

MELHORAMENTO GENÉTICO VISANDO SOJA ALTO OLEICO

PROGRAMA ESALQ/USP

Regina Prioli – Setembro/2024

1. Introdução ao melhoramento de soja para óleo

Enfoques do melhoramento genético de soja para óleo

1. Quantidade: aumentar o teor total de óleo (teor de óleo \approx 21% peso semente)
 - Correlação positiva de produtividade com teor de óleo
 - Produtividade de óleo = produtividade grãos x teor óleo : 100
 - HERANÇA: Quantitativa (poligenes), herdabilidade baixa
 2. Qualidade: modificar a constituição de ácidos graxos do óleo
 - > teor de ácido graxo monoinsaturado oleico (C18:1); < teor de ácidos graxos saturados (C16:0 e C18:0); < teor de poliinsaturados (C18:2; C18:3)
 - HERANÇA: Quantitativa (poligenes), herdabilidade alta
- Correlação entre teores de óleo e proteína é negativa: adoção de estratégias de seleção que combinem múltiplas informações dos caracteres mensurados no indivíduo

2. Estratégias para aumentar o teor de óleo

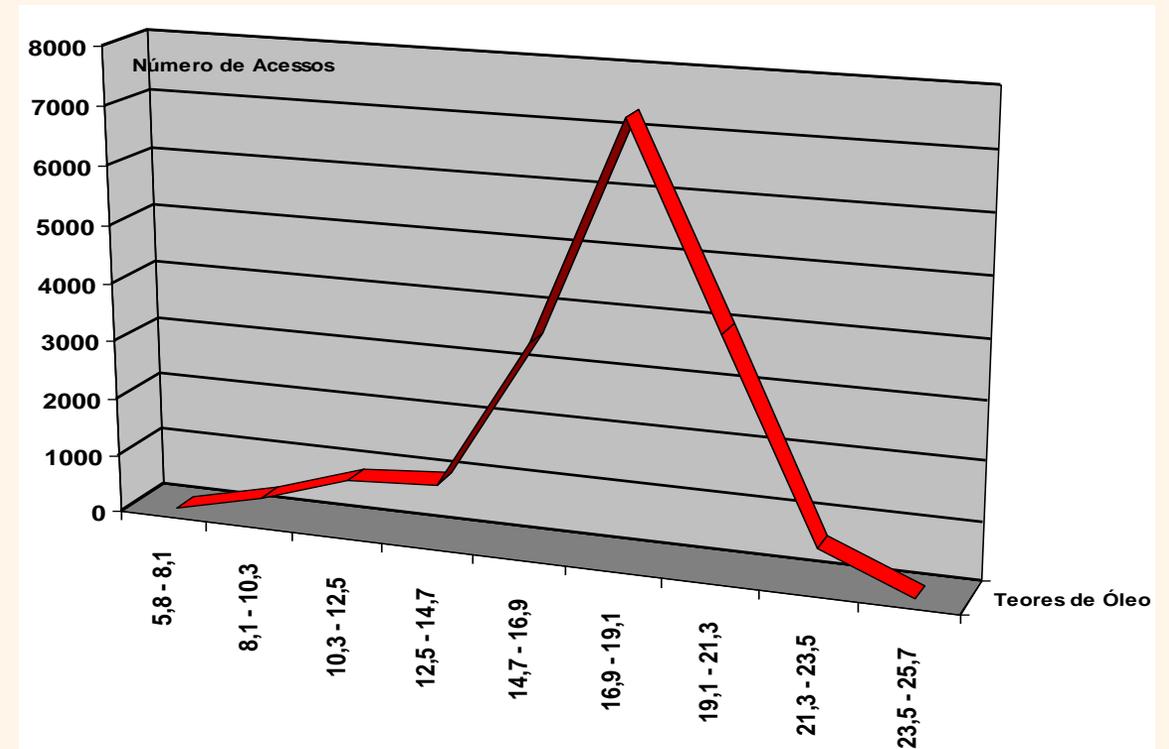
Melhoramento de soja para quantidade de óleo na ESALQ/USP

- Método de seleção recorrente para produtividade do óleo
 - 40 genitores (linhagens exóticas e adaptadas), cruzamentos biparentais de dois grupos de 20 genitores, avanços por SHDT (*Single Hill Descent Thinned*) até F_4 . Avaliação de progênies F_4 e F_5 estimando associações para introdução de novos genitores no grupo de 40 e início de novo ciclo (VELLO, 1992)
- Estimativa de parâmetros genéticos e fenotípicos, como variância, herdabilidade, correlações e ganhos com a seleção
 - Avaliação do teor de óleo (NMR) e produtividade de sementes de 2400 indivíduos F_4 e 2000 indivíduos F_5 selecionadas de F_4 (intensidade de seleção de 20%) (FARIAS NETO e VELLO, 2001)
 - Resultados: $h_2=0,23$ (baixa e positiva); $GS = 1,51\%$ Correlações altas com PG e PO, mas baixa com %Óleo
 - Maior progresso no melhoramento genético do caráter produtividade de óleo poderia ser alcançado adotando-se a estratégia de seleção indireta, pela produtividade de grãos

- Perspectiva limite (Vello, 2017)

	Atual	Futuro
Produtividade de grãos (kg/ha)	3.000	6.000
Teor de óleo (%)	20	26
Produtividade de óleo (kg/ha)	600	1.560
Ganho esperado (%)		160

- Distribuição de acessos convencionais em relação ao teor de óleo

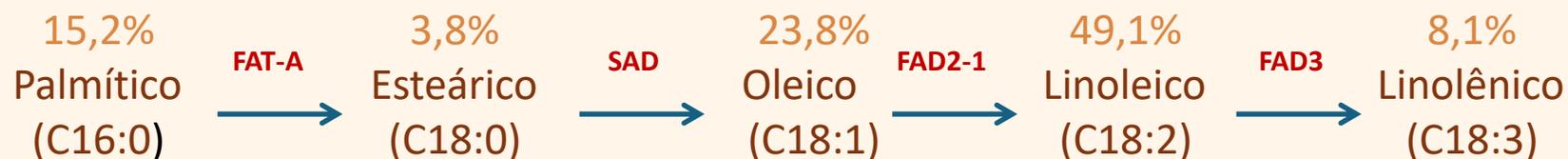


Fonte: USDA, ARS, <http://www.ars-grin.gov/cgi-bin/npgs/html/obvalue.pl?51019>

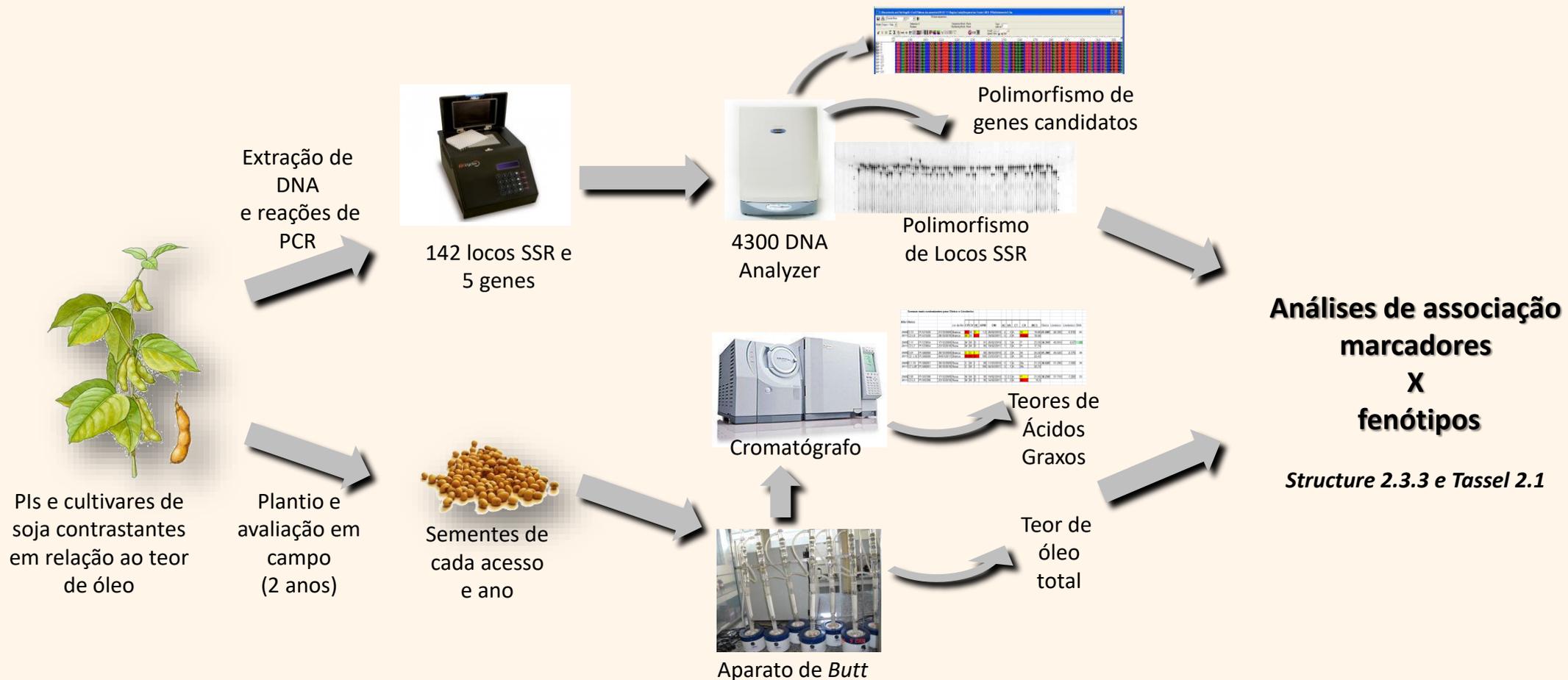
3. Estratégias para melhorar a composição dos ácidos graxos

Melhoramento genético de soja para qualidade do óleo na ESALQ/USP

- Seleção convencional com auxílio de marcadores moleculares
- USDA/GRIN: 7.221 acessos com teor de ácido oleico superior a 23,8% (<https://npgsweb.ars-grin.gov/gringlobal/search>, acesso em 13/09/24)
- Composição de ácidos graxos do óleo (cromatografia \approx 13 ácidos graxos)
- Correlações negativas de ácido oleico com linoleico e linolênico (-0,8) (Liu et al. 1995)
- Cadeia metabólica dos principais ácidos graxos do óleo de soja, valores médios observados em cultivares e genes associados



4. Análises dos marcadores moleculares e óleos



5. Resultados - óleo e ácidos graxos

Tab 1 Teores de óleo total, ácidos graxos (%ms) e estimativa de herdabilidade observadas em 96 acessos de soja cultivadas em área experimental (Piracicaba-SP)

		Oil content	Palmitic acid	Stearic acid	Oleic acid	Linoleic acid	Linolenic acid
2010	Min	12.200	3.140	2.190	13.360	24.670	2.190
	Max	23.603	14.440	4.570	60.450	63.960	12.900
	Average	18.937	10.706	3.274	24.061	53.029	6.402
	STD	0.149	0.172	0.144	0.392	0.137	0.270
2011	Min	12.797	3.330	2.135	13.650	30.840	2.430
	Max	23.569	16.560	4.740	51.910	62.160	10.730
	Average	18.829	10.473	3.151	25.014	52.605	6.308
	STD	0.134	0.162	0.164	0.321	0.123	0.241
KS test	P-value	0.226	0.055	0.305	0.116	0.635	0.988
heritability	BSH	0.89	0.91	0.64	0.87	0.88	0.77

Tab 2 Comparação entre os teores de óleo e ácidos graxos de 96 cultivares de soja e PIs cultivadas em área experimental anos 2010 e 2011 (Piracicaba – SP)

	Cultivars			Plant Introductions		
	Mean ±SE	Range	Range Variation	Mean± SE	Range	Range Variation
Oil content	20.60 ± 0.86	18.86 – 23.11	4.25	17.93 ± 2.58	12.85 – 23.30	10.45
Palmitic acid	10.85 ± 0.67	9.09 – 12.02	2.93	10.45 ± 2.00	3.24 – 15.50	12.27
Stearic acid	3.18 ± 0.40	2.49 – 4.30	1.81	3.23 ± 0.45	2.16 – 4.55	2.39
Oleic acid	23.21 ± 4.55	15.78 – 37.35	21.57	25.27 ± 9.35	13.32 – 56.18	42.86
Linoleic acid	54.25 ± 3.56	42.57 – 61.08	18.51	52.03 ± 7.22	28.16 – 61.10	32.94
Linolenic acid	6.11 ± 0.87	4.31 – 7.84	3.53	6.50 ± 1.67	2.41 – 11.59	9.18

6. Marcadores Microssatélites

Euphytica (2015) 203:83–96
DOI 10.1007/s10681-014-1264-4

Association mapping of oil content and fatty acid components in soybean

R. H. G. Priolli · J. B. Campos · N. S. Stabellini ·
J. B. Pinheiro · N. A. Vello

Received: 26 June 2014 / Accepted: 19 September 2014 / Published online: 27 September 2014
© Springer Science+Business Media Dordrecht 2014

Abstract Soybean is a globally important oil crop, and the flavour, stability and nutritional value of soybean oil is dependent on the relative proportions of five primary fatty acids. In this study, association mapping was performed to identify molecular markers associated with QTL regions related to oil traits in soybean. Oil and fatty acid contents were measured in soybean accessions grown under field conditions for 2 years. Based on polymorphisms at 142 SSR loci, 94 soybean accessions were divided into two clusters corresponding to accessions from Asian and American gene pools. Linkage disequilibrium (LD) among the SSR loci suggested a structure across the soybean genome (LD decay) of approximately 12 cM. Pair-wise kinship estimates among the accessions showed low values. A mixed linear model (MLM) adjusted using false discovery rate (FDR) and minimum Bayes factor (BF_{min}) values identified 110 strongly associated marker-traits. Oleic acid content had the highest

number of associated SSR loci (33), followed by linoleic acid (26), palmitic acid (24), oil (16) and linolenic acid (14). Specific alleles at eight loci yielded high performing soybeans with respect to fatty acid content, and these are presented in a crossing matrix. Analysis of SSR loci and oil traits confirmed previous findings, and many new markers were also identified that may be useful for quickly improving oil traits in soybean.

Keywords Association analysis · Fatty acids · *Glycine max* · Linkage disequilibrium · Oil quality · SSR

Introduction

Soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] is a globally important crop and a significant source of oil and

QTLs associados a ácidos graxos

- 51 locos SSRs distribuídos em 18 dos 20 cromossomos de soja
- 110 associações significativas com ácidos graxos
- 33 locos SSRs com ácido oleico
- 13 locos SSRs com ácido linolênico
- 8 locos SSRs associados com ácidos palmítico, oleico, linoleico e linolênico: efeito pleiotrópico

Aplicações microssatélites para seleção de ácidos graxos

• Tab 3: *Breeding by design*

Accession	Palm	Oleic	Lino	Linol	Satt294		Satt386		Satt586		Satt571		Satt270		Sat_224		Sat_144		Satt487	
					268	286	184	217	199	220	149	179	240	243	134	221	148	196	202	226
PI 568261	5.61	50.96	34.08	4.07		+	+			+				+				+		+
PI 531520	8.65	54.05	28.80	2.41		+								+						+
PI 578058	9.57	45.95	36.51	2.47		+		+		+	+			+	+		+			+
PI 599811	3.24	42.73	43.76		+			+			+			+			+			+
PI 568260	5.40	56.18	28.16			+	+							+			+			+
PI 512039	9.37		44.00					+			+			+			+			+
USP 70109	9.09			4.80	+			+		+	+			+		+	+			
USP 70106	9.19			4.31	+			+		+			+			+	+			
PI 602455	3.32				+			+		+					+		+			
PI 532833	7.41				+						+			+						
PI 614702		38.82	42.04	2.96			+				+		+			+	+			
PI 533654		38.26	38.93	4.06	+		+			+							+			
PI 555396		37.64	40.73				+			+	+			+			+			
USP 70081		37.35	42.57				+				+			+				+		
PI 633736		35.30		4.17	+			+			+						+			
PI 597389				4.50	+			+			+			+	+		+			
USP 70108				4.80	+			+		+	+			+		+	+			

Melhores alelos de 8 locos SSR possibilita a programação de cruzamentos. No exemplo, 8 locos SSR atuam em teores maiores de ácidos graxos oleico e menores de linolênico. O cruzamento de genótipos com diferentes composições genéticas (por exemplo, 'PI 578058', que tem oito alelos favoráveis e 'USP 70109', que tem sete alelos favoráveis) poderia ser usado para combinar mais alelos favoráveis em uma única planta

7. Marcadores do tipo SNPs - *arrays*

Euphytica (2019)215:54
<https://doi.org/10.1007/s10681-019-2378-5>



Genome analysis to identify SNPs associated with oil content and fatty acid components in soybean

R. H. G. Priolli · C. R. L. Carvalho · M. M. Bajay · J. B. Pinheiro · N. A. Vello

Received: 28 May 2018 / Accepted: 13 February 2019
© Springer Nature B.V. 2019

Abstract The nutritional value, flavor and stability of soybean oil are determined by its five dominant fatty acids: saturated palmitic and stearic, monounsaturated oleic, and polyunsaturated linoleic and linolenic acids. Identifying molecular markers or quantitative trait loci associated with these components has the potential to facilitate the development of improved varieties and thus improve soybean oil content and quality. In this study, we used the BARCSoySNP6K BeadChip array to conduct a genome analysis of diverse soybean accessions evaluated for 2 years under Brazilian field conditions. The results demonstrated high broad-sense heritability, suggesting that the soybean genotype panel could be useful for oil trait breeding programs. Moreover, the

range of oil trait variation among the plant introductions (PIs) was superior to that among the Brazilian cultivars in this study, indicating that a PI population could be used to find genes controlling these traits. The genome analysis showed that the genetic structure of the soybean germplasm comprised two main genetic groups, and it revealed linkage disequilibrium decay of approximately 300 kb. A total of 19 single-nucleotide polymorphism (SNP) loci on ten different chromosomes significantly associated with palmitic acid, oleic acid and total oil contents were discovered. Analysis of the SNP annotations revealed enzymes associated with several oil-related physiological metabolisms. Loci and specific alleles in our soybean panel that contributed to lower palmitic acid contents and higher oleic acid and total oil contents were identified. Overall, this genome analysis confirmed previous findings and identified SNP markers that may be useful to rapidly improve oil traits in soybean.

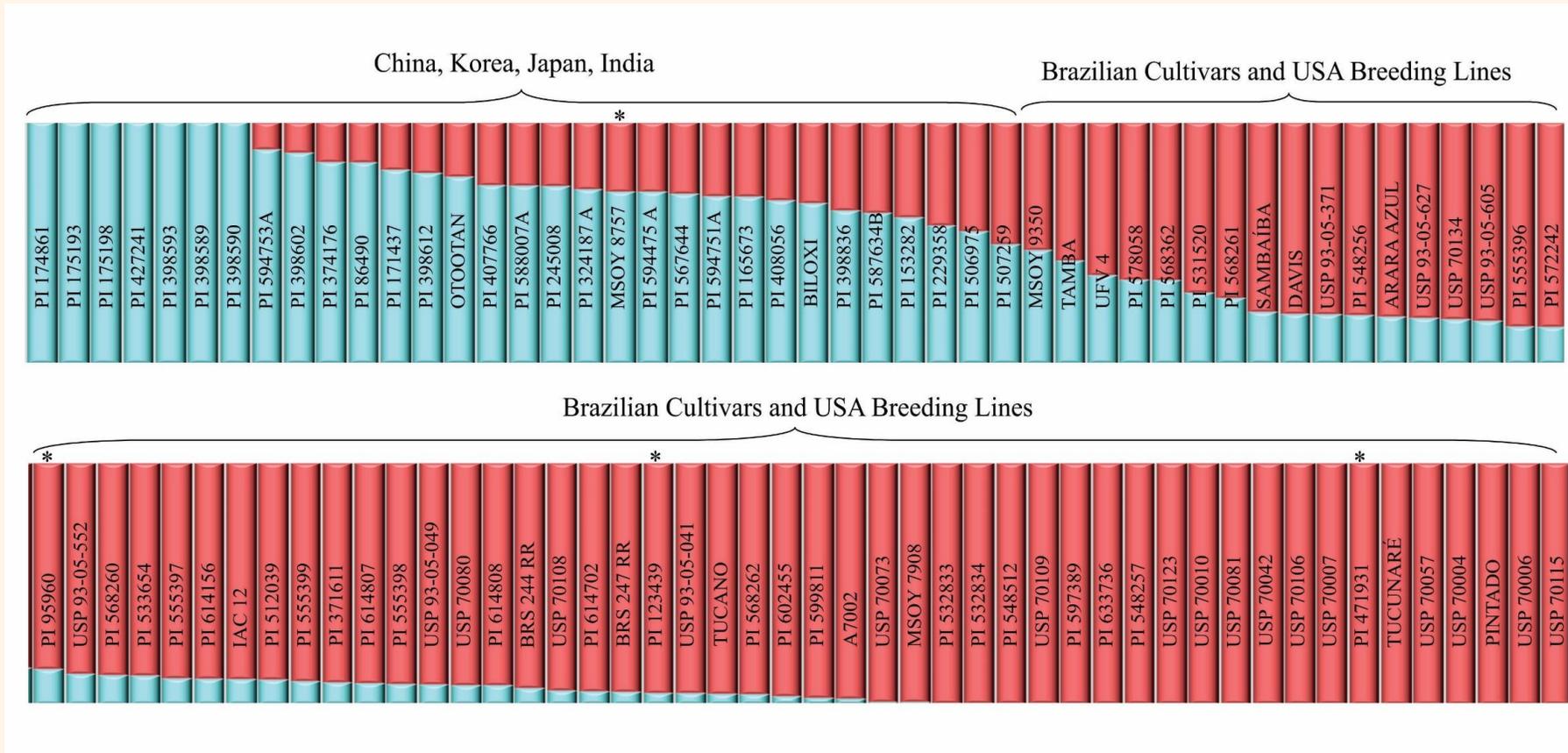
Electronic supplementary material The online version of this article (<https://doi.org/10.1007/s10681-019-2378-5>) contains supplementary material, which is available to authorized users.

- BARCSoySNP6K (SONG et al 2014)
 - *BeadChip array* – 6000 locos SNPs
 - Locos genotipados: 5220 locos SNPs em 96 genótipos
- Correlações com teores de óleos

Tab 4: Totais de locos SNPs associados

	Ácido Oleico	Ácido Palmítico	Óleo Total
Locos SNPs	2	16	1

Estruturação dos 96 genótipos com “arrays”



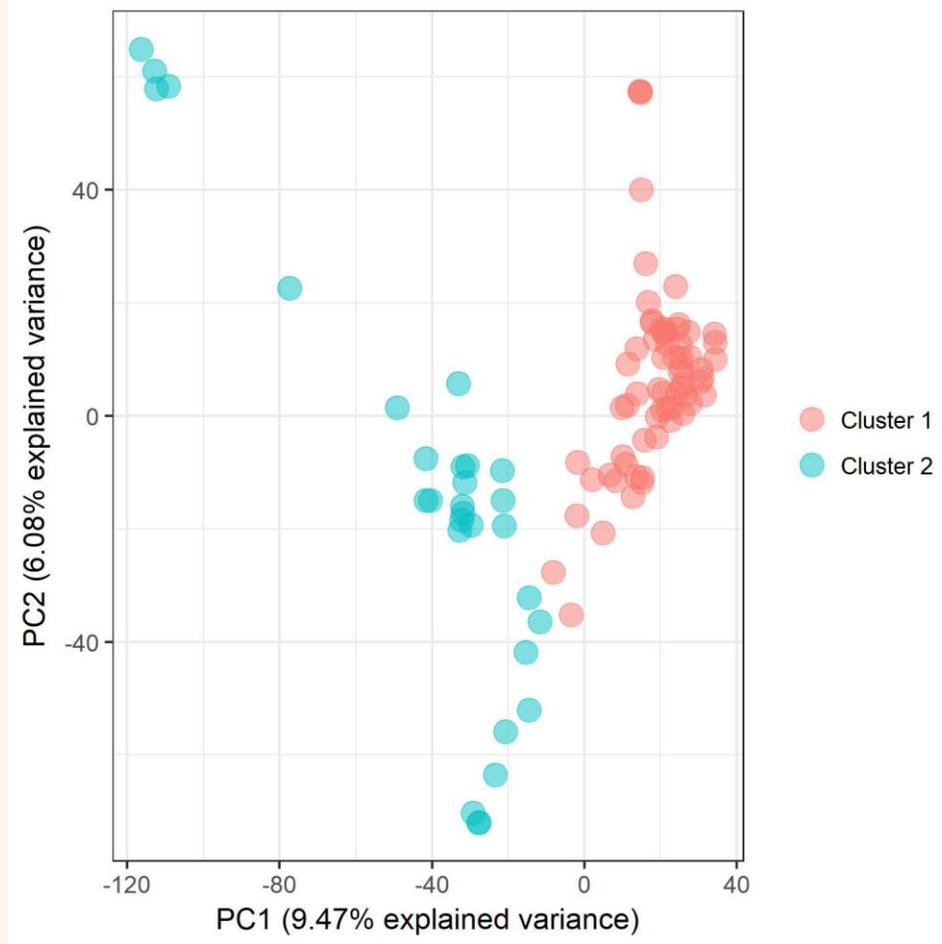
Dois grupos:

- PIs de base genética ampla (Asia)
- PIs e cultivares de base genética estreita (EUA, BR)

Parâmetros (Structure v.2.3.3)

- Burn in 50.000
- 5 corridas independentes para cada K (de 1 a 10)
- 500,000 iterations

PCA dos 96 genótipos com “arrays”

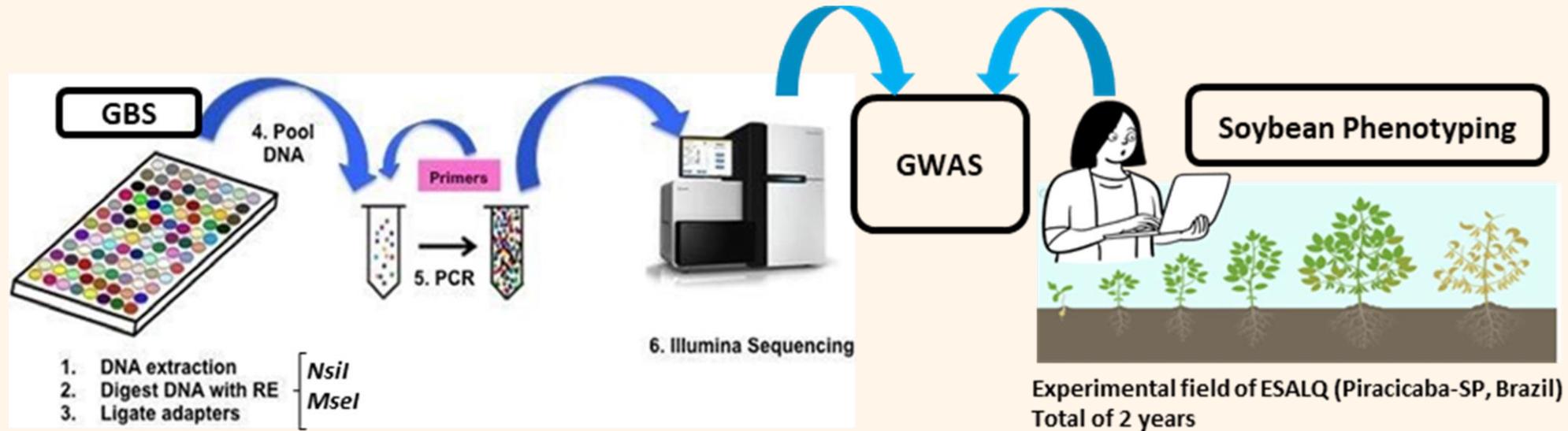


Componentes principais

Gráfico de dispersão do primeiro (9,47%) e segundo (6,08%) componentes principais baseado na análise de acessos de soja utilizando 5220 locos SNP. Os pontos vermelho e azul representam acessos da América (1) e da Ásia (2), respectivamente, de acordo com os clusters identificados pelo software Structure v.2.3.3

8. Marcadores do tipo SNPs – Bibliotecas *GBS*

- Metodologia *GBS* (*Genotyping By Sequencing*) e *GWAS* (*genome-wide association study*)

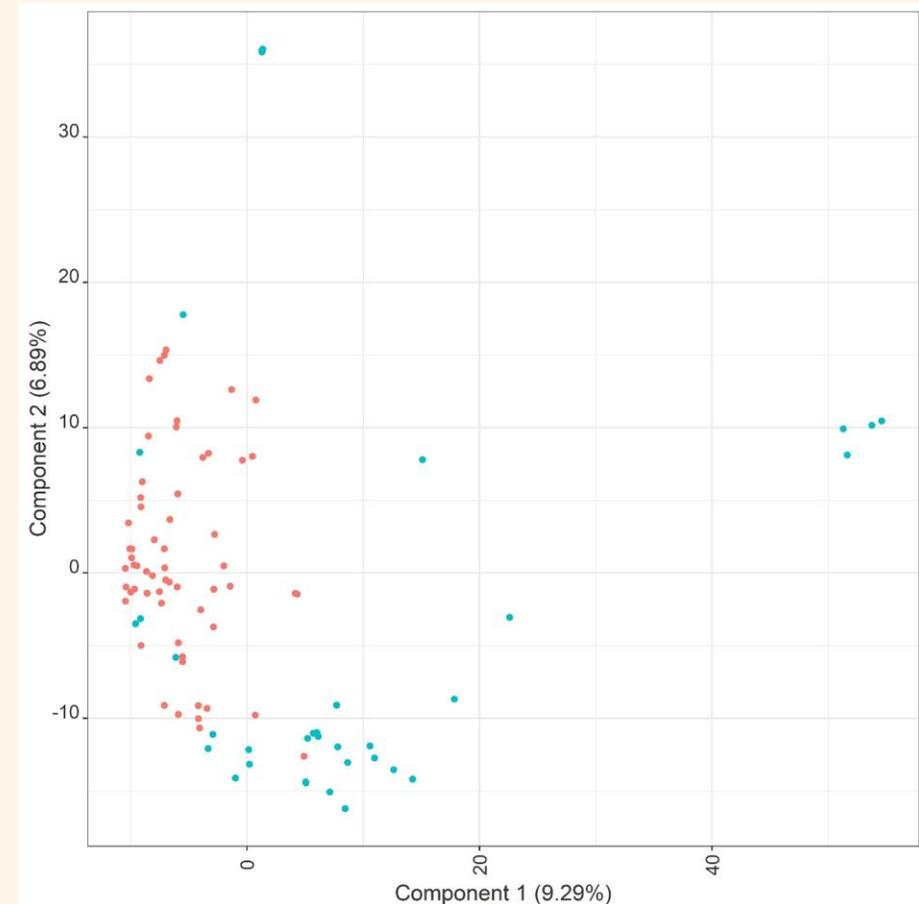


9. Resultados: análises GWAS

- 13.002 locos SNPs genotipados em 96 indivíduos
- PCA com dois grupos (\approx array)
- 288 locos SNPs associados a ácidos graxos após correções para múltiplos testes ($P < 0.001, -\log_{10}P > 3.00$)
- 16 locos SNPs comuns aos dois anos

	Ácido Palmítico	Ácido Oleico	Ácido linoleico	Ácido linolenico
Locos SNPs	9	3*	3	1

*Situam-se próximo ao gene Glyma.04G207800, cuja função enzimática é “fatty acid amide hydrolase-like [*Glycine max*]”



10. Verificação do polimorfismo

- Sequência de bases antes e após o polimorfismo

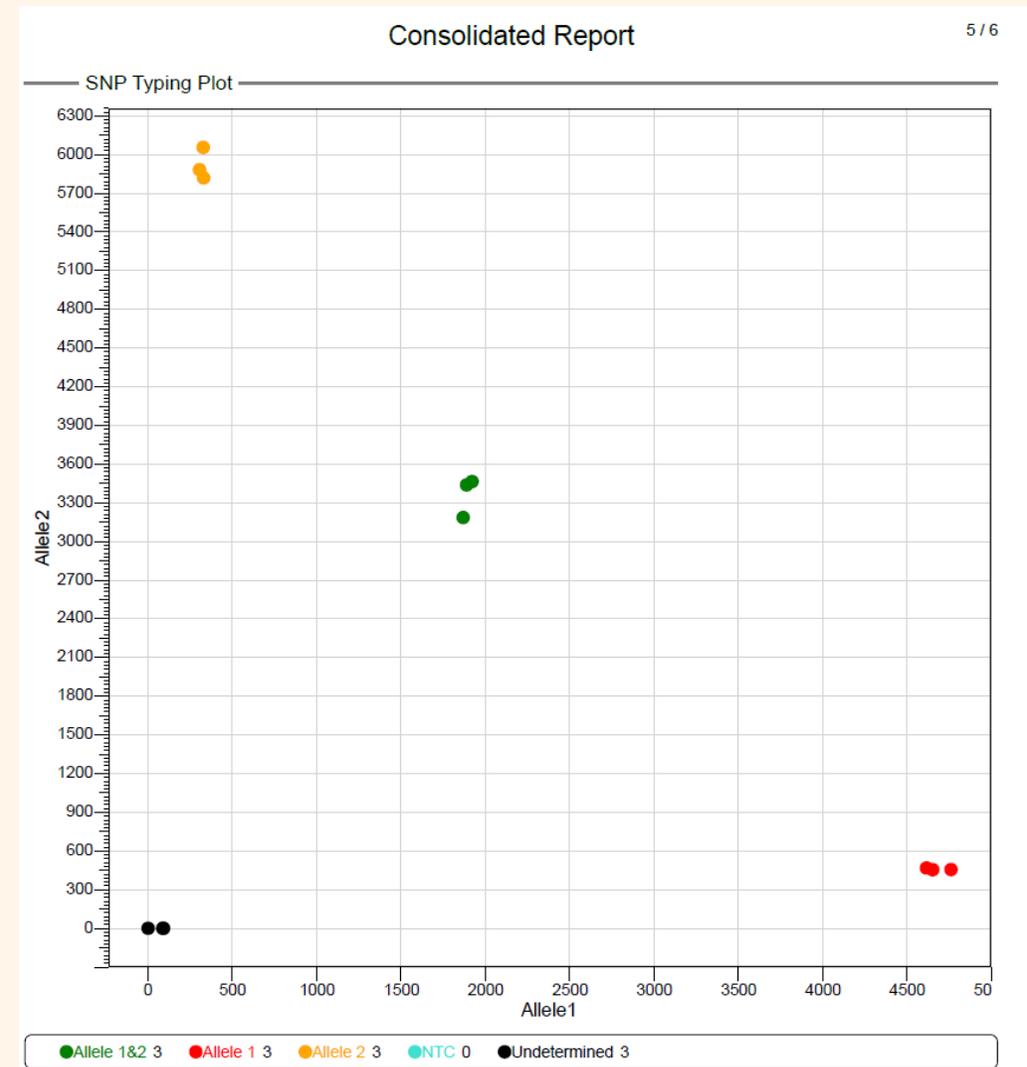
- GM04_1 **T/A**CCCAAT[T/A]ACATGG....
- GM04_2 **T/G**GCAAAT[T/G]TTAGGT....
- GM04_3 **G/A**GTGAGG[G/A]AGTTTT...

- Identificação de qual alelo em genótipos com alto oleico e baixo linolênico

	Ácido Graxo Oleico (% m.s)		Ácido Graxo Linolênico (% m.s)	
Acesso	Ano 1	Ano 2	Ano 1	Ano 2
PI 531520	57,02	51,07	2,19	2,63
PI 568260	60,45	51,91	3,93	4,19
PI 568261	60,42	41,49	3,20	4,94
PI 568262	35,22	38,59	5,02	4,52
PI 578058	41,69	50,21	2,51	2,43

11. Santa Semente: seleção com marcadores

- Desenvolvimento de locos SNPs associados à ácido oleico
- Híbridações de genitores contrastantes em relação ao teor de ácido oleico
- Avaliação genotípica de progênies F₂
- Ex: Loco GM04_1_T_A: identificação de genótipos TT, TA e AA por PACE genotyping
- Avaliação fenotípica (fracionamento do óleo para determinação dos ácidos graxos)



Ex: Identificação de genótipos por PACE genotyping em Mini S Real-Time PCR Detection System, Bioer Technology (BIOER)



12. Considerações finais

- É possível aumentar a produtividade e a produção de óleo de soja: seleção para maior produtividade de grãos e maior teor de óleo
- É possível melhorar a qualidade do óleo, aumentando-se o teor de ácido graxo oleico
- A herança genética mais simples indica ser mais fácil melhorar a qualidade do que a quantidade
- Marcadores moleculares para seleção de ácido graxo oleico foram descobertos e confirmados, auxiliando na precisão e eficiência do processo



Obrigada!

regina.prioli@stasemente.com.br

www.stasemente.com.br

