na menor radiação em comparação à maior intensidade de radiação. Os demais genótipos não apresentaram alterações na soma térmica em razão da intensidade de radiação no fotoperíodo 2.

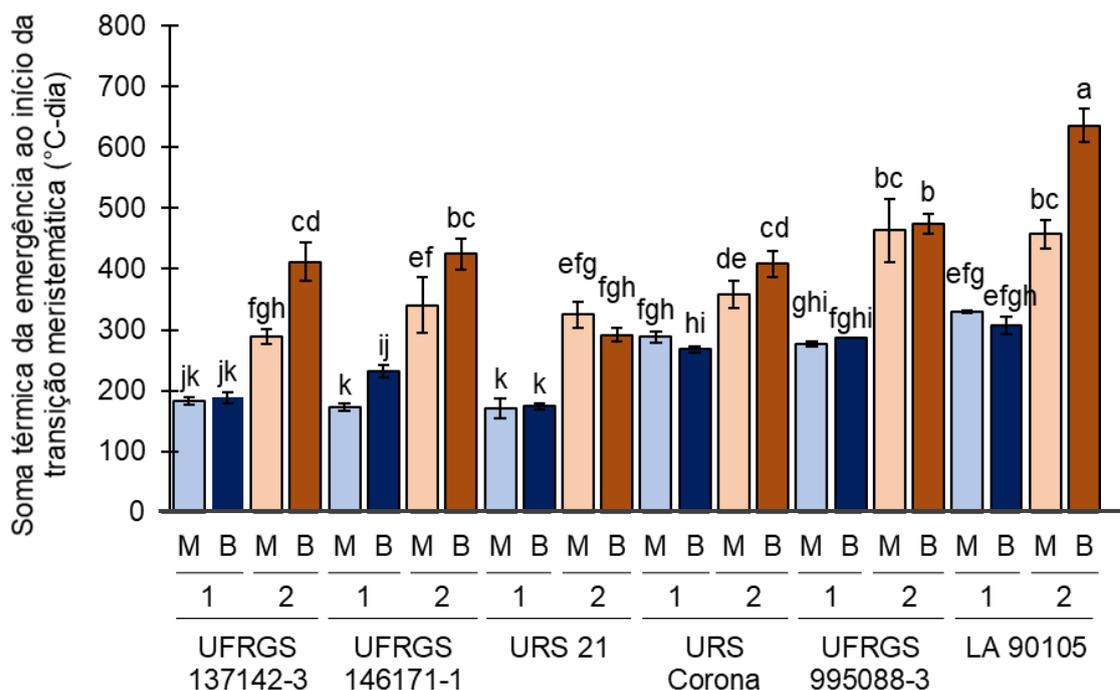


FIGURA 8. Soma térmica da emergência ao início da transição meristemática de seis genótipos de aveia (*Avena sativa* L.) submetidos a duas condições de fotoperíodo (1 – 9,5/7/0,5/7h e 2 – 10/14h, representados pelas cores azul e laranja, respectivamente) associadas a duas condições de radiação (M – máxima radiação da câmara (350  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ) e B – baixa radiação (150  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ), representadas pelas intensidades de cor clara e escura, respectivamente) em condições controladas. Letras diferentes indicam diferença significativa para a interação tripla Genótipo x Fotoperíodo x Radiação a 5% pelo Teste de Tukey. Barras de erro = desvios padrão da média.

Em relação às variáveis relacionadas ao florescimento, todas apresentaram efeitos significativos na ANOVA para as interações Genótipo x Vernalização e Genótipo x Época (Apêndice 3). Para a variável número de dias do início da transição meristemática ao florescimento, a média geral foi de 48,3 dias e o coeficiente de variação foi de 2,0%. As datas de emissão da folha bandeira e florescimento, bem como o número total de folhas de cada genótipo, encontram-se listadas no apêndice 1.

O tratamento de vernalização reduziu o número de dias entre o início da transição meristemática e o florescimento dos genótipos URS 21, URS Corona e UFRGS 995088-3, porém não afetou os genótipos UFRGS 137142-3, UFRGS 146171-1 e LA 90105 (Figura 9A). Ainda, a segunda época de cultivo reduziu o

número de dias do período entre o início da transição meristemática e o florescimento em todos os genótipos avaliados, sendo as maiores reduções observadas nos genótipos mais precoces (Figura 9B).

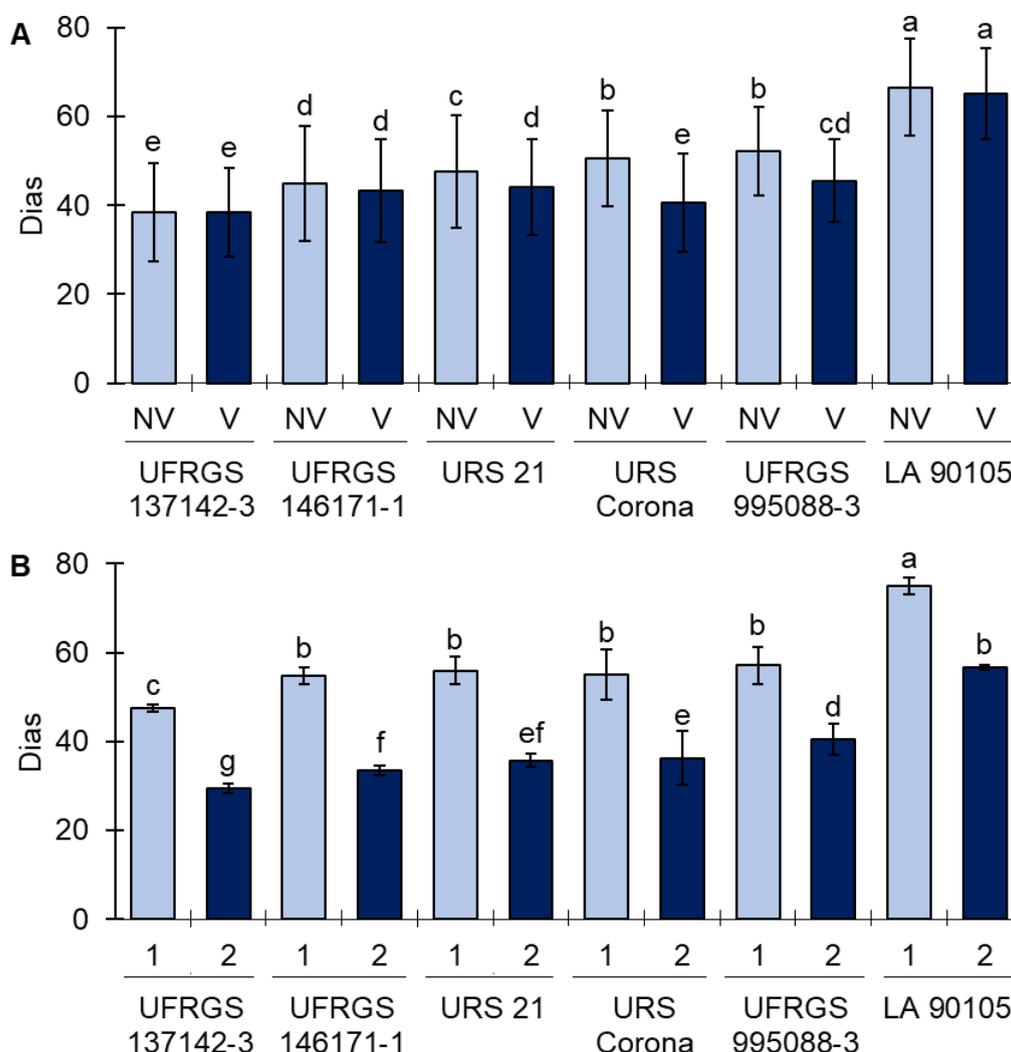


FIGURA 9. Dias entre o início da transição meristemática e o início do florescimento de seis genótipos de aveia (*Avena sativa* L.) cultivados a campo na Estação Experimental Agronômica da UFRGS, em Eldorado do Sul/RS, em dois tratamentos (NV – não vernalizado e V – vernalizado por 30 dias a 4°C) e duas épocas de cultivo (1 – época 1 e 2 – época 2). A. Médias do número de dias para a interação genótipo x tratamento. B. Médias do número de dias para a interação genótipo x época. Letras diferentes indicam diferenças significativas nas médias pelo Teste de Tukey a 5%. Barras de erro = desvio padrão da média.

Para a variável soma térmica acumulada entre o início da transição meristemática e o florescimento a média geral foi de 808,93 graus-dia e o coeficiente de variação foi de 2,35. Similar aos resultados observados para o número de dias do início da transição meristemática ao florescimento, o

tratamento de vernalização reduziu a soma térmica desse período nos genótipos URS 21, URS Corona e UFRGS 995088-3, porém não afetou os genótipos UFRGS 137142-3, UFRGS 146171-1 e LA 90105 (Figura 10A). Além disso, a segunda época de cultivo reduziu a soma térmica requerida entre o início da transição meristemática e o florescimento em todos os genótipos avaliados (Figura 10B).

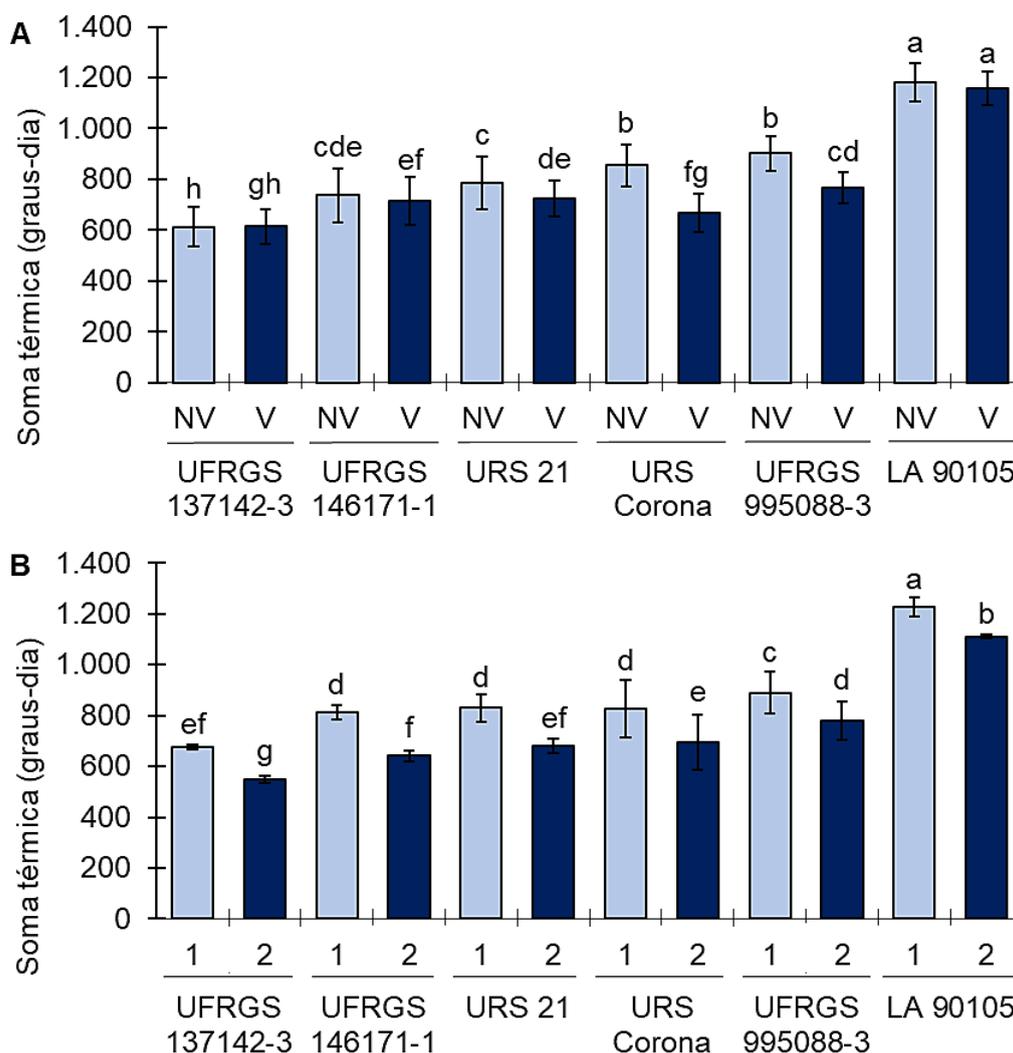


FIGURA 10. Soma térmica acumulada entre o início da transição meristemática e o florescimento de seis genótipos de aveia (*Avena sativa* L.) cultivados a campo na Estação Experimental Agronômica da UFRGS, em Eldorado do Sul/RS, em dois tratamentos (NV – não vernalizado e V – vernalizado por 30 dias a 4°C) e duas épocas de cultivo (1 – época 1 e 2 – época 2). A. Médias de soma térmica para a interação genótipo x tratamento. B. Médias de soma térmica para a interação genótipo x época. Letras diferentes indicam diferenças significativas nas médias pelo Teste de Tukey a 5%. Barras de erro = desvio padrão da média.

Dessa forma, verificou-se que, entre os genótipos avaliados, somente URS 21, URS Corona e UFRGS 995088-3 apresentaram alterações na duração do período entre a transição meristemática e o florescimento em resposta ao tratamento de vernalização. O genótipo URS 21 respondeu ao tratamento de vernalização somente na primeira época de cultivo, quando o fotoperíodo e a intensidade de radiação eram menores. Isso indica que, mesmo sendo responsivo à vernalização, o fotoperíodo e a quantidade de radiação têm maior importância na determinação do momento do florescimento nesse genótipo em comparação à vernalização, uma vez que, havendo maior fotoperíodo e quantidade de radiação, o tratamento de vernalização deixou de ter efeito sobre o momento do florescimento.

### **3.4 Discussão**

A aveia, assim como trigo e cevada, é uma espécie originária de clima temperado. Geralmente, as espécies adaptadas a condições de clima temperado e que germinam antes do inverno necessitam ser submetidas a um período de baixas temperaturas para suprir seu requerimento de vernalização e então adquirir competência para responder aos sinais ambientais, como o fotoperíodo, para então florescerem (Song, Ito e Imaizumi, 2010; Teotia e Tang, 2015; Brambilla *et al.*, 2017).

No experimento a campo, as plantas de aveia demoraram em média 30 dias, contados a partir da emergência das plântulas, para o início da transição meristemática. Nesse período, houve 13 dias na primeira época de cultivo onde as temperaturas foram inferiores a 10°C, que é considerado o limite máximo de temperatura para a eficiência da vernalização das plantas (Chujo, 1966; Trione

e Metzger, 1970; Brooking, 1996). Da mesma forma, na segunda época de cultivo ocorreram 17 dias em que a temperatura mínima foi menor que 10°C no período de 30 dias a partir da emergência das plântulas. Durante esse período, foram contabilizadas 121,7 horas de temperaturas abaixo de 10°C na primeira época de cultivo e 134 horas na segunda época de cultivo. No período entre o início da transição meristemática e o florescimento, houve 29 dias de temperaturas mínimas abaixo de 10°C na primeira época de cultivo, contabilizando 210,5 horas de frio. Por outro lado, na segunda época de cultivo houve apenas 5 dias de temperaturas abaixo de 10°C, contabilizando 10 horas de frio no período entre o início da transição meristemática e o florescimento. Assim, durante o período total de condução dos experimentos, foram observados 42 e 22 dias de temperaturas abaixo de 10°C na primeira e segunda época de cultivo, respectivamente. Com isso, contabilizou-se 332,2 horas de frio na primeira época de cultivo e 144 horas de frio na segunda época de cultivo entre a emergência das plântulas e o florescimento.

Uma das possibilidades para a ausência de diferença significativa entre o tratamento vernalizado e o controle sobre o momento de início da transição meristemática nos genótipos avaliados dentro de cada época de cultivo, apesar do baixo coeficiente de variação observado, é de que estas baixas temperaturas possam ter promovido a vernalização do tratamento controle após o transplante a campo. Trabalhos realizados por Nava (2008) e Locatelli (2008) demonstram que a resposta à vernalização em aveia, para os genótipos responsivos a esse estímulo, parece ser quantitativa. Segundo os autores, a redução do ciclo das plantas é proporcional ao aumento do período de vernalização, até chegar a um momento de saturação, quando o aumento de período de frio não ocasiona maior

redução de ciclo. Esses resultados são similares aos observados por Prášil, Prášilová e Pánková (2004) em trigo. Dessa forma, mesmo que o período de frio na qual as plantas foram submetidas no campo possam ter desencadeado alguma resposta à vernalização nas plantas controle, é pouco provável que o frio observado a campo no período entre a emergência das plântulas e o início da transição meristemática tenha causado o mesmo efeito do tratamento de 30 dias de vernalização sobre a determinação do início da transição meristemática floral nas plantas de aveia, a não ser que o requerimento de vernalização dos genótipos sature com poucas horas de frio. Pode-se sugerir, portanto, que a vernalização não apresentou efeito significativo sobre a determinação do momento de início da transição meristemática floral nos genótipos de aveia avaliados dentro de cada época de cultivo.

Apesar da vernalização não ter demonstrado efeitos significativos sobre a determinação do momento de início da transição meristemática, esta teve um importante papel na determinação do momento do florescimento, ao reduzir o período entre o início da transição meristemática e a exposição da panícula nos genótipos que se mostraram responsivos à vernalização, como URS 21, URS Corona e UFRGS 995088-3 (Figura 9). Isso indica que o período de baixas temperaturas após o transplante não foi suficiente para suprir completamente as exigências de frio desses genótipos no tratamento controle, sugerindo que, ou o requerimento de frio para a transição floral seja maior do que o número de horas de frio fornecido pelo tratamento de vernalização, ou a vernalização pode ter mais importância no período de alongamento de entrenós para a exposição da panícula após o início da transição meristemática do que propriamente na determinação do momento de início da transição meristemática floral em aveia.

A segunda hipótese faz sentido ao se considerar que o gene *VRN1*, além de ser um gene de resposta à vernalização, também é um gene de identidade meristemática da classe “A” do modelo “ABCDE” do florescimento (Murai, 2013), tendo participação na determinação da identidade de sépalas e pétalas em cereais como trigo e cevada. Dessa forma, é possível que outros sinais ambientais como o fotoperíodo tenham maior importância para a determinação do momento de início da transição meristemática floral em aveia em detrimento da vernalização, explicando assim a maior importância da ativação de *VRN1* pelo tratamento de vernalização no período após o início da transição meristemática floral.

A soma térmica é um dos fatores determinantes para a indução do florescimento em trigo e cevada, juntamente com a vernalização e o fotoperíodo (Song, Ito e Imaizumi, 2010). Em aveia, os resultados demonstram que a soma térmica da emergência ao início da transição meristemática floral foi reduzida na segunda época de cultivo em relação à primeira no experimento a campo, similar ao que ocorreu com o estágio Haun no início da transição meristemática e com o número de dias entre a emergência e o início da transição meristemática (Figuras 2 a 4). Além disso, observou-se uma redução na soma térmica também no experimento em condições controladas, com a interrupção do período noturno (fotoperíodo 1) em comparação ao período noturno contínuo (fotoperíodo 2) (Figura 8). Nas condições do fotoperíodo 2, a menor intensidade de radiação aumentou a soma térmica da metade dos genótipos, enquanto que no fotoperíodo 1, apenas em um genótipo houve aumento da soma térmica em baixa radiação. Por outro lado, ao avaliar o efeito dos níveis de radiação, se observou que a baixa radiação proporcionou um aumento na soma térmica

requerida para o início da transição meristemática em cinco dos seis genótipos avaliados no fotoperíodo 2, porém esse efeito só foi observado em um dos genótipos avaliados no fotoperíodo 1 (Figura 8).

Com esses resultados, é possível sugerir que a soma térmica possivelmente possui menor importância que o fotoperíodo para a determinação do momento da transição meristemática em aveia, uma vez que esta variável, assim como as demais variáveis relacionadas ao início da transição meristemática, foi reduzida tanto no experimento à campo como em condições controladas, com o aumento do fotoperíodo. Outra possibilidade é de que a soma térmica mínima crítica para a determinação do momento da transição meristemática seja menor do que a soma térmica obtida em todos os fotoperíodos avaliados, explicando assim a redução observada nessa variável com o aumento do fotoperíodo. É possível ainda que haja uma interação entre esses fatores ambientais, como sugere o aumento da soma térmica quando da redução da radiação no fotoperíodo 2 no experimento em condições controladas.

Como as condições de experimento a campo apresentam grande variabilidade, principalmente em relação à temperatura e disponibilidade hídrica, os experimentos em câmaras de crescimento de plantas foram realizados visando obter um maior controle das condições ambientais e assim identificar os efeitos do fotoperíodo e da quantidade de radiação sobre a determinação do momento de início da transição meristemática floral em aveia. Os resultados em condições controladas demonstram que a determinação do momento de início da transição meristemática floral em aveia tem grande participação do fotoperíodo e da quantidade de radiação (Figura 6).

O fotoperíodo é considerado um parâmetro fundamental para a sincronização de mudanças de fase de desenvolvimento em plantas, uma vez que o comprimento do dia apresenta menores flutuações diárias em comparação a outros sinais ambientais, como a temperatura. Por isso, durante o processo evolutivo das plantas, as redes regulatórias de genes evoluíram no intuito de sincronizar o momento de ocorrência do florescimento com as melhores condições ambientais (Brambilla *et al.*, 2017). Por ser uma espécie de dias longos, a redução do comprimento da noite, tanto na época 2 do experimento a campo quanto pela aplicação de um pulso de luz no meio do período noturno no experimento em condições controladas, antecipou o momento de início da transição meristemática de todos os genótipos de aveia avaliados (Figuras 2 e 6).

Uma das possibilidades para explicar esse comportamento é de que, similar ao que foi observado por Pearce *et al.* (2017) em trigo, a interrupção do período noturno levou a planta a perceber o comprimento do dia como se fosse um fotoperíodo com apenas sete horas de escuro, o que acarreta em um total de 17 horas luz, onde a planta estaria exposta a um fotoperíodo altamente indutivo. Isso provavelmente acarreta um maior acúmulo de proteínas CO durante o dia, que conseqüentemente ativa o florigeno *FT1/VRN3* para a indução da transição meristemática floral em aveia, similar ao que ocorre com trigo e cevada (Campoli *et al.*, 2012). No entanto, verificou-se que, embora os genótipos avaliados sejam responsivos a alterações fotoperiódicas, o fotoperíodo de forma isolada não é um fator determinante para a indução da transição meristemática e florescimento, pois os genótipos avaliados iniciaram a transição meristemática mesmo no fotoperíodo de 10 horas de luz, que foi considerado não-indutor para

a espécie por Arenhardt (2019), pois parece estar abaixo do fotoperíodo crítico requerido para o florescimento de alguns genótipos, apesar de promover o início da transição meristemática.

O trabalho desenvolvido por Arenhardt (2019) também sugere que os genótipos brasileiros de aveia respondem positivamente a aumentos no fotoperíodo e a vernalização, reduzindo o tempo e soma térmica necessários para o florescimento, consistente com os resultados obtidos. A genealogia das plantas pode afetar, entre outros aspectos, sua capacidade de resposta fisiológica, como, por exemplo, a velocidade de acúmulo de proteínas CO. Suárez-López (2001) demonstrou que o momento do florescimento em resposta a expressão constitutiva de CO em plantas de *arabidopsis* varia com o “*background*” genético das plantas avaliadas. Assim, é possível que a variedade de respostas ao fotoperíodo observadas para o momento de início da transição meristemática e florescimento nos genótipos avaliados seja explicada, pelo menos parcialmente, pelo “*background*” genético dos mesmos.

A intensidade de radiação também pode apresentar efeitos diretos e indiretos sobre a atividade meristemática das plantas (Pfeiffer *et al.*, 2016; Mohammed *et al.*, 2018). O trabalho realizado por Pfeiffer *et al.* (2016) demonstra que o desenvolvimento meristemático de plântulas de *arabidopsis* requer tanto a transdução de sinais luminosos de forma direta, ativando a expressão do gene *WUSHEL* (*WUS*), que controla a identidade meristemática das células do centro organizador do meristema apical do caule, como também de forma indireta, através da disponibilidade de fotoassimilados, que atuam como fonte de energia para o desenvolvimento meristemático.

No entanto, o excesso de radiação pode ter diversos efeitos negativos sobre o metabolismo das plantas, especialmente devido à radiação ultravioleta B (UVB), como a redução do crescimento e desenvolvimento e da assimilação de carbono (Rozema *et al.*, 1997; Jansen, Gaba e Greenberg, 1998; Urban *et al.*, 2006; Wargent *et al.*, 2009; Gruber *et al.*, 2010; Guidi *et al.*, 2011; Klem *et al.*, 2012), devido ao seu potencial de danos ao DNA e aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (Hakala-Yatkin *et al.*, 2010; Hideg, Jansen e Strid, 2013).

Em condições naturais, o excesso de radiação UVB geralmente está associado ao excesso de radiação fotossinteticamente ativa (Brown, Parker e Posner, 1994). No experimento a campo, a radiação fotossinteticamente ativa média diária ultrapassou  $1000 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  em vários dias durante a condução dos experimentos (Apêndice 1B), valor que já é considerado como alta intensidade de radiação (Klem *et al.*, 2015). Pode-se, portanto, sugerir que as plantas de aveia sofreram algum estresse por alta radiação no campo, principalmente na segunda época de cultivo, quando a intensidade de radiação fotossinteticamente ativa foi maior em comparação à primeira época (Apêndice 1B).

Apesar disso, estudos demonstram que plantas aclimatadas à alta radiação UVB normalmente apresentam mecanismos de proteção contra os danos causados por essa radiação, que incluem desde elevada capacidade de reparo de DNA até alterações na arquitetura foliar e da planta como um todo, o que permitem a sobrevivência e adaptação dessas plantas à radiação UV (Ballaré, Barnes e Flint, 1995; Barnes, Ballaré e Caldwell, 1996; Shirley, 1996; Jansen, Gaba e Greenberg, 1998). Em trigo e aveia, Barnes *et al.* (1990) demonstraram

que a exposição de plantas à radiação UVB reduziu a altura da parte aérea. Por outro lado, Klem *et al.* (2015) demonstram que a aclimação de plantas de cevada à radiação fotossinteticamente ativa e ultravioleta aumentam a capacidade fotoprotetora das plantas, de modo que estresses por alta radiação após essa aclimação ocasionam menos danos fotooxidativos às mesmas, especialmente em cultivares sensíveis à radiação UV.

Os resultados do experimento em condições controladas demonstram que os genótipos avaliados apresentam comportamentos distintos em resposta à intensidade de radiação. Na condição de baixa radiação, os genótipos UFRGS 146171-1, em ambos os fotoperíodos, e UFRGS 137142-3, URS Corona e LA 90105, no fotoperíodo 2 (10/14 h) requereram tanto um maior número de folhas completamente expandidas no início da transição meristemática como um maior número de dias entre a emergência e o início da transição meristemática (Figuras 6 e 7), consistente com os efeitos da redução da taxa fotossintética causada pela baixa radiação, que reduz a disponibilidade de açúcares para o crescimento e desenvolvimento das plantas. No entanto, essa resposta apresentou variações nas taxas de desenvolvimento foliar entre as intensidades luminosas, pois o aumento do número de folhas foi de aproximadamente 11% (LA 90105 no fotoperíodo 2) a 26% (UFRGS 146171-1 no fotoperíodo 2) sob baixa radiação em comparação à máxima radiação, enquanto que o aumento no número de dias para o início da transição floral variou de 13% (URS Corona no fotoperíodo 2) a 42% (UFRGS 137142-3 no fotoperíodo 2) na condição de baixa radiação, quando comparado à máxima intensidade luminosa. Assim, pode-se sugerir que a intensidade de radiação possui efeitos sobre a determinação do momento de início da transição floral nesses genótipos, alterando a taxa de desenvolvimento

foliar e o número de folhas requerido para o início da transição meristemática, especialmente quando submetidos a um fotoperíodo não indutivo (10 h de luz).

Por outro lado, os genótipos URS Corona, UFRGS 995088-3 e LA 90105 apresentaram 19, 18 e 22% menos folhas, respectivamente, no início da transição meristemática na condição de baixa radiação associada ao fotoperíodo 1, mas o número de dias entre a emergência e o início da transição meristemática não foi alterado pela radiação no fotoperíodo 1. Por serem genótipos de ciclo mais longo, é possível que a antecipação do momento de início da transição meristemática floral com a redução da radiação seja causada por um efeito de evitação de sombra no fotoperíodo 1. Esse efeito geralmente ocorre em plantas sombreadas ou cultivadas em altas densidades e pode ser caracterizado pelo estiolamento dos entrenós, redução da área foliar e aceleração do florescimento (Halliday, Koornneef e Whitelam, 1994; Pearce *et al.*, 2016; Wille *et al.*, 2017). No entanto, apesar da antecipação do número de folhas no momento de início da transição floral, a baixa quantidade de radiação reduziu a taxa de divisão celular e/ou de alongamento celular dos genótipos URS Corona, UFRGS 995088-3 e LA 90105 no fotoperíodo 1, de modo que o número de dias da emergência ao início da transição floral foi similar.

Ainda, o genótipo UFRGS 137142-3 apresentou um aumento de 26% no número de folhas quando em baixa radiação no fotoperíodo 1 em comparação a maior radiação. No entanto, o número de dias entre a emergência e o início da transição floral foi o mesmo em ambas as intensidades de radiação no fotoperíodo 1, sugerindo que a taxa de desenvolvimento foliar foi acelerada na condição de baixa radiação. Assim, os resultados indicam que a quantidade de radiação tem um importante papel na determinação do momento de início da

transição meristemática nesses genótipos, principalmente quando expostos a noites curtas.

Outro ponto importante a destacar é o efeito que o comprimento da noite parece ter sobre a resposta à baixa radiação nos genótipos avaliados, pois o fotoperíodo 1 alterou o número de folhas emitidas, mas sem alterar o número de dias para o início da transição meristemática, na maioria dos genótipos avaliados. Por outro lado, o fotoperíodo 2 aumentou tanto o número de folhas como o número de dias para o início da transição floral nos genótipos UFRGS 137142-3, UFRGS 146171-1, URS Corona e LA 90105.

Além do efeito de evitação de sombreamento observado nos genótipos URS Corona, UFRGS 995088-3 e LA 90105 no fotoperíodo 1, outro fator que pode estar influenciando a determinação do momento de início da transição meristemática floral nesses genótipos é o relógio circadiano. O relógio circadiano está diretamente ligado à rota de sinalização luminosa (Oakenfull e Davis, 2017; CASAL e QÜESTA, 2018), provendo à planta informações sobre o comprimento do dia, por exemplo, para um adequado controle da transição floral (Song *et al.*, 2015). Estudos recentes têm demonstrado que o relógio circadiano pode regular tanto o crescimento da planta como um todo ou ao nível de órgãos como também pode regular diferencialmente o crescimento de um conjunto de células de um determinado órgão vegetal (Atamian *et al.*, 2016; Endo, 2016; Apelt *et al.*, 2017; Ke *et al.*, 2018). Assim, é possível sugerir que o período de 0,5 h de luz no meio do período de escuro do fotoperíodo 1 tenha alterado a rede regulatória de genes do relógio circadiano, promovendo uma maior concentração do florigeno FT nessa condição, em comparação ao fotoperíodo 2, e, conseqüentemente, antecipando o início da transição floral.

Uma resposta inesperada foi observada no genótipo UFRGS 137142-3, que acelerou o desenvolvimento foliar em baixa radiação quando submetido ao fotoperíodo com interrupção do período noturno (fotoperíodo 1). Nessa condição, o genótipo apresentou maior estágio Haun no início da transição meristemática, mas manteve o número de dias da emergência ao início da transição meristemática em ambas as intensidades de radiação.

Os resultados do experimento em condições controladas indicam que a quantidade de radiação afeta a determinação do momento de início da transição meristemática. Isto pode se dar tanto diretamente, através da ativação do gene *WUS*, como demonstrado por Pfeiffer *et al.* (2017), como também de forma indireta, através da disponibilidade de fotoassimilados para o desenvolvimento meristemático e foliar das plantas de aveia.

Assim, parte desses resultados podem ser explicados pela menor disponibilidade de fotoassimilados necessários para a indução da transição floral, uma vez que, ao reduzir a intensidade de radiação recebida pelas plantas, há uma redução na taxa fotossintética e, conseqüentemente, na produção de compostos de carbono que fornecem a energia necessária para o crescimento e desenvolvimento das mesmas. Por outro lado, em fotoperíodos longos, a taxa fotossintética é aumentada em comparação a fotoperíodos curtos, aumentando assim a disponibilidade de fotoassimilados e, com isso, acelerando o desenvolvimento vegetal (Taiz e Zeiger, 2013).

Além da resposta a diferentes sinais ambientais, alterações endógenas nas plantas também são necessárias para a determinação do momento de início da transição meristemática e florescimento, como a juvenilidade. A juvenilidade é um dos fatores endógenos que mais afetam o momento da transição

meristemática, pois define a capacidade da planta em perceber/responder aos sinais ambientais (Yu, Lian e Wang, 2015; Tripathi, Bregitzer e Singh, 2018; Wingler, 2018; Xu, Zhang e Wu, 2018; Zhang e Ling, 2018; Fouracre e Poethig, 2019).

A juvenilidade em plantas consiste na incapacidade da planta em responder aos estímulos externos para o início da transição meristemática antes que alguns critérios endógenos sejam atingidos, como por exemplo, um número mínimo de folhas diferenciadas no meristema apical. No entanto, os resultados experimentais demonstram que, assim como alguns genótipos parecem ser insensíveis ao fotoperíodo, outros parecem não ter requerimento de juvenilidade para responder aos sinais ambientais e dar início ao processo de mudança do estágio vegetativo para o estágio reprodutivo biológico, como é o caso dos genótipos superprecoces UFRGS 137142-3 e UFRGS 146171-1 e do genótipo precoce URS 21. Em condições controladas, esses genótipos iniciaram a transição meristemática em média com uma folha completamente expandida no tratamento com interrupção do período noturno (fotoperíodo 1) e radiação de  $350 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  (máxima radiação) (Figura 6). Além disso, houve plantas que iniciaram a transição meristemática com menos de uma folha completamente expandida no genótipo UFRGS 137142-3. Isso demonstra que esses genótipos percebem os sinais ambientais e são capazes de respondê-los logo após a emergência das plântulas, sem haver um período juvenil antes da indução à transição meristemática e florescimento.

Entre os diferentes sinais ambientais e endógenos requeridos para a transição meristemática floral e o florescimento, os resultados indicam que, entre os fatores ambientais avaliados, o fotoperíodo (comprimento da noite) parece ter

maior importância. Apesar disso, observou-se também que o sinal de que a planta está exposta a um fotoperíodo maior não é o único fator determinante do momento da transição floral, uma vez que a intensidade de radiação também apresentou efeitos sobre essa variável.

O programa de melhoramento genético de aveia da UFRGS teve início em 1974 e a redução do ciclo da cultura foi uma das características mais relevantes alteradas na época, tendo o ciclo do plantio à colheita sido reduzido de até 190 para 130 dias (Federizzi e Pacheco, 2009). Atualmente, as linhagens modernas de aveia apresentam ciclo de aproximadamente 80 dias da emergência ao florescimento e 120 dias da emergência à maturação dos grãos (Nava, Pacheco e Federizzi, 2016). Essas linhagens são selecionadas com base principalmente no seu fenótipo. Assim, pode-se sugerir que, ao longo dos ciclos de melhoramento do programa de aveia da UFRGS, ocorreram alterações significativas no metabolismo dessas plantas, que podem ter se acumulado, alterando a resposta das mesmas a diferentes condições ambientais de cultivo, como o fotoperíodo, quantidade de radiação e vernalização, permitindo as reduções de ciclo observadas nos genótipos superprecoces recentemente desenvolvidos.

### **3.5 Conclusões**

O efeito da vernalização parece ser importante no período de desenvolvimento da inflorescência após a transição meristemática.

Tanto o fotoperíodo quanto a quantidade de radiação têm participação na determinação do momento de início da transição meristemática em aveia, porém um fotoperíodo crítico de forma isolada não é requerido para que ocorra a

transição meristemática nos genótipos avaliados (resposta facultativa), ou o período de dez horas de luz está acima do fotoperíodo crítico requerido para aveia.

Incrementos no fotoperíodo aceleram o florescimento.

A intensidade de radiação afeta a determinação do momento de início da transição meristemática, especialmente em baixo fotoperíodo, porém de forma dependente do genótipo.

Os genótipos UFRGS 137142-3, UFRGS 146171-1 e URS 21 não apresentam juvenildade perceptível, sendo capazes de iniciar a transição floral antes de expandir completamente uma folha em condições de elevado fotoperíodo.

### 3.6 Referências

ABE, M. *et al.* FD, a bZIP protein mediating signals from the floral pathway integrator FT at the shoot apex. **Science**, Washington, v. 309, n. 5737, p. 1052-1056, 2005.

APELT, F. *et al.* Circadian, carbon, and light control of expansion growth and leaf movement. **Plant Physiology**, Rockville, v. 174, n. 3, p. 1949–1968, 2017.

ARENHARDT, E. G. **Florescimento em aveia (*Avena sativa* L.):** resposta a soma térmica, fotoperíodo, vernalização e suas interações. 2019. 226 f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2019.

ATAMIAN, H. S. *et al.* Circadian regulation of sunflower heliotropism, floral orientation, and pollinator visits. **Science**, Washington, DC, v. 353, n. 6299, p. 587– 590, 2016.

BALLARÉ, C. L.; BARNES, P. W.; FLINT, S. D. Inhibition of hypocotyl elongation by ultraviolet-B radiation in de-etiolating tomato seedlings. I. The photoreceptor. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 93, n. 4, p. 584–592, 1995.

- BARNES, P. W.; BALLARÉ, C. L.; CALDWELL, M. M. Photomorphogenic effects of UV-B radiation on plants: consequences for light competition. **Plant Physiology**, Rockville, v. 148, n. 1/2, p. 15–20, 1996.
- BARNES, P. W.; FLINT, S. D.; CALDWELL, M. M. Morphological responses of crop and weed species of different growth forms to ultraviolet-B radiation. **American Journal of Botany**, Baltimore, v. 77, n. 10, p. 1354–1360, 1990.
- BERGAMASCHI, H. *et al.* **Boletins agrometeorológicos da Estação Experimental Agrônômica da UFRGS: série histórica 1970 – 2012**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Departamento de Plantas Forrageiras e Agrometeorologia, 2013. Disponível em: [https://www.ufrgs.br/agronomia/joomla/files/EEA/Srie\\_Meteorolgica\\_da\\_EEA-UFRGS.pdf](https://www.ufrgs.br/agronomia/joomla/files/EEA/Srie_Meteorolgica_da_EEA-UFRGS.pdf). Acesso em: 5 dez. 2019.
- BLACKBURN, W. J.; PROCTOR, J. T. A. Estimating photosynthetically active radiation from measured solar irradiance. **Solar Energy**, Kidlington, v. 31, n. 2, p. 233-234, 1983.
- BLUMEL, M.; DALLY, N.; JUNG, C. Flowering time regulation in crops – what did we learn from Arabidopsis? **Current Opinion in Biotechnology**, London, v. 32, p. 121-129, 2015.
- BRAMBILLA, V. *et al.* The importance of being on time: regulatory networks controlling photoperiodic flowering in cereals. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 8, [art.] 665, [p. 1-8], 2017.
- BROOKING, I. R. Temperature response of vernalization in wheat: a developmental analysis. **Annals of Botany**, Oxford, v. 78, p. 507-512, 1996.
- BROWN, M.J., PARKER, G.G., POSNER, N.E. A survey of ultraviolet-B radiation in forests. **Journal of Ecology**, Oxford, v. 82, n. 2, p. 843-853, 1994.
- CAMPOLI, C. *et al.* Expression conservation within the circadian clock of a monocot: natural variation at barley *Ppd-H1* affects circadian expression of flowering time genes, but not clock orthologs. **BMC Plant Biology**, London, v. 12, n. 97, p. 1-15, 2012.
- CASAL, J. J.; QÜESTA, J. I. Light and temperature cues: multitasking receptors and transcriptional integrators. **New Phytologist**, Oxford, v. 217, n. 3, p. 1029–1034, 2018.
- CHUJO, H. Difference in vernalization effect in wheat under various temperatures. **Proceedings of the Crop Science Society of Japan**, Tokyo, v. 35, n. 3/4, p. 177-186, 1966.
- CORBESIER, L. *et al.* FT protein movement contributes to long-distance signaling in floral induction of Arabidopsis. **Science**, Washington, DC, v. 316, n. 5823, p. 1030–1033, 2007.

DISTEFELD, A.; LI, C. e DUBCOVSKY, J. Regulation of flowering in temperate cereals. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v. 12, p. 178–184, 2009.

ENDO, M. Tissue-specific circadian clocks in plants. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v. 29, p. 44–49, 2016.

FEDERIZZI, L. C.; PACHECO, M. T. Programa de melhoramento genético da UFRGS: 35 anos de história. *In*: REUNIÃO DA COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE AVEIA, 29, 2009. Porto Alegre, RS. **Resultados experimentais.**, Porto Alegre: UFRGS, 2009, p. 202- 205.

FOURACRE, J. P.; POETHIG, R. S. Role for the shoot apical meristem in the specification of juvenile leaf identity in *Arabidopsis*. **PNAS**, Washington, DC, v. 116, n. 20, p. 10168-10177, 2019.

GRUBER, H. *et al.* Negative feedback regulation of UV-B-induced photomorphogenesis and stress acclimation in *Arabidopsis*. **PNAS**, Washington, DC, v. 107, n. 46, p. 20132-20137, 2010.

GUIDI, L. *et al.* The impact of UV-radiation on the physiology and biochemistry of *Ligustrum vulgare* exposed to different visible-light irradiance. **Environmental and Experimental Botany**, Amsterdam, v. 70, n. 2/3, p. 88-95, 2011.

HAKALA-YATKIN, M. *et al.* Contributions of visible and ultraviolet parts of sunlight to photoinhibition. **Plant and Cell Physiology**, Kyoto, v. 51, n. 10, p. 1745-1753, 2010.

HALLIDAY, K. J.; KOORNNEEF, M.; WHITELAM, G. C. Phytochrome B and at least one other phytochrome mediate the accelerated flowering response of *Arabidopsis thaliana* L to low red/far-red ratio. **Plant Physiology**, Rockville, v. 104, n. 4, p. 1311–1315, 1994.

HIDEG, E.; JANSEN, M. A. K.; STRID, A. UV-B exposure, ROS, and stress: inseparable companions or loosely linked associates? **Trends in Plant Science**, Kidlington, v. 18, n. 2, p. 107-115, 2013.

JANSEN, M. A. K.; GABA, V.; GREENBERG, B. M. Higher plants and UV-B radiation: balancing damage, repair and acclimation. **Trends in Plant Science**, Kidlington, v. 3, n. 4, p. 131–135, 1998.

KE, M. *et al.* Auxin controls circadian flower opening and closure in the waterlily. **BMC Plant Biology**, London, v. 18, [art.] 143, [p. 1-21], 2018.

KLEM, K. *et al.* Interactive effects of PAR and UV radiation on the physiology, morphology and leaf optical properties of two barley varieties. **Environmental and Experimental Botany**, Amsterdam, v. 75, p. 52-64, 2012.

- KLEM, K. *et al.* Ultraviolet and photosynthetically active radiation can both induce photoprotective capacity allowing barley to overcome high radiation stress. **Plant Physiology and Biochemistry**, Amsterdam, v. 93, p. 74- 83, 2015.
- LI, C. X., LIN, H. Q. e DUBCOVSKY, J. Factorial combinations of protein interactions generate a multiplicity of florigen activation complexes in wheat and barley. **The Plant Journal**, Oxford, v. 84, n. 1, p. 70–82, 2015.
- LOCATELLI, A.B. *et al.* Flowering time in oat: Genotype characterization for photoperiod and vernalization response. **Field Crops Research**, Wageningen, v. 106, n. 3, p. 242-247, 2008.
- MATHIEU, J. *et al.* Export of FT protein from phloem companion cells is sufficient for floral induction in Arabidopsis. **Current Biology**, Cambridge, v. 17, n. 12, p. 1055–1060, 2007.
- McCREE, K. J. Test of current definitions of photosynthetically active radiation against leaf photosynthesis data. **Agricultural Meteorology**, Oxford, v. 10, p. 443-53, 1972.
- MICHAELS S. D. *et al.* Integration of flowering signals in winter-annual Arabidopsis. **Plant Physiology**, Rockville, n. 137, v. 1, p. 149–156, 2005.
- MOHAMMED, B. *et al.* Converging light, energy and hormonal signaling control meristem activity, leaf initiation, and growth. **Plant Physiology**, Rockville, v. 176, n. 2, p. 1365–1381, 2018.
- MURAI, K. Homeotic genes and the ABCDE model for floral organ formation in wheat. **Plants**, Basel, v. 2, n. 3, p. 379-395, 2013.
- NAVA, I. C. **Caracterização genética e molecular de fatores associados a resposta à vernalização para o florescimento em aveia**. 2008. 117 f. Tese (Doutorado)- Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.
- NAVA, I. C.; PACHECO, M. T.; FEDERIZZI, L. C. URS Altiva – a new oat cultivar with high agronomic performance. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Dordrecht, v. 16, p. 254-260, 2016.
- OAKENFULL, R. J.; DAVIS, S. J. Shining a light on the Arabidopsis circadian clock. **Plant, Cell & Environment**, Hoboken, v. 40, n. 11, p. 2571–2585, 2017.
- PEARCE, S. *et al.* Night break experiments shed light on the Photoperiod 1-mediated flowering. **Plant Physiology**, Rockville, v. 174, n. 2, p. 1139–1150, 2017.
- PEARCE, S. *et al.* RNA-seq studies using wheat *PHYTOCHROME B* and *PHYTOCHROME C* mutants reveal shared and specific functions in the

regulation of flowering and shade-avoidance pathways. **BMC Plant Biology**, London, v. 16, [art.] 141, [p.1-19], 2016.

PFEIFFER, A. *et al.* Integration of light and metabolic signals for stem cell activation at the shoot apical meristem. **eLife**, Cambridge, v. 5, [art.] e17023, [p.1-21], 2016.

PRÁŠIL, I. T.; PRÁŠILOVÁ, P.; PÁNKOVÁ, K. Relationships among vernalization, shoot apex development and frost tolerance in wheat. **Annals of Botany**, Oxford, v. 94, n. 3, p. 413–418, 2004.

ROZEMA, J. *et al.* UV-B as an environmental factor in plant life: stress and regulation. **Trends in Ecology & Evolution**, Amsterdam, v. 12, n. 1, p. 22–28, 1997.

SHIRLEY, B. W. Flavonoid biosynthesis: ‘new’ functions for an ‘old’ pathway. **Trends in Plant Science**, Kidlington, v. 1, n. 11, p. 377–382, 1996.

SONG, Y. H. *et al.* Photoperiodic flowering: time measurement mechanisms in leaves. **Annual Review in Plant Biology**, Palo Alto, v. 66, p. 441–464, 2015.

SONG, Y. H.; ITO, S.; IMAIZUMI, T. Similarities in the circadian clock and photoperiodism in plants. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v. 13, p. 594-603, 2010.

STRECK, E. V. *et al.* **Solos do Rio Grande do Sul**. 2 ed. Porto Alegre: EMATER-ASCAR, 2008, 222p.

SUÁREZ-LÓPEZ, P. *et al.* CONSTANS mediates between the circadian clock and the control of flowering in Arabidopsis. **Nature**, London, v. 410, p. 1116-1120, 2001.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia vegetal. 5. ed. Porto Alegre: **Artmed**, 2013.

TEOTIA, S.; TANG, G. To bloom or not to bloom: role of microRNAs in plant flowering. **Molecular Plant**, Cambridge, v. 8, n. 3, p. 359-377, 2015.

TRIONE, E. J.; METZGER, R. J. Wheat and barley vernalization in a precise temperature gradient. **Crop Science**, Madison, v. 10, n. 4, p. 390-392, 1970.

TRIPATHI, R. K.; BREGITZER, P.; SINGH, J. Genome-wide analysis of the SPL/miR156 module and its interaction with the AP2/miR172 unit in barley **Nature Scientific Reports**, London, v. 8, [art.] 7085, [p. 1-13], 2018.

TURCK, F.; FORNARA, F., COUPLAND, G. Regulation and identity of florigen: FLOWERING LOCUS T moves center stage. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 59, p. 573–594, 2008.

URBAN, O. *et al.* Photosynthesis and growth response of *Calamagrostis arundinacea* and *C. villosa* to enhanced UV-B radiation. **Photosynthetica**, Dordrecht, v. 44, p. 215-220, 2006.

WARGENT, J. J. *et al.* Ultraviolet radiation as a limiting factor in leaf expansion and development. **Photochemistry and Photobiology**, Lawrence, v. 85, n. 1, p. 279-286, 2009.

WIGGE, P. A. *et al.* Integration of spatial and temporal information during floral induction in Arabidopsis. **Science**, Washington, DC, v. 309, n. 5737, p. 1056–1059, 2005.

WILLE, W. *et al.* Reducing shade avoidance responses in a cereal crop. **AoB PLANTS**, Oxford, v. 9, n. 5, p. 39-54, 2017.

WINGLER, A. Transitioning to the next phase: the role of sugar signaling throughout the plant life cycle. **Plant Physiology**, Rockville, v. 176, n. 2, p. 1075–1084, 2018.

XU, Y.; ZHANG, L.; WU, G. Epigenetic regulation of juvenile-to-adult transition in plants. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 9, [art.] 1048, [p. 1-8], 2018.

YU, S.; LIAN, H.; WANG, J-H. Plant developmental transitions: the role of microRNAs and sugars. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v. 27, p. 1–7, 2015.

ZHANG, S-D.; LING, L-Z. Diversification of *SQUAMOSA* promoter binding protein-like (*SPL*) genes by changes of miR156/529 binding sites in land plants. **Plant Gene**, Amsterdam, v. 14, p. 55-63, 2018.

## 4 CAPÍTULO 2

### **Avaliação da técnica de melhoramento “*speed breeding*” em aveia (*Avena sativa* L.)**

#### **RESUMO**

Os programas de melhoramento genético de cereais possuem o desafio de desenvolver linhagens superiores de modo cada vez mais rápido. Para reduzir o ciclo das culturas e permitir o avanço de mais gerações por ano, em casas de vegetação, o método de melhoramento “*speed breeding*” vem sendo adotado. O objetivo deste trabalho foi identificar o comportamento de genótipos de aveia (*Avena sativa* L.) quando submetidos a condições utilizadas no “*speed breeding*”, visando determinar a viabilidade de utilização desse método em aveia hexaploide. Oito genótipos foram submetidos a duas condições de fotoperíodo, 16 e 22 horas de luz. Foram realizadas análises do momento de início da transição meristemática floral e do florescimento. O fotoperíodo de 22 h antecipou o início da transição meristemática floral na maioria dos genótipos em comparação ao fotoperíodo de 16 h. Resultados similares foram observados para o período entre a transição floral e a exposição da panícula, reduzindo o ciclo dos genótipos no fotoperíodo de 22 h. Contudo, o genótipo LA 90105 não se mostrou adaptado ao método “*speed breeding*” em ambos os fotoperíodos, pois o desenvolvimento foliar e da inflorescência foram prejudicados pelo reduzido número de horas de escuro. Assim, conclui-se que a adoção do método “*speed breeding*” em aveia ainda requer a criação de protocolos que permitam acelerar o desenvolvimento das plantas, para reduzir seu ciclo, mas sem onerar o crescimento foliar e desenvolvimento de grãos.

#### **ABSTRACT**

The cereals breeding has the challenge to developing superior genotypes faster. To reduce the crops cycle and allow the advancement of more than one generation per year, in greenhouses, speed breeding method has been adopted. The objective of this study was to identify the oat (*Avena sativa* L.) genotypes

behavior in the speed breeding conditions, to determine the viability of using this method in hexaploid oat. Eight genotypes were submitted to two photoperiodic conditions, 16 and 22 hours of light. Analyses of the beginning of floral transition and flowering were performed. The 22 h photoperiod accelerated the beginning of floral transition in the most genotypes when compared to the 16 h photoperiod. Similar results were observed for the period between the floral transition and flowering, reducing the genotypes cycle in the 22h photoperiod. However, the LA 90105 genotype was not adapted to the speed breeding method in both photoperiods; its leaf development and panicle development were impaired by the low dark hours number. Thus, it is concluded that the adoption of speed breeding method still requires the development of protocols that allow the acceleration of the plant development, to reduce its cycle, but without harming leaf growth and grain formation.

#### 4.1 Introdução

Normalmente os programas de melhoramento genético de cereais baseados nos métodos clássicos de melhoramento levam cerca de 10 a 15 anos para o lançamento de uma nova variedade. Porém, é crescente a necessidade de obtenção de novas variedades com características agronômicas favoráveis de forma cada vez mais rápida, dada a crescente demanda por alimentos e rápida evolução de organismos patogênicos, que podem inviabilizar completamente a utilização de uma cultivar em pouco tempo após o seu lançamento. Uma das limitações para a obtenção de cultivares de forma mais rápida é relacionada ao ciclo e às exigências ambientais de cada espécie, o que geralmente limita as estações de cultivo das mesmas. Dessa forma, o avanço de gerações nos programas de melhoramento acaba sendo limitado a uma ou duas gerações por ano. Para contornar essa limitação, uma das possibilidades é a adoção do método de melhoramento conhecido como “*speed breeding*”, que consiste em avançar gerações em câmaras de crescimento com suplementação de luz, o que pode permitir o avanço de até seis gerações por ano em algumas espécies responsivas a dias longos, como trigo (*Triticum aestivum* L.) e cevada (*Hordeum vulgare* L.).

O método “*speed breeding*” é baseado na utilização de fotoperíodos extremamente longos, como 22 ou 23 horas de luz por dia, visando acelerar o desenvolvimento das plantas para reduzir seu ciclo e facilitar o avanço de mais gerações por ano em relação ao cultivo à campo (O’connor *et al.*, 2014; Ghosh *et al.*, 2018; Watson *et al.*, 2018). Estudos têm sugerido que esse método é adequado para diversas espécies de plantas e apresenta vantagens em comparação ao método de duplo-haploides, por exemplo, por não requerer laboratórios e protocolos especializados de cultivo *in vitro* para cada germoplasma (Collard *et al.*, 2017; Alahmad *et al.*, 2018; Chiurugwi *et al.*, 2019; Hickey *et al.*, 2019).

Aumentar o número de gerações de populações de melhoramento que podem ser avançadas em um ano é de grande interesse para os melhoristas, pois permite o aumento da eficiência dos programas de melhoramento (Hickey *et al.*, 2017; Ghosh *et al.*, 2018; Watson *et al.*, 2018). A taxa de ganho genético em um programa de melhoramento pode ser representada pela “equação do melhorista”, que mensura a mudança esperada em um caráter em resposta à seleção realizada em uma população de melhoramento. A “equação do melhorista” pode ser escrita como  $R = \frac{i \cdot h^2 \cdot \delta_g}{T}$ , onde R representa a resposta esperada em um caráter por ano, *i* representa a intensidade de seleção utilizada,  $h^2$  representa a herdabilidade do caráter sob seleção,  $\delta_g$  representa a variância genética do caráter sob seleção e *T* representa o tempo necessário para um ciclo de melhoramento (Falconer e Mackay, 1996). Com base nessa equação, os protocolos de “*speed breeding*” podem aumentar o ganho genético nos programas de melhoramento através do aumento do número de gerações

avançadas por ano, o que reduz o tempo necessário para completar um ciclo de melhoramento, em comparação aos métodos clássicos.

A adoção do método “*speed breeding*”, com protocolos que utilizam fotoperíodos extremamente longos aliados ao controle térmico para acelerar o crescimento e desenvolvimento das plantas, já apresenta resultados em cereais como trigo e cevada (O’connor *et al.*, 2014; Hickey *et al.*, 2017; Riaz, 2017; Ghosh *et al.*, 2018; Watson *et al.*, 2018; Schwager, 2017 *apud* Hickey *et al.*, 2019). Contudo, em aveia (*Avena sativa* L.) ainda há uma carência de resultados consistentes sobre o uso dessa técnica. A utilização de fotoperíodos extremamente longos como 22 horas de luz pode levar a alterações no metabolismo das plantas, influenciando eventos importantes como o momento da transição meristemática floral e o florescimento.

Assim, o objetivo deste trabalho foi identificar o comportamento de genótipos de aveia quando cultivados em condições de fotoperíodos extremamente longos, para determinar a viabilidade de utilização da técnica “*speed breeding*” em programas de melhoramento de aveia.

## **4.2 Material e métodos**

O experimento foi instalado em câmara de crescimento Fitotron, sendo utilizados oito genótipos de aveia hexaploide (Tabela 1). Os genótipos foram semeados em vasos de 3,6 L com o substrato comercial Policultura Rosa, que é constituído de casca de arroz carbonizada e composto orgânico. Após a emergência das plântulas, estas foram desbastadas para manter 12 plantas por vaso. Das 12 plantas, 10 foram utilizadas para análise do início da diferenciação

meristemática e duas foram mantidas até o florescimento para as demais análises.

TABELA 1. Genótipos de aveia hexaploide (*Avena sativa* L.) utilizados nos experimentos e seus respectivos ciclos de cultivo da emergência ao florescimento.

Genótipo	Genealogia	Ciclo <sup>2</sup>
UFRGS 137142-3	UFRGS 047053-1 / URS Taura	Superprecoce
URS Taura	UFRGS 970216-2 (F <sub>3:4</sub> ) / UFRGS 970461 (F <sub>7:8</sub> )	Precoce
URS Altiva	UFRGS 995090-2 / URS 21	Precoce
URS 21	UFRGS 10 / CTC 84B993	Precoce
URS Corona	UFRGS 987016-1 / UFRGS 970497-1	Precoce
UFRGS 995088-3	UFRGS 881971 // Pc68 / 5*STARTER (F <sub>4</sub> )	Tardio
UFRGS 970497-1	UFRGS 881920 / UFRGS 14	Tardio
LA 90105 <sup>1</sup>	C716//76-30*3/76-29/3/716*2/CI8026/4/TX82C6023	Supertardio

<sup>1</sup> LA 90105 C4-1-1-1-2-1 foi desenvolvida pelo programa de Melhoramento de Aveia da Universidade do Estado da Louisiana (LSU). Fonte: Marcelo Teixeira Pacheco (Comunicação pessoal);

<sup>2</sup> Ciclos definidos considerando o comportamento em ambiente subtropical em baixa altitude no Brasil.

Os tratamentos consistiram em dois fotoperíodos, 16 e 22 horas de luz, com aproximadamente 200  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  de luminosidade na altura das plantas. A temperatura foi estabelecida em 25°C durante o dia e 20°C durante a noite. A data da emergência foi determinada por vaso, considerando a emergência de pelo menos sete plântulas em cada vaso. As exigências nutricionais das plantas foram supridas com a aplicação de 100 mL de solução nutritiva (Hoagland) por vaso a cada 10 dias.

O acompanhamento do crescimento e desenvolvimento das plantas foi realizado através da utilização da Escala Haun para verificar a velocidade de emissão de folhas sucessivas no colmo principal (Haun, 1973). Foi contabilizado o número de folhas completamente emitidas (folhas com a lígula aparente) e comparado o tamanho proporcional da folha em processo de emissão com a folha logo anterior. Desta forma, a escala foi obtida com o número de folhas completamente emitidas e a proporção da folha em expansão em relação à anterior. Porém, quando a folha em desenvolvimento ultrapassava o tamanho da última folha completamente emitida, uma característica comum em aveia, a

escala foi modificada, tendo sido anotada como equivalente a 90% de expansão da folha em desenvolvimento, até que a lígula dessa se tornasse aparente, indicando a completa expansão da folha. A data de início e final do florescimento foi determinada para cada planta avaliada.

Durante a condução do experimento, foram realizadas coletas de plantas três vezes por semana para a determinação do início da transição floral do meristema apical do caule, que foi baseada na escala de Bonnett (1966), considerando o estágio "B" da escala como sendo o momento de início da transição meristemática floral em aveia. A avaliação do meristema das plantas coletadas foi realizada pela dissecação de plantas e isolamento do meristema apical com o auxílio de microscópio estereoscópio binocular e bisturi.

O delineamento experimental utilizado foi o completamente casualizado com cinco repetições. Cada unidade experimental foi constituída de dois vasos e as unidades de observação foram constituídas de plantas individuais.

As variáveis analisadas foram: estágio Haun do início da transição meristemática, número de dias da emergência ao início da transição meristemática, número de dias do início da transição meristemática ao início do florescimento (início da emissão da panícula) e número de dias do início ao final da emissão da panícula. Os dados obtidos foram analisados estatisticamente através de análise de variância (ANOVA) e Teste de Tukey a 5% de significância com o auxílio do programa estatístico SAS 8.0 e do Microsoft Excel 2016.

### 4.3 Resultados

A ANOVA indicou efeito significativo para a interação Genótipo x Fotoperíodo ( $p$ -value <0,001) para o estágio Haun no início da transição meristemática (Apêndice 5). A média geral do estágio Haun no início da transição meristemática foi de 2,1 e o coeficiente de variação foi de 7,83%. O genótipo UFRGS 137142-3 no fotoperíodo de 22 horas apresentou o menor número de folhas completamente expandidas no momento de início da transição meristemática (aproximadamente uma folha), enquanto o genótipo LA 90105 no fotoperíodo de 16 horas apresentou o maior número de folhas completamente expandidas no momento de início da transição meristemática (aproximadamente três folhas) (Figura 1).

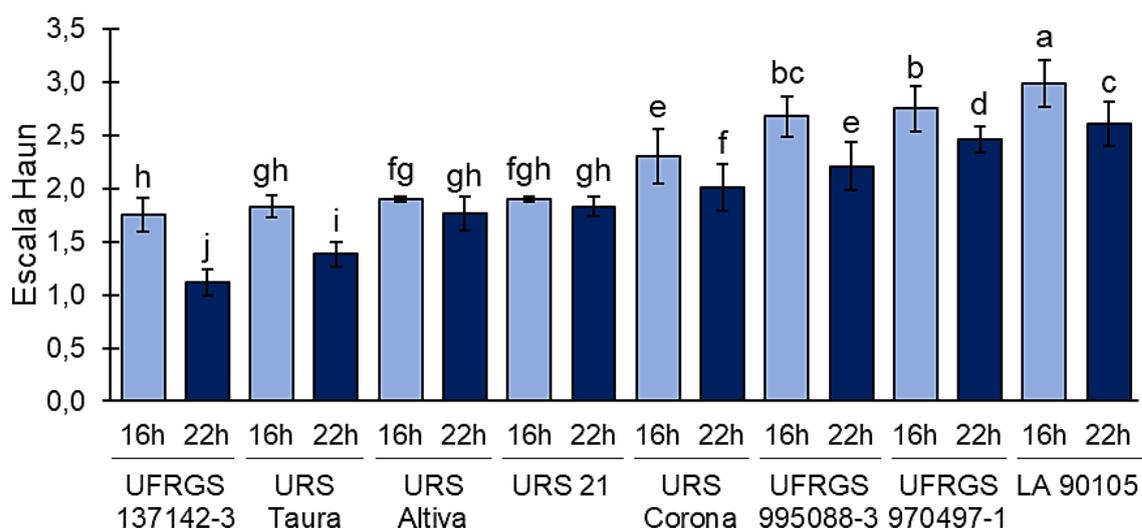


FIGURA 1. Estádio Haun no início da transição meristemática de oito genótipos de aveia (*Avena sativa* L.) submetidos a dois fotoperíodos (16 e 22h de luz, representados pelas cores azul claro e azul escuro, respectivamente). Letras diferentes indicam diferença significativa para a interação Genótipo x Fotoperíodo a 5% pelo Teste de Tukey. Barras de erro = desvio padrão da média.

O fotoperíodo de 22 horas de luz antecipou o início da transição meristemática em relação ao fotoperíodo de 16 horas na maioria dos genótipos avaliados, exceto em URS Altiva e URS 21. Os genótipos de ciclo superprecoce e precoce apresentaram o início da transição meristemática com

aproximadamente o mesmo número de folhas completamente expandidas no fotoperíodo de 16h, exceto a cultivar URS Corona. Porém, no fotoperíodo de 22 h houve diferenças significativas entre os genótipos de ciclo superprecoce e precoce. Os genótipos de ciclo tardio UFRGS 995088-3 e UFRGS 970497-1 iniciaram a transição meristemática com o mesmo número de folhas completamente expandidas no fotoperíodo de 16 h, mas apresentaram diferença significativa no momento de início da transição meristemática no fotoperíodo de 22 h.

A ANOVA indicou efeito significativo para a interação Genótipo x Fotoperíodo também para a variável número de dias da emergência ao início da transição meristemática ( $p$ -value <0,001) (Apêndice 5). A média geral do número de dias da emergência ao início da transição meristemática foi de 9,5 dias e o coeficiente de variação foi de 11,60%. Similar aos resultados do estádio Haun no início da transição meristemática, o genótipo LA 90105 requereu maior número de dias da emergência ao início da transição meristemática no fotoperíodo de 16 horas de luz (Figura 2).

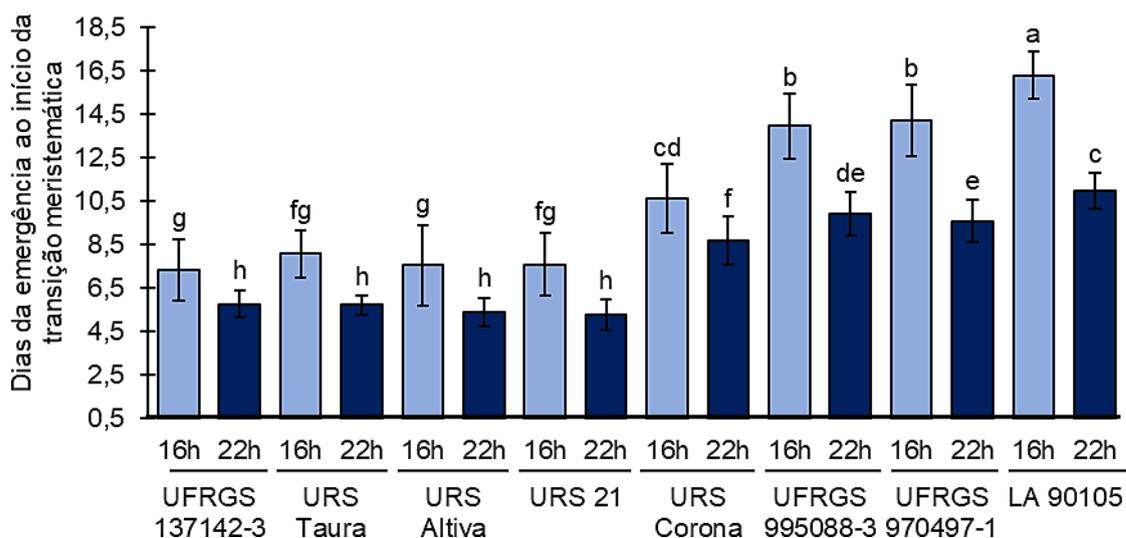


FIGURA 2. Número de dias da emergência ao início da transição meristemática de oito genótipos de aveia (*Avena sativa* L.) submetidos a dois fotoperíodos (16 e 22h de luz, representados pelas cores azul claro e azul escuro, respectivamente). Letras diferentes indicam diferença significativa para a interação Genótipo x Fotoperíodo a 5% pelo Teste de Tukey. Barras de erro = desvio padrão da média.

O genótipo UFRGS 137142-3 não diferiu significativamente dos demais genótipos de ciclo superprecoce ou precoce no número de dias da emergência ao início da transição meristemática, tanto no fotoperíodo de 16h como no fotoperíodo de 22h, ao contrário do observado para o estágio Haun no início da transição meristemática. Da mesma forma, UFRGS 995088-3 e UFRGS 970497-1 não diferiram significativamente entre si no número de dias da emergência ao início da transição meristemática em ambos os fotoperíodos, contrastando com o que foi observado para o estágio Haun no início da transição meristemática. As maiores alterações do número de dias da emergência ao início da transição meristemática entre os fotoperíodos foram observadas para os genótipos de ciclo tardio e supertardio, enquanto que essas alterações foram menores ou insignificantes nos genótipos de ciclo superprecoce e precoce. O mesmo padrão de resposta foi observado para a soma térmica acumulada no período entre a emergência e o início da transição meristemática floral (Apêndice 6).

Assim como as variáveis anteriores, o número de dias do início da transição meristemática ao florescimento apresentou diferenças significativas para a interação Genótipo x Fotoperíodo ( $p\text{-value} < 0,001$ ) (Apêndice 5). A média geral do número de dias do início da transição meristemática ao florescimento foi de 32,5 dias e o coeficiente de variação foi de 12,93%. Os genótipos de ciclo superprecoce e precoce floresceram aproximadamente 20 dias após o início da transição meristemática no fotoperíodo de 22 horas, uma redução de pelo menos oito dias em comparação ao momento do florescimento no fotoperíodo de 16 horas de luz (Figura 3).

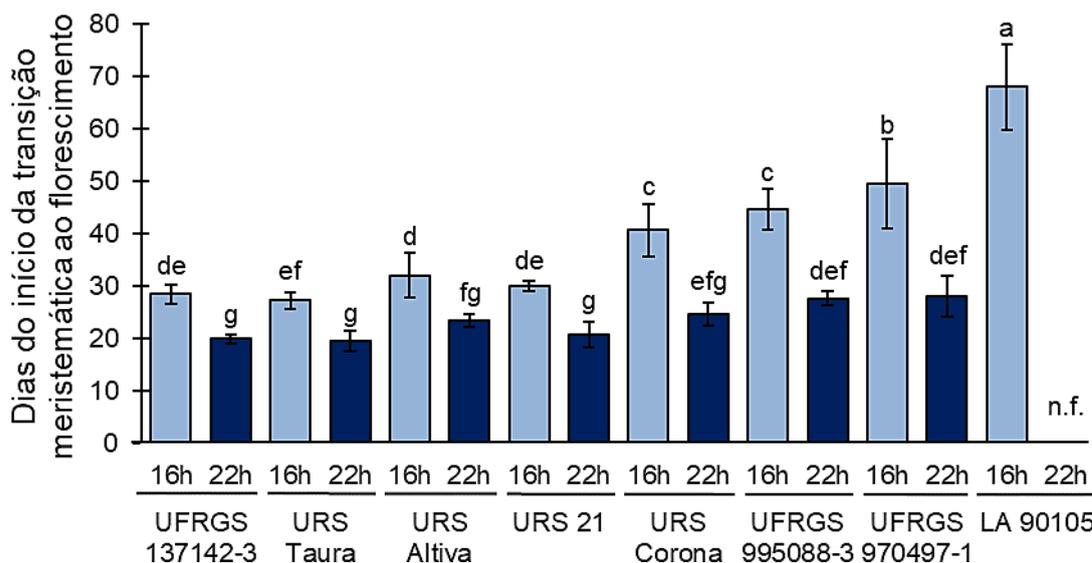


FIGURA 3. Número de dias do início da transição meristemática ao florescimento de oito genótipos de aveia (*Avena sativa* L.) submetidos a dois fotoperíodos (16 e 22h de luz, representados pelas cores azul claro e azul escuro, respectivamente). Letras diferentes indicam diferença significativa para a interação Genótipo x Fotoperíodo a 5% pelo Teste de Tukey. "n.f." = não floresceu. Barras de erro = desvio padrão da média.

Os genótipos de ciclo intermediário e tardio apresentaram uma redução de aproximadamente 15 dias no número de dias do início da transição meristemática ao florescimento no fotoperíodo de 22 h em relação ao fotoperíodo de 16 h. O genótipo LA 90105 demorou quase 70 dias após o início da transição meristemática para que houvesse o início da emissão da panícula no fotoperíodo

de 16 h, porém a maioria das plantas desse genótipo não floresceram no fotoperíodo de 22 h. Resultados similares foram verificados para a soma térmica requerida no período entre o início da transição meristemática e o início do florescimento (Apêndice 7).

Apesar de a maioria das plantas avaliadas terem iniciado a extrusão da panícula (florescimento) em ambos os fotoperíodos, nem todos os genótipos concluíram esse processo, principalmente no fotoperíodo de 22 h (Tabela 2). No fotoperíodo de 16 h, duas das 20 plantas de URS Corona não finalizaram a emissão da panícula, enquanto que no genótipo LA 90105, somente uma das 20 plantas finalizou o processo de emissão da panícula, as demais não emitiram completamente a panícula do colmo principal. No fotoperíodo de 22 h, o genótipo UFRGS 137142-3 apresentou sete plantas, entre as 20 avaliadas, que não finalizaram a emissão da panícula, bem como duas plantas de URS Taura, duas plantas de URS Altiva, uma planta de URS 21, duas plantas de UFRGS 995088-3, duas plantas de UFRGS 970497-1 e uma planta do genótipo LA 90105. Além disso, no fotoperíodo de 22 h houveram sete das 20 plantas do genótipo URS Corona, uma planta de UFRGS 970497-1 e 18 plantas de LA 90105 que nem chegaram a iniciar o processo de emissão da panícula, apesar de terem apresentado a transição meristemática normal.

TABELA 2. Avaliação do florescimento em oito genótipos de aveia submetidos a duas condições de "speed breeding" (fotoperíodos de 16 e 22 horas de luz) em condições controladas.

Genótipo	Fotoperíodo	Nº plantas que finalizaram o florescimento	Nº plantas que não iniciaram o florescimento	Nº plantas que não finalizaram o florescimento	Nº total de plantas avaliadas
UFRGS	16 h	20	0	0	20
137142-3	22 h	13	0	7	20
URS Taura	16 h	20	0	0	20
	22 h	18	0	2	20
URS Altiva	16 h	20	0	0	20
	22 h	18	0	2	20
URS 21	16 h	20	0	0	20
	22 h	19	0	1	20
URS Corona	16 h	18	0	2	20
	22 h	13	7	0	20
UFRGS	16 h	20	0	0	20
995088-3	22 h	18	0	2	20
UFRGS	16 h	20	0	0	20
970497-1	22 h	16	1	2	19
LA 90105	16 h	1	0	19	20
	22 h	1	18	1	20

Entre as plantas que finalizaram a emissão da panícula, observou-se grande variabilidade dentro de cada genótipo para o tempo até a completa emissão da panícula (número de dias do início ao final do florescimento; Figura 4). O genótipo de ciclo superprecoce UFRGS 137142-3 demorou, em média, oito a 10 dias para a completa emissão da panícula de aveia, enquanto que os genótipos de ciclo precoce URS Taura, URS Altiva e URS 21 levaram, em média, entre cinco e oito dias para a completa emissão da panícula, não apresentando diferenças significativas entre os fotoperíodos.

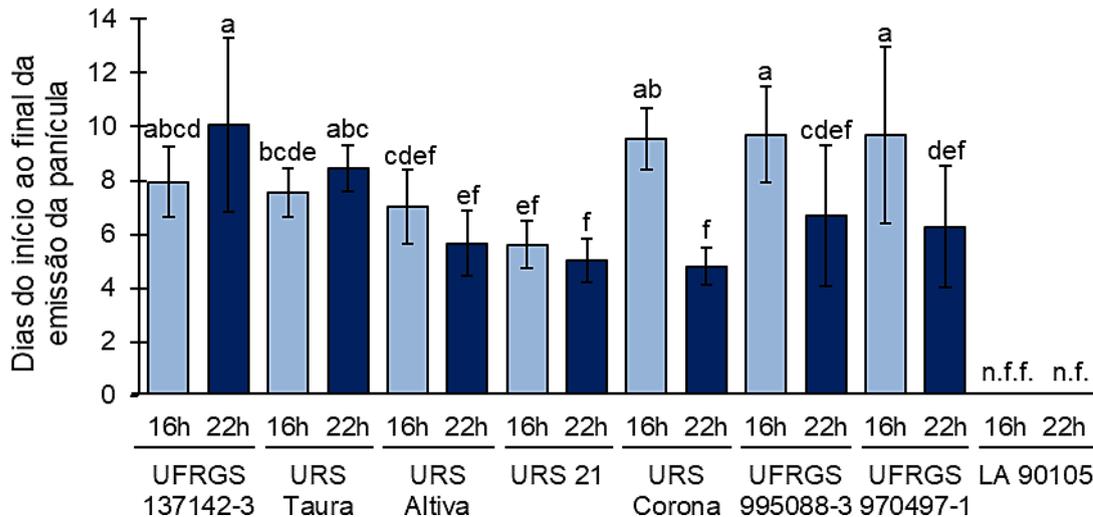


FIGURA 4. Número de dias do início ao final da emissão da panícula de oito genótipos de aveia (*Avena sativa* L.) submetidos a dois fotoperíodos (16 e 22h de luz, representados pelas cores azul claro e azul escuro, respectivamente). Letras diferentes indicam diferença significativa para a interação Genótipo x Fotoperíodo a 5% pelo Teste de Tukey. "n.f.f." = não finalizou o florescimento (emissão da panícula); "n.f." = não floresceu. Barras de erro = desvio padrão da média.

O genótipo de ciclo precoce URS Corona e os genótipos de ciclo tardio UFRGS 995088-3 e UFRGS 970497-1 apresentaram diferenças significativas no número de dias para a completa emissão da panícula entre os fotoperíodos avaliados. Nesses genótipos, a emissão da panícula demorou cerca de 10 dias no fotoperíodo de 16 h e seis a sete dias no fotoperíodo de 22 h. No genótipo LA 90105 não foi possível contabilizar o número de dias para a completa emissão da panícula, pois a maioria das plantas desse genótipo não finalizaram a emissão da panícula (fotoperíodo de 16 h) ou não iniciaram o florescimento (fotoperíodo de 22 h).

Além disso, o fotoperíodo de 22 h apresentou efeitos negativos também sobre a produção de grãos no colmo principal de todos os genótipos avaliados, principalmente nos genótipos UFRGS 137142-3, URS Altiva e LA 90105, que não formaram nenhum grão viável nas inflorescências do colmo principal das plantas avaliadas (Tabela 3). A cultivar norte-americana LA 90105, que foi o genótipo com o florescimento mais prejudicado entre os genótipos avaliados,

apresentou ainda alterações no seu desenvolvimento foliar quando submetido ao fotoperíodo de 22 h (Figura 5). A maioria das plantas avaliadas teve o seu desenvolvimento foliar severamente comprometido nessa condição, apresentando folhas malformadas e que senesceram precocemente.

TABELA 3. Número de plantas com grãos viáveis por panícula no colmo principal dos oito genótipos de aveia avaliados no fotoperíodo de 22 horas.

Genótipo	Nº grãos/panícula no colmo principal						Nº total de plantas avaliadas
	0	1	2	3	4	5 ou +	
UFRGS 137142-3	20	-	-	-	-	-	20
URS Taura	15	2	2	1	-	-	20
URS Altiva	20	-	-	-	-	-	20
URS 21	19	1	-	-	-	-	20
URS Corona	15	4	1	-	-	-	20
UFRGS 995088-3	12	1	4	-	-	3	20
UFRGS 970497-1	4	4	-	2	1	8	19
LA 90105	18	-	-	-	-	-	18

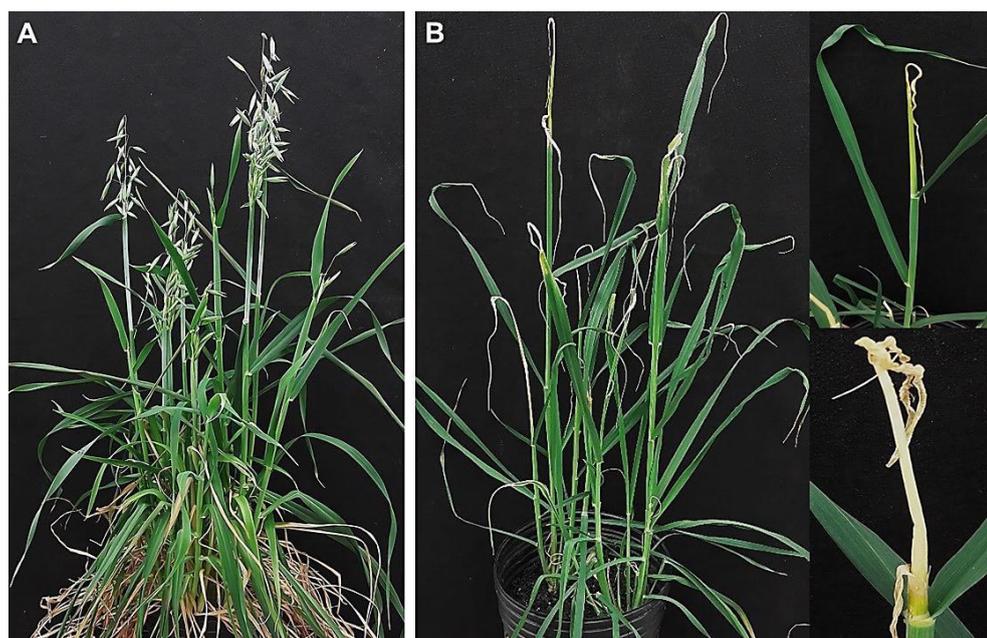


FIGURA 5. Comparação do desenvolvimento foliar do genótipo LA 90105 quando submetido ao fotoperíodo de 16 h (A) e de 22 h (B) em condições controladas, demonstrando alterações no desenvolvimento foliar.

#### 4.4 Discussão

O comprimento da noite tem impacto direto sobre o florescimento, visto que a rota do fotoperíodo é uma das mais importantes e mais estudadas rotas de florescimento em *arabidopsis* e cereais de inverno. A expressão do florigeno *FLOWERING LOCUS T (FT)* em *arabidopsis*, que é uma espécie de dias longos, ocorre principalmente durante o dia, através da regulação por *CONSTANS (CO)* (López *et al.*, 2001). A expressão de *CO* pode ser regulada por diversos mecanismos em nível transcricional e pós-transcricional, incluindo a regulação por fatores de transcrição, *splicing* alternativo, fotorreceptores, temperatura, hormônios e modificações pós-traducionais (Valverde *et al.*, 2004; Ito *et al.*, 2012; Song *et al.*, 2014; Fernández *et al.*, 2016; Gil *et al.*, 2016; Wang *et al.*, 2016; Sarid-Krebs *et al.*, 2015).

A regulação mais importante de *CO*, que o coloca como regulador central da rota do fotoperíodo em *arabidopsis*, é o efeito da luz na sua estabilidade (Valverde *et al.*, 2004; Song *et al.*, 2012). Durante a noite, a proteína *CO* é instável, de modo que acaba sendo rapidamente degradada (Jang *et al.*, 2008; Song *et al.*, 2014; Lazaro *et al.*, 2015). Com o amanhecer, *CO* é estabilizada pela luz e acaba se acumulando nas folhas. Dessa forma, quando o fotoperíodo se encontra acima do fotoperíodo crítico para o florescimento, há um maior acúmulo de *CO* durante o dia e conseqüentemente maior ativação de *FT*, acelerando assim o início da transição meristemática floral (An *et al.*, 2004; Corbesier *et al.*, 2007; Mathieu *et al.*, 2007).

Os resultados, contudo, demonstram que, apesar de ambos os fotoperíodos utilizados no experimento estarem possivelmente acima do fotoperíodo crítico, de acordo com Arenhardt (2019), o que seria suficiente para

acumular proteínas CO e induzir a ativação do flórigeno *FT*, a maioria dos genótipos avaliados anteciparam o início da transição meristemática com o aumento do fotoperíodo de 16 para 22 horas de luz (Figura 1). Campoli *et al.* (2012) demonstraram que além do controle de expressão do flórigeno *HvFT1* pela proteína CO em plantas de cevada, parece haver um controle de *HvFT1* diretamente por Ppd-H1 (PRR37), de forma independente de CO, mas ainda assim controlada pelo relógio circadiano. Assim, é possível que outro(s) mecanismo(s) envolvido(s) no controle do momento da transição floral tenha(m) sido ativado(s) nas condições do experimento, desencadeando uma maior expressão do flórigeno *FT1/VRN3* no fotoperíodo de 22 horas em comparação ao de 16 horas, independentemente de CO, havendo necessidade futura de quantificar a expressão desses genes.

Nos genótipos URS Altiva e URS 21 o estágio Haun no início da transição meristemática não foi alterado pelo fotoperíodo (Figura 1), enquanto que o número de dias da emergência ao início da transição meristemática foi reduzido no fotoperíodo de 22 h em comparação ao fotoperíodo de 16 h (Figura 2). Esses resultados demonstram que, embora a determinação do momento de início da transição floral desses genótipos não tenha sido afetada pelo fotoperíodo, o aumento do número de horas de luz (fotoperíodo de 22 h) acelerou o desenvolvimento foliar, resultando em plantas que iniciaram a transição meristemática com o mesmo número de folhas completamente expandidas, mas, no tempo de calendário, mais cedo.

Os resultados também indicam que a utilização da escala Haun para avaliar visualmente o momento de início da transição meristemática apresenta algumas limitações. Entre elas, pode-se citar a dificuldade de utilização da escala

em plantas de aveia, que possuem a característica de o tamanho final da folha em desenvolvimento ser muitas vezes maior do que o tamanho da folha anterior completamente expandida. Neste estudo, buscou-se adaptar a utilização da escala Haun em plantas de aveia através da adoção da escala 5.9 quando a sexta folha ultrapassava o tamanho da quinta folha, por exemplo. Porém, isso acaba reduzindo a grande variabilidade que alguns genótipos apresentam no momento de início da transição meristemática floral, pois, em algumas condições, as plantas de aveia chegaram a ficar cerca de cinco dias no mesmo estágio, apesar de o crescimento foliar estar ocorrendo. Uma alternativa a esta limitação da Escala Haun é a adoção de uma escala descritiva para avaliar o desenvolvimento vegetal, de modo que seja possível avaliar o desenvolvimento de duas ou mais folhas simultaneamente, como a proposta no Apêndice 8.

Na prática, a adoção da escala Haun para estabelecer o momento de início da transição meristemática é limitada pela falta de sincronização absoluta entre o desenvolvimento foliar e do meristema apical, ou seja, o ambiente afeta ambos os processos, mas não do mesmo modo. Isso pode prejudicar a eficiência de algumas práticas de manejo, como por exemplo a adubação nitrogenada de cobertura. Para um melhor desenvolvimento da inflorescência e rendimento de grãos, preconiza-se a realização de adubação nitrogenada próximo ao momento de início da transição meristemática floral em cereais, pois a disponibilidade de nitrogênio afeta a divisão celular e por consequência o número e tamanho dos órgãos reprodutivos em formação, podendo limitar o rendimento de grãos (Bredemeier e Mundstock, 2001). Porém, como o ambiente pode afetar a transição floral e o desenvolvimento foliar de forma diversa, o estágio Haun pode não representar eficientemente o início da transição meristemática, podendo

resultar em adubações nitrogenadas após o início da transição meristemática. Isso pode acarretar em redução do rendimento pela deficiência de nitrogênio no momento de início da transição floral.

Diversos trabalhos têm demonstrado exemplos de redução de ciclo das culturas pela utilização do método “*speed breeding*”. Em aveia, Watson *et al.* (2018) sugerem um protocolo para o rápido avanço de gerações utilizando um fotoperíodo de 12 h por 4 semanas antes de submeter as plantas ao fotoperíodo de 18 h. Porém, não foi demonstrado no trabalho o efeito desse protocolo sobre a redução do ciclo e o desenvolvimento das plantas de aveia.

Os resultados aqui apresentados, onde se utilizou longos fotoperíodos desde a emergência das plantas, demonstram que há limitações à adoção da técnica visando o rápido avanço de gerações, como por exemplo a sensibilidade de cada genótipo ao fotoperíodo. Em alguns genótipos, como URS Corona, UFRGS 995088-3 e UFRGS 970497-1, o aumento do fotoperíodo antecipou o momento de início da transição meristemática, reduzindo o número de dias da emergência ao início da transição floral, e também reduziu o número de dias do início da transição meristemática ao início do florescimento e o número de dias necessários para a completa emissão da panícula (Figuras 1 a 4). No entanto, outros genótipos não se mostraram tão responsivos ao fotoperíodo, como URS Altiva e URS 21, que não apresentaram alterações no momento de início da transição meristemática e no número de dias para a completa emissão da panícula (Figuras 1 e 4). Ainda, alguns genótipos podem ter seu crescimento e desenvolvimento prejudicados ao serem submetidos a fotoperíodos tão longos como 16 ou 22 horas de luz, como foi observado para LA 90105 (supertardio).

O fitocromo B é o principal receptor de luz vermelha, podendo afetar significativamente o crescimento e desenvolvimento das plantas (Larner, Franklin e Whitelam, 2018). O fitocromo B é convertido da forma inativa para a forma ativa pela absorção de luz vermelha, podendo então interagir com os fatores de transcrição PHYTOCROME-INTERACTING FACTORS (PIFs), que atuam na rede regulatória do relógio circadiano, degradando-os durante o dia para limitar o alongamento celular ao período de escuro (Martínez-García, Huq e Quail, 2000; Nozue *et al.* 2007; Park *et al.* 2012; Soy *et al.* 2012; Seluzicki, Burko e Chory, 2017; Viczián *et al.*, 2017). Dessa forma, a exposição de plantas de aveia ao fotoperíodo de 22 horas (apenas 2 horas de escuro) pode ter afetado a proporção de fitocromos B ativos e inativos, desregulando o relógio circadiano e afetando o crescimento foliar e da inflorescência. Isso pode explicar, ao menos parcialmente, os prejuízos observados no crescimento e desenvolvimento dos genótipos avaliados quando submetidos ao fotoperíodo de 22 h.

No genótipo LA 90105, o fotoperíodo de 22 horas ocasionou alterações no tamanho e formato das células, tornando-as maiores e mais arredondadas (dados não apresentados), resultando no fenótipo observado na Figura 21B. Esse é outro indicativo de que esse genótipo não é capaz de se adaptar a condições fotoperiódicas tão extremas, pois a atividade do meristema apical do caule foi negativamente comprometida, ocasionando alterações no crescimento foliar e prejudicando o seu sucesso reprodutivo, visto que o florescimento e, conseqüentemente, a produção de sementes, foram negativamente afetados pelo excesso de horas de luz. Esses resultados demonstram que, apesar do meristema apical do caule estar parcialmente protegido pelas bainhas foliares contra algumas condições ambientais desfavoráveis, como baixas temperaturas,

outras condições, como o fotoperíodo, podem ter grande influência sobre a atividade da região meristemática apical, afetando tanto a produção e crescimento das folhas, no estágio vegetativo, como também a produção da inflorescência e o rendimento de grãos, no estágio reprodutivo.

As folhas das plantas são originárias do meristema apical do caule, através de sucessivas divisões celulares a partir das células meristemáticas seguido da diferenciação dessas células em primórdios foliares. Após a diferenciação das células para a formação do tecido foliar, o primórdio foliar se torna uma folha madura, apta a responder aos estímulos para seu crescimento (Reddy, 2008; Wang e Li, 2008; Gonzalez, Vanhaeren e Inzé, 2012). O crescimento foliar em gramíneas ocorre através da divisão e expansão de células na região basal da folha (Sylvester e Smith, 2009) e, assim como o florescimento, é controlado por diferentes fatores genéticos (Gonzalez, Vanhaeren e Inzé, 2012). A duração do período de crescimento foliar é considerada um dos principais determinantes da área foliar em gramíneas, que, por sua vez, é um dos principais determinantes da arquitetura da planta, afetando sua adaptação a diferentes condições ambientais (como o fotoperíodo) e seu rendimento de grãos (Chenu *et al.*, 2008; Voorend *et al.*, 2014).

Outra limitação da utilização do “*speed breeding*” para o avanço de gerações em aveia está na fertilidade das inflorescências emitidas, o que compromete a produção de sementes viáveis para dar prosseguimento ao avanço de gerações. Em ambos os fotoperíodos utilizados houve a presença de panículas inférteis, porém essa característica foi mais marcante no fotoperíodo de 22 h. Exemplos de infertilidade de espiguetas foram observados nos genótipos UFRGS 137142-3, URS Altiva e URS 21, onde não houve a formação

de nenhum grão viável nas inflorescências dos colmos principais das plantas avaliadas no fotoperíodo de 22 h (Tabela 3).

Assim, os resultados demonstram que todos os genótipos avaliados apresentaram algum tipo de prejuízo no seu desenvolvimento quando submetidos a fotoperíodos tão longos como 16 e 22 horas de luz, seja no desenvolvimento foliar, como os genótipos tardios, e/ou na produção de sementes viáveis, como os genótipos precoces. Visto que genótipos de ciclo tardio são geralmente desenvolvidos/utilizados em regiões com maiores fotoperíodos, se esperaria uma maior tolerância aos fotoperíodos utilizados nesses, como LA 90105. A cultivar LA 90105 foi desenvolvida no estado da Louisiana, nos EUA, onde o fotoperíodo varia de 10 a 14 horas de luz durante o ano. No entanto, ao contrário do que se esperava, esta não foi capaz de se aclimatar ao fotoperíodo de 16 horas de luz, não completando seu ciclo de desenvolvimento nessa condição.

Dessa forma, a utilização da técnica “*speed breeding*” em aveia hexaploide ainda requer mais estudos a fim de desenvolver um protocolo que se adapte à ampla variabilidade observada entre os diferentes genótipos de aveia, principalmente em relação ao fotoperíodo a ser adotado, para que se consiga no futuro avançar gerações de forma mais rápida nos programas de melhoramento de aveia, e assim, poder aumentar também a eficiência desses programas.

#### **4.5 Conclusões**

O momento de início da transição meristemática mostrou-se responsivo ao aumento do fotoperíodo de 16 para 22 horas na maioria dos genótipos avaliados.

O florescimento e a produção de grãos foram negativamente afetados em ambos os fotoperíodos avaliados.

A cultivar norte-americana de ciclo supertardio LA 90105 não se mostrou adaptada para o cultivo em condições de fotoperíodos tão longos como 16 ou 22 horas de luz.

A adoção da técnica “*speed breeding*” em aveia ainda requer o desenvolvimento de protocolos específicos que consigam ser aplicados à ampla variabilidade genética presente nos genótipos de aveia.

#### 4.6 Referências

ALAHMAD, S. *et al.* Speed breeding for multiple quantitative traits in durum wheat. **Plant Methods**, London, v. 14, [art.] 36, [p. 1-15], 2018.

AN, H. *et al.* CONSTANS acts in the phloem to regulate a systemic signal that induces photoperiodic flowering of Arabidopsis. **Development**, Cambridge, v. 131, n. 15, p. 3615–3626, 2004.

ARENHARDT, E. G. **Florescimento em aveia (*Avena sativa* L.):** resposta a soma térmica, fotoperíodo, vernalização e suas interações. 2019. 226 f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2019.

BONNETT, O. T. **Inflorescences of maize, wheat, rye, barley and oat:** their initiation and development. Illinois: University of Illinois College of Agriculture, Agriculture Experiment Station, 1966, 105 p.

BREDEMEIER, C.; MUNDSTOCK, C. M. Estádios fenológicos do trigo para a adubação nitrogenada em cobertura. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 25, n. 2, p. 317-323, 2001.

CAMPOLI, C. *et al.* Expression conservation within the circadian clock of a monocot: natural variation at barley *Ppd-H1* affects circadian expression of flowering time genes, but not clock orthologs. **BMC Plant Biology**, London, v. 12, n. 97, p. 1-15, 2012.

CHENU, K. *et al.* Short-term responses of leaf growth rate to water deficit scale up to whole-plant and crop levels: an integrated modelling approach in maize. **Plant, Cell & Environment**, Hoboken, v. 31, n. 3, p. 378–391, 2008.

- CHIURUGWI, T. *et al.* Speed breeding orphan crops. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 132, n. 3, p. 607–616, 2019.
- COLLARD, B. C. Y. *et al.* Revisiting rice breeding methods – evaluating the use of rapid generation advance (RGA) for routine rice breeding. **Plant Production Science**, Kyoto, v. 20, n. 4, p. 337-352, 2017.
- CORBESIER, L. *et al.* FT protein movement contributes to long-distance signaling in floral induction of Arabidopsis. **Science**, Washington, DC, v. 316, n. 5823, p. 1030–1033, 2007.
- FALCONER, D. S.; MACKAY, T. F. **Introduction to quantitative genetics**. Noida: Pearson Education, 1996, 464 p.
- FERNÁNDEZ, V. *et al.* Photoperiodic and thermosensory pathways interact through *CONSTANS* to promote flowering at high temperature under short days. **The Plant Journal**, Oxford, v. 86, n. 5, p. 426–440, 2016.
- GHOSH, S. *et al.* Speed breeding in growth chambers and glasshouses for crop breeding and model plant research. **Nature protocols**, London, v. 13, n. 12, p. 2944–2963, 2018.
- GIL, K. E. *et al.* Alternative splicing provides a proactive mechanism for the diurnal *CONSTANS* dynamics in Arabidopsis photoperiodic flowering. **The Plant Journal**, Oxford, v. 89, n. 1, p. 128–140, 2016.
- GONZALEZ, N.; VANHAEREN, H.; INZÉ, D. Leaf size control: complex coordination of cell division and expansion. **Trends in Plant Science**, Kidlington, v. 17, n. 6, p.332–340, 2012.
- HAUN, J. R. Visual quantification of wheat development. **Agronomy Journal**, Madison, v. 65, n. 1, p. 116-119, 1973.
- HICKEY, L. T. *et al.* Speed breeding for multiple disease resistance in barley. **Euphytica**, Wageningen, v. 213, [art.] 64, [p. 1-14], 2017.
- HICKEY, L. T. *et al.* Breeding crops to feed 10 billion. **Nature biotechnology**, London, v. 37, p. 744-754, 2019.
- ITO, S. *et al.* FLOWERING BHLH transcriptional activators control expression of the photoperiodic flowering regulator *CONSTANS* in Arabidopsis. **PNAS**, Washington, DC, v. 109, n. 9, p. 3582–3587, 2012.
- JANG, S. *et al.* Arabidopsis *COP1* shapes the temporal pattern of CO accumulation conferring a photoperiodic flowering response. **EMBO Journal**, London, v. 27, n. 8, p. 1277–1288, 2008.
- LARNER, V. S.; FRANKLIN, K. A.; WHITELAM, G. C. Photoreceptors and light signalling pathways in plants. *In*: ROBERTS, J. A. (ed.) **Annual plant reviews online**, Hoboken: Wiley, 2018, p. 107-131.

LAZARO, A. *et al.* Red light-mediated degradation of CONSTANS by the E3 ubiquitin ligase HOS1 regulates photoperiodic flowering in Arabidopsis. **The Plant Cell**, Rockville, v. 27, n. 9, p. 2437–2454, 2015.

LÓPEZ, P. *et al.* CONSTANS mediates between the circadian clock and the control of flowering in Arabidopsis. **Nature**, London, v. 410, n. 6832, p. 1116–1120, 2001.

MARTÍNEZ-GARCÍA, J. F.; HUQ, E.; QUAIL, P. H. Direct targeting of light signals to a promoter element-bound transcription factor. **Science**, Washington, DC, v. 288, n. 5467, p. 859–863, 2000.

MATHIEU, J. *et al.* Export of FT protein from phloem companion cells is sufficient for floral induction in Arabidopsis. **Current Biology**, Cambridge, v. 17, n. 12, p. 1055–1060, 2007.

NOZUE, K. *et al.* Rhythmic growth explained by coincidence between internal and external cues. **Nature**, London, v. 448, p. 358–361, 2007.

O'CONNOR, D. J. *et al.* Development and application of speed breeding technologies in a commercial peanut breeding program. **Peanut Science**, Perkins, v. 40, n. 2, p. 107–114, 2014.

PARK, E. *et al.* Phytochrome B inhibits binding of phytochrome-interacting factors to their target promoters. **The Plant Journal**, Oxford, v. 72, n. 4, p. 537–546, 2012.

REDDY, G. V. Live-imaging stem-cell homeostasis in the *Arabidopsis* shoot apex. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v. 11, n. 1, p. 88–93, 2008.

RIAZ, A. *et al.* Mining Vavilov's treasure chest of wheat diversity for adult plant resistance to *Puccinia triticina*. **Plant Disease**. London, v. 101, n. 2, p. 317–323, 2017.

SARID-KREBS, L. *et al.* Phosphorylation of CONSTANS and its COP1-dependent degradation during photoperiodic flowering of Arabidopsis. **The Plant Journal**, Oxford, v. 84, n. 3, p. 451–463, 2015.

SELUZICKI, A.; BURKO, Y.; CHORY, J. Dancing in the dark: darkness as a signal in plants. **Plant, Cell & Environment**, Hoboken, v. 40, n. 11, p. 2487–2501, 2017.

SONG, Y. H. *et al.* Distinct roles of FKF1, GIGANTEA, and ZEITLUPE proteins in the regulation of CONSTANS stability in Arabidopsis photoperiodic flowering. **PNAS**, Washington, DC, v. 111, p. 17672–17677, 2014.

SONG, Y. H. *et al.* FKF1 conveys timing information for CONSTANS stabilization in photoperiodic flowering. **Science**, Washington, DC, v. 336, p. 1045–1049, 2012.

SOY, J. *et al.* Phytochrome-imposed oscillations in PIF3 protein abundance regulate hypocotyl growth under diurnal light/dark conditions in *Arabidopsis*. **The Plant Journal**, Oxford, v. 71, n. 3, p. 390–401, 2012.

SYLVESTER, A. W.; SMITH, L. G. Cell biology of maize leaf development. *In*: BENNETZEN, J. L.; HAKE, S. (eds.). **Handbook of Maize: its Biology**. New York: Springer, 2009, p. 179–203.

VALVERDE, F. *et al.* Photoreceptor regulation of CONSTANS protein in photoperiodic flowering. **Science**, Washington, DC, v. 303, n. 5660, p. 1003–1006, 2004.

VICZIÁN, A. *et al.* New insights of red light-induced development. **Plant, Cell & Environment**, Hoboken, v. 40, n. 11, p. 2457–2468, 2017.

VOOREND, W. *et al.* LEAF-E: a tool to analyze grass leaf growth using function fitting. **Plant Methods**, London, v. 10, [art.] 37, [p. 1-13], 2014.

WANG, H. *et al.* The DELLA-CONSTANS transcription factor cascade integrates gibberellic acid and photoperiod signaling to regulate flowering. **Plant Physiology**, Rockville, v. 172, n. 1, p. 479–488, 2016.

WANG, Y.; LI, J. Molecular basis of plant architecture. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 59, p. 253-279, 2008.

WATSON, A. *et al.* Speed breeding is a powerful tool to accelerate crop research and breeding. **Nature Plants**, London, v. 4, n. 1, p. 23–29, 2018.

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As plantas de aveia apresentam grande variabilidade de desenvolvimento no momento de determinação do início da transição meristemática floral, devido principalmente à grande quantidade de estímulos ambientais aos quais são aptas a responderem, como temperatura, fotoperíodo e intensidade de radiação.

A vernalização parece ter maior influência sobre o período de desenvolvimento da inflorescência de aveia (do início da transição meristemática ao florescimento) do que sobre a determinação do momento de início da transição meristemática floral nos genótipos responsivos a esse estímulo.

O comprimento da noite (expresso pelo fotoperíodo) possui grande influência sobre a determinação do momento de início da transição meristemática floral em aveia, apesar de não ser um fator essencial para que a planta entre no estágio reprodutivo e floresça.

Aumentos do fotoperíodo acima de 10 horas de luz resultam em antecipação do momento de início da transição meristemática floral.

A radiação pode apresentar tanto efeitos diretos, pela transdução de sinais luminosos, como indiretos, pela disponibilidade de fotoassimilados, sobre a determinação do momento de início da transição meristemática floral em aveia. Esses efeitos causam respostas variadas dos genótipos, que podem antecipar

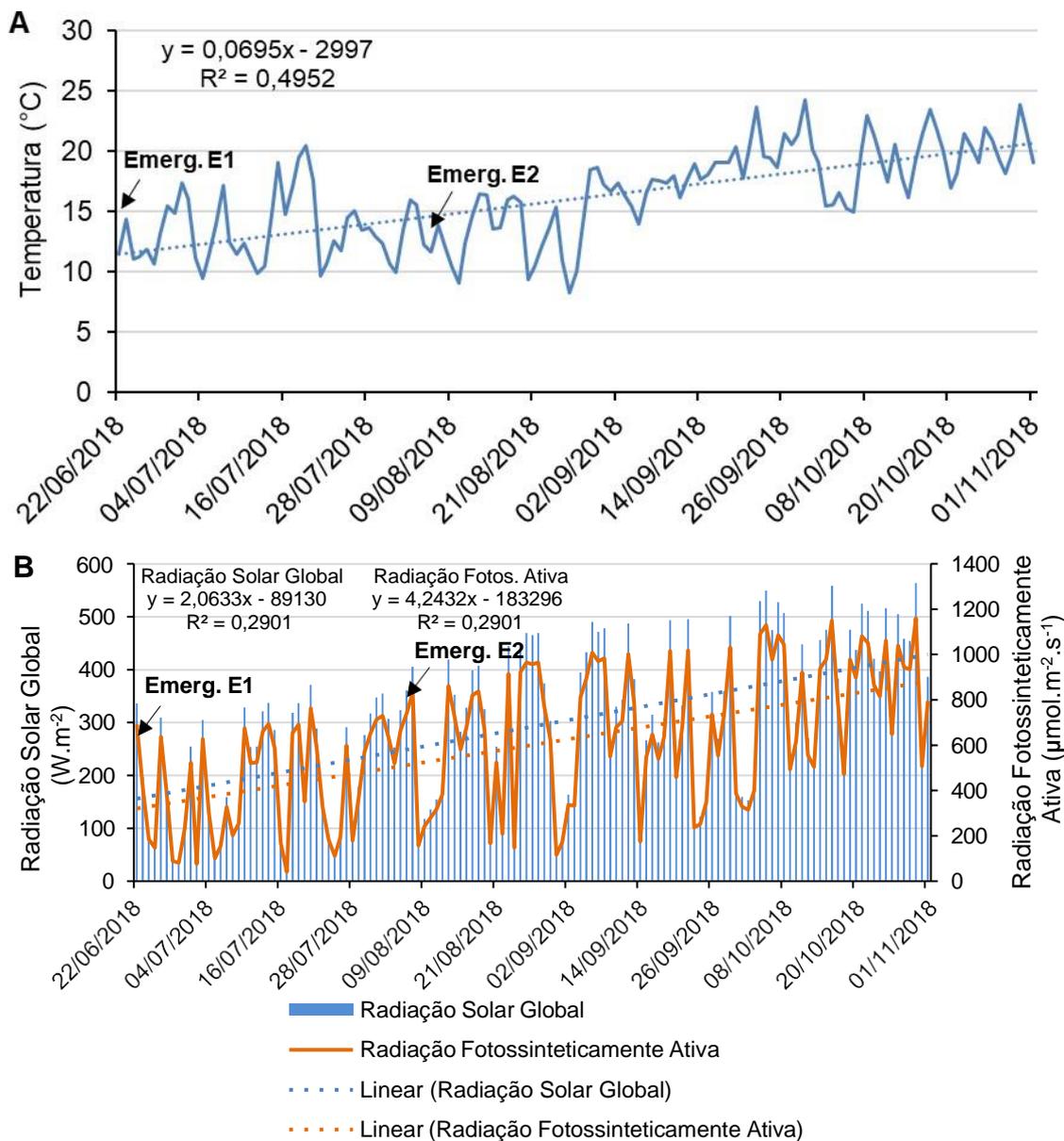
ou atrasar seu desenvolvimento foliar e o início da transição meristemática floral, dependendo do genótipo.

Assim como a intensidade de radiação, o fotoperíodo também influencia o desenvolvimento foliar das plantas de aveia.

A utilização da técnica de melhoramento “*speed breeding*” em aveia ainda requer o desenvolvimento de um protocolo específico que seja eficiente à ampla variabilidade de respostas aos sinais ambientais observada nos genótipos de aveia.

O programa de melhoramento genético de aveia da UFRGS, ao alterar fenotipicamente o ciclo dos genótipos, alterou também a resposta aos sinais ambientais necessários para a transição meristemática e florescimento, possivelmente por alterações nas rotas metabólicas que controlam esses processos.

## 6 APÊNDICES



APÊNDICE 1. Dados climáticos de temperatura média diária (A) e radiação média diária (B) no período de 22/06/2018 (emergência das plântulas na primeira época de cultivo do experimento a campo) a 01/11/2018 (final do florescimento das plantas na segunda época de cultivo do experimento a campo). Emerg. E1 = emergência das plântulas na 1<sup>a</sup> época de cultivo; Emerg. E2 = emergência das plântulas na 2<sup>a</sup> época de cultivo.

APÊNDICE 2. Número total de folhas (NTF), data de emissão da folha bandeira (DEFB) e data do florescimento (DF) de seis genótipos de aveia (*Avena sativa* L.) avaliados a campo na Estação Experimental Agronômica da UFRGS no ano de 2018.

Genótipo	Tratamento	Época	Bloco	NTF	DEFB	DF
UFRGS 137142-3	NV <sup>1</sup>	1	1	9	30/08/2018	08/09/2018
	NV	1	2	9	30/08/2018	07/09/2018
	V	1	1	9	30/08/2018	08/09/2018
	V	1	2	9	30/08/2018	08/09/2018
	NV	2	1	8	21/09/2018	30/09/2018
	NV	2	2	9	23/09/2018	28/09/2018
	V	2	1	8	21/09/2018	30/09/2018
	V	2	2	8	23/09/2018	28/09/2018
UFRGS 146171-1	NV	1	1	9	06/09/2018	16/09/2018
	NV	1	2	9	04/09/2018	17/09/2018
	V	1	1	9	03/09/2018	14/09/2018
	V	1	2	9	04/09/2018	17/09/2018
	NV	2	1	9	27/09/2018	04/10/2018
	NV	2	2	9	25/09/2018	03/10/2018
	V	2	1	9	26/09/2018	04/10/2018
	V	2	2	9	25/09/2018	02/10/2018
URS 21	NV	1	1	10	03/09/2018	18/09/2018
	NV	1	2	10	03/09/2018	19/09/2018
	V	1	1	10	01/09/2018	13/09/2018
	V	1	2	10	02/09/2018	15/09/2018
	NV	2	1	10	28/09/2018	07/10/2018
	NV	2	2	10	29/09/2018	05/10/2018
	V	2	1	10	28/09/2018	04/10/2018
	V	2	2	9	26/09/2018	04/10/2018
URS Corona	NV	1	1	10	13/09/2018	22/09/2018
	NV	1	2	10	13/09/2018	22/09/2018
	V	1	1	10	01/09/2018	13/09/2018
	V	1	2	10	31/08/2018	11/09/2018
	NV	2	1	11	04/10/2018	12/10/2018
	NV	2	2	11	02/10/2018	10/10/2018
	V	2	1	9	23/09/2018	30/09/2018
	V	2	2	9	24/09/2018	29/09/2018

Continuação APÊNDICE 2. Número total de folhas (NTF), data de emissão da folha bandeira (DEFB) e data do florescimento (DF) de seis genótipos de aveia (*Avena sativa* L.) avaliados a campo na Estação Experimental Agronômica da UFRGS no ano de 2018.

Genótipo	Tratamento	Época	Bloco	NTF	DEFB	DF
UFRGS 995088-3	NV	1	1	11	16/09/2018	26/09/2018
	NV	1	2	11	16/09/2018	25/09/2018
	V	1	1	10	11/09/2018	20/09/2018
	V	1	2	10	11/09/2018	20/09/2018
	NV	2	1	12	10/10/2018	19/10/2018
	NV	2	2	12	10/10/2018	18/10/2018
	V	2	1	11	03/10/2018	11/10/2018
	V	2	2	10	30/09/2018	11/10/2018
LA 90105	NV	1	1	13	28/09/2018	11/10/2018
	NV	1	2	13	27/09/2018	11/10/2018
	V	1	1	12	26/09/2018	07/10/2018
	V	1	2	13	25/09/2018	10/10/2018
	NV	2	1	14	22/10/2018	01/11/2018
	NV	2	2	14	24/10/2018	01/11/2018
	V	2	1	.	.	.
	V	2	2	13	16/10/2018	30/10/2018

<sup>1</sup>NV = não-vernalizado; V = vernalizado; . = parcela perdida.

APÊNDICE 3. Análise de variância das variáveis estágio Haun do início da transição meristemática (Haun), número de dias da emergência ao início da transição meristemática (DED), soma térmica da emergência ao início da transição meristemática (STED), número de horas de luz da emergência ao início da transição meristemática (HLUZ), radiação média diária da emergência ao início da transição meristemática (RAD), número de dias do início da transição meristemática ao início do florescimento (DDF), soma térmica do início da transição meristemática ao início do florescimento (STDF), número de dias da emergência ao início do florescimento (DEF) e soma térmica da emergência ao início do florescimento (STEF) do experimento realizado a campo no ano de 2018.

Haun						
C. Var.	GL	SQ	QM	F	<i>p-value</i>	Sig.
Época	1	39,26	39,26	157,14	<0,0001	**
Bloco(época)	2	0,41	0,21	0,50	0,6658	ns
Gen	5	118,48	23,70	64,40	0,1492	ns
Vern	1	0,34	0,34	0,83	0,4586	ns
ExG	5	1,33	0,27	0,46	0,7948	ns
ExV	1	0,01	0,01	0,02	0,8894	ns
GxV	5	3,42	0,68	1,17	0,4321	ns
Bloco*Vern(época)	2	0,82	0,41	3,02	0,0498	*
ExGxV	5	2,91	0,58	4,30	0,0008	**
Resíduo	406	55,05	0,14			
Total	433	263,59				

DED						
C. Var.	GL	SQ	QM	F	<i>p-value</i>	Sig.
Época	1	1927,30	1927,30	205,78	<0,0001	**
Bloco(época)	2	7,99	3,99	3,12	0,2430	ns
Gen	5	1841,06	368,21	25,20	0,0008	**
Vern	1	0,09	0,09	0,07	0,8128	ns
ExG	5	63,75	12,75	5,03	0,0504	ns
ExV	1	26,16	26,16	13,96	0,0127	*
GxV	5	21,98	4,39	1,73	0,2804	ns
Bloco*Vern(época)	2	2,56	1,28	0,49	0,6159	ns
ExGxV	5	12,68	2,54	0,96	0,4424	ns
Resíduo	406	1073,05	2,64			
Total	433	6483,35				

Continuação APÊNDICE 3. Análise de variância das variáveis estágio Haun do início da transição meristemática (Haun), número de dias da emergência ao início da transição meristemática (DED), soma térmica da emergência ao início da transição meristemática (STED), número de horas de luz da emergência ao início da transição meristemática (HLUZ), radiação média diária da emergência ao início da transição meristemática (RAD), número de dias do início da transição meristemática ao início do florescimento (DDF), soma térmica do início da transição meristemática ao início do florescimento (STDF), número de dias da emergência ao início do florescimento (DEF) e soma térmica da emergência ao início do florescimento (STEF) do experimento realizado a campo no ano de 2018.

<b>STED</b>						
C. Var.	GL	SQ	QM	F	<i>p-value</i>	Sig.
Época	1	311028,00	311028,00	88,27	<0,0001	**
Bloco(época)	2	1823,15	911,57	2,63	0,2758	ns
Gen	5	467979,00	93596,00	17,27	0,0033	**
Vern	1	123,56	123,56	0,36	0,6113	ns
ExG	5	26188,00	5237,65	7,04	0,0258	*
ExV	1	6852,80	6852,80	12,38	0,0144	*
GxV	5	4623,90	924,78	1,24	0,4085	ns
Bloco*Vern(época)	2	694,31	347,15	0,57	0,5652	ns
ExGxV	5	3719,54	743,91	1,22	0,2968	ns
Resíduo	406	246681,52	607,59			
Total	433	1273093				

<b>HLUZ</b>						
C. Var.	GL	SQ	QM	F	<i>p-value</i>	Sig.
Época	1	45,73	92,86	2343707	<0,0001	**
Bloco(época)	2	3,28x10 <sup>-4</sup>	8,58x10 <sup>-5</sup>	0,27	0,7629	ns
Resíduo	430	0,07	1,58x10 <sup>-4</sup>			
Total	433	93,54				

<b>RAD</b>						
C. Var.	GL	SQ	QM	F	<i>p-value</i>	Sig.
Época	1	4210644,00	4210644,00	7607,12	<0,0001	**
Bloco(época)	2	1162,59	581,29	2,65	0,0717	ns
Resíduo	430	94288,00	219,27			
Total	433	4343782,85				

Continuação APÊNDICE 3. Análise de variância das variáveis estágio Haun do início da transição meristemática (Haun), número de dias da emergência ao início da transição meristemática (DED), soma térmica da emergência ao início da transição meristemática (STED), número de horas de luz da emergência ao início da transição meristemática (HLUZ), radiação média diária da emergência ao início da transição meristemática (RAD), número de dias do início da transição meristemática ao início do florescimento (DDF), soma térmica do início da transição meristemática ao início do florescimento (STDF), número de dias da emergência ao início do florescimento (DEF) e soma térmica da emergência ao início do florescimento (STEF) do experimento realizado a campo no ano de 2018.

DDF						
C. Var.	GL	SQ	QM	F	<i>p-value</i>	Sig.
Época	1	3930,49	3930,49	626,77	<0,0001	**
Bloco(época)	2	4,00	2,00	1,26	0,4417	ns
Gen	5	2595,74	519,15	17,19	0,0011	**
Vern	1	168,95	168,95	106,75	0,0092	**
ExG	5	25,73	5,15	6,12	0,0343	*
ExV	1	7,01	7,01	4,65	0,2042	ns
GxV	5	129,47	25,89	30,79	0,0009	**
Bloco*Vern(época)	2	3,16	1,58	1,70	0,2109	ns
ExGxV	5	4,21	0,84	0,90	0,5005	ns
Resíduo	18	16,77	0,93			
Total	45	7693,58				

STDF						
C. Var.	GL	SQ	QM	F	<i>p-value</i>	Sig.
Época	1	199040,00	199040,00	164,64	0,0003	**
Bloco(época)	2	1136,43	568,21	0,98	0,5045	ns
Gen	5	1083388,00	216678,00	19,31	0,0014	**
Vern	1	56067,73	56067,73	96,93	0,0102	*
ExG	5	4966,29	993,26	6,70	0,0285	*
ExV	1	2007,69	2007,69	5,45	0,3273	ns
GxV	5	51874,00	10375,00	70,00	0,0001	**
Bloco*Vern(época)	2	1156,87	578,43	1,60	0,2298	ns
ExGxV	5	741,03	148,21	0,41	0,8361	ns
Resíduo	18	6517,99	362,11			
Total	45	1635574				

Continuação APÊNDICE 3. Análise de variância das variáveis estágio Haun do início da transição meristemática (Haun), número de dias da emergência ao início da transição meristemática (DED), soma térmica da emergência ao início da transição meristemática (STED), número de horas de luz da emergência ao início da transição meristemática (HLUZ), radiação média diária da emergência ao início da transição meristemática (RAD), número de dias do início da transição meristemática ao início do florescimento (DDF), soma térmica do início da transição meristemática ao início do florescimento (STDF), número de dias da emergência ao início do florescimento (DEF) e soma térmica da emergência ao início do florescimento (STEF) do experimento realizado a campo no ano de 2018.

DEF						
C. Var.	GL	SQ	QM	F	<i>p-value</i>	Sig.
Época	1	7238,41	7238,41	643,89	<0,0001	**
Bloco(época)	2	8,92	4,46	5,40	0,1562	ns
Gen	5	4238,61	847,72	21,25	0,0005	**
Vern	1	167,94	167,94	203,37	0,0049	**
ExG	5	38,33	7,67	5,57	0,0413	*
ExV	1	1,85x10 <sup>-28</sup>	1,85x10 <sup>-28</sup>	0,00	1,0000	ns
GxV	5	168,05	33,61	24,43	0,0016	**
Bloco*Vern(época)	2	1,65	0,83	1,00	0,3859	ns
ExGxV	5	6,88	1,38	1,67	0,1905	ns
Resíduo	19	15,67	0,82			
Total	46	13001,96				

STEF						
C. Var.	GL	SQ	QM	F	<i>p-value</i>	Sig.
Época	1	678189,00	678189,00	124,89	<0,0001	**
Bloco(época)	2	3959,13	1979,57	5,74	0,1484	ns
Gen	5	1851498,00	370300,00	20,98	0,0004	**
Vern	1	71903,96	71903,96	208,37	0,0048	**
ExG	5	19252,00	3850,42	6,68	0,0287	*
ExV	1	13,63	13,63	0,02	0,8878	ns
GxV	5	71888,00	14378,00	24,94	0,0015	**
Bloco*Vern(época)	2	690,15	345,07	0,94	0,4094	ns
ExGxV	5	2882,98	576,60	1,56	0,2177	ns
Resíduo	19	7001,64	368,51			
Total	46	2996700,75				

APÊNDICE 4. Análise de variância das variáveis estágio Haun do início da transição meristemática (Haun), número de dias da emergência ao início da transição meristemática (DED) e soma térmica da emergência ao início da transição meristemática (STED) do experimento de avaliação da do fotoperíodo e intensidade de radiação em aveia.

<b>Haun</b>						
C. Var.	GL	SQ	QM	F	<i>p-value</i>	Sig.
Gen	5	23,47	4,69	20,38	0,1213	ns
Fotop	1	36,17	36,17	167,50	<0,0001	**
Rad	1	0,36	0,36	1,21	0,3217	ns
GxF	5	1,08	0,22	0,76	0,6125	ns
GxR	5	1,48	0,30	1,05	0,4791	ns
FxR	1	1,55	1,55	5,50	0,0660	ns
GxFxR	5	1,41	0,28	32,61	<0,0001	**
Resíduo	72	0,62	0,01			
Total	95	66,16				

<b>DED</b>						
C. Var.	GL	SQ	QM	F	<i>p-value</i>	Sig.
Gen	5	842,01	168,40	14,36	0,1711	ns
Fotop	1	1.375,70	1.375,70	92,61	0,0002	**
Rad	1	69,11	69,11	5,59	0,0644	ns
GxF	5	74,28	14,86	0,96	0,5179	ns
GxR	5	61,83	12,37	0,80	0,5948	ns
FxR	1	49,01	49,01	3,16	0,1355	ns
GxFxR	5	77,41	15,48	16,96	<0,0001	**
Resíduo	72	65,80	0,91			
Total	95	2.615,21				

<b>STED</b>						
C. Var.	GL	SQ	QM	F	<i>p-value</i>	Sig.
Gen	5	411.402,14	82.280,43	14,38	0,1713	ns
Fotop	1	671.030,45	671.030,45	92,53	0,0002	**
Rad	1	33.754,50	33.754,50	5,59	0,0644	ns
GxF	5	36.258,42	7.251,68	0,96	0,5182	ns
GxR	5	30.202,01	6.040,40	0,80	0,5948	ns
FxR	1	23.932,59	23.932,59	3,16	0,1355	ns
GxFxR	5	37.847,84	7.569,57	16,96	<0,0001	**
Resíduo	72	32.141,69	446,41			
Total	95	1.276.569,64				

<sup>1</sup> C. Var. = causas de variação; GL = graus de liberdade; SQ = soma de quadrados; QM = quadrado médio; Sig. = significância; Gen = genótipo; Fotop = fotoperíodo; Rad = intensidade de radiação; GxF = interação genótipo x fotoperíodo; GxR = interação genótipo x intensidade de radiação; FxR = interação fotoperíodo x intensidade de radiação; GxFxR = interação genótipo x fotoperíodo x intensidade de radiação; ns = não significativo.

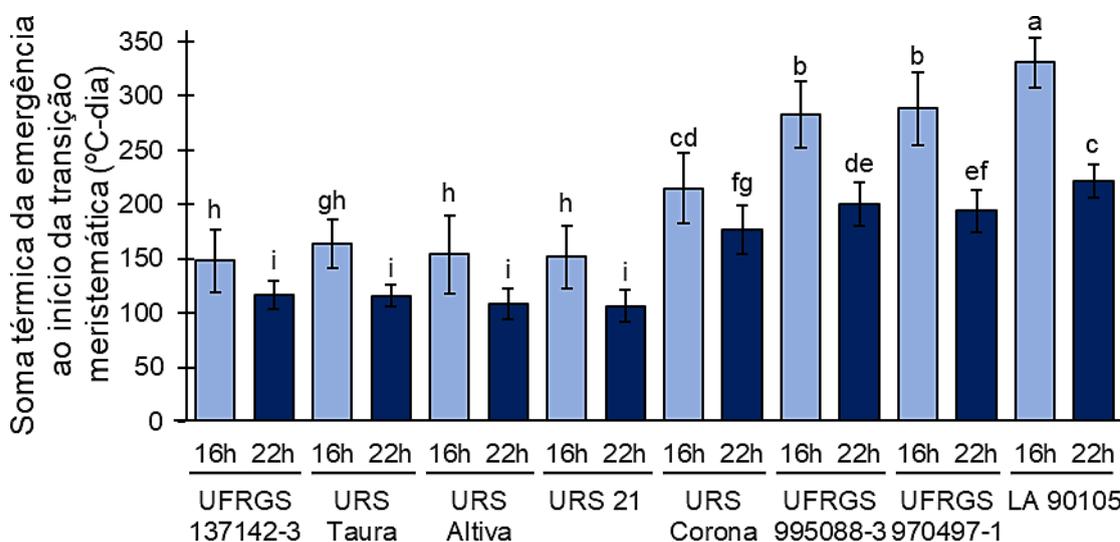
APÊNDICE 5. Análise de variância das variáveis estágio Haun do início da transição meristemática (Haun), número de dias da emergência ao início da transição meristemática (DED), soma térmica da emergência ao início da transição meristemática (STED), número de dias do início da transição meristemática ao início do florescimento (DDF), soma térmica do início da transição meristemática ao início do florescimento (STDF) e número de dias do início ao final do florescimento (DIFF) do experimento de avaliação do método “*speed breeding*” em aveia.

Haun						
C. Var.	GL	SQ	QM	F	<i>p-value</i>	Sig.
Gen	7	16,82	2,40	28,82	0,0001	**
Fotop	1	2,32	2,32	27,77	0,0012	**
GxF	7	0,58	0,08	11,23	<0,0001	**
Resíduo	64	0,48	0,01			
Total	79	20,20				
DED						
C. Var.	GL	SQ	QM	F	<i>p-value</i>	Sig.
Gen	7	623,24	89,03	17,91	0,0006	**
Fotop	1	185,09	185,09	37,24	0,0005	**
GxF	7	34,79	4,97	9,64	<0,0001	**
Resíduo	64	32,98	0,52			
Total	79	876,11				
STED						
C. Var.	GL	SQ	QM	F	<i>p-value</i>	Sig.
Gen	7	255.626,20	36.518,03	17,20	0,0006	**
Fotop	1	75.964,52	75.964,52	35,78	0,0006	**
GxF	7	14.863,67	2.123,38	10,66	<0,0001	**
Resíduo	64	12.747,31	199,18			
Total	79	359.201,70				
DDF						
C. Var.	GL	SQ	QM	F	<i>p-value</i>	Sig.
Gen	7	4.368,06	624,01	3,67	0,0537	ns
Fotop	1	4.452,44	4.452,44	27,04	0,0012	**
GxF	7	1.188,76	169,82	52,09	<0,0001	**
Resíduo	61	198,89	3,26			
Total	76	12.496,69				
STDF						
C. Var.	GL	SQ	QM	F	<i>p-value</i>	Sig.
Gen	7	1.740.259,49	248.608,50	3,70	0,0528	ns
Fotop	1	1.774.118,95	1.774.118,95	27,22	0,0012	**
GxF	7	470.203,27	67.171,90	54,72	<0,0001	**
Resíduo	60	73.654,74	1.227,58			
Total	75	4.943.647,39				

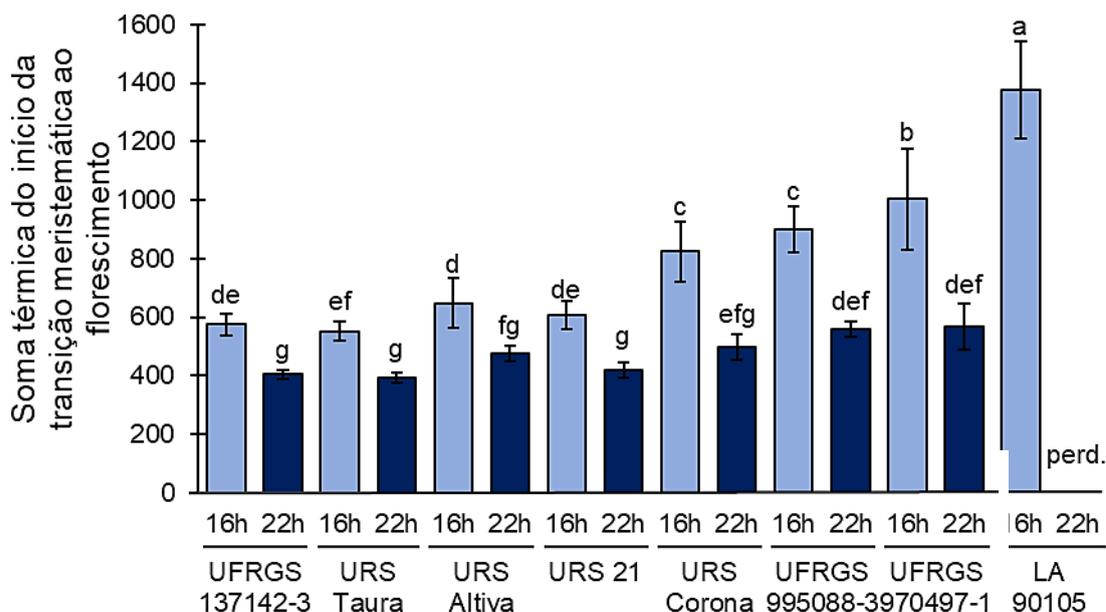
Continuação APÊNDICE 5. Análise de variância das variáveis estágio Haun do início da transição meristemática (Haun), número de dias da emergência ao início da transição meristemática (DED), soma térmica da emergência ao início da transição meristemática (STED), número de dias do início da transição meristemática ao início do florescimento (DDF), soma térmica do início da transição meristemática ao início do florescimento (STDF) e número de dias do início ao final do florescimento (DIFF) do experimento de avaliação do método “*speed breeding*” em aveia.

DIFF						
C. Var.	GL	SQ	QM	F	p-value	Sig.
Gen	7	135,28	19,33	1,34	0,3532	ns
Fotop	1	54,23	54,23	4,92	0,0604	ns
GxF	7	100,66	14,38	15,30	<0,0001	**
Resíduo	56	52,65	0,94			
Total	71	333,19				

<sup>1</sup> C. Var. = causas de variação; GL = graus de liberdade; SQ = soma de quadrados; QM = quadrado médio; Sig. = significância; Gen = genótipo; Fotop = fotoperíodo; GxF = interação genótipo x fotoperíodo; ns= não significativo.



APÊNDICE 6. Soma térmica acumulada da emergência ao início da transição meristemática de oito genótipos de aveia (*Avena sativa* L.) submetidos a dois fotoperíodos (16 e 22h de luz, representados pelas cores azul claro e azul escuro, respectivamente) em condições controladas (experimento “*speed breeding*”). Letras diferentes indicam diferença significativa para a interação Genótipo x Fotoperíodo a 5% pelo Teste de Tukey. Barras de erro = desvio padrão da média.



APÊNDICE 7. Soma térmica acumulada do início da transição meristemática ao início do florescimento de oito genótipos de aveia (*Avena sativa* L.) submetidos a dois fotoperíodos (16 e 22h de luz, representados pelas cores azul claro e azul escuro, respectivamente) em condições controladas (experimento “*speed breeding*”). Letras diferentes indicam diferença significativa para a interação Genótipo x Fotoperíodo a 5% pelo Teste de Tukey. “n.f.” = não floresceu. Barras de erro = desvio padrão da média.

APÊNDICE 8. Proposta de modificação da Escala Haun para cereais de inverno.

Escala Haun (Haun, 1973)	Escala Haun modificada (como foi utilizada nos experimentos)	Proposta de Escala Haun descritiva	
1,0	1,0	1.000	= 1 folha completamente emitida
1,1	1,1	1.201	= 1 folha completamente emitida + 10% da segunda folha
1,2	1,2	1.202	= 1 folha completamente emitida + 20% da segunda folha
1,3	1,3	1.203	= 1 folha completamente emitida + 30% da segunda folha
1,4	1,4	1.204	= 1 folha completamente emitida + 40% da segunda folha
1,5	1,5	1.205	= 1 folha completamente emitida + 50% da segunda folha
1,6	1,6	1.206	= 1 folha completamente emitida + 60% da segunda folha
1,7	1,7	1.207	= 1 folha completamente emitida + 70% da segunda folha
1,8	1,8	1.208	= 1 folha completamente emitida + 80% da segunda folha
1,9	1,9	1.209	= 1 folha completamente emitida + 90% da segunda folha

Continuação APÊNDICE 8. Proposta de modificação da Escala Haun para cereais de inverno.

Escala Haun (Haun, 1973)	Escala Haun modificada (como foi utilizada nos experimentos)	Proposta de Escala Haun descritiva	
-	1,9	1.210	= 1 folha completamente emitida + segunda folha do tamanho da primeira (100%)
-	1,9	1.211.301	= 1 folha completamente emitida + segunda folha 10% maior que a primeira + 10% da terceira folha
-	1,9	1.212.302	= 1 folha completamente emitida + segunda folha 20% maior que a primeira + 20% da terceira folha
2,3	2,3	2.303	= 2 folhas completamente emitidas + 30% da terceira folha
2,4	2,4	2.304	= 2 folhas completamente emitidas + 40% da terceira folha
2,5	2,5	2.305	= 2 folhas completamente emitidas + 50% da terceira folha
2,6	2,6	2.306	= 2 folhas completamente emitidas + 60% da terceira folha
2,7	2,7	2.307	= 2 folhas completamente emitidas + 70% da terceira folha
2,8	2,8	2.308	= 2 folhas completamente emitidas + 80% da terceira folha
2,9	2,9	2.309	= 2 folhas completamente emitidas + 90% da terceira folha
-	2,9	2.310	= 2 folhas completamente emitidas + terceira folha do tamanho da segunda
-	2,9	2.311.401	= 2 folhas completamente emitidas + terceira folha 10% maior que a primeira + 10% da quarta folha
-	2,9	2.312.402	= 2 folhas completamente emitidas + terceira folha 20% maior que a primeira + 20% da quarta folha
3,2	3,2	3.403	= 3 folhas completamente emitidas + 30% da quarta folha
...	...	...	...