

LORÊTA BUUDA DA MATTA

**MAPEAMENTO DE QTL PARA CONTEÚDO DE ÁCIDO OLÉICO EM
SOJA UTILIZANDO MARCADORES SNP**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2012

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

M435m
2012

Matta, Lorêta Buuda da, 1981-
Mapeamento de QTL para conteúdo de ácido oléico em
soja utilizando marcadores SNP / Lorêta Buuda da Matta. –
Viçosa, MG, 2012.
xii, 69f. : il. ; 29cm.

Orientador: Maurílio Alves Moreira
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.
Referências bibliográficas: f. 60-69

1. Glycine max. 2. Ácidos graxos. 3. Marcadores genéticos.
4. Mapeamento cromossômico. 5. Genética quantitativa.
I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 22. ed. 633.34

LORÊTA BUUDA DA MATTA

**MAPEAMENTO DE QTL PARA CONTEÚDO DE ÁCIDO OLÉICO EM SOJA
UTILIZANDO MARCADORES SNP**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 27 de abril de 2012.



Luciano da Costa e Silva



Klever Márcio Antunes Arruda



Cosme Damião Cruz
(Coorientador)



Everaldo Gonçalves de Barros
(Coorientador)



Maurilio Alves Moreira
(Orientador)

*SENHOR é o meu pastor; nada me faltará.
Deitar-me faz em verdes pastos, guia-me mansamente a águas
tranquilas.
Refrigera a minha alma;
guia-me pelas veredas da justiça por amor do seu nome.
Ainda que eu andasse pelo vale da sombra da morte, não temeria mal
algum, porque tu estás comigo; a tua vara e teu cajado me consolam.
Preparas uma mesa perante mim na presença dos meus inimigos, unges
a minha cabeça com óleo, o meu cálice transborda.
Certamente que a bondade e a misericórdia me seguirão todos os dias da
minha vida; e habitarei na casa do Senhor por longos dias.
Salmo 23:1-6*

A Deus.

À minha mãe, Jana Maruska Buuda da Matta.

Ao meu pai, Lauro Alves da Matta Júnior.

As minhas irmãs Ingrid e Karina e minhas sobrinhas.

Ao meu noivo Frederico Araújo de Almeida.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por ter me dado forças para alcançar esta conquista intelectual e profissional e por me guiar, iluminar e encher minha vida de pessoas maravilhosas.

Aos professores da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, por terem contribuído diretamente com minha formação profissional, tornando possível a realização do curso de mestrado e doutorado.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Programa de pós-graduação em Genética e Melhoramento pela oportunidade da realização do curso de doutorado.

À North Carolina State University (NCSU, Raleigh, NC, USA) e USDA, pela oportunidade, apoio financeiro e infraestrutura para o desenvolvimento do meu projeto de doutorado sanduíche.

À CNPq pelo apoio financeiro e pela concessão das bolsas de pesquisa de doutorado e doutorado sanduíche.

Ao Professor Maurilio Alves Moreira, meu orientador, pela oportunidade, pela competência científica e acompanhamento da pesquisa, pela disponibilidade e generosidade reveladas ao longos destes seis anos trabalhando juntos, assim como pelas críticas, correções e sugestões relevantes feitas durante a execução deste trabalho. Além disso, pela amizade, apoio e pelo exemplo de dedicação a pesquisa bem como um exemplo de vida e força para todos nós.

Ao Professor Everaldo Gonçalves de Barros, meu co-orientador, pelo inestimável apoio, pela disponibilidade sempre manifestada, pela competência e exemplo de profissionalismo e pela amizade.

Ao Professor Cosme Damião Cruz, meu co-orientador pelos seus valiosos conhecimentos e esclarecimento sobre análises estatísticas e discussão dos resultados, bem como pela disponibilidade e amizade então demonstradas, e pelo exemplo de competência e simplicidade.

À Professora Andrea Cardinal, minha co-orientadora nos Estados Unidos, pela amizade, pelo exemplo de competência e dedicação com a pesquisa. Por ter me acolhido por um ano no seu grupo de pesquisa e ter despendido tempo e apoio financeiro na execução do projeto. Além disso,

agradeço pela oportunidade, incentivo e ensinamentos que foram fundamentais para o desenvolvimento do projeto de doutorado sanduíche.

Ao querido amigo Newton Deniz Piovesan, por ter feito parte de todas as etapas da minha formação como mestre e doutora, pelos conselhos, incentivo e ajuda na execução deste trabalho. Mais uma vez ressalto a amizade, o carinho e a transmissão de conhecimentos que foram fundamentais nessa jornada.

Ao amigo Luciano da Costa e Silva, por ter me ajudado nas análises estatísticas da minha tese, bem como, pelos conselhos, ensinamentos, apoio e amizade que foram indispensáveis na execução deste trabalho.

Ao Professor amigo Pedro Ivo Good God pelos ensinamentos, amizade e por ter ajudado na execução do projeto em São Gotardo-MG.

Ao amigo Klever, pela amizade, ensinamentos e por toda a ajuda na condução desta pesquisa.

Aos funcionários Sandra, Gláucia, Naldo, José Carlos, Edson, Cupertino e Cássio, pela ajuda e colaboração na realização deste trabalho.

Ao meu querido estagiário Pedro, pela grande amizade, carinho, experiências e conhecimentos compartilhados, bem como pela dedicação total na condução de todas as etapas deste trabalho e que sem sua ajuda a execução do mesmo não seria possível.

À Rebecca Whetten e Sanbao Wang pelo auxílio na condução do meu experimento no laboratório e no campo na NCSU (Raleigh, NC, USA), por todo apoio que foi me dado sem medir esforços, ensinamentos e principalmente pela amizade. À William Novitzky, por ter me ajudado nas minhas análises de ácidos graxos e teor de óleo, pela grande amizade e horas de adorável companhia. À Carrin e David, que foram meus primeiros amigos nos Estados Unidos e ambos contribuíram para minha adaptação, possibilitando que os meus dias fossem bem mais fáceis e melhores, permitindo que minha experiência no país fosse maravilhosa. À Frieda, por toda amizade, apoio e horas tão descontraídas no laboratório e no campo. À Brad Rush, meu americano favorito, por ter me ajudado nas minhas análises de ácidos graxos e por ter sido um amigo e grande companhia no laboratório e no campo que me deixava conversar a vontade.

Aos amigos, professores e pesquisadores da NCSU e USDA por me receberem tão bem e me ajudarem em tudo que precisei, em especial: Lyng, Lilian, Jared, Jim, Mohamed, Kim, Sharon, Philip e Paul. À todos os amigos que fiz nos Estados Unidos que encheram meus dias de alegrias e muito carinho, em especial: Carlos Ernesto, Carlos Alberto, Derek Lovel, Ricardo Silva, Jim Morgan, Liz Morgan, Josh Adams.

À minha amiga Vanessa Lopes, minha *roommate*, que me possibilitou conquistar uma amizade para vida toda e por sido alguém que poderia contar nas horas mais difíceis nos EUA longe da minha família.

Aos amigos do laboratório: Thiago, Márcia, Josie, Luiz, Rafael, Julierme, Leandro, Bruno, Arlindo, Josiane, Marta e Alexandre pela ajuda, amizade e agradável convivência.

À minha amiga Fernanda, ao Alan e a July, pela amizade, carinho, incentivo, horas de longas conversas, por sempre estarem presentes em todos os momentos bons e ruins que passei em Viçosa. Vocês foram amigos que fiz e levo no meu coração por toda vida.

Aos meus pais Jana e Lauro, razões da minha existência, por todo amor, incentivo, força e por terem me proporcionado uma excelente educação que culminou nessa conquista. As minhas irmãs Ingrid e Karina, por entenderem a dificuldade de estar longe de vocês, me apoiarem sempre que preciso, por terem sido sempre a minha fortaleza e pelo amor incondicional a todo instante. Minhas lindas sobrinhas Nicole, Giovanna e Giulia que enchem minha vida de tanta alegria e felicidade me dando muito amor e carinho.

Ao meu amado Frederico, que sempre me estimula a crescer científica e pessoalmente, pelo inestimável apoio familiar, por preencher a minha vida com tanto amor, respeito, companheirismo e compreensão, e que mesmo com toda a distância que nos separou por todos esses seis anos nunca deixou de me amar e me dar força e coragem para terminar essa etapa das nossas vidas. A Marcelino (*in memoriam*), Solange, Américo, Simone, Anna Laura, Nino, Mequinho e Pepeu, por todo o apoio, incentivo, amizade e carinho que vocês me proporcionaram ao longo destes anos.

Aos meus eternos amigos Carlindo e Thaíse que estiveram sempre presentes nas minhas conquistas profissionais, me incentivando,

apoiando e nunca deixando eu desistir, enchendo minha vida de carinho, amor e pura amizade.

As minhas amigas Aguida, Danielle, Jacqueline e Juliana por todo o carinho e amizade que me proporcionaram no doutorado e por ainda terem sido grandes companheiras de estudo, além de terem me dado todo suporte em todas as horas que precisei nesses quatro anos de amizade.

À Anna Laura e Ana Carla, queridas amigas e companheiras, dividimos a casa e nossas vidas, foram momentos maravilhosos que passei com vocês e saibam que vocês fizeram meus dias mais felizes.

A todos os amigos queridos que acompanharam ou me incentivaram nessa jornada em Viçosa, em especial: Alan, Caio, Cassiana, Eliel, Fabiana, Fabrício, Gabriela, Gustavo, Henrique, Isis, Janaína, Leandro, Marcão, Marcelo, Mari, Maurício, Melissa, Rafael, Rosana, Samuel, Saulo, Suelen, Valéria, Viviane, Yaro, Zoraia. A todos aqueles que estiveram direta ou indiretamente envolvidos nas vitórias que culminaram na realização deste sonho tão esperado.

BIOGRAFIA

Lorêta Buuda da Matta, filha de Lauro Alves da Matta Júnior e Jana Maruska Buuda da Matta, nasceu na cidade de Salvador, Bahia, em 28 de outubro de 1981.

Em outubro de 2001, iniciou o curso de graduação em Engenharia Agrônômica na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, graduando-se em agosto de 2006.

Em outubro de 2006, iniciou o curso de pós-graduação em Fitotecnia na Universidade Federal de Viçosa, submetendo-se aos exames finais de defesa de dissertação para obtenção do título de *Magister Scientiae*, no dia 25 de fevereiro de 2008.

Em março de 2008, iniciou o curso de pós-graduação em Genética e Melhoramento na Universidade Federal de Viçosa, submetendo-se aos exames finais de defesa de tese para obtenção do título de *Doctor Scientiae*, no dia 27 de abril de 2012.

Em maio de 2012, iniciou o pós-doutorado em Genética e Biologia Molecular na Universidade Estadual de Santa Cruz, com duração prevista para maio de 2015.

SUMÁRIO

RESUMO	x
ABSTRACT	xii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1. Composição e qualidade do óleo de soja.....	3
2.2. Biossíntese de ácidos graxos	4
2.3. Melhoramento e controle genético do conteúdo de ácidos graxos insaturados em soja	7
2.4. Marcadores SNP em soja.....	10
2.4. Mapeamento de QTL para conteúdo de ácidos graxos insaturados em soja.....	13
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	15
3.1. Materiais genéticos e procedimentos experimentais	15
3.2. Avaliações fenotípicas e análise estatística	16
3.3. Análises genotípicas.....	18
3.4. Mapa de ligação.....	19
3.5. Mapeamento de QTL.....	19
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	20
5. CONCLUSÕES.....	59
6. REFERÊNCIAS.....	60

RESUMO

MATTA, Lorêta Buuda da, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, abril de 2012. **Mapeamento de QTL para conteúdo de ácido oléico em soja utilizando marcadores SNP.** Orientador: Maurilio Alves Moreira. Coorientadores: Everaldo Gonçalves de Barros e Cosme Damião Cruz.

A principal meta no melhoramento da qualidade do óleo de soja é aumentar sua estabilidade oxidativa pelo aumento do teor de ácido oléico e redução dos teores dos ácidos linolênico e linoléico. A identificação de locos de caracteres quantitativos (QTL) associados ao conteúdo de ácido oléico pode favorecer a utilização da seleção assistida por marcadores moleculares no melhoramento, possibilitando a combinação de alelos favoráveis oriundos de diferentes materiais genéticos. Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo mapear QTL associados ao conteúdo de ácido oléico em soja utilizando marcadores SNP. Para isso, foram realizadas as seguintes etapas: (1) estimação dos parâmetros genéticos e correlações entre conteúdo de ácidos graxos e teor de óleo; (2) construção do mapa genético de ligação para uma população F_2 proveniente do cruzamento FA22 x CS303TNKCA, contrastantes para conteúdo de ácido oléico, com marcadores SNP; (3) identificação de QTL associados ao conteúdo de ácido oléico e de outros ácidos graxos insaturados. As estimativas de herdabilidade obtidas indicam que existe potencial para realizar seleção para conteúdo de ácido oléico em gerações precoces. Os resultados das correlações indicam que aumentos nos teores de ácido oléico implicam na redução dos outros ácidos graxos insaturados e no teor de óleo. Entretanto, a maior magnitude dessas correlações foi encontrada entre os ácidos oléico e linoléico. Este estudo revelou um novo QTL para conteúdo de ácido oléico no grupo de ligação D1B, com efeito moderado, próximo ao marcador BARC-007889-00156, o qual foi detectado em quase todos os ambientes avaliados. QTL com moderados e pequenos efeitos foram encontrados nos grupos de ligação

D1A, C1, C2, K, e H. Entretanto, somente o QTL do grupo de ligação C1 foi detectado em dois ambientes e nas análises conjuntas. Os QTL detectados para conteúdo de ácido linoléico, na maioria das vezes, correspondem a QTL encontrados para conteúdo de ácido oléico, e seus efeitos tiveram sempre sentidos contrários. Foi detectado QTL de efeito maior para o conteúdo de ácido linolênico no grupo de ligação B2 explicando maior parte da variação fenotípica.

ABSTRACT

MATTA, Lorêta Buuda da, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, April, 2012. **QTL mapping for soybean oleic acid content using SNP markers.** Adviser: Maurilio Alves Moreira. Co-advisers: Everaldo Gonçalves de Barros and Cosme Damião Cruz.

The primary breeding goal for soybean oil quality is to enhance the oxidative stability by increasing the level of oleic acid and concomitant reduction of linolenic and linoleic acid content. Identification of quantitative trait loci (QTL) associated with oleic acid content can advance the application of marker-assisted selection, providing the combination of favorable alleles from different genetics resources. Thus, the objective of this study was map QTL for oleic acid content in soybean using SNP markers. The following steps were performed: (1) estimation of genetic parameters and correlations between fatty acid and oil content, (2) construction of genetic linkage map with SNP markers in F₂ population derived from FA22 x CS303TNKCA, (3) identifying QTL associated with oleic acid content and other unsaturated fatty acids. The oleate heritability estimates indicate that effective selection can be practiced in early generations. Results of the correlations indicate that increases in the levels of oleic acid result in reduction of other unsaturated fatty acids and soybean oil. However, the greater magnitude of these correlations were found between oleic and linoleic acids. This study revealed a novel oleate QTL on linkage group D1B, with moderate effect near the SNP marker BARC-007889-00156, which was detected in almost all environments evaluated. QTL with small and moderate effects were reported on linkage groups D1A, C1, C2, K and H. However, only the QTL on linkage group C1 was detected in two environments and the combined analyses. In most cases, linoleate QTL correspond to oleate QTL and their effects had opposite directions. A major linolenate QTL was detected on linkage group B2 explaining most of the phenotypic variation.

1. INTRODUÇÃO

A inserção do Brasil como uma das maiores potências mundiais na produção de alimentos deve-se em grande parte à cultura da soja, que é hoje a principal *commodity* agrícola, com expressiva participação no produto interno bruto (PIB) brasileiro. O destaque desta leguminosa é devido à combinação de alta produtividade, baixo custo de produção e altos teores de óleo (em torno de 20%) e proteína (em torno de 40%) presentes no grãos.

A soja é a espécie vegetal que sofreu a maior expansão de cultivo nos últimos anos, colocando o Brasil como o segundo maior produtor e exportador mundial. Na safra de 2011/2012 foram cultivados 24,6 milhões de hectares com produção estimada de 71,75 milhões de toneladas (CONAB, 2012), sendo que aproximadamente 18% são destinados a produção de óleo (ABIOVE, 2011). A maior parte do óleo de soja produzido no mundo destina-se ao consumo humano. Entretanto, por possuir uma cadeia produtiva bem estabelecida a soja também tem sido utilizada como a principal matéria prima para a produção do biodiesel.

O óleo de soja é composto de triglicerídeos dos ácidos graxos palmítico (110 g kg^{-1}), esteárico (40 g kg^{-1}), oléico (250 g kg^{-1}), linoléico (520 g kg^{-1}) e linolênico (80 g kg^{-1}) (FEHR, 2007). Atualmente, a principal meta no melhoramento da qualidade do óleo de soja é aumentar sua estabilidade oxidativa pelo aumento do teor de ácido oléico e pela redução dos teores dos ácidos linolênico e linoléico. Essas modificações na composição dos ácidos graxos insaturados são benéficas tanto para o uso do óleo de soja para o consumo humano quanto para a produção de biodiesel.

O conteúdo de ácido oléico no óleo de soja é de herança quantitativa, sendo condicionado por vários genes e possui interação significativa com o ambiente. Neste caso a seleção fenotípica é bastante laboriosa, demanda muito tempo e tem baixa eficiência. Assim, a utilização da seleção assistida por meio de marcadores moleculares (SAM) pode melhorar a eficiência e acelerar o processo de melhoramento genético.

O mapeamento de QTL permite identificar regiões cromossômicas que contêm locos que controlam caracteres quantitativos (QTL). Assim, tais regiões podem ser tratadas como fatores mendelianos, podendo facilitar a compreensão da arquitetura genética do caráter e, conseqüentemente, auxiliar os programas de melhoramento.

Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo geral mapear QTL associados ao conteúdo de ácido oléico em soja utilizando marcadores SNP. Os objetivos específicos foram:

- Estimar parâmetros genéticos e correlações entre o conteúdo de ácidos graxos específicos e teor de óleo;
- Construir um mapa genético de ligação em uma população F_2 proveniente do cruzamento FA22 x CS303TNKCA com marcadores SNP;
- Identificar locos de características quantitativas associados ao conteúdo de ácidos graxos insaturados;
- Determinar as interações epistáticas entre os QTL.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Composição e qualidade do óleo de soja

O óleo de soja é composto, principalmente, de triacilgliceróis que constituem as principais formas de armazenamento de lipídios de sementes em desenvolvimento, os quais são produzidos pela esterificação de ácidos graxos aos três grupos hidroxilas do glicerol. Existem cinco ácidos graxos principais presentes na fração óleo: palmítico (C16:0), esteárico (C18:0), oléico (C18:1), linoléico (C18:2) e linolênico (C18:3). Os teores desses ácidos graxos ocorrem, em média, nas proporções de 110 g kg⁻¹; 40 g kg⁻¹; 250 g kg⁻¹; 520 g kg⁻¹ e 80 g kg⁻¹, respectivamente (FEHR, 2007).

A qualidade do óleo de soja é definida pela composição em ácidos graxos, que afetam diretamente as características físico-químicas e o valor nutricional do óleo. Altos teores de ácidos graxos polinsaturados estão relacionados com a redução da estabilidade oxidativa, devido a presença de duplas ligações nas cadeias de carbonos que são suscetíveis ao ataque oxidativo, ocorrendo assim a formação de compostos que alteram o sabor e odor do produto (DUNTON et al., 1951; CARDINAL et al., 2011).

No intuito de aumentar a estabilidade oxidativa do óleo de soja, a hidrogenação química tem sido bastante utilizada levando a redução dos conteúdos de ácidos linolênico (18:3) e linoléico (18:2). No entanto, este processo promove a redução do atrativo econômico de se usar o óleo de soja, além de gerar quantidades significativas de ácidos graxos saturados e de isômeros *trans* de ácidos graxos. O consumo destes compostos está diretamente relacionado com a incidência de certas doenças cardíacas, altos níveis de colesterol e riscos de desenvolvimento de diabetes tipo 2 (YADAV, 1996; HU et. al., 1997; MOZAFFARIAN et al., 2006).

Outra alternativa de aumentar efetivamente a estabilidade oxidativa, sem a necessidade de hidrogenação, seria aumentar os teores de ácido oléico em detrimento dos ácidos linolênico e linoléico na semente de soja.

Com isso, o conhecimento e a manipulação da via biossintética dos ácidos graxos bem como os genes envolvidos oferecem inúmeras possibilidades de modificar a composição dos ácidos graxos presentes no óleo de soja.

2.2. Biossíntese de ácidos graxos

A biossíntese de lipídios, em vegetais, envolve a biossíntese de ácidos graxos, a produção dos lipídios estruturais das membranas plastidiais, a síntese de triacilgliceróis e a produção dos lipídios estruturais das membranas extraplastidiais (MEKHEDOV et al., 2000).

Em plantas, os ácidos graxos são sintetizados quase exclusivamente nos plastídios. Nos cloroplastos, onde ocorre o início da síntese, cadeias de ácidos graxos são alongadas até o comprimento de 16 a 18 átomos de carbono (YADAV, 1996). As cadeias de ácidos graxos são aumentadas no retículo endoplasmático liso, insaturadas ou processadas em reações adicionais para a formação de triacilgliceróis ou fosfolipídios (MEKHEDOV et al., 2000).

Acredita-se que as enzimas da rota sejam mantidas juntas em um complexo conhecido como ácido graxo sintetase (FAS). Este complexo provavelmente permite que a série de reações ocorra com maior eficiência, catalisando a formação de ácidos graxos a partir de acetil-CoA e malonil-CoA (YADAV, 1996).

A biossíntese de ácidos graxos em plantas começa com a formação de acetil Co-A nos plastídios a partir do piruvato (Figura 1). O acetil Co-A é ativado a malonil-CoA pela enzima acetil-CoA carboxilase. A forte regulação da acetil-CoA carboxilase parece controlar a taxa global de síntese de ácidos graxos (OHLROGGE; JAWORSKI, 1997; NIKOLAU et al., 2003). O malonil-CoA reage com a proteína carregadora de acil (ACP, do inglês *acyl carrier protein*) gerando malonil-ACP, o substrato primário da síntese de ácidos graxos.

A síntese *de novo* de ácidos graxos nos plastídios ocorre através de uma série repetida de condensação, redução e desidratação que adiciona unidades de dois carbonos derivados do malonil-ACP para a cadeia de

ácidos graxos em crescimento. A primeira reação de condensação entre malonil-ACP e acetil-CoA é catalisada pela 3-cetoacetil-ACP sintetase (KAS) III (Figura 1). Posteriormente, várias condensações são realizadas pela enzima KAS I formando 16:0-ACP. Alguns 16:0-ACP são liberados da maquinaria da ácido-graxo sintase, mas a maioria das moléculas que são alongadas para 18:0-ACP, através da enzima KAS II, são eficientemente convertidas a 18:1-ACP pela ação da enzima estearil-ACP dessaturase (SACPD), também conhecida como Δ -9 dessaturase.

Os ácidos graxos C16:0, C18:0 e C18:1 podem permanecer no plastídio para síntese dos lipídeos estruturais de membranas cloroplastidiais, como também podem ser exportados para o citosol para produção de óleo e lipídeos estruturais de membranas extracloroplastídicas. Ligações duplas adicionais são inseridas nos ácidos graxos C16:0 e C18:1 por uma série de isoenzimas dessaturases, que são proteínas integrais de membrana encontradas no cloroplasto e no retículo endoplasmático. Cada dessaturase insere uma ligação dupla em uma posição específica na cadeia de ácidos graxos, e as enzimas agem sequencialmente para formar os produtos C18:3 e C16:3 finais (OHLROGGE; BROWSE, 1995). As enzimas dessaturases FAD2 e FAD3 localizadas no retículo endoplasmático são responsáveis pela conversão de ácido oléico em linoléico e ácido linoléico em linolênico, respectivamente. Como as enzima SACPD, FAD2 e FAD3 catalisam as dessaturações que ocorrem para a formação de ácidos graxos polinsaturados, estas exercem papel fundamental na determinação da qualidade do óleo.

2.3 Melhoramento e controle genético do conteúdo de ácidos graxos insaturados do óleo de soja

Modificações genéticas nos conteúdos de ácidos graxos insaturados presentes no óleo de soja têm sido obtidas através de melhoramento convencional e engenharia genética. O aumento do conteúdo de ácido oléico e a redução dos teores dos ácidos linoléico e linolênico aumentam a estabilidade do óleo, reduzindo ou eliminando a necessidade de hidrogenação química, responsável pela produção de ácidos graxos *trans* (FEHR, 2007).

Ao longo dos anos vários genótipos de soja contendo entre 30 a 70% de ácido oléico foram desenvolvidos através do melhoramento convencional, explorando a variação encontrada no germoplasma (TAKAGI; RAHMAN, 1996; RAHMAN et al., 2001; FEHR; CURTISS, 2004; ALT et al., 2005b). A linhagem N78-2245 foi um dos primeiros materiais de soja com alto teor de ácido oléico (51%) obtido através de seleção recorrente (WILSON et al., 1981). Burton et al. (2006) desenvolveram a linhagem N98-4445A que possui de 40 a 70% de ácido oléico dependendo das condições ambientais de cultivo. Utilizando mutação induzida novas fontes para alto teor de ácido oléico foram obtidas (RAHMAM et al. 1996) como FA22 e M23 (FEHR; CURTIS, 2004; RAHMAN et al., 2004). O teor de ácido oléico em M23 (46%) é controlado por um único alelo recessivo designado *ol* (SANDHU et al., 2007), que corresponde a uma deleção em *FAD2-1A* (ALT et al., 2005a). Do cruzamento entre N98-4445A x M23 obtiveram-se linhas com mais de 70% de ácido oléico. Entretanto, teores acima de 80% só haviam sido conseguidos através de engenharia genética (KINNEY, 1996; BUHR et al., 2002).

A conversão de ácido oléico em linoléico se dá através da ação da enzima ω -6 dessaturase codificada pelos genes *FAD2*. Em soja foram identificados três genes diferentes *FAD2-1*, *FAD2-2* e *FAD2-3*. O gene *FAD2-1* é altamente expresso em sementes em desenvolvimento, enquanto o gene *FAD2-2* é expresso constitutivamente em todos os tecidos e, provavelmente, codifica a ω -6-dessaturase responsável pela produção de ácidos graxos de membrana (TANG et al., 2005;

SCHLUETER et al., 2007). O gene *FAD2-3* é expresso em tecidos vegetativos e em sementes em desenvolvimento (LI et al., 2007). Foram encontradas duas isoformas para o gene *FAD2-1* denominadas *FAD2-1A* (Glyma10g42470) localizado no cromossomo 10 e *FAD2-1B* (Glyma20g24530) localizado no cromossomo 20 (TANG et al., 2005; SCHLUETER et al., 2007). Foram reportadas três isoformas para o gene *FAD2-2*, designadas *FAD2-2A* (Glyma19g32930), *FAD2-2B* (Glyma19g32940) e *FAD2-2C* (Glyma03g30070). *FAD2-2A* e *FAD2-2B* estão localizados no cromossomo 19 e encontram-se bastante próximos, enquanto *FAD2-2C* encontra-se no cromossomo 3 (SCHLUETER et al., 2007).

Assim, vários estudos demonstraram que *FAD2-1A* e *FAD2-1B* desempenham papel importante no controle dos níveis de ácido oléico de sementes em desenvolvimento e têm sido bastante utilizados como genes alvos para produzir materiais com alto conteúdo desse ácido graxo (BUHR et al., 2002; DIERKING; BILYEU, 2009; PHAM et al., 2010; HOSHINO et al., 2010; BOLON et al. 2011; PHAM et al., 2011). A combinação de mutações em *FAD2-1A* e *FAD2-1B* possibilitaram o desenvolvimento de cultivares de soja com mais de 80% de ácido oléico (PHAM et al., 2010; HOSHINO et al., 2010; PHAM et al., 2011).

Os conteúdos de ácido esteárico e oléico em soja podem ser regulados pela ação da enzima SACPD e expressão do gene *GmSACPD*. Foram identificados três alelos SACPD em soja *GmSACPD-A*, *GmSACPD-B* e *GmSACPD-C* (BYFIELD; UPCHURCH, 2006; ZHANG et al., 2008; UPCHURCH; RAMIREZ, 2010). Os genes *GmSACPD-A* e *GmSACPD-B* possuem mais de 98% de identidade. Altos níveis de SACPD-C foram encontrados apenas em sementes em desenvolvimento e mutações no gene *GmSACPD-C* nos genótipos A5 (30% de esteárico) e FAM94-41 (9% de esteárico) resulta em aumento no conteúdo de ácido esteárico e, conseqüentemente, redução do teor de ácido oléico (ZHANG et al., 2008). Upchurch e Ramirez (2010) avaliando a expressão gênica de genótipos de soja sugeriram que altos níveis de expressão do gene ou da atividade da enzima SACPD-C podem estar associados com os genótipos contendo teores médios de ácido oléico.

Para a redução do ácido linolênico em sementes de soja, inicialmente buscou-se no germoplasma da soja materiais genéticos com baixos teores desse ácido graxo (WHITE et al., 1961) e através de seleção recorrente foi possível reduzir os teores de linolênico de 8% para 4,2% (WILSON et al., 1981). Com o uso de mutagênese induzida foi possível a obtenção dos mutantes A5, C1640, RG10, M5, IL8, A23 e A26 com teores de ácido linolênico ainda mais baixos (1-3%) (HAMMOND; FEHR, 1983; WILCOX et al., 1984; BUBECK et al., 1989; RAHMAN; TAKAGI, 1997; STOJSIN et al., 1998; FEHR; HAMMOND, 2000). A redução dos teores de ácido linolênico nesses genótipos é controlada por mutações em alguns dos alelos nos locos *fan1*, *fan2*, *fan3* e *fanx* relacionados com a expressão do gene da enzima ω -3 dessaturase microssomal (FAD3) (BILYEU et al., 2005; ANAI et al., 2005; CHAPPELL; BILYEU, 2005; BILYEU et al., 2006). O acesso A29 que reúne mutações nos alelos nos locos *fan1*, *fan2* e *fan3* produz apenas 1% de ácido linolênico (FEHR; HAMMOND, 2000; ROSS et al., 2000).

O gene que codifica a enzima ω -3 dessaturase (FAD3), responsável pela conversão do ácido linoléico em linolênico, é chamado de *GmFAD3*. Bilyeu et al. (2003) identificaram três *locos* independentes que controlam a produção de ácido linolênico em soja, designados de *GmFAD3-A*, *GmFAD3-B* e *GmFAD3-C*. Anai et al. (2005) consideraram a existência de quatro isoformas do gene *FAD3* designados de *GmFAD3-1a*, *GmFAD3-1b*, *GmFAD3-2a*, *GmFAD3-2b*. Assim, quatro isoformas microssomais para *GmFAD3* foram isoladas em soja: *GmFAD3-1a* é equivalente ao *GmFAD3-B* designado por Bilyeu et al. (2003) e está localizado no cromossomo 2 do genoma da soja (Gm02:44497345...44501526); *GmFAD3-1b* é equivalente a *GmFAD3-A* localizado no cromossomo 14 (Gm14:46647783...46651952); *GmFAD3-2a* é equivalente ao *GmFAD3-C* e está localizado no cromossomo 18 (Gm18:5619528...5622306); e *GmFAD3-2b* localizado no cromossomo 11 (Gm11:26805260...26808430) (FEHR, 2007; CARDINAL et al., 2011; <<http://www.phytozome.net/soybean.php>>). Diferentes combinações de mutações nesses genes são capazes de produzir sementes de soja com baixos níveis de ácido linolênico (1%) (BILYEU et al., 2011).

2.4. Marcadores SNP em soja

Durante as últimas décadas, o uso de marcadores moleculares, revelando polimorfismo no nível de DNA, tem desempenhado papel crescente na área de biotecnologia e melhoramento vegetal. Existem marcadores morfológicos, bioquímicos e baseados em DNA. Esses marcadores de DNA são diferenciados em dois tipos: marcadores que utilizam o método de hibridização (RFLP), e aqueles que utilizam a técnica de PCR (RAPD, AFLP, SSR, SNP, etc).

Os marcadores SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*) ganharam muito interesse dos melhoristas e da comunidade científica (RAFALSKI, 2002). SNP são variações de nucleotídeos ou pequenas inserções/deleções (indels) nas sequências de bases em fragmentos homólogos de DNA (KWOK, 1996; KRUGLYAK, 1997; COLLINS, 1998), e são consideradas um dos mais valiosos marcadores para o mapeamento genético e estudos de associação (ZHU; SALMERON, 2007).

Na prática, SNP são marcadores bialélicos e codominantes, de forma que o conteúdo informativo em um único SNP é limitado em comparação com os marcadores SSR que são multialélicos (GRIFFIN; SMITH, 2000; GUPTA et al., 2001; SCHLOTTERER et al., 2004; ORAGUZIE et al., 2007). Entretanto, os SNP possuem duas vantagens sobre os outros marcadores moleculares: (i) eles resultam da mais abundante forma de variação genética encontrada em genomas (ZHU et al., 2003) e (ii) possuem facilidade de automatização, viabilizada com extensivas tecnologias que têm sido desenvolvidas atualmente (FAN et al., 2006).

A frequência típica com a qual são observados SNP no DNA pode variar de espécie para espécie. Para que uma dada variação seja considerada um SNP é necessário que o seu alelo tenha uma frequência mínima de 1% na população testada. A ocorrência habitual de SNP relatada para genomas de plantas é de cerca de 1 SNP a cada 100-300 pb (GUPTA et al., 2001). Um grande número de SNP está disponível para *Arabidopsis thaliana* (JANDER et al. 2002; SCHMID et al. 2003, 2005; NORDBORG et al. 2005), milho (*Zea mays* L.) (TENAILLON et al. 2001; CHING et al. 2002;

WRIGHT et al. 2005), arroz (*Oryza sativa* L.) (NASU et al., 2002; FELTUS et al. 2004) e soja (*Glycine max* L.) (ZHU et al. 2003; CHOI et al. 2007; HYTEN et al., 2010a,b; WU et al., 2010).

Na cultura da soja a frequência do SNP é relativamente baixa em comparação com outras espécies agrícolas cultivadas (ZHU et al, 2003; HYTEN et al, 2006). A baixa frequência de sequências variantes é esperada, devido ao processo de seleção da soja ao longo dos anos, reduzindo a variação em 50%, e a estreita base genética dos genótipos utilizados para a obtenção das primeiras cultivares, além da baixa variação do ancestral selvagem *G. soja* (HYTEN et al., 2006). Entretanto, Choi et al. (2007) identificaram 5551 SNP em 2032 genes transcritos, e destes, 1141 transcritos contendo pelo menos um SNP foram utilizados para criar a terceira versão do mapa de ligação integrado da soja.

A identificação de SNP utilizando a técnica Illumina Gold engate tem se mostrado promissora, pois esse ensaio é capaz de analisar de 96 a 1536 SNP em uma única reação em 3 dias de trabalho (FAN et al., 2003). Com isso, Hyten et al. (2008) avaliaram 384 SNP utilizando essa metodologia em três populações RILs de soja. Os dados alélicos foram gerados com sucesso para 89% dos locos de SNP (342 dos 384). A alta taxa de sucesso do ensaio GoldenGate torna essa técnica útil para a criação rápida de mapas genéticos com alta densidade em espécies onde marcadores SNP estão rapidamente se tornando disponíveis, como no caso da soja.

Nos últimos anos, um grande esforço vem sendo feito para conclusão do sequenciamento do genoma da soja, para obtenção de um mapa de ligação saturado e para a identificação e validação de QTL associados a características de interesse. A soja teve seu genoma sequenciado e publicado na Nature (artigo intitulado “Genome sequence of the palaeopolyploid soybean”), em Janeiro de 2010. Schmutz et al. (2010) sequenciaram 1,1 gigabases do genoma da soja e integraram com o mapa físico e mapa genético saturado (disponível no site <<http://www.phytozome.net/soybean>>).

Estudos de mapeamento genético realizados em soja possibilitaram a criação de quatro versões do mapa de ligação integrado

desta cultura, utilizando nas duas últimas versões marcadores SSR e SNP (CREGAN et al., 1999; SONG et al., 2004; CHOI et al., 2007; HYTEN et al., 2010a).

A quarta versão do mapa de ligação integrado da soja foi desenvolvida por Hyten et al. (2010a) com um total de 5500 marcadores moleculares, abrangendo uma distância de 2296,4 cM, destes foram identificados e mapeados 3792 SNP em três populações RILs. De um total de 18593 SNP encontrados por Choi et al. (2007) e Hyten et al. (2010a) 12586 SNP foram posicionados direta ou indiretamente no Mapa Consenso 4.0. Isto possibilitou a criação do “Universal Soy Linkage Panel” (USLP 1.0) com 1536 SNP, que foram selecionados com base na distribuição uniforme ao longo dos 20 grupos de ligação e por ter uma ampla frequência alélica em diferentes germoplasmas de soja. O USLP 1.0 fornece uma ferramenta poderosa e versátil que pode ser usada para mapear rapidamente genes ou QTL associados a importantes características qualitativas ou quantitativas da soja.

Novas tecnologias de ressequenciamento de alto rendimento recentemente se tornaram disponíveis para a geração de maior quantidade de sequências de DNA de forma rápida em relação ao padrão de sequenciamento Sanger. Apesar desta vantagem, os genomas grandes e complexos como o da soja ainda requerem um método para reduzir a complexidade do genoma a um nível que garanta a descoberta precisa de SNP (WU et al, 2010; HYTEN et al, 2010b).

O uso de bibliotecas de representação reduzida (RRLs) foi proposto pela primeira vez de forma eficiente em seres humanos no intuito de encontrar SNP utilizando sequenciamento Sanger (ALTSHULER et al., 2000). Um total de 7108 de 25047 SNP preditos foram encontrados na soja, com uma taxa de validação de 79% a 92,5%, usando uma biblioteca de representação reduzida que foi posteriormente sequenciada pelo método de “sequência-por-síntese” (Illumina) (HYTEN et al., 2010b).

Em soja, foram identificados até o momento mais de 30 mil SNP (HYTEN, et al., 2010a,b; WU et al., 2010). As plataformas de genotipagem de SNP em larga escala, de alta precisão, acurácia e baixos custos promovem uma maior cobertura do genoma, maior poder de detecção de

ligação e menor taxa de erro de genotipagem. Assim, SNP são uma rica fonte de polimorfismo em soja e podem ser utilizados para saturar mapas genéticos, detecção de QTL, estimação da diversidade genética, análises de associação, clonagem posicional, seleção assistida por marcadores (MAS) e também são potencialmente úteis para a identificação de genes candidatos.

2.5. Mapeamento de QTL para conteúdo de ácidos graxos insaturados em soja

Avanços no uso de marcadores moleculares e a criação de mapa de ligação integrado têm facilitado o mapeamento de QTL em soja. Assim, foram mapeados QTL para conteúdo de ácidos graxos insaturados em várias posições nos grupos de ligação da soja (DIERS; SHOEMAKER, 1992; HYTEN et al., 2004; PANTHEE et al., 2006; REINPRECHT et al., 2006; MONTEROS et al., 2008; BACHLAVA et al., 2009).

Diers e Shoemaker (1992) detectaram, em uma população $F_{2:3}$ oriunda do cruzamento entre *G. max* e *G. soja*, QTL para conteúdo de ácido oléico nos grupos de ligação A1, B2 e E, para conteúdo de ácido linoléico em A1 e E e para conteúdo de ácido linolênico nos grupos E, K e L utilizando marcadores RFLP. Os QTL encontrados para oléico coincidem com QTL para linoléico nos grupos de ligação A1 e E, entretanto, com efeitos contrários. Estes resultados coincidem com Panthee et al. (2006) que utilizando marcadores SSR detectaram QTL para conteúdos de oléico, linoléico e linolênico na mesma região genômica no grupo de ligação E, além de encontrarem um novo QTL de efeito maior no grupo de ligação G para conteúdo de ácido linolênico.

Hyten et al. (2004) trabalhando com uma população de RILs derivada do cruzamento Essex e Williams, utilizando marcadores SSR, encontraram dois QTL para conteúdo de oléico nos grupos de ligação D1b e L. Foram encontrados QTL para conteúdos de linoléico e linolênico nos grupos de ligação F e L, sendo o QTL do grupo L de efeito maior para

conteúdo dos três ácidos graxos insaturados. Reinprecht et al. (2006) encontraram um QTL de efeito maior no grupo de ligação B2 para conteúdo de linolênico, na mesma região genômica onde foram previamente mapeados o alelo *fan* que condiciona baixo conteúdo desse ácido graxo no acesso C1640 (BRUMMER et al., 1995).

Foram mapeados seis QTL em uma população $F_{2:3}$ (G99-G725 x N00-3350) para teor de ácido oléico nos grupos de ligação A1 (Satt211, $R^2=4\%$), D2 (Satt389, $R^2=6\%$), G(Satt394, $R^2=13\%$), G(Satt191, $R^2=7\%$), L (Satt418, $R^2=9\%$) e L (Satt561, $R^2=25\%$) (MONTEROS et al., 2008). Ainda segundo estes autores, todos os QTL encontrados foram confirmados em uma população $F_{2:3}$ do cruzamento entre G99-3438 x N00-3350.

Um novo QTL de efeito moderado para conteúdo de ácido oléico foi encontrado no grupo de ligação F, em duas populações testadas em diferentes ambientes, próximo ao marcador *sat_309* (BACHLAVA et al., 2009). Outros QTL de efeitos moderado e menor foram encontrados nos grupos de ligação A2, N, E, L, A1 e D2, mas estes não foram encontrados em ambas populações ou em todos ambientes, confirmando estudos prévios de mapeamento para teor de ácido oléico em soja (DIERS; SHOEMAKER, 1992; HYTEN et al., 2004; PANTHEE et al., 2006; MONTEROS et al., 2008). Foi encontrado um QTL de efeito moderado em proximidade com a isoforma *FAD2-1B* no grupo de ligação I (BACHLAVA et al., 2008; BACHLAVA et al. 2009). Bachlava et al. (2009) detectaram cinco QTL para conteúdo de ácido linoléico e todos corresponderam aos QTL identificados para conteúdo de ácido oléico com efeitos opostos nas duas populações estudadas. Esses autores detectaram um QTL de efeito maior no grupo de ligação B2 para conteúdo de ácido linolênico na mesma região genômica previamente identificada por outros pesquisadores (BRUMMER et al., 1995; REINPRECHT et al., 2006; MONTEROS et al., 2008).

Ha et al. (2010) localizaram genes envolvidos na biossíntese de ácidos graxos no mapa físico da soja ancorados a marcadores SSR. Neste trabalho os autores identificaram genes em regiões do genoma nos grupos de ligação A1, D2, G e L onde haviam sido detectados QTL por Monteros et al. (2008), ainda identificaram SNP para serem utilizados na SAM no melhoramento de cultivares com médio conteúdo de ácido oléico.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Materiais genéticos e procedimentos experimentais

A população de mapeamento utilizada no presente trabalho foi desenvolvida por meio do cruzamento FA22 x CS303TNKCA. FA22 foi desenvolvida por mutagênese química na Iowa State University e possui teor médio de ácido oléico ($\approx 500 \text{ g.kg}^{-1}$) na fração óleo (FEHR, 2004). A linhagem CS303TNKCA é uma isolinha derivada da variedade Monarca (desenvolvida pela COOPADAP), possui baixo teor de ácido linolênico ($\approx 35 \text{ g.kg}^{-1}$), tendo como progenitor doador o acesso BARC 12, teores normais de ácido oléico ($\approx 200 \text{ g.kg}^{-1}$), ausência de Lox 1, 2 e 3 e do inibidor de protease Kunitz.

Seis plantas híbridas obtidas deste cruzamento foram autofecundadas e 50 sementes de cada planta F_1 foram separadas para a formação da população F_2 . Foram plantadas 300 sementes F_2 e 10 sementes dos progenitores, em setembro de 2009, em casa de vegetação da Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, Brasil. Sendo coletadas folhas jovens de cada planta para extração e análise de DNA. Em Janeiro de 2010 as plantas foram colhidas individualmente, e destas foram separadas 10 sementes por planta para que se procedesse a análise não destrutiva dos teores de ácidos graxos por meio de cromatografia gasosa.

Em fevereiro de 2010 foram plantadas, em fileiras, 242 famílias $F_{2:3}$ em campo experimental da UFV em Visconde do Rio Branco, Minas Gerais, Brasil. As populações foram conduzidas segundo o delineamento em blocos casualizados com duas repetições e cinco testemunhas (Vencedora, CD01RR8384, Tucunaré, FA22 e CS303TNKCA). As parcelas foram constituídas de linhas de 1,5 m com 25 sementes/fileira e espaçamento entre linhas de 0,5 m. Sendo estas colhidas em junho de 2010 e 30 sementes $F_{2:4}$ foram separadas de cada fileira para análise de ácidos graxos e teor de óleo.

Em outros dois experimentos 231 famílias $F_{2:4}$ foram plantadas em São Gotardo e Viçosa (Minas Gerais, Brasil) em Novembro e Dezembro

de 2010, respectivamente. Os experimentos foram conduzidos em blocos casualizados com duas repetições e cinco testemunhas, como descrito anteriormente. Em São Gotardo-MG, as parcelas foram colhidas nos meses de março a abril de 2011, enquanto em Viçosa-MG, a colheita foi realizada de abril a maio de 2011. Como as plantas estavam segregando para maturação, foram realizadas de duas a quatro colheitas por fileira. Amostras de 10 a 25 sementes $F_{2:5}$ foram destinadas para à análise de ácidos graxos e teor de óleo de acordo com a data de maturação em cada fileira.

3.2 Avaliações Fenotípicas e Análises Estatísticas

O conteúdo de óleo das sementes foi determinado por espectrometria de ressonância magnética nuclear (NMR – Resonance Instruments, Witney, Oxfordshire, UK). Os ácidos graxos foram quantificados por cromatografia gasosa utilizando o Modelo 6890 GC (Agilent Technologies, Inc., Wilmington, DE), como descrito por Burkey et al. (2007). A quantificação do conteúdo de óleo e ácidos graxos foi realizada no USDA Soybean and Nitrogen Fixation Laboratory, Raleigh, NC, USA. Foram obtidos dados de maturação na população $F_{2:4}$ no estádio reprodutivo R8 (FEHR e CAVINESS, 1977). As sementes $F_{2:5}$ colhidas em Viçosa e São Gotardo foram sub-amostradas de acordo com o dia de maturação, para serem analisadas separadamente.

Os parâmetros genéticos, nos diferentes ambientes (Visconde do Rio Branco, São Gotardo e Viçosa), foram estimados com base em modelos mistos do tipo REML/BLUP individual utilizando o software SELEGEN – REML/BLUP (modelo 21) de acordo com Resende (2006), por meio do seguinte modelo estatístico:

$$y = Xr + Zg + e,$$

em que “y” é o vetor de dados, “r” é o vetor dos efeitos de repetição (assumidos como fixos) somados à média geral, “g” é o vetor dos efeitos genotípicos (assumidos como aleatórios), “e” é o vetor de erros ou resíduos (aleatórios). X e Z representam as matrizes de incidência para “r”

e "g", respectivamente. Foram estimadas as variâncias genótípicas, residuais e fenotípicas, herdabilidade média de genótipo e herdabilidade de parcelas individuais no sentido amplo, ou seja, dos efeitos genotípicos totais. Foi estimada apenas a variância fenotípica na população $F_{2:3}$ cultivada em casa de vegetação, pois os dados obtidos nesta geração são provenientes das sementes coletadas de plantas F_2 individuais.

As médias fenotípicas utilizadas no mapeamento de QTL foram obtidas utilizando o Proc MIXED no SAS 9.1 (SAS Institute, 2004). Todos os efeitos dos modelos foram considerados aleatórios, exceto testemunhas e maturação. A melhor predição linear não viesada (BLUP) foi obtida para todas as características avaliadas em cada família em todos os ambientes. As análises individuais foram conduzidas separadamente em cada ambiente. As análises conjuntas foram feitas combinando os ambientes Viçosa-MG e São Gotardo-MG e combinando todos os ambientes (Casa de Vegetação, Visconde do Rio Branco, São Gotardo e Viçosa). Foram incluídos os dados de maturação em Viçosa-MG e São Gotardo-MG, como covariável no modelo, no intuito de reduzir sua influência nos valores fenotípicos.

Os modelos utilizados para as análises individuais foram:

$$Y_{ij} = \mu + G_i + B_j + \varepsilon_{ij}$$

e $Y_{ij} = \mu + G_i + B_j + H_{ij} + \varepsilon_{ij}$ quando maturação foi incluída no modelo como covariável.

onde:

Y_{ij} é o valor da característica do i -ésimo tratamento (família ou testemunha) no j -ésimo bloco; μ é a média geral; G_i é o efeito do i -ésimo tratamento. Para $i = 1, 2, \dots, g$, tem-se o efeito aleatório para os genótipos e para $i = g + 1, g + 2, \dots, g + t$, tem-se o efeito fixo para as testemunhas; B_j é o efeito do j -ésimo bloco ($j = 1, 2, \dots, r$); H_{ij} é a maturação do i -ésimo tratamento no j -ésimo bloco; ε_{ij} é o erro aleatório, $\varepsilon_{ij} \sim \text{NID}(0, \sigma^2)$.

Os modelos utilizados para as análises conjunta foram:

$$Y_{ijk} = \mu + G_i + B/A_{jk} + A_j + GA_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

e $Y_{ijk} = \mu + G_i + B/A_{jk} + A_j + GA_{ij} + H_{ijk} + \varepsilon_{ijk}$ quando maturação foi incluída no modelo como covariável.

onde:

Y_{ijk} = valor da característica para o i -ésimo genótipo ($i = 1, 2, \dots, g$) no j -ésimo bloco ($j = 1, 2, \dots, a$) no k -ésimo ambiente ($k = 1, 2, \dots, b$); μ = média geral; G_i = efeito do i -ésimo genótipo. Para $i = 1, 2, \dots, g$, tem-se o efeito aleatório para os genótipos e para $i = g + 1, g + 2, \dots, g + t$, tem-se o efeito fixo para as testemunhas; B/A_{jk} = efeito do j -ésimo bloco dentro do k -ésimo ambiente; A_j = efeito do k -ésimo ambiente; GA_{ij} = efeito da interação do i -ésimo genótipo com o k -ésimo ambiente; H_{ijk} é a maturação do i -ésimo genótipo no j -ésimo bloco no k -ésimo ambiente; ϵ_{ijk} = erro aleatório.

As correlações fenotípicas foram estimadas utilizando os dados da análise conjunta de todos os ambientes.

3.3 Análises Genotípicas

Para a genotipagem da população segregante foram coletadas folhas nas plantas F_2 cultivadas em casa de vegetação. O DNA foi extraído pelo protocolo descrito por Vorwerk (2001), utilizando *Wizard Genomic DNA Purification Kit* da Promega. A concentração e qualidade do DNA foi determinada através do espectrômetro NanoDrop (NanoDrop Technologies, Wilmington, DE). O DNA obtido foi também submetido a eletroforese em gel de agarose 0,8% para avaliar a qualidade. Com base na concentração estimada, procedeu-se a diluição das amostras para uma concentração final de 100 ng/ μ L.

A genotipagem da população F_2 foi realizada em plataforma Illumina GoldenGate do USDA/ARS Soybean Genomics and Improvement Laboratory (Beltsville, MD, EUA) usando 1536 SNP do Universal Soy Linkage Panel (USLP 1.0) como descrito por Hyten et al. (2010a). A análise dos alelos em cada loco foi feita através do programa GenomeStudio (Illumina Inc., San Diego, CA).

3.4 Mapa de Ligação

O mapa de ligação foi construído utilizando o pacote *OneMap* (MARGARIDO et al., 2007) que utilizam uma abordagem multiponto proposta por Wu et al. (2002a, b). Os marcadores que apresentaram distorções de segregação foram retirados da análise. Os grupos de ligação foram estimados utilizando os critérios de porcentagem de recombinação máxima de 40%, LOD score mínimo de 4 e função de mapeamento de Kosambi. Os grupos de ligação foram nomeados de acordo com a quarta versão do mapa de ligação integrado da soja (HYTEN et al. 2010a).

3.5 Mapeamento de QTL

Análises de QTL foram conduzidas no Windows QTL Cartographer v.2.5.010 (WANG et al., 2011) para todas as características avaliadas utilizando BLUPs dos dados da análise individual ou conjunta nos ambientes estudados. A associação entre marcadores e características foi determinada pelo método de mapeamento por múltiplos intervalos (MIM) (KAO et al., 1999), utilizando as opções “search for new QTL”, “optimize positions” e “test existing QTL” para efeitos maiores e interações epistáticas em cada característica e ambiente estudado. O LOD crítico (*threshold*) foi obtido baseado em 1000 permutações a um nível de 5% de significância (CHURCHIL; DOERGE, 1994). Qualquer QTL com LOD score maior do que o valor do LOD crítico foi declarado significativamente associado com a característica.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dados Fenotípicos

As estimativas de variância fenotípica, média, desvio padrão, valores mínimo e máximo, média dos progenitores FA22 e CS303 para os cinco ácidos graxos, referentes à geração $F_{2:3}$ cultivadas em casa de vegetação (GH2009), são apresentados na Tabela 1. Os resultados referentes aos parâmetros genéticos estimados para as características avaliadas baseado no REML/BLUP individual em Visconde do Rio Branco (RB2010), São Gotardo (SG2010) e Viçosa (VIC2010) encontram-se nas Tabelas 2, 3 e 4, respectivamente.

As estimativas de variâncias fenotípicas, genotípica e ambiental foram altas em todos os ambientes estudados para conteúdos de ácido oléico e linoléico, permitindo inferir que as populações estão segregando para essas características. As variâncias foram baixas para os demais ácidos graxos e para teor de óleo. Entretanto, houve diferenças consideráveis nas variâncias nos ambientes, exceto para conteúdo de ácido esteárico. Em SG2010 e VIC2010, as variâncias fenotípicas foram maiores do que nos demais ambientes. A variância genotípica explicou a maior parte da variância fenotípica encontrada em todos os ambientes. Entretanto, para teor de óleo foram encontradas variâncias genotípicas menores que as variâncias ambientais nos ambientes estudados. Isso se deve ao fato dos progenitores não serem contrastantes para esta característica e a variância fenotípica encontrada na população ser devida ao efeito ambiental.

As distribuições dos teores de ácido oléico, linoléico e linolênico nas populações são apresentadas nas Figuras 2, 3, 4 e 5. Em geral, os teores desses ácidos graxos foram distribuídos entre os teores dos progenitores. Entretanto, houve segregação transgressiva, pois menores e maiores teores de ácido oléico, linoléico e linolênico foram encontrados nas populações avaliadas.

Tabela 1. Estimativas de variância fenotípica (σ_F^2), média (μ), valores mínimo (MIN) e máximo (MAX), média (μ) dos progenitores FA22 e CS303 para os teores de ácidos graxos (g.kg^{-1}) na população $F_{2:3}$ cultivada em casa de vegetação (GH2009).

Característica	σ_F^2	μ	MIN	MAX	μ FA22	μ CS303
Palmítico	85,62	102,92	85,29	190,63	80,40	104,76
Esteárico	19,99	34,53	23,71	63,62	23,68	33,43
Oléico	1899,67	213,38	148,92	426,14	507,90	202,10
Linoléico	1627,08	589,01	390,39	651,79	334,53	628,01
Linolênico	212,96	60,16	26,73	94,52	53,49	31,70

Tabela 2. Estimativas de variâncias fenotípica (σ_F^2), genotípica (σ_G^2) e ambiental (σ_E^2), média (μ), valores mínimo (MIN) e máximo (MAX), média (μ) dos progenitores FA22 e CS303, herdabilidade de parcelas individuais no sentido amplo ($h_{parcela}^2$) e herdabilidade média de genótipo ($h_{genótipo}^2$) para os teores de ácidos graxos e óleo na população $F_{2:4}$, cultivada em Visconde do Rio Branco-MG (RB2010), baseada na melhor predição linear não viesada (BLUP).

Característica	σ_F^2	σ_G^2	σ_E^2	μ	MIN	MAX	μ FA22	μ CS303	$h_{parcela}^2$	$h_{genótipo}^2$
Palmítico	24,50	15,36	9,14	102,59	88,05	117,05	89,15	111,19	0,63	0,77
Esteárico	13,59	7,58	6,01	41,04	32,17	55,75	37,46	35,71	0,56	0,72
Oléico	1571,91	938,67	633,25	279,95	176,23	411,56	396,9	198,28	0,60	0,74
Linoléico	1272,84	797,37	475,47	519,89	405,19	616,41	414,13	615,54	0,63	0,77
Linolênico	109,95	77,09	32,86	56,51	36,01	86,06	62,35	39,26	0,70	0,82
Óleo	113,39	46,45	66,95	217,24	175,96	242,49	188,10	231,20	0,41	0,58

Tabela 3. Estimativas de variâncias fenotípica (σ_F^2), genotípica (σ_G^2) e ambiental (σ_E^2), média (μ), , valores mínimo (MIN) e máximo (MAX), média (μ) dos progenitores FA22 e CS303, herdabilidade de parcelas individuais no sentido amplo ($h_{parcela}^2$) e herdabilidade média de genótipo ($h_{genótipo}^2$) para os teores de ácidos graxos e óleo na população F_{2:5}, cultivada em São Gotardo-MG (SG2010), baseada na melhor predição linear não viesada (BLUP).

Característica	σ_F^2	σ_G^2	σ_E^2	μ	MIN	MAX	μ FA22	μ CS303	$h_{parcela}^2$	$h_{genótipo}^2$
Palmítico	33,34	23,95	9,39	103,19	86,71	121,12	84,61	112,91	0,72	0,84
Esteárico	10,39	5,61	4,79	34,11	22,21	47,03	26,68	33,95	0,54	0,70
Oléico	4117,35	3061,75	1055,60	315,70	184,01	523,70	503,31	202,88	0,74	0,85
Linoléico	3127,42	2354,59	772,82	493,51	308,31	618,07	325,89	612,55	0,75	0,86
Linolênico	95,15	70,20	24,95	53,49	34,03	84,05	59,50	37,70	0,74	0,85
Óleo	43,59	21,31	22,28	210,22	180,66	229,90	188,38	209,03	0,49	0,66

Tabela 4. Estimativas de variâncias fenotípica (σ_F^2), genotípica (σ_G^2) e ambiental (σ_E^2), média (μ), valores mínimo (MIN) e máximo (MAX), média (μ) dos progenitores FA22 e CS303, herdabilidade de parcelas individuais no sentido amplo ($h_{parcela}^2$) e herdabilidade média de genótipo ($h_{genótipo}^2$) para os teores de ácidos graxos e óleo na população F_{2:5}, cultivada em Viçosa-MG (VIC2010), baseada na melhor predição linear não viesada (BLUP).

Característica	σ_F^2	σ_G^2	σ_E^2	μ	MIN	MAX	μ FA22	μ CS303	$h_{parcela}^2$	$h_{genótipo}^2$
Palmítico	37,39	19,51	17,89	100,40	83,44	118,32	88,33	120,99	0,52	0,68
Esteárico	12,51	4,63	7,88	31,56	22,48	42,74	27,21	39,55	0,37	0,54
Oléico	5162,84	2724,11	2438,73	417,10	255,03	622,85	560,93	216,26	0,53	0,69
Linoléico	3869,26	2066,58	1802,68	410,20	234,19	556,83	277,31	580,82	0,53	0,70
Linolênico	52,69	38,30	14,39	40,73	25,67	70,15	46,20	42,38	0,73	0,84
Óleo	47,15	4,34	42,80	218,03	196,29	241,31	195,20	196,32	0,09	0,17

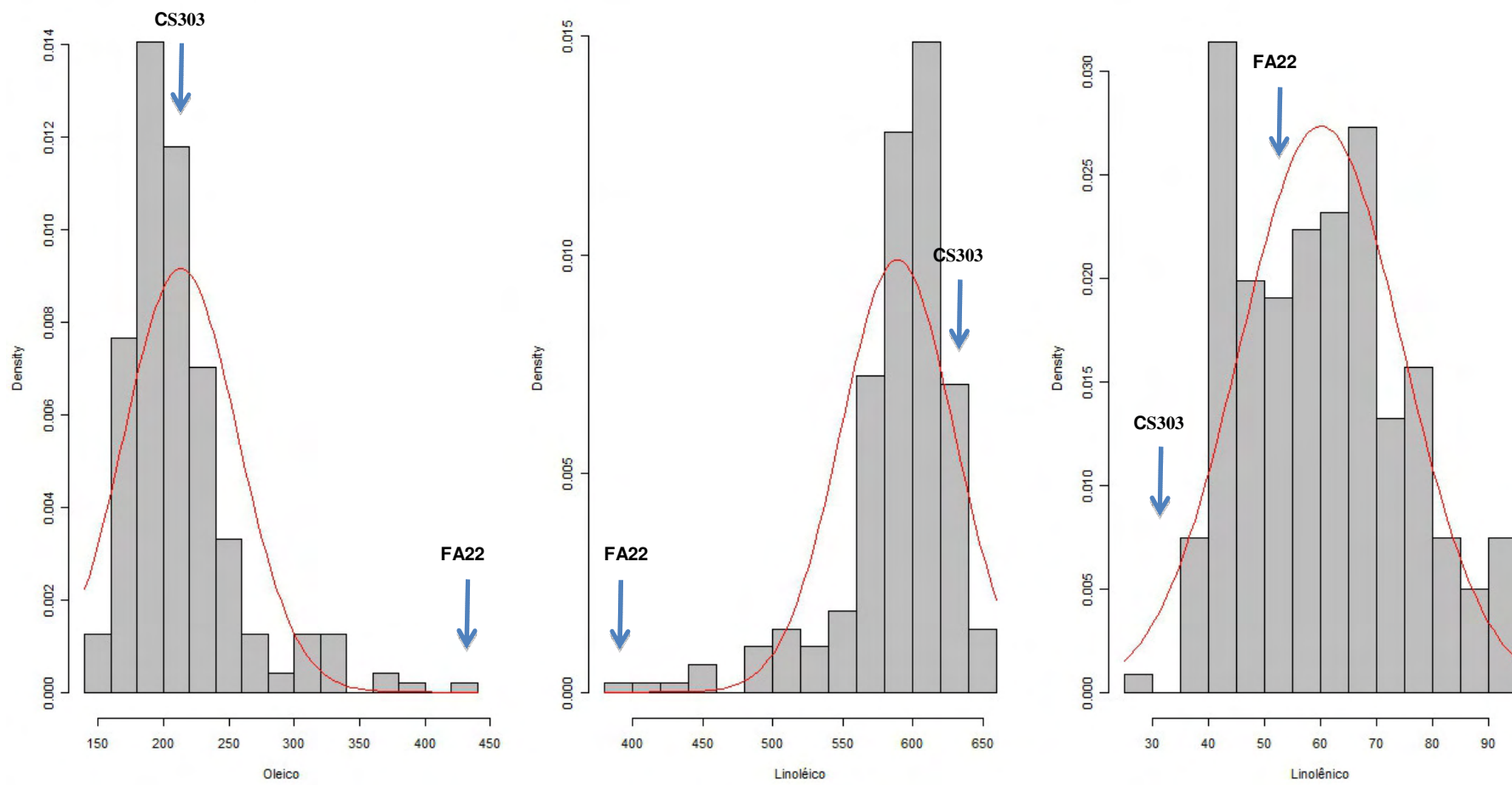


Figura 2: Distribuição de frequência dos teores de ácido oléico, linoléico e linolênico na população F_{2:3} cultivada em Casa de Vegetação.

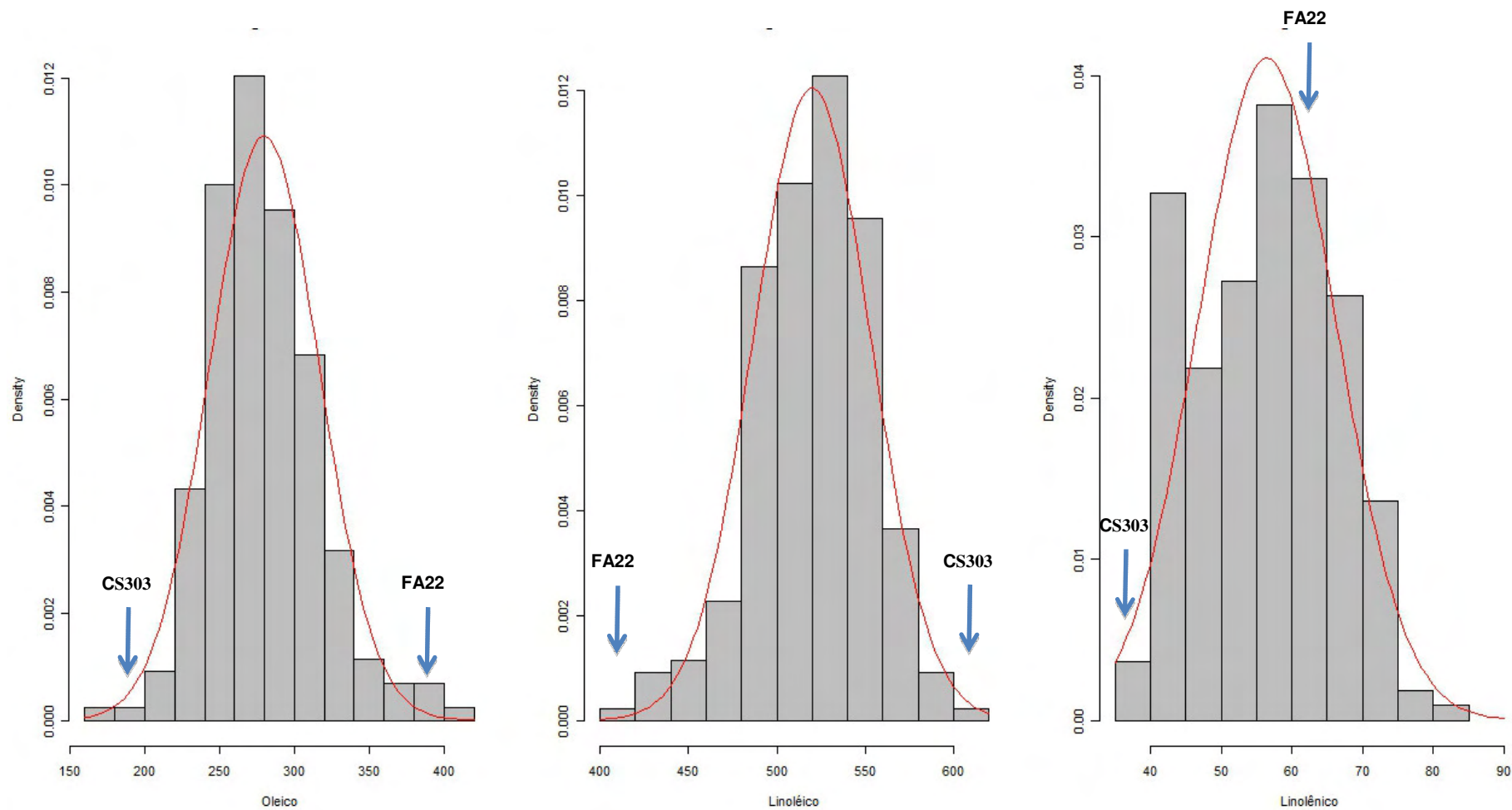


Figura 3: Distribuição de frequência dos teores de ácido oléico, linoléico e linolênico na população F_{2:4} cultivada em Visconde do Rio Branco-MG.

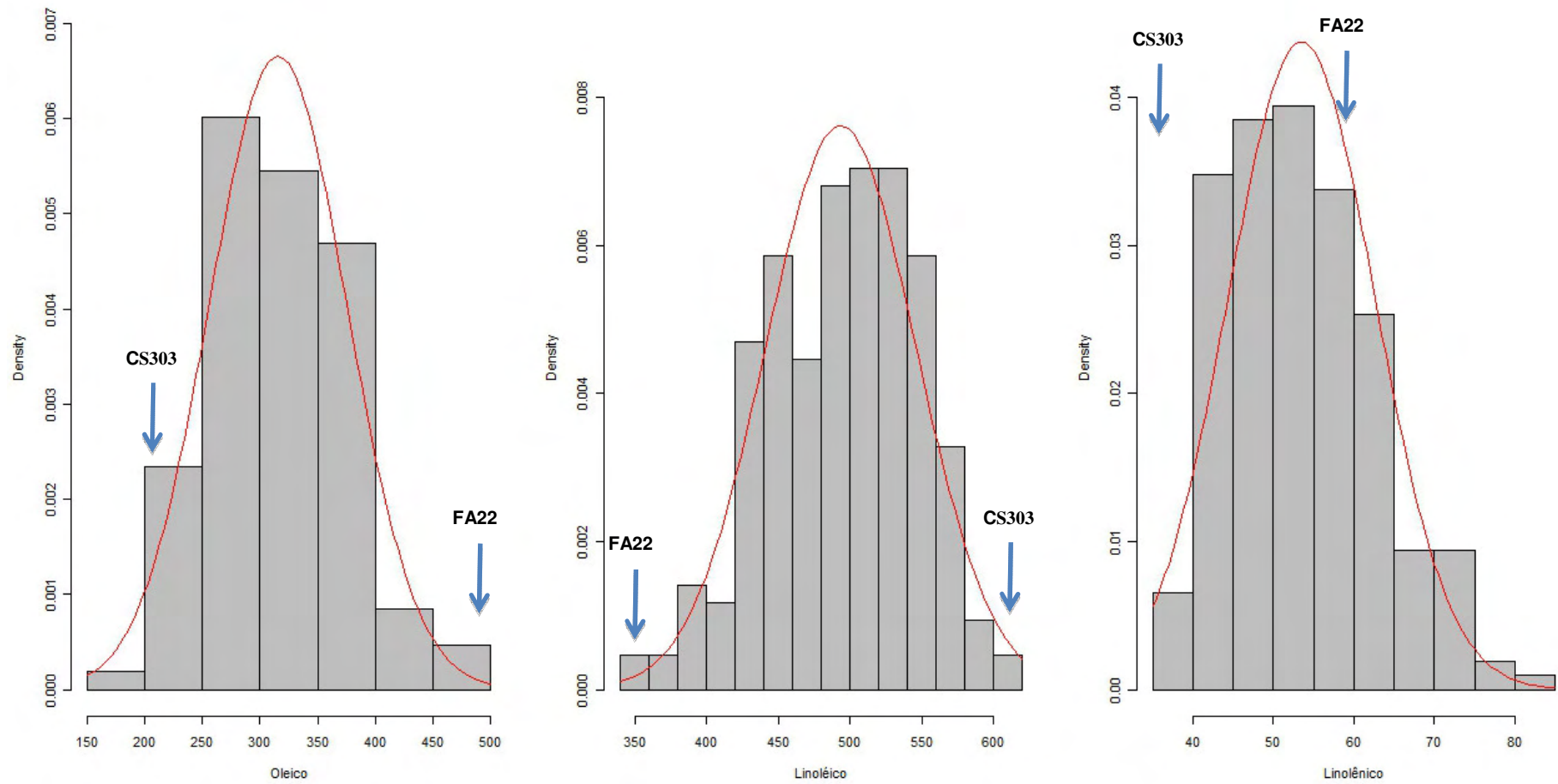


Figura 4: Distribuição de frequência dos teores de ácido oléico, linoléico e linolênico na população $F_{2:5}$ cultivada em São Gotardo-MG.

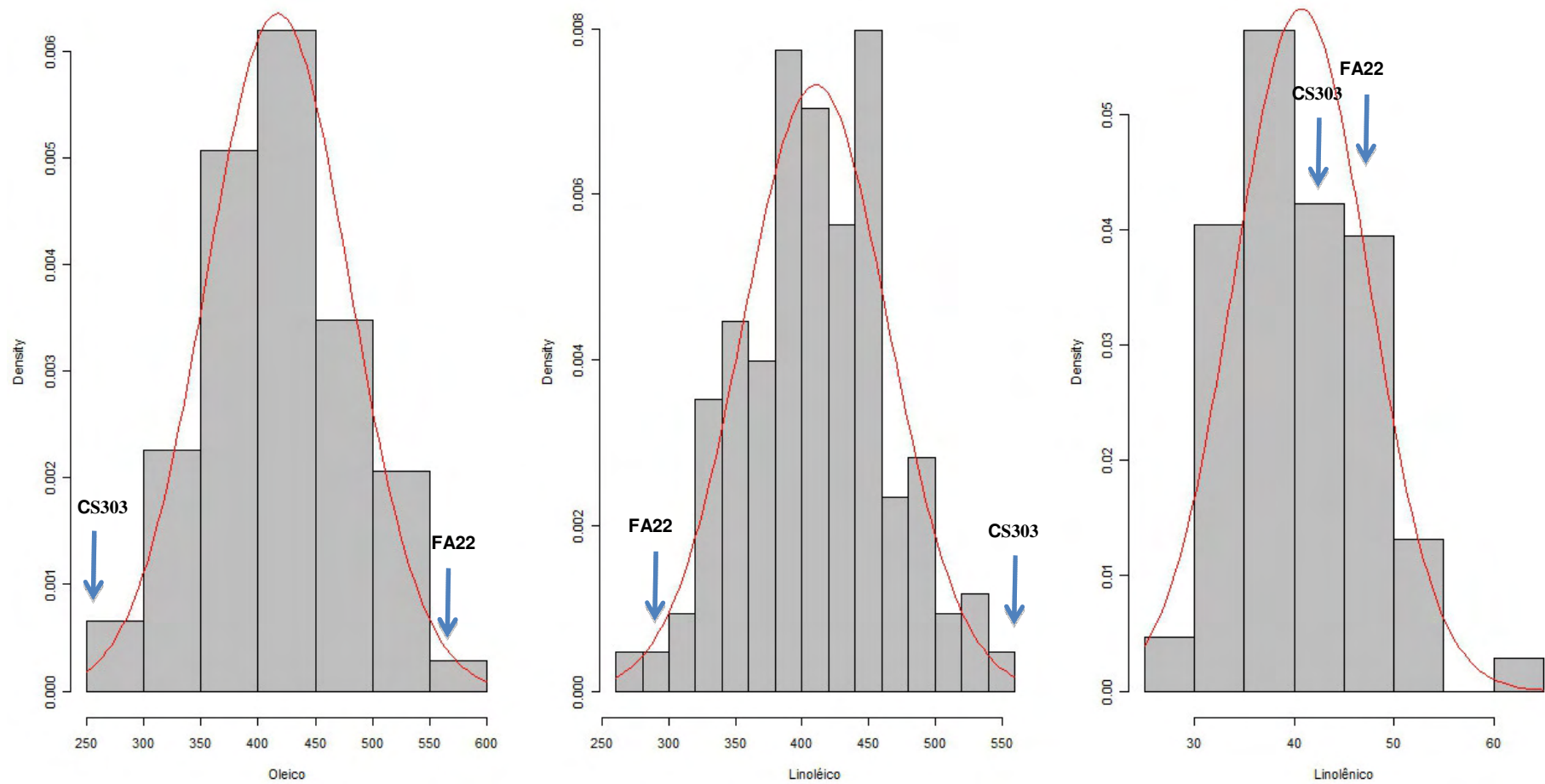


Figura 5: Distribuição de frequência dos teores de ácido oléico, linoléico e linolênico na população $F_{2:5}$ cultivada em Viçosa-MG.

Vale ressaltar que foram encontrados segregantes transgressivos para teor de ácido oléico com valores maiores e menores que os progenitores em todas as populações, exceto na população GH2009 na qual não foram encontrados segregantes transgressivos com teor de ácido oléico maior que FA22. Isto indica que os progenitores possuem alelos diferentes controlando o teor de ácido oléico.

O coeficiente de herdabilidade expressa a proporção da variância genética presente na variância fenotípica total (FALCONER, 1987; VENCOVSKY, 1987). As herdabilidades foram calculadas baseadas em modelos mistos do tipo REML/BLUP individual em RB2010, SG2010 e VIC2010 (TABELAS 2, 3 e 4). As herdabilidades de parcelas individuais no sentido amplo foram maiores em SG2010 do que nos demais ambientes para todas as características, exceto para conteúdo de ácido esteárico que teve valor de herdabilidade mais alto em RB2010. Foram encontradas herdabilidades maiores para teor de ácido linolênico ($>0,70$) e menores para teor de óleo ($<0,49$) em todos os ambientes. Sendo a menor herdabilidade encontrada em VIC2010 para teor de óleo (0,09). Para conteúdo de ácido oléico foram encontradas herdabilidades variando entre 0,53 e 0,74. Segundo Falconer (1987) os caracteres com estimativas de herdabilidade acima de 50% indicam que as contribuições das causas genéticas são mais pronunciadas do que as atribuídas a fatores do ambiente, na expressão fenotípica do caráter.

A herdabilidade média de genótipo foi maior do que a herdabilidade de parcelas individuais no sentido amplo em todos os ambientes e para todas as características avaliadas. As estimativas de herdabilidade média de genótipos também foram mais altas em SG2010 do que nos outros ambientes para todas as características, exceto para teor de ácido esteárico em que a maior herdabilidade foi encontrada em RB2010. Foram encontradas herdabilidades altas, superiores a 0,70, para todos os ácidos graxos em RB2010 e SG2010. VIC2010 apresentou as menores estimativas de herdabilidade para todos os ácidos graxos avaliados, sendo que o menor e o maior valor encontrado foi para conteúdo de ácido esteárico (0,54) e ácido linolênico (0,84), respectivamente. O teor de óleo também apresentou os menores valores de herdabilidade em todos os

ambientes quando comparado com as outras características avaliadas, sendo VIC2010 o ambiente com a menor estimativa (0,17). O caráter teor de ácido oléico apresentou estimativas de herdabilidade entre 0,69 e 0,85 nas populações estudadas.

Os valores estimados de herdabilidade média da parcela para teor de ácido oléico foram maiores do que os reportados por Alt et al. (2005a), que encontraram valores de 0,46 e 0,37 nos ambientes estudados, todavia resultados semelhantes foram encontrados para herdabilidade média de genótipo (0,82). Bachlava et al. (2008) obtiveram valores maiores de herdabilidade na parcela e no genótipo para teor de ácido oléico em três populações estudadas variando entre 0,69 a 0,80 e 0,88 a 0,96, respectivamente.

Panthee et al. (2006) encontraram estimativas de herdabilidades variando de 65 a 77% entre os conteúdos dos cinco ácidos graxos da semente de soja em uma população de RILs oriunda do cruzamento entre N87-984-16 e TN93-99. Matta (2008) encontrou herdabilidades variando entre 0,58 a 0,91 para conteúdo dos ácidos graxos presentes no óleo de soja. Rebetzke et al. (1997), trabalhando com cruzamento entre N87-2122-4 com três materiais de *G. soja*, obtiveram altas estimativas de herdabilidade para teores de ácido palmítico (67 a 98%) e linoléico (44 a 80%) e menores herdabilidades para teores de oléico (36 a 66%) e linolênico (10 a 47%).

Os valores de herdabilidade estimados para conteúdo de ácido linolênico concordam com Gesteira et al. (2003) e Panthee et al. (2006) que obtiveram herdabilidades de 0,75 e 0,76, respectivamente. Resultados semelhantes foram reportados por Matta (2008) que encontrou estimativas de herdabilidade altas para teor de ácido linolênico, aproximadamente, 0,72 e 0,89 nas populações F_2 derivadas do cruzamento A29 x CS303TNKCA e A29 x Tucunaré, respectivamente. Entretanto, Bachlava et al. (2008) encontraram valores superiores nas populações estudadas, variando de 0,64 a 0,92 para herdabilidade média da parcela e entre 0,94 e 0,98 para herdabilidade média de genótipo.

É importante destacar que uma estimativa de herdabilidade refere-se a uma característica de uma população e é específica para as

condições experimentais nas quais os genótipos foram avaliados. Portanto, é difícil generalizar estimativas de herdabilidades de uma população para outra, ou para diferentes condições experimentais (DUDLEY; MOLL, 1969).

As estimativas de herdabilidade obtidas indicam que existe potencial para realizar seleção, em gerações precoces, para aumento do teor de ácido oléico em um programa de melhoramento.

As estimativas de correlação fenotípica entre as características avaliadas baseadas no BLUP da análise conjunta de todos os ambientes estão apresentados na Tabela 5. Todas as correlações foram significativas, exceto entre os teores de óleo e ácido esteárico e entre dias para maturação e teor de ácido palmítico. A correlação entre os teores de óleo e ácido linolênico foi significativa apenas a 5% de probabilidade, todas as demais correlações significativas foram a 1% de probabilidade.

O teor de ácido oléico apresentou correlações significativas e negativas com todas as características avaliadas. Resultados similares foram publicados por Alt et al. (2005a) que encontraram correlações negativas e significativas entre os teores de todos os cinco ácidos graxos. A correlação fenotípica de maior magnitude encontrada no presente trabalho foi entre os teores de ácido oléico e linoléico (-0,99). Este resultado está de acordo com Bachlava et al. (2008) e Alt et al. (2005a) que encontraram correlação entre oléico e linoléico de -0,96 e -0,97, respectivamente, além de corroborarem com o entendimento da biossíntese de ácidos graxos (OHLROGGE; BROWSE, 1995). Matta (2008) encontrou em duas população F_2 avaliadas correlações fenotípicas significativas de -0,93 e -0,80.

A correlação fenotípica entre conteúdos de oléico e palmítico foi -0,61 e entre conteúdos de oléico e linolênico foi -0,57. Primono et al. (2002), avaliando seis populações F_2 , reportaram correlação significativa e negativa entre oléico e palmítico de -0,15 em apenas um dos ambientes. Entretanto, os autores encontraram correlações significativas e negativas entre conteúdos de oléico e linolênico em quatro dos cinco ambientes, variando entre -0,16 e -0,76. Cardinal e Burton (2007) encontraram correlação negativa entre conteúdo de oléico e palmítico em

apenas uma de três populações segregantes para os alelos *fapnc*, *fap1* e *fan*. Bachlava et al. (2008) também relataram correlações negativas e significativas, em três populações estudadas, entre conteúdos de ácido oléico e palmítico.

No presente estudo observou-se correlação positiva e significativa entre conteúdos de linoléico e palmítico (0,56). Bachlava et al. (2008) encontraram correlações significativas e positivas entre os teores destes ácidos graxos nas populações em todas as populações estudadas. Primono et al. (2002) e Matta (2008) encontraram, em todas as populações avaliadas, correlações significativas entre os teores desses ácidos graxos, entretanto os valores das correlações foram negativos.

Foram encontradas correlações significativas e positivas entre teores de palmítico e linolênico (0,26). Resultados similares foram encontrados por Bachlava et al. (2008) que relataram correlações significativas e positivas em três populações estudadas de 0,21, 0,33 e 0,08. Entretanto, em outros trabalho não foram reportados correlações significantes entre teores de palmítico e linolênico (ROOS et al., 2000; PRIMONO et al., 2002; CHERRAK et al., 2003; CARDINAL; BURTON, 2007; MATTA, 2008). Correlações significativas com baixa magnitude foram observadas entre dias de maturação e todas as outras características estudadas, exceto para teores de ácido palmítico. Bachlava et al. (2008) reportaram correlações significativas entre dias de maturação e teores dos cinco ácidos graxos, entretanto as magnitudes foram diferentes das encontradas no presente trabalho, variando entre 0,06 a 0,49.

Tabela 5: Estimativas de coeficientes de correlação fenotípica entre os teores de ácido graxo, óleo e dias para maturação (R8) baseada no BLUP da análise conjunta de todos os ambientes estudados.

	Palmítico (g kg⁻¹)	Esteárico (g kg⁻¹)	Oléico (g kg⁻¹)	Linoléico (g kg⁻¹)	Linolênico (g kg⁻¹)	Óleo (g kg⁻¹)
Palmítico (g kg⁻¹)						
Esteárico (g kg⁻¹)	0,32**					
Oléico (g kg⁻¹)	-0,61**	-0,43**				
Linoléico (g kg⁻¹)	0,56**	0,38**	-0,99**			
Linolênico (g kg⁻¹)	0,26**	0,12**	-0,57**	0,47**		
Óleo (g kg⁻¹)	0,13**	0,02 ^{ns}	-0,16**	0,18**	-0,04*	
R8 (DAP)	0,02 ^{ns}	-0,10**	-0,17**	0,17**	0,19**	-0,13**

** , * - significativo a 1 e 5%, respectivamente; ^{ns} – não significativo; DAP – dias após o plantio.

Mapa de ligação

A população F₂ foi avaliada com 1536 SNP, destes 603 foram polimórficos. Distorções de segregação foram encontradas em 8 marcadores, sendo estes retirados da análise. Com isso, o mapa de ligação foi construído utilizando 242 indivíduos F₂ e 595 SNP distribuídos nos 20 grupos de ligação da soja. Foram formados 23 grupos de ligação com um comprimento total de 2315,5 cM (Figura 6), o que sugere uma boa cobertura do genoma considerando que o comprimento estimado do mapa integrado da soja é de 2296,4 cM (HYTEN et al., 2010a). A distância média entre os marcadores e o comprimento médio dos grupos de ligação foram de 4,98 cM e 100,67 cM, respectivamente. O ordenamento da maioria dos marcadores SNP coincidiu com o mapa integrado (HYTEN et al., 2010a). Diferenças foram encontradas em intervalos menores que 5 cM, o que podem ser devidas ao pequeno tamanho da população e a alta saturação de marcadores. Houve a criação de três sub-grupos não ligados nos grupos de ligação C2, B1 e F. Isto ocorreu devido à presença de poucos marcadores polimórficos, ou ausência desses, em algumas regiões do genoma.

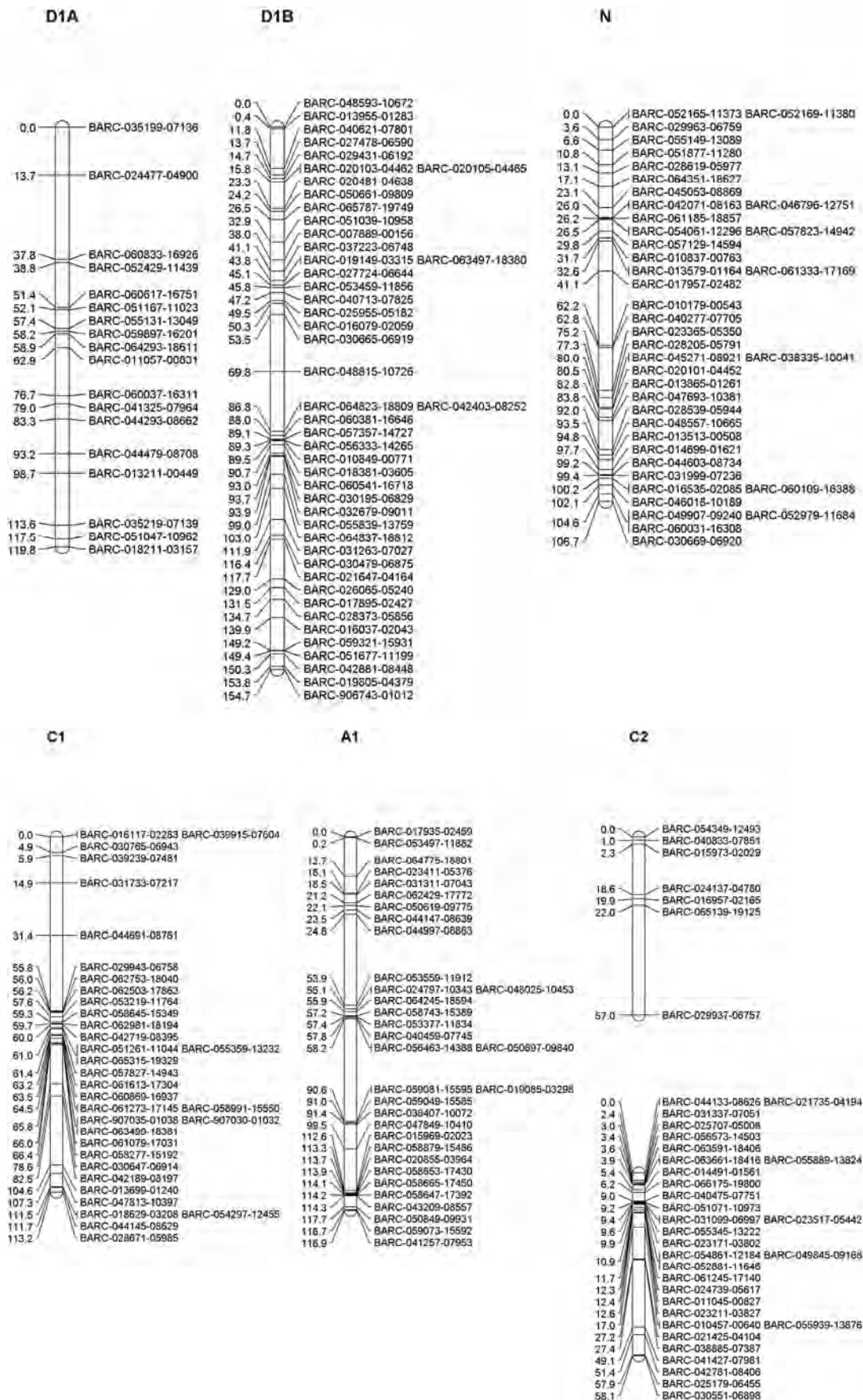


Figura 6. Mapa genético obtido de 242 indivíduos F₂ oriundos do cruzamento FA22 x CS303TNKCA utilizando 595 marcadores SNP.

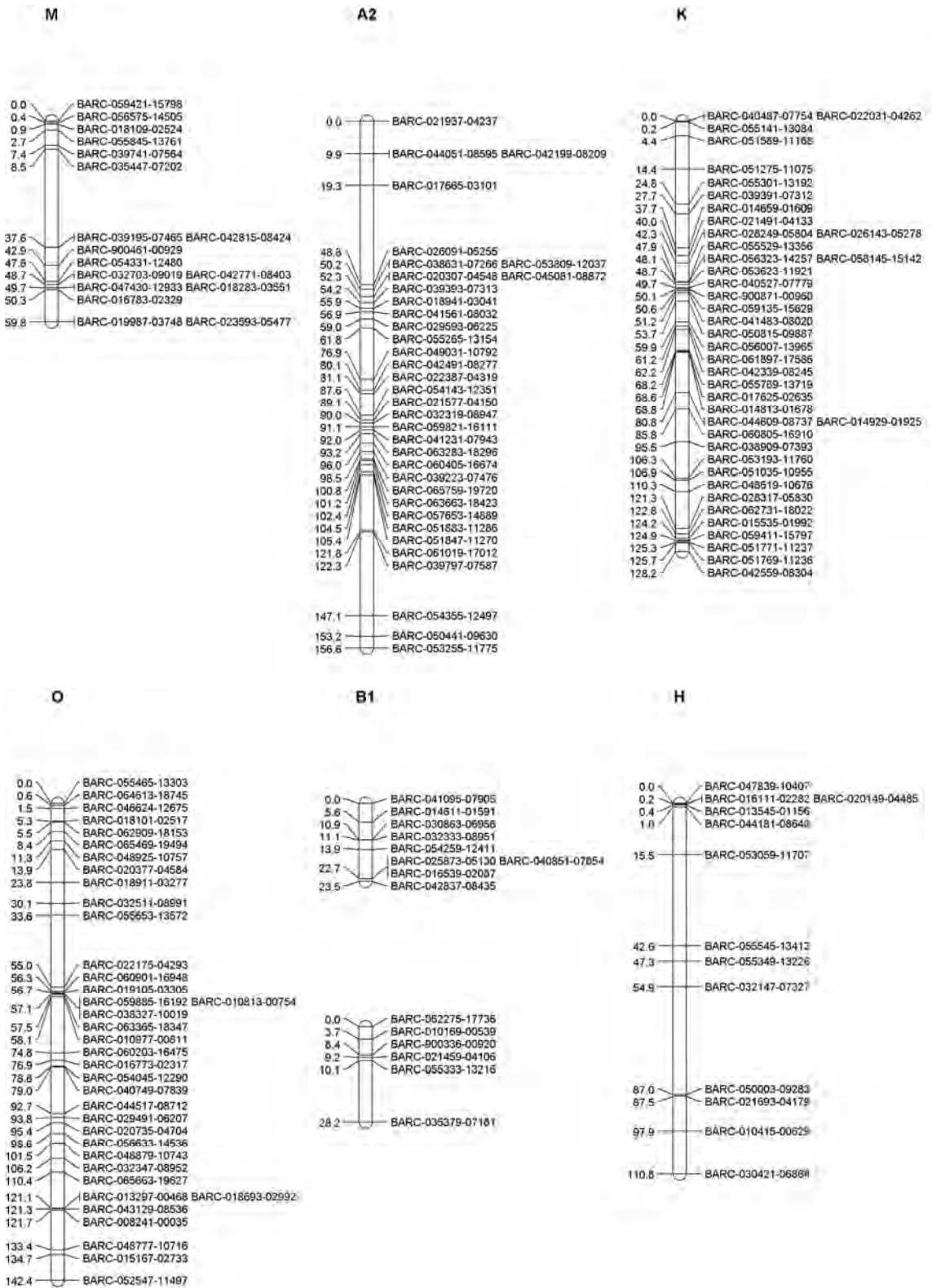


Figura 6. Continuação.

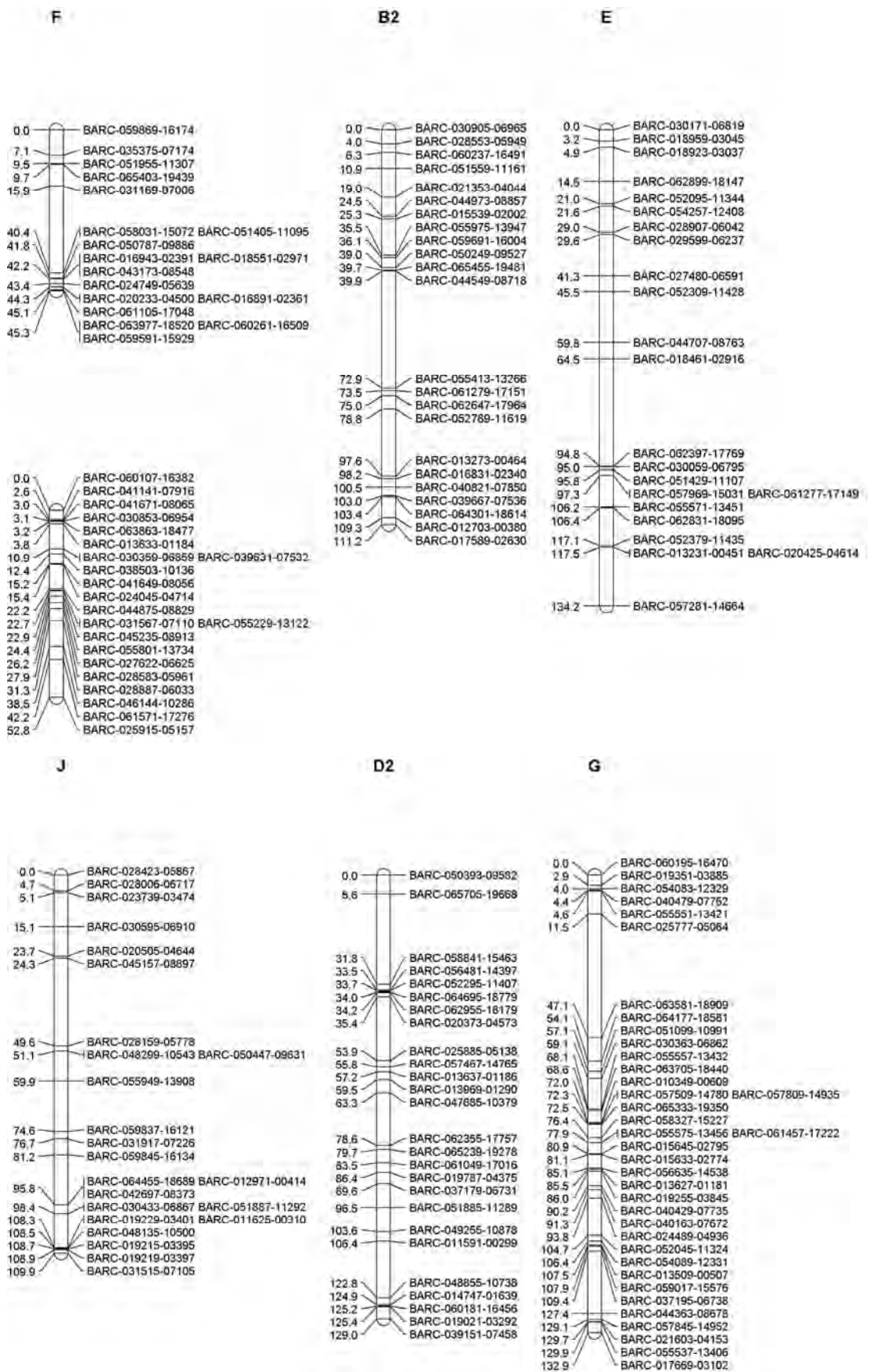


Figura 6. Continuação.

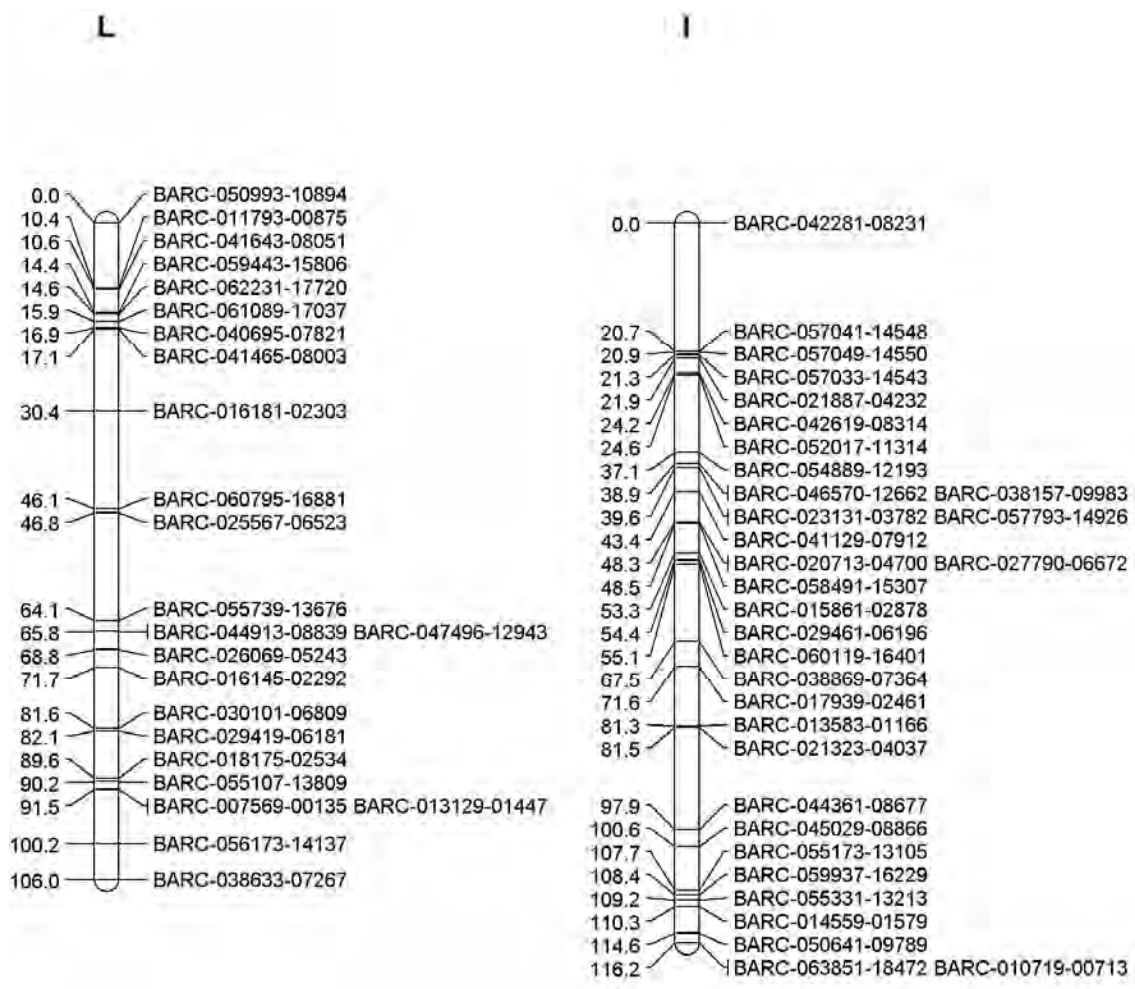


Figura 6. Continuação.

Mapeamento de QTL para teores de ácidos graxos insaturados

Casa de Vegetação (GH2009)

Na análise de mapeamento por intervalos múltiplos (MIM) na população $F_{2:3}$ foram detectadas associações significativas de dois QTL para teor de ácido oléico nos grupos de ligação D1B e A2, três QTL para teor de ácido linoléico nos grupos de ligação D1B, K e L, e três QTL para teor de ácido linolênico nos grupos de ligação D1B e B2 (TABELA 6). Os QTL encontrados para teores de oléico, linoléico e linolênico explicam 17,3%, 18,6% e 72,4% da variação total, respectivamente. Os efeitos aditivos para teor de ácido oléico foram positivos evidenciando que os alelos do genótipo FA22 contribuem para aumento da característica. Entretanto, a linhagem CS303TNKCA foi responsável pelo aumento do teor de ácido linoléico, pois todos os QTL exibiram efeitos genéticos negativos. Os QTL de efeito maior para teores de oléico e linoléico foram encontrados no grupo de ligação D1B contribuindo com 12,6% e 8,7% da variação dos teores desses ácidos graxos, respectivamente. Para teor de ácido linolênico foi encontrado um QTL de efeito maior no grupo de ligação B2, com LOD de 60,6, explicando 74,3% da variação total do teor desse ácido graxo. Sendo o alelo responsável por reduzir o conteúdo de ácido linolênico encontrado no genótipo CS303TNKCA.

Visconde do Rio Branco (RB2010)

As análises de associação na população $F_{2:4}$, cultivadas em Visconde do Rio Branco-MG, foram feitas por mapeamento por intervalos múltiplos (MIM) baseado na melhor predição linear não viesada (BLUP) e estão apresentadas na Tabela 7. Foram encontrados doze QTL de efeito menor explicando 67,1% da variação total do teor de ácido oléico nos grupos de ligação C1, C2, A2, K, H, B2, E, J e L. O QTL com maior efeito foi encontrado no grupo de ligação C1 na posição 65,8 cM, explicando 7,9% da variação fenotípica. Todos os alelos que contribuem com aumento do teor de ácido oléico foram herdados de FA22, exceto o QTL encontrado no grupo de ligação C2 na posição 45,0 cM que possui efeitos genéticos negativos.

Tabela 6. QTL mapeados por Intervalo Múltiplo (MIM) para conteúdo de ácido oléico, linoléico e linolênico na população F_{2:3} cultivada em casa de vegetação. Grupo de Ligação (LG), Pico e Intervalo 1,5-LOD (cM), nome e distância do marcador mais próximo de cada QTL, efeito aditivo e efeito dominante do QTL (a/d), LOD e porcentagem da variação fenotípica explicada pelo QTL (R²).

Ácido Graxo	LG	Posição do QTL (cM)		Marcador mais próximo do QTL		Efeitos (g kg ⁻¹)*		LOD	Efeitos (%)
		Pico	Intervalo 1,5-LOD	Nome	Distância (cM)	a	d		
Oléico	D1B	32,9	25,2 – 36,9	BARC-051039-10958	0,02	20,7	-	7,3	12,6
	A2	104,6	98,5 – 120,4	BARC-051883-11286	0,06	6,2	15,73	2,7	1,0/3,6
								Total R²(%)	17,3
Linoléico	D1B	93,0	55,5 – 101,9	BARC-060541-16718	0,03	-17,5	-	5,7	8,7
	K	27,7	7,5 – 38,7	BARC-039391-07312	0,03	-12,4	-	2,7	3,7
	L	82,1	72,7 – 88,0	BARC-029419-06181	0,05	-13,9	-	3,8	5,6
								Total R²(%)	18,6
Linolênico	D1B	30,5	20,7 – 37,9	BARC-051039-10958	2,38	-3,5	-	5,1	2,5
	B2	69,9	55,9 – 91,8	BARC-055413-13266	3,00	-3,4	-	3,3	-4,6
	B2	97,6	94,8 – 98,2	BARC-013273-00464	0,02	19,4	-	60,6	74,3
								Total R²(%)	72,4

*Efeito aditivo e efeito dominante incluídos na tabela quando cada efeito explicar mais de 1% da variação.

Tabela 7. QTL mapeados por Intervalo Múltiplo (MIM) na população F_{2,4}, cultivada em Visconde do Rio Branco-MG, para conteúdo de oléico, linoléico e linolênico baseada na melhor predição linear não viesada (BLUP). Grupo de Ligação (LG), Pico e Intervalo 1,5-LOD (cM), nome e distância do marcador mais próximo de cada QTL, efeito aditivo e efeito dominante do QTL (a/d), LOD e porcentagem da variação fenotípica explicada pelo QTL (R²).

Ácido Graxo	LG	Posição do QTL (cM)		Marcador mais próximo do QTL		Efeitos (g kg ⁻¹)*		LOD	Efeitos (%)
		Pico	Intervalo 1,5-LOD	Nome	Distância (cM)	a	d		
Oléico	C1	0,1	0,0 – 12,9	BARC-039915-07604	0,10	6,7	-	3,4	5,2
	C1	65,8	63,5 – 72,4	BARC-063499-18381	0,05	10,4	-	7,9	7,9
	C2i	45,0	33,9 – 57,0	BARC-029937-06757	12,04	-7,6	-10,3	4,2	2,5/4,0
	C2ii	13,6	0,0 – 30,4	BARC-023211-03827	1,05	9,5	-	4,9	5,3
	A2	120,4	110,4 – 137,3	BARC-061019-17012	1,44	10,6	-	7,3	4,4
	K	62,2	57,7 – 66,2	BARC-042339-08245	0,03	11,1	-	7,8	5,0
	H	24,5	0,0 – 43,6	BARC-053059-11707	9,04	9,2	-	4,3	4,8
	B2	3,0	0,0 – 5,0	BARC-028553-05949	1,03	-	-6,7	4,4	1,6
	B2	19,0	13,9 – 23,0	BARC-021353-04044	0,02	13,9	-	7,3	5,1
	E	50,5	43,3 – 55,5	BARC-052309-11428	4,99	9,8	-	5,8	6,4
	J	5,2	0,0 – 12,1	BARC-023739-03474	0,10	7,5	-	4,4	2,0
	L	92,5	85,0 – 97,5	BARC-013129-01447	1,01	4,3	-9,3	4,3	1,4/2,2
	C1xE						13,35 (AA)		5,3
								Total R²(%)	67,1
Linoléico	C1	4,0	0,0 – 15,9	BARC-030765-06943	0,88	-5,7	-	2,7	4,5
	C1	65,8	63,5 – 72,4	BARC-063499-18381	0,05	-11,2	-	9,6	10,2
	C2	24,0	6,2 – 32,4	BARC-021425-04104	3,17	-9,1	-	5,4	5,6
	A2	116,4	107,4 – 137,3	BARC-061019-17012	5,44	-8,8	-5,8	5,6	4,2/1,0
	K	80,8	71,8 – 83,8	BARC-044609-08737	0,02	-9,3	-	6,6	3,2
	H	1,1	0,0 – 34,5	BARC-044181-08640	0,06	-6,6	6,33	5,0	2,6/1,6
	B2	22,0	15,9 – 31,3	BARC-044973-08857	2,45	-8,6	-	4,7	4,2
	E	49,5	42,3 – 55,5	BARC-052309-11428	3,99	-8,6	8,22	6,3	5,7/3,1
	J	5,1	0,0 – 10,1	BARC-023739-03474	0,01	-9,1	-	6,3	2,5
	L	105,2	85,0 – 106,0	BARC-038633-07267	0,80	-5,6	4,7	3,6	2,3/1,1
C1xE						-11,2 (AA)		4,0	4,8
								Total R²(%)	58,0

Tabela 7. Continuação

Ácido Graxo	LG	Posição do QTL (cM)		Marcador mais próximo do QTL		Efeitos (g kg ⁻¹)*		LOD	Efeitos (%)
		Pico	Intervalo 1,5-LOD	Nome	Distância (cM)	a	d		
Linolênico	A2	145,3	131,3 – 154,2	BARC-054355-12497	1,79	-1,7	-	3,9	1,0
	B2	96,8	94,8 – 98,2	BARC-013273-00464	0,78	10,3	-	65,8	74,6
	I	55,2	41,6 – 69,5	BARC-060119-16401	0,06	-	1,91	3,0	2,3
								Total R²(%)	78,6

*Efeito aditivo e dominante (a e d) incluídos na tabela quando cada efeito explicar mais de 1% da variação.

Foram detectados 10 QTL para teor de ácido linoléico nos mesmos grupos de ligação que foram encontrados os QTL para teor de ácido oléico. Os QTL explicam 58,0% da variação fenotípica total. Assim, como observado para teor de ácido oléico, o QTL com efeito maior está localizado no grupo de ligação C1 na posição 65,8 cM, explicando 10,2% da variação do teor de ácido linoléico. Entretanto, todos os alelos tiveram efeitos aditivos negativos sendo contrários aos encontrados para teor de ácido oléico, ou seja, os alelos que proporcionam aumento no conteúdo de ácido linoléico foram herdados do genótipo CS303TNKCA. Interação epistática do tipo aditiva x aditiva foi constatada entre os QTL nos grupos de ligação C1 (posição 65,8 cM) e E para teores de ácido oléico e linoléico. Como o efeito aditivo x aditivo foi positivo os alelos presentes em FA22 podem levar a um aumento adicional de 13,35 g kg⁻¹ no conteúdo de ácido oléico. Entretanto, o efeito aditivo x aditivo foi negativo para o conteúdo de ácido linoléico, sendo que os alelos presentes em CS303TNKCA podem levar um acréscimo de 11,2 g kg⁻¹ nesta característica. Para a característica teor de ácido linoléico foram detectados três QTL localizados nos grupos de ligação A2, B2 e I explicando 78,6% da variação. O QTL de efeito maior foi encontrado no grupo de ligação B2 explicando 74,6% da variação do conteúdo de ácido linoléico.

São Gotardo (SG2010)

Na Tabela 8 são apresentados os dados do mapeamento de QTL por intervalos múltiplos na população F_{2:5}, cultivada em São Gotardo-MG, baseado no BLUP. Foram encontradas associações significativas entre regiões nos grupos de ligação D1A, D1B, C1, A1, A2, F, B2, G e L com o conteúdo de ácido oléico explicando 75,2% da variação fenotípica. Nos grupos de ligação D1B, C1 (34,4 cM), A1, F, B2 (20,0 cM), G e L foram encontrados QTL para conteúdo de ácido linoléico que correspondem aos QTL encontrados para conteúdo de ácido oléico, mas com efeitos aditivos contrários. Além destas regiões, foram detectados quatro QTL nos grupos de ligação C1 (5,9 cM e 71,4 cM), B1 e D2 para conteúdo de ácido linoléico. Todos os QTL encontrados explicam 73,3% da variação fenotípica do conteúdo de ácido linoléico. O QTL de efeito maior foi encontrado no grupo de ligação L explicando 19,4% da variação no conteúdo de ácido oléico e 21,11% do conteúdo de ácido linoléico.

Tabela 8. QTL mapeados por Intervalo Múltiplo (MIM) na população F_{2:5}, cultivada em São Gotardo-MG, para conteúdo de oléico, linoléico e linolênico baseada na melhor predição linear não viesada (BLUP). Grupo de Ligação (LG), Pico e Intervalo 1,5-LOD (cM), nome e distância do marcador mais próximo de cada QTL, efeito aditivo e efeito dominante do QTL (a/d), LOD e porcentagem da variação fenotípica explicada pelo QTL (R²).

Ácido Graxo	LG	Posição do QTL (cM)		Marcador mais próximo do QTL		Efeitos (g kg ⁻¹)*		LOD	Efeitos (%)
		Pico	Intervalo 1,5-LOD	Nome	Distância (cM)	a	d		
Oléico	D1A	28,8	17,7 – 36,8	BARC-060833-16926	8,97	-9,5	25,5	5,3	1,3/4,7
	D1B	36,9	30,5 – 39,9	BARC-007889-00156	1,05	22,1	-	11,2	9,6
	C1	27,9	22,9 – 33,4	BARC-044691-08761	3,47	26,4	-22,8	14,2	11,3/3,6
	A1	71,2	58,2 – 82,2	BARC-050697-09840	12,98	21,6	-	6,5	5,5
	A2	155,2	150,1 – 156,5	BARC-053255-11775	1,36	11,7	13,0	4,8	3,1/1,8
	F	9,7	3,0 – 13,7	BARC-065403-19439	0,03	15,0	-	5,0	3,3
	B2	24,5	16,9 – 33,3	BARC-044973-08857	0,05	11,0	-	4,9	1,3
	B2	110,3	104,4 – 111,2	BARC-017589-02630	0,87	-8,1	12,8	3,4	1,0/1,4
	G	127,4	122,4 – 132,9	BARC-044363-08678	0,02	11,6	22,0	7,6	1,6/1,9
	L	70,8	69,8 – 74,7	BARC-016145-02292	0,91	34,8	20,4	22,8	19,4/3,2
								Total R²(%)	75,2
Linoléico	D1B	36,9	31,5 – 39,9	BARC-007889-00156	1,05	-16,9	-	10,5	7,9
	C1	5,9	0,0 – 23,9	BARC-039239-07481	0,03	-11,4	-7,3	3,8	4,8/-1,5
	C1	34,4	25,9 – 45,4	BARC-044691-08761	3,03	-5,7	19,8	4,9	2,6/3,6
	C1	71,4	63,5 – 78,6	BARC-058277-15192	5,03	-15,5	-	5,8	7,3
	A1	78,2	65,2 – 95,4	BARC-059081-15595	12,40	-16,1	-	5,7	4,6
	B1i	22,7	14,9 – 23,5	BARC-016539-02087	0,04	11,8	-	4,0	2,8
	F	9,5	3,0 – 13,7	BARC-051955-11307	0,04	-13,5	-	6,1	3,4
	B2	20,0	15,9 – 30,3	BARC-021353-04044	0,98	-15,3	-	6,2	2,5
	D2	97,5	92,6 – 104,6	BARC-051885-11289	0,99	16,1	-	7,6	5,5
	G	129,7	123,3 – 132,9	BARC-021603-04153	0,02	-12,9	-14,5	7,4	2,3/2,2
L	70,8	68,7 – 73,7	BARC-016145-02292	0,91	-33,0	-13,0	25,8	21,1/2,4	
								Total R²(%)	73,3
Linolênico	B1ii	3,7	0,0 – 6,7	BARC-010169-00539	0,05	1,2	1,7	4,0	1,2/1,0
	B2	93,8	90,8 – 95,8	BARC-013273-00464	3,78	9,3	-	49,5	69,3
	D2	61,5	55,8 – 68,3	BARC-047685-10379	1,82	1,2	-2,6	5,4	1,1/2,6
								Total R²(%)	77,0

*Efeito aditivo e dominante (a e d) incluídos na tabela quando cada efeito explicar mais de 1% da variação.

Para conteúdo de ácido linolênico foram detectados três QTL nos grupos de ligação B1, B2 e D2 explicando 77,0% da variação desta característica. Como verificado nos outros ambientes, o QTL de efeito maior foi encontrado no grupo de ligação B2 explicando 69,3% do conteúdo de ácido linolênico. Todos os QTL exibiram efeitos aditivos positivos para conteúdo de ácido linolênico.

Viçosa (VIC2010)

Na população F2:5, cultivada em Viçosa-MG, foram detectados treze QTL para conteúdo de ácido oléico explicando 75,2%, treze QTL para conteúdo de ácido linoléico explicando 67,4%, e seis QTL para conteúdo de ácido linolênico explicando 73,0% da variação fenotípica (Tabela 9).

Os QTL encontrados para conteúdo de oléico nos grupos de ligação D1B, C1, C2, B2 e L foram encontrados na mesma região para conteúdo de linoléico e os QTL em D1B, C2 e L também são os mesmos encontrados para conteúdo de linolênico. Os QTL encontrados em D1B e H explicam 13,3% e 42,0% da variação do conteúdo de ácido oléico, respectivamente.

O QTL de efeito maior para conteúdo de ácido linoléico foi encontrado no grupo de ligação C1 (70,4 cM) explicando 18,1%. Os QTL encontrados nos grupos de ligação C1 (112,7 cM) e A1 apresentaram apenas efeitos de dominância significativos, não contribuindo de forma aditiva com o aumento do conteúdo de ácido linoléico.

A maioria dos alelos que promovem aumento do conteúdo de ácido oléico foram herdados do genótipo FA22. Entretanto, para conteúdo de ácido linoléico a maioria foi herdado do genótipo CS303TNKCA. O QTL de efeito maior para conteúdo de ácido linolênico foi encontrado no grupo de ligação B2, explicando 57,9% da variação, cujo alelo para aumento dessa característica foi herdado do genótipo FA22.

Tabela 9. QTL mapeados por Intervalo Múltiplo (MIM) na população F_{2,5}, cultivada em Viçosa-MG, para conteúdo de oléico, linoléico e linolênico baseada na melhor predição linear não viesada (BLUP). Grupo de Ligação (LG), Pico e Intervalo 1,5-LOD (cM), nome e distância do marcador mais próximo de cada QTL, efeito aditivo e efeito dominante do QTL (a/d), LOD e porcentagem da variação fenotípica explicada pelo QTL (R²).

Ácido Graxo	LG	Posição do QTL (cM)		Marcador mais próximo do QTL		Efeitos (g kg ⁻¹)*		LOD	Efeitos (%)
		Pico	Intervalo 1,5-LOD	Nome	Distância (cM)	a	d		
Oléico	D1B	34,9	32,9 – 36,9	BARC-051039-10958	2,02	25,4	-	15,5	13,3
	C1	66,0	61,4 – 72,4	BARC-058277-15192	0,37	18,8	-	11,8	9,22
	C2	10,9	7,21 – 14,6	BARC-052881-11646	0,01	17,6	-15,0	11,2	3,0/3,4
	A2	91,2	70,8 – 93,2	BARC-059821-16111	0,06	-26,5	-16,2	6,3	-2,0/2,0
	A2	96,0	94,2 – 96,9	BARC-060405-16674	0,04	40,9	-	8,6	6,8
	K	72,8	64,2 – 81,8	BARC-014813-01678	4,0	15,1	-	6,5	3,5
	H	40,5	36,5 – 41,5	BARC-055545-13413	2,05	82,0	-	7,9	42,0
	H	43,6	43,6 – 45,6	BARC-055545-13413	1,05	-66,9	-	7,9	-20,4
	B2	39,0	28,3 – 53,9	BARC-050249-09527	0,00	11,8	-	3,6	2,0
	E	106,4	99,3 – 114,4	BARC-062831-18095	0,01	-11,7	-	5,9	2,7
	J	11,1	0,0 – 21,1	BARC-030595-06910	4,0	12,0	-	3,9	3,2
	L	76,7	68,8 – 90,2	BARC-030101-06809	4,94	12,8	-	5,0	5,1
	I	115,6	101,6 – 116,2	BARC-063851-18472	0,64	10,7	-	4,3	3,2
								Total R²(%)	78,7
Linoléico	D1B	36,9	33,9 – 42,1	BARC-007889-00156	1,05	-16,2	-	8,8	9,4
	C1	23,9	5,9 – 36,4	BARC-031733-07217	9,02	-14,5	8,0	4,8	6,8/1,1
	C1	59,3	45,4 – 61,4	BARC-058645-15349	0,01	19,8	14,9	5,9	-9,2/3,3
	C1	70,4	67,4 – 74,4	BARC-058277-15192	4,06	-28,8	-	8,8	18,1
	C1	112,7	109,3 – 113,2	BARC-028671-05985	0,51	-	-19,3	5,8	5,4
	A1	118,7	100,5 – 118,9	BARC-059073-15592	0,00	-	-11,0	2,5	1,1
	C2	10,9	6,2 – 19,0	BARC-052881-11646	0,01	-16,0	10,4	8,9	3,6/2,5
	K	36,7	15,4 – 42,3	BARC-014659-01609	0,99	-12,7	-	4,7	4,1
	F	9,7	1,0 – 13,7	BARC-065403-19439	0,03	-11,9	-	4,6	2,6
	B2	39,7	37,1 – 51,9	BARC-065455-19481	0,05	-11,3	-	5,0	2,5
	G	129,9	125,4 – 132,9	BARC-055537-13406	0,03	-9,8	-10,5	4,5	1,5/2,3
	L	88,1	71,7 – 95,5	BARC-018175-02534	1,52	-14,7	-	6,9	6,5
	I	115,6	94,5 – 116,2	BARC-063851-18472	0,64	-11,1	5,6	4,2	3,8
								Total R²(%)	67,4

Tabela 9. Continuação

Ácido Graxo	LG	Posição do QTL (cM)		Marcador mais próximo do QTL		Efeitos (g kg ⁻¹)*		LOD	Efeitos (%)
		Pico	Intervalo 1,5-LOD	Nome	Distância (cM)	a	d		
Linolênico	D1B	35,9	26,5 – 48,1	BARC-007889-00156	2,05	-1,5	-	6,1	3,9
	C2	11,7	6,2 – 21,0	BARC-061245-17140	0,02	-	1,5	3,5	1,9
	A2	137,3	115,4 – 156,6	BARC-054355-12497	9,79	-1,5	-	3,7	2,3
	B2	97,6	93,8 – 98,2	BARC-013273-00464	0,02	6,3	-	48,1	57,9
	J	1,0	0,0 – 11,1	BARC-028423-05867	1,0	-1,1	-	3,0	2,4
	L	82,1	65,8 – 90,2	BARC-029419-06181	0,05	-1,1	-	3,4	2,3
								Total R²(%)	73,0

*Efeito aditivo e dominante (a e d) incluídos na tabela quando cada efeito explicar mais de 1% da variação.

Análise conjunta de SG2010 e VIC2010

O resultado do mapeamento por intervalo múltiplo (MIM), baseado no BLUP da análise conjunta de São Gotardo-MG e Viçosa-MG, está apresentado na Tabela 10. Foram detectados nove QTL para conteúdo de ácido oléico, dez para conteúdo de ácido linoléico e cinco para conteúdo de ácido linolênico. Os QTL mapeados para conteúdo de oléico e linoléico foram os mesmos, exceto no grupo de ligação K em que os QTL foram encontrados em regiões diferentes e no grupo de ligação C1 na posição 51,4 cM onde foi encontrado um QTL apenas para conteúdo de ácido linoléico. Os QTL encontrados explicam 68,1% da variação do conteúdo de ácido oléico e 75% da variação do conteúdo de ácido linoléico. O QTL de efeito maior para conteúdo de ácido oléico foi encontrado no grupo de ligação L explicando 16,6% do caráter. QTL encontrados nos grupos de ligação D1B e C1 (26,9 cM) explicam 12,9% e 8,4% da variação de ácido oléico. Para conteúdo de ácido linoléico os QTL nos grupos de ligação D1B, C1 (27,9 e 69,4 cM) e L explicaram 12,0, 12,2, 16,2 e 15,4% da variação fenotípica. Como observado nos outros ambientes o QTL no grupo de ligação B2 explica a maior parte da variação do conteúdo de ácido linolênico (68%) e possui efeito genético positivo. QTL de efeito menor foram encontrados nos grupos de ligação D1B, A2, E e L para conteúdo de ácido linolênico.

Tabela 10. QTL mapeados por Intervalo Múltiplo (MIM) na população F_{2:5}, cultivada em São Gotardo-MG e Viçosa-MG, para conteúdo de oléico, linoléico e linolênico baseada na melhor predição linear não viesada (BLUP) da análise conjunta nestes ambientes. Grupo de Ligação (LG), Pico e Intervalo 1,5-LOD (cM), nome e distância do marcador mais próximo de cada QTL, efeito aditivo e efeito dominante do QTL (a/d), LOD e porcentagem da variação fenotípica explicada pelo QTL (R²).

Ácido Graxo	LG	Posição do QTL (cM)		Marcador mais próximo do QTL		Efeitos (g kg ⁻¹)*		LOD	Efeitos (%)
		Pico	Intervalo 1,5-LOD	Nome	Distância (cM)	a	d		
Oléico	D1B	35,9	33,9 – 38,9	BARC-007889-00156	2,05	24,2	-	13,7	12,9
	C1	26,9	4,9 – 36,4	BARC-044691-08761	4,47	18,7	-14,0	6,7	8,4/2,1
	C1	71,4	64,5 – 79,6	BARC-058277-15192	5,03	13,9	-	4,7	6,5
	A1	74,2	58,2 – 89,2	BARC-050697-09840	15,98	18,9	-	4,9	5,1
	K	37,2	27,7 – 52,2	BARC-014659-01609	0,49	14,5	-	4,3	3,2
	F	9,5	0,0 – 18,9	BARC-051955-11307	0,04	14,5	-	4,9	3,6
	B2	26,3	20,0 – 37,1	BARC-015539-02002	1,02	13,1	-	4,0	1,4
	G	129,7	123,4 – 132,9	BARC-021603-04153	0,02	11,0	16,3	5,4	1,9/2,3
	L	70,8	69,8 – 75,7	BARC-016145-02292	0,91	31,2	18,2	19,6	16,6/2,8
								Total R²(%)	68,1
Linoléico	D1B	35,9	33,9 – 38,9	BARC-007889-00156	2,05	-20,8	-	13,9	12,0
	C1	27,9	18,9 – 29,9	BARC-044691-08761	3,47	-23,1	-	8,3	12,2
	C1	51,4	41,4 – 56,2	BARC-029943-06758	4,37	20,9	15,7	5,1	-6,15/3,7
	C1	69,4	64,5 – 71,4	BARC-058277-15192	3,03	-28,5	-	11,0	16,2
	A1	75,2	58,2 – 89,2	BARC-059081-15595	15,40	-13,6	-	4,1	3,6
	K	62,2	43,3 – 66,2	BARC-042339-08245	0,03	-10,9	-	4,6	3,1
	F	9,7	0,0 – 14,7	BARC-065403-19439	0,03	-11,5	-	4,5	2,9
	B2	28,3	19,0 – 48,9	BARC-015539-02002	3,02	-12,4	-	4,8	2,0
	G	129,7	127,4 – 132,9	BARC-021603-04153	0,02	-11,8	-14,9	7,3	2,2/2,9
L	71,7	65,8 – 79,7	BARC-016145-02292	0,01	-26,9	-14,9	20,8	15,4/2,8	
								Total R²(%)	75,0
Linolênico	D1B	24,2	17,8 – 41,1	BARC-050661-09809	0,01	-1,3	-	3,7	1,4
	A2	150,1	130,3 – 156,6	BARC-054355-12497	3,01	-1,7	-	4,8	1,6
	B2	97,6	94,8 – 98,2	BARC-013273-00464	0,02	8,6	-	61,1	68,0
	E	45,5	41,3 – 53,5	BARC-052309-11428	0,01	-1,4	-	4,2	1,9
	L	71,7	65,8 – 79,7	BARC-016145-02292	0,01	-1,4	-	4,3	1,9
								Total R²(%)	75,8

*Efeito aditivo e dominante (a e d) incluídos na tabela quando cada efeito explicar mais de 1% da variação.

Tabela 11. QTL mapeados por Intervalo Múltiplo (MIM) para conteúdo de oléico, linoléico e linolênico baseada na melhor predição linear não viesada (BLUP) da análise conjunta de todos os ambientes estudados. Grupo de Ligação (LG), Pico e Intervalo 1,5-LOD (cM), nome e distância do marcador mais próximo de cada QTL, efeito aditivo e efeito dominante do QTL (a/d), LOD e porcentagem da variação fenotípica explicada pelo QTL (R^2).

Ácido Graxo	LG	Posição do QTL (cM)		Marcador mais próximo do QTL		Efeitos (g kg^{-1})*		LOD	Efeitos (%)
		Pico	Intervalo 1,5-LOD	Nome	Distância (cM)	a	d		
Oléico	D1B	35,9	30,5 – 39,9	BARC-007889-00156	2,05	17,1	-	12,1	12,0
	C1	4,0	0,0 – 10,9	BARC-030765-06943	0,88	10,7	-	5,0	5,4
	C1	59,3	33,4 – 61,4	BARC-058645-15349	0,01	-8,1	-17,5	3,6	-3,6/2,3
	C1	65,8	64,5 – 70,4	BARC-063499-18381	0,05	22,0	-	7,5	13,3
	M	48,7	40,6 – 57,3	BARC-042771-08403	0,05	-7,9	-	3,4	1,3
	K	64,2	51,2 – 82,8	BARC-042339-08245	1,97	10,1	-	4,5	3,7
	B2	39,7	37,1 – 48,9	BARC-065455-19481	0,05	10,7	-	4,4	2,5
	E	50,5	42,3 – 71,5	BARC-052309-11428	4,99	6,2	-11,6	3,4	1,4/2,8
	G	129,9	123,4 – 132,9	BARC-055537-13406	0,03	11,1	7,8	5,5	2,1/1,5
L	73,7	69,8 – 77,7	BARC-016145-02292	1,99	18,8	6,9	13,2	11,8/1,0	
								Total R^2(%)	59,0
Linoléico	D1B	33,9	28,5 – 39,9	BARC-051039-10958	1,02	-10,7	-	6,1	7,6
	D1B	91,7	83,8 – 100,9	BARC-018381-03605	0,98	-10,4	-	4,6	4,9
	C1	5,9	0,0 – 11,9	BARC-039239-07481	0,03	-12,3	-	6,9	6,8
	C1	59,7	38,4 – 61,4	BARC-062981-18194	0,02	6,2	-	3,1	-3,6/2,2
	C1	65,8	64,5 – 70,4	BARC-063499-18381	0,05	-18,8	-	6,4	13,6
	K	37,7	27,7 – 82,8	BARC-014659-01609	0,01	-8,5	-	3,1	2,7
	G	129,9	121,4 – 132,9	BARC-055537-13406	0,03	-7,0	-13,0	5,8	1,2/3,8
	L	74,7	68,8 – 79,7	BARC-016145-02292	1,99	-16,9	-	11,0	12,3
								Total R^2(%)	53,3
Linolênico	D1B	26,2	16,8 – 42,1	BARC-065787-19749	0,3	-1,6	-	4,9	1,9
	A2	151,1	133,8 – 156,6	BARC-050441-09630	2,08	-1,7	-	4,8	1,0
	B2	52,9	21,0 – 70,9	BARC-044549-08718	13,25	-1,5	-	2,6	-2,1
	B2	97,6	94,8 – 98,2	BARC-013273-00464	0,02	10,6	-	78,8	78,9
	E	45,5	31,6 – 51,5	BARC-052309-11428	0,01	-1,2	-	3,4	1,5
								Total R^2(%)	81,0

*Efeito aditivo e dominante (a e d) incluídos na tabela quando cada efeito explicar mais de 1% da variação.

Análise conjunta de todos os ambientes

Por meio do mapeamento por intervalo múltiplo (MIM), baseado no BLUP da análise conjunta de todos os ambientes, foram detectadas associações entre regiões nos grupos de ligação D1B, C1, M, K, B2, E, G e L com o conteúdo de ácido oléico (TABELA 11). A porcentagem total da variação fenotípica explicada por estes QTL foi de 59%. Os maiores efeitos aditivos foram encontrados nos grupos de ligação D1B, C1 e L explicando 12%, 13,3% e 11,8% da variação total, respectivamente. Nos grupos de ligação D1B e L os alelos que proporcionam aumento no conteúdo de ácido oléico foram herdados do genótipo FA22 (médio conteúdo de ácido oléico), e no grupo de ligação C1 os alelos foram herdados do genótipo CS303TNKCA. Os outros QTL encontrados explicam menos de 6% da variação do teor de ácido oléico e todos, exceto o grupo de ligação M, tiveram alelos herdados de FA22.

Para conteúdo de ácido linoléico foram encontrados QTL nos grupos de ligação D1B, C1, K, G e L explicando 53% da variação total. Os QTL encontrados, exceto o QTL em D1B na posição 91,7 cM, correspondem a QTL encontrados para conteúdo de ácido oléico e seus efeitos têm sentido contrário. Os alelos que promovem aumento no conteúdo de ácido linoléico foram herdados do genótipo CS303TNKCA, exceto o LG C1 na posição 59,7 cM que teve o alelo herdado do genótipo FA22.

Um QTL de efeito maior foi encontrado no grupo de ligação B2 explicando 78,9% da variação total do conteúdo de ácido linolênico. O alelo que confere aumento no conteúdo deste ácido graxo foi herdado de FA22. Outros QTL de efeito menor foram mapeados nos grupos de ligação D1B, A2, B2 na posição 52,9 cM, e E e todos tiveram os alelos provenientes do genótipo CS303TNKCA.

Avaliação dos QTL detectados nas populações estudadas

Com base na análise individual e conjunta não foram detectados QTL consistentes em todos os ambientes estudados para conteúdo de ácido oléico. Entretanto, QTL nos grupos de ligação D1B, C1, B2 e L foram detectados com maior frequência nos ambientes. Os QTL em D1B, C1 e L explicaram, quase sempre, a maior parte da variação do conteúdo de ácido oléico. Foram encontradas evidências de QTL em regiões semelhantes em todos os ambientes, entretanto provavelmente devido ao modesto tamanho da população essas associações não foram significativas sendo, portanto, não incorporados no modelo final (dados não mostrados). A maioria dos QTL detectados possuem efeito aditivo positivo, indicando que os alelos associados com o aumento do conteúdo de ácido oléico, neste estudo, na maioria das vezes, foram provenientes do genótipo FA22.

Foi encontrada associação significativa entre a região no grupo de ligação D1B com o conteúdo de ácidos oléico, linoléico e linolênico em GH2009, VIC2010 e nas análises conjuntas. Os QTL detectados para conteúdo de ácido linoléico correspondem, na maioria das vezes, a QTL encontrados para oléico, e seus efeitos tiveram sempre sinais contrários. Isso se deve a alta correlação negativa (-0,99) entre estas características na população estudada que, baseado na biossíntese de ácidos graxos, pode ocorrer devido a pleotropia. Interações epistáticas do tipo aditiva x aditiva foram encontradas apenas em RB2010 para conteúdo de ácido oléico e linoléico entre os QTL nos grupos de ligação C1 (65,8 cM) e E.

O QTL no grupo de ligação L foi consistente em todos os ambientes para conteúdo de ácido linoléico, entretanto explicaram mais de 10% da variação fenotípica total apenas em SG2010 e nas análises conjuntas. Os QTL nos grupos de ligação D1B, C1, B2 e G foram detectados na maioria dos ambientes estudados. A maior parte da variação do conteúdo de ácido linoléico em RB2010, VIC2010 e nas análises conjuntas foi explicada pelo QTL no grupo de ligação C1, no intervalo entre 63,5 e 72,4 cM. A maioria dos alelos que promovem aumento do conteúdo de ácido linoléico foi herdada de CS303TNKCA.

Um QTL de efeito maior para conteúdo de ácido linolênico, explicando entre 58 a 79% da variação fenotípica, foi encontrado em todos os ambientes, sendo o alelo que reduz esta característica proveniente do genótipo CS303TNKCA. Outros QTL de efeito menor foram detectados mas não foram consistentes em todos os ambientes.

Comparação entre os QTL detectados com os publicados

Neste estudo foram detectados QTL para conteúdo de ácido oléico em regiões presentes nos grupos de ligação D1A, D1B, C1, C2, K e H ainda não relatados na literatura. Os QTL dos grupos de ligação D1B e C1 encontrados na maioria dos ambientes explicam de 9,6 a 13,3% e 6,5 a 13% da variação do conteúdo de ácido oléico, respectivamente. Também não foram reportados em outros trabalhos os QTL aqui detectados nos grupos de ligação D1B, C2, C1, H, J e D2 para conteúdo de ácido linoléico, e em C2, B1, J e D2 para conteúdo de ácido linolênico.

O QTL de efeito menor para conteúdo de ácido oléico encontrado no grupo de ligação A1, em SG2010 e na análise conjunta (SG2010 e VIC2010), confirma resultados prévios reportados por Bachlava et al. (2009), que identificaram um QTL nessa mesma região no intervalo entre os marcadores Satt050 e Satt619. Para o conteúdo de ácido linoléico foi encontrado em SG2010, VIC2010 e na análise conjunta destes dois ambientes, um QTL nesse mesmo grupo de ligação próximo aos QTL para conteúdos de ácido oléico e linoléico reportados por Diers e Shoemaker (1992), Monteros et al. (2008) e Bachlava et al. (2009). Nesta região foram identificados genes que codificam as enzimas acetil-CoA carboxilase (accC-2) e 3-cetoacetil-ACP sintetase (KAS I) entre os marcadores Satt225 e Satt236 próximos ao QTL detectado por Monteros et al. (2008) (HA et al., 2010).

Todos os QTL aqui reportados no grupo de ligação A2 para os teores de ácidos oléico, linoléico e linolênico encontram-se próximos às regiões dos QTL detectados por Bachlava et al. (2009). No grupo de ligação M, próximo ao marcador BARC-042771-08403, o QTL encontrado

para conteúdo de ácido oléico na análise conjunta de todos os ambientes foi também reportado por Bachlava et al. (2009) entre os marcadores Satt220 e Sat_226.

Outro QTL de efeito menor para conteúdo de ácido linoléico que foi detectado em GH2009, VIC2010 e na análise conjunta de todos os ambientes no grupo de ligação K foi reportado por Reinprecht et al. (2006) localizado próximo ao marcador Satt349. Diers e Shoemaker (1992) identificaram um QTL para conteúdo de ácido linoléico próximo ao marcador A118_1 localizado no grupo de ligação B1, na posição 60,0 cM no mapa integrado da soja, que está distante 5 cM do marcador BARC-016539-02087 onde foi encontrado um QTL de efeito menor em SG2010.

Bachlava et al. (2009) encontraram um QTL de efeito moderado no grupo de ligação F para conteúdos de ácido oléico e linoléico, próximo ao marcador Sat_309, em duas populações e em todos os ambientes estudados. Este marcador está a 10 e 12 cM de distância, no mapa consenso da soja 4.0, dos marcadores BARC-051955-11307 e BARC-065403-19439, respectivamente, que foram os marcadores mais próximos do QTL detectado para conteúdo de oléico e linoléico neste estudo. Os resultados deste estudo também confirmam, em alguns ambientes, a presença de QTL no grupo de ligação E para conteúdo dos ácidos oléico, linoléico e linolênico que foram identificados por Panthee et al. (2006) próximos dos marcadores Satt263 e Satt185.

Bachlava et al. (2009) também confirmaram a presença de um QTL de efeito menor para conteúdo de oléico nesta mesma região, entre os marcadores Satt651 e Sat_273. Este QTL está próximo do gene que codifica a enzima FAD2-2C que está localizado entre os marcadores Satt706 e Satt268. Foi detectado também neste grupo de ligação outro QTL para conteúdo de ácido linoléico previamente reportado por Diers e Shoemaker (1992), próximo dos marcadores RFLP A203_1, K229_1 e A454-1. No grupo de ligação G, o QTL detectado em SG2010 e nas análises conjuntas para conteúdo de ácido oléico encontra-se na região onde foram encontrados QTL por Reinprecht et al. (2006), próximo ao marcador Satt288, Monteros et al. (2008), marcador Satt191, e Bachlava et al. (2009), entre Satt288 e Satt472. Para conteúdo de linoléico foi

detectado um QTL em SG2010, VIC2010 e nas análises conjuntas que também foi encontrado por Bachlava et al. (2009) entre os marcadores Satt288 e Satt472. Nessa mesma região Ha et al. (2010) localizaram o gene *accB-1* e *accB-2* entre os marcadores Satt612 e Satt191.

Em VIC2010 foi detectado um QTL de efeito menor para conteúdo de ácido linoléico no grupo de ligação I na mesma região do gene *FAD2-1B*, previamente mapeado no intervalo entre Satt354 e Sat_268 (BACHLAVA et al., 2008). QTL de efeito menor para conteúdo dos ácidos oléico e linoléico também foram identificados cosegregando com *FAD2-1B* em estudos prévios (BACHLAVA et al., 2008; BACHLAVA et al., 2009).

No grupo de ligação D1B, nos ambientes GH2009, VIC2010 e nas análises conjuntas foram encontrados QTL para os teores dos ácidos oléico, linoléico e linolênico próximo ao reportado por Bachlava et al. (2009) para conteúdo de ácido linolênico, no intervalo entre Satt634 e Sat_423 explicando 10,6% da variação do conteúdo desse ácido graxo. No grupo de ligação D2, os QTL para os teores dos ácidos linléico e linolênico identificados em SG2010 encontram-se próximos de QTL para conteúdo de ácido oléico reportados por Monteros et al. (2008) e Bachlava et al. (2009).

Os QTL encontrados neste estudo no grupo de ligação L para os teores dos ácidos oléico, linoléico e linolênico foram detectados na mesma região dos QTL encontrados por Hyten et al. (2004). Estes QTL coincidem com os QTL reportados por Bachlava et al. (2009) para conteúdo dos ácidos oléico e linoléico no intervalo entre Sat_113 e Satt006 em apenas um ambiente, e por Monteros et al. (2008) para o teor de ácido oléico, próximo ao marcador Satt561. Vale ressaltar que os genes *FAD2-2A* e *FAD2-2B* encontram-se no intervalo entre Satt156 e Satt561 a 2-Mbp do QTL detectado por Monteros et al. (2008) (HA et al., 2010). Bachlava et al. (2008) detectaram QTL de efeito menor para conteúdo de oléico cosegregando com o gene *FAD2-2B*.

Entretanto, *FAD2-2A* foi reportado como não funcional por possuir uma deleção de 100 pares de bases na região codificadora (SCHLUETER et al., 2007). Nas análises conjuntas esse QTL explicou 16,6 e 11,8% da variação de conteúdo de ácido oléico, sendo um indicativo que a

co-segregação com FAD2-2B acarretam aumento do conteúdo desse ácido graxo na população estudada (TABELA 5 e 6). Na análise individual dos ambientes esse QTL explicou 19,4% da variação fenotípica em SG2010, contudo pouco da variação foi explicada por esse QTL nos ambientes RB2010 e VIC2010.

Tem sido reportado que o QTL de efeito maior encontrado no grupo de ligação B2 explica a maior parte da variação do conteúdo de ácido linolênico (REINPRECHT et al., 2006; MONTEROS et al., 2008; BACHLAVA et al., 2009). Isto se deve ao fato do gene *GmFAD3-A* estar localizado nesta região e mutações que reduzem a expressão desse gene são mais efetivas em reduzir o conteúdo de ácido linolênico do que mutações encontradas nas outras isoformas (BRUMMER et al., 1995; ANAI et al., 2005; BILYEU et al., 2005; CARDINAL et al., 2011).

Para conteúdos dos ácidos oléico, linoléico e linolênico foram detectados, no grupo de ligação B2, QTL próximos ao reportado por Diers e Shoemaker (1992) entre os marcadores Satt 416 e Satt304. Outro QTL no mesmo grupo de ligação para conteúdo do ácido linolênico foi detectado em GH2009 e na análise conjunta de todos os ambientes próximo ao reportado por Monteros et al. (2008) e Bachlava et al. (2009). Nenhum QTL foi encontrado nos grupos de ligação O e N onde os genes que codificam as enzimas FAD2-1A e FAD2-2D estão localizados, respectivamente. Esse resultado indica que esses genes não são os responsáveis pelo aumento de ácido oléico na população estudada.

Os QTL dos grupos de ligação D1B e C1 detectados por mapeamento por Intervalo Múltiplo (MIM) baseado no BLUP da análise conjunta de todos os ambientes estudados para conteúdo dos ácidos graxos insaturados estão apresentados nas Figuras 7 e 8, respectivamente. Os QTL detectados nos grupos de ligação L e B2 baseado no BLUP da análise conjunta de SG2010 e VIC2010 estão apresentados nas Figuras 9 e 10. Os QTL publicados também foram adicionados ao mapa.

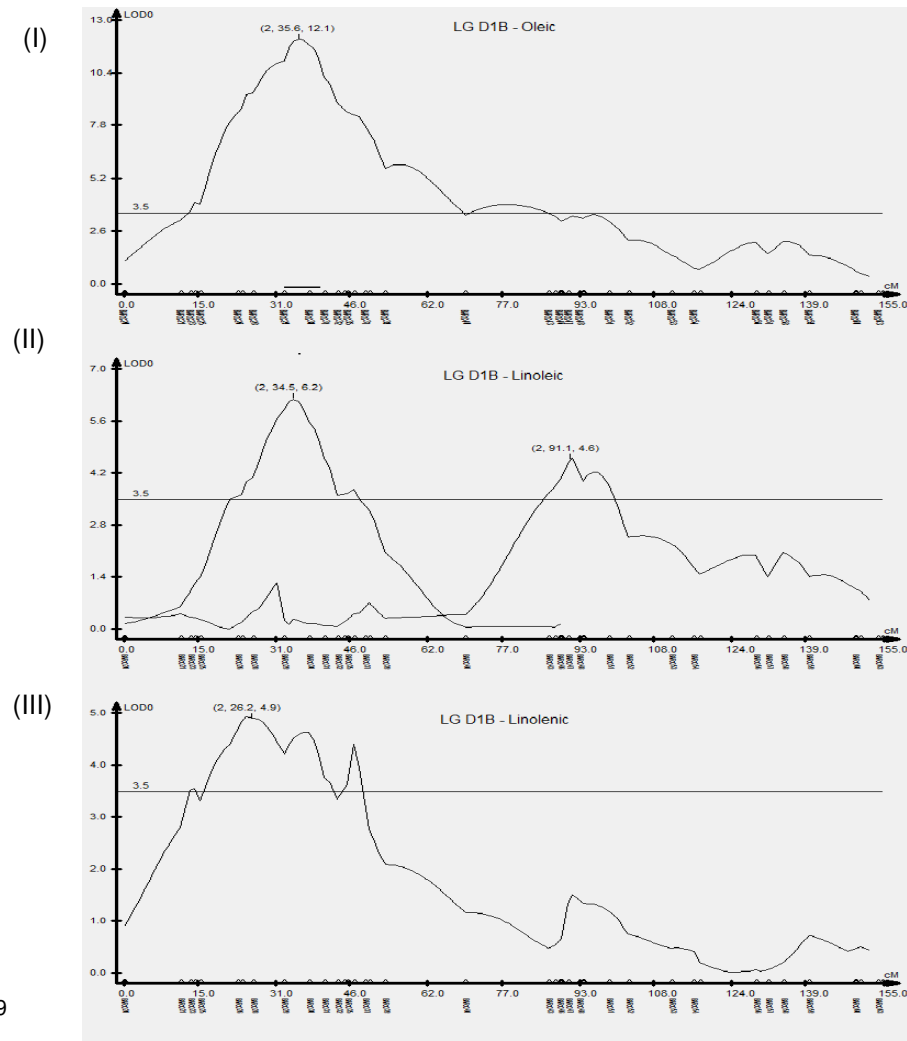
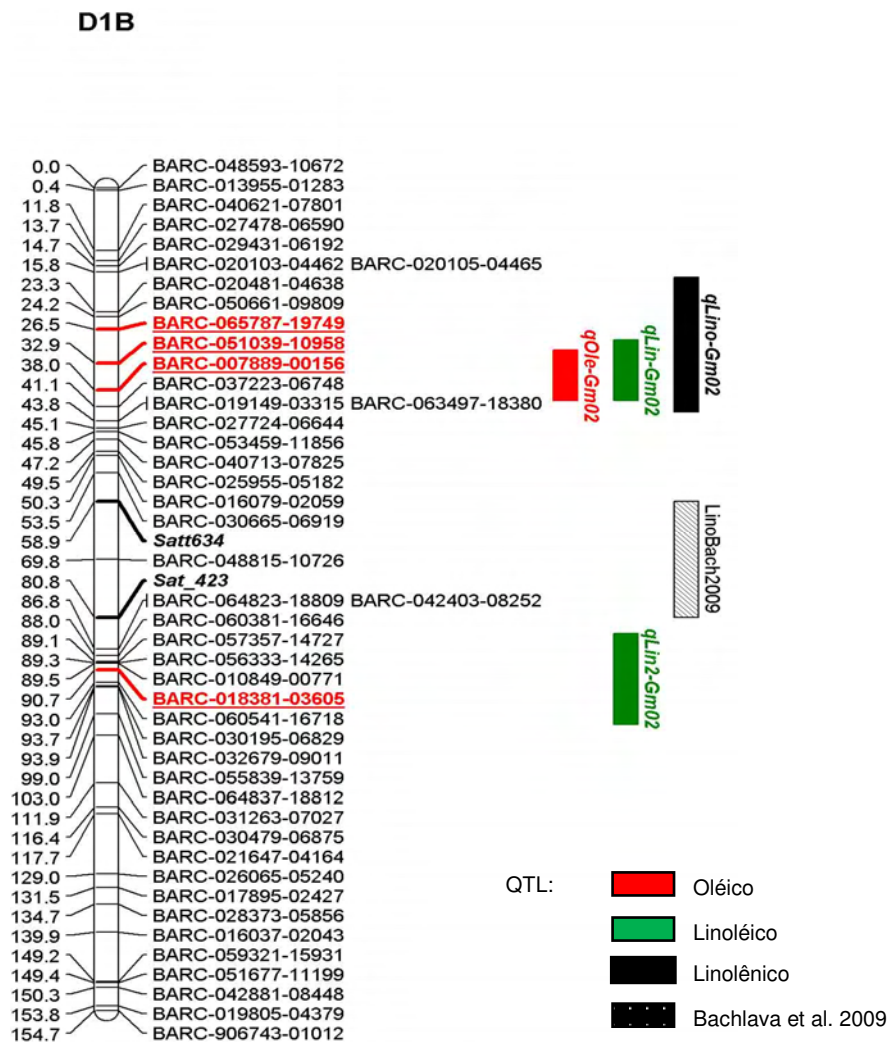


Figura 7. QTL detectados por MIM no grupo de ligação D1B para os ácidos graxos insaturados baseados no BLUP da análise conjunta de todos os ambientes estudados. À esquerda localização dos QTL no grupo de ligação. À direita gráficos: (I) oléico, (II) linoléico e (III) linolênico. O marcador mais próximo do pico do QTL está em vermelho e sublinhado. Retângulos em vermelho significam QTL detectados para conteúdo de ácido oléico (qOle-Gm+cromossomo), em verde para conteúdo de ácido linoléico (qLin-Gm+cromossomo) e preto para conteúdo de linolênico (qLino-Gm+cromossomo) e com linhas diagonais significa QTL reportados na literatura. O ponto de corte refere-se ao LOD crítico determinado por 1000 permutações.

C1

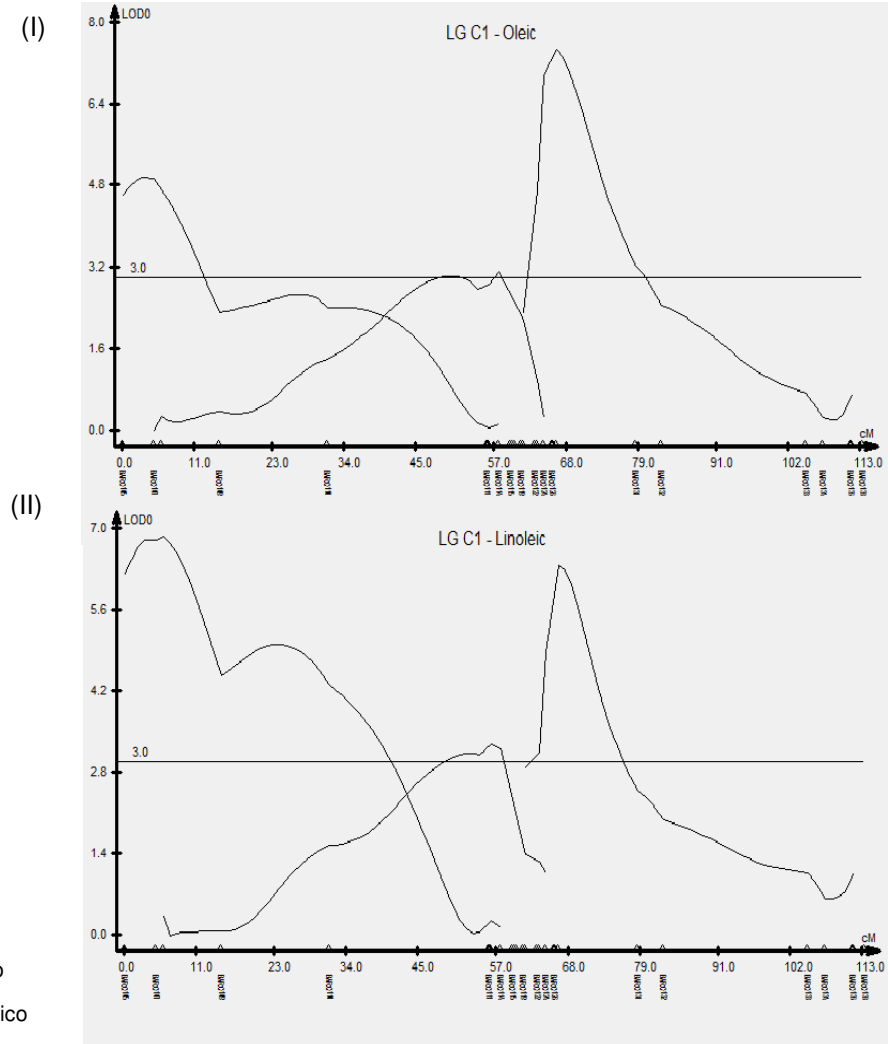
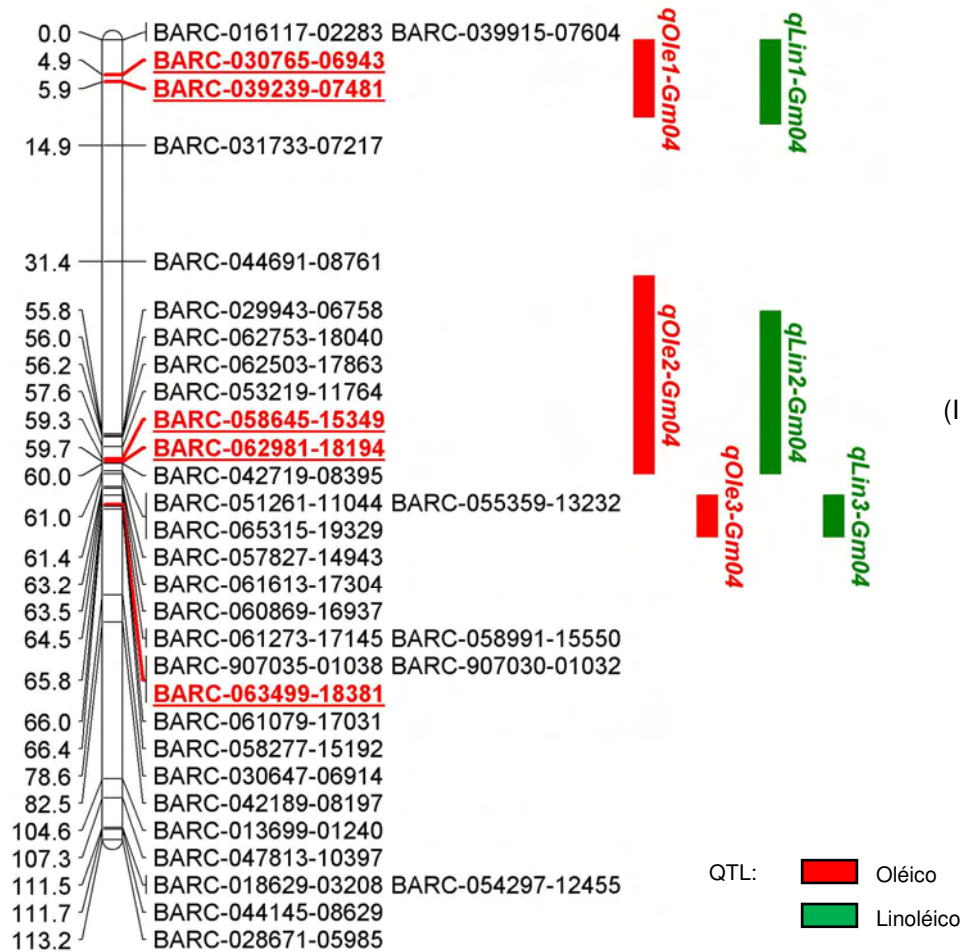


Figura 8. QTL detectados por MIM no grupo de ligação C1 para os ácidos graxos insaturados baseados no BLUP da análise conjunta de todos os ambientes estudados. À esquerda localização dos QTL no grupo de ligação. À direita gráficos: (I) oléico e (II) linoléico. O marcador mais próximo do pico do QTL está em vermelho e sublinhado. Retângulos em vermelho significam QTL detectados para conteúdo de ácido oléico (qOle-Gm+cromossomo), em verde para conteúdo de ácido linoléico (qLin-Gm+cromossomo) e preto para conteúdo de linolênico (qLino-Gm+cromossomo) e com linhas diagonais significa QTL reportados na literatura. O ponto de corte refere-se ao LOD crítico determinado por 1000 permutações.

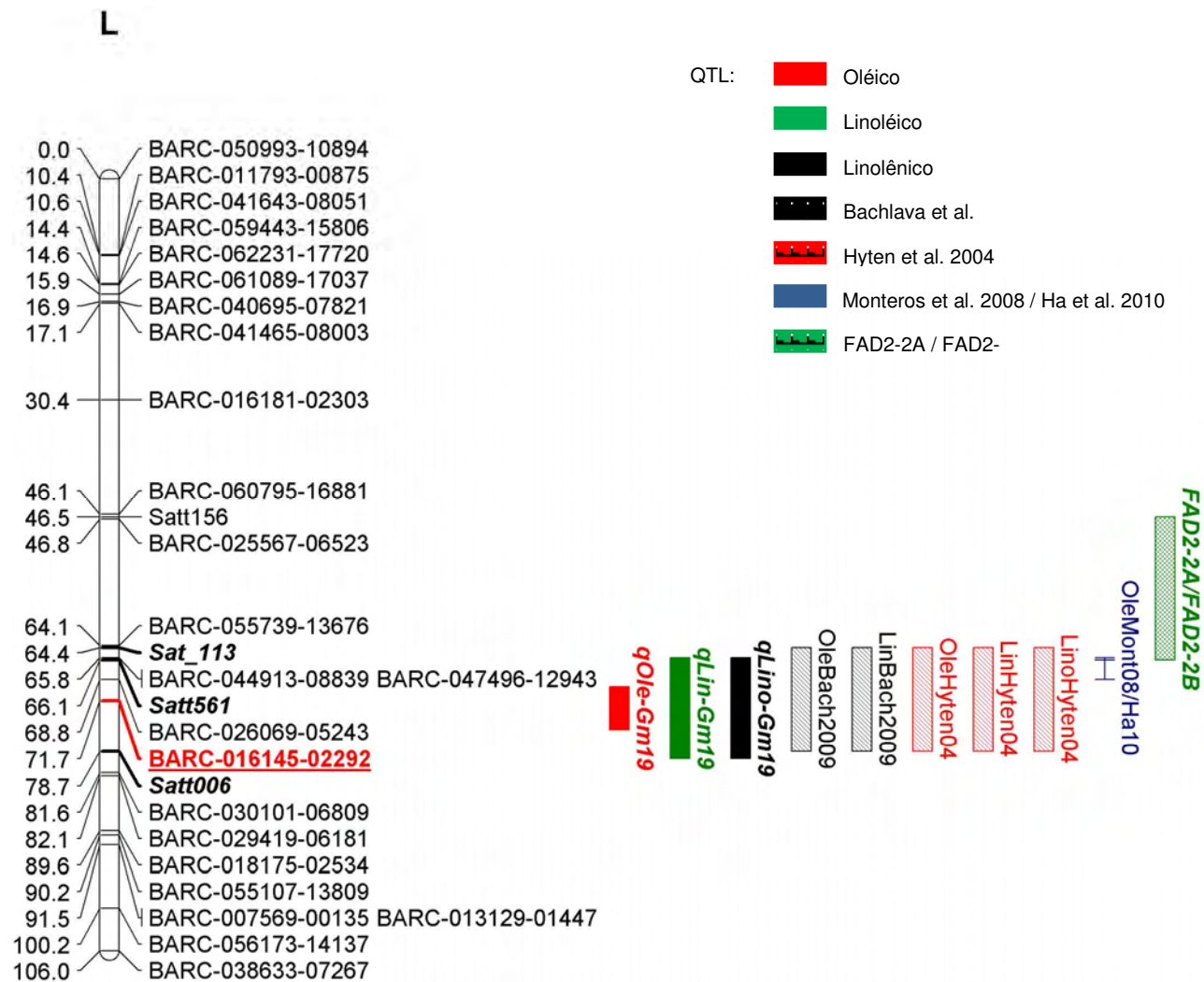


Figura 9. QTL detectados por MIM no grupo de ligação L para os ácidos graxos insaturados baseados no BLUP da análise conjunta de SG2010 e VIC2010. O marcador mais próximo do pico do QTL está em vermelho e sublinhado. Retângulos em vermelho significam QTL detectados para conteúdo de ácido oléico (qOle-Gm+cromossomo), em verde para conteúdo de ácido linoléico (qLin-Gm+cromossomo) e preto para conteúdo de linolênico (qLino-Gm+cromossomo) e com linhas diagonais significa QTL reportados na literatura. O ponto de corte refere-se ao LOD crítico determinado por 1000 permutações.

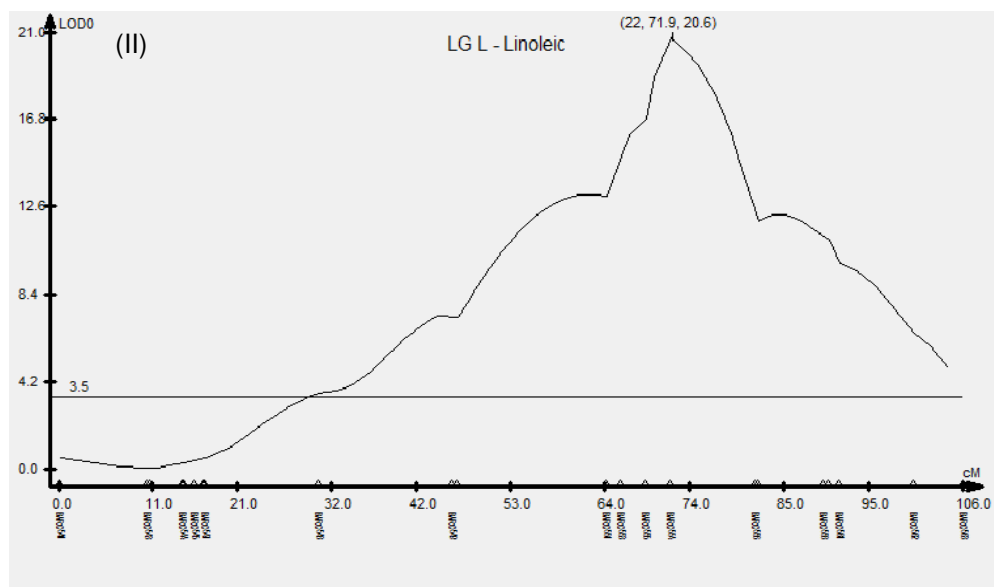
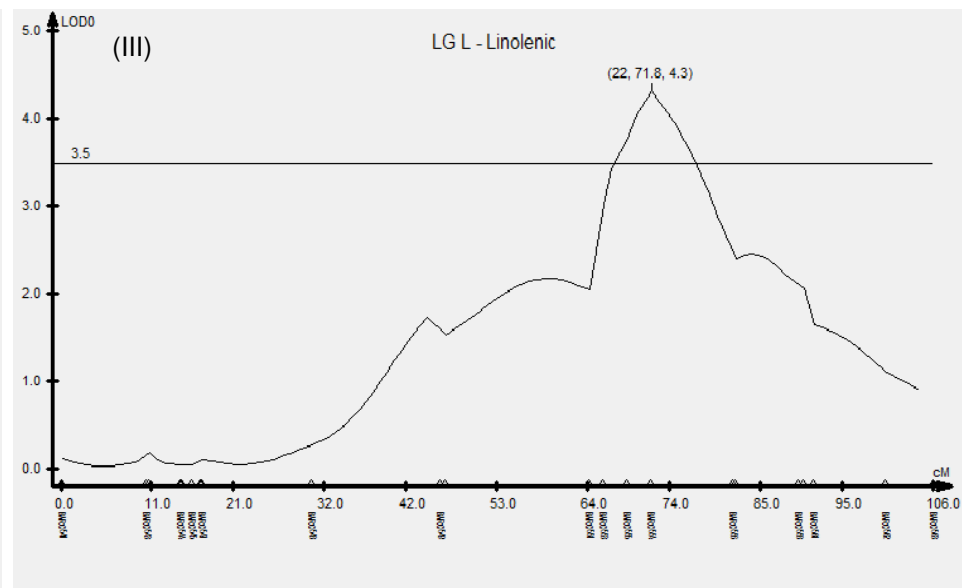
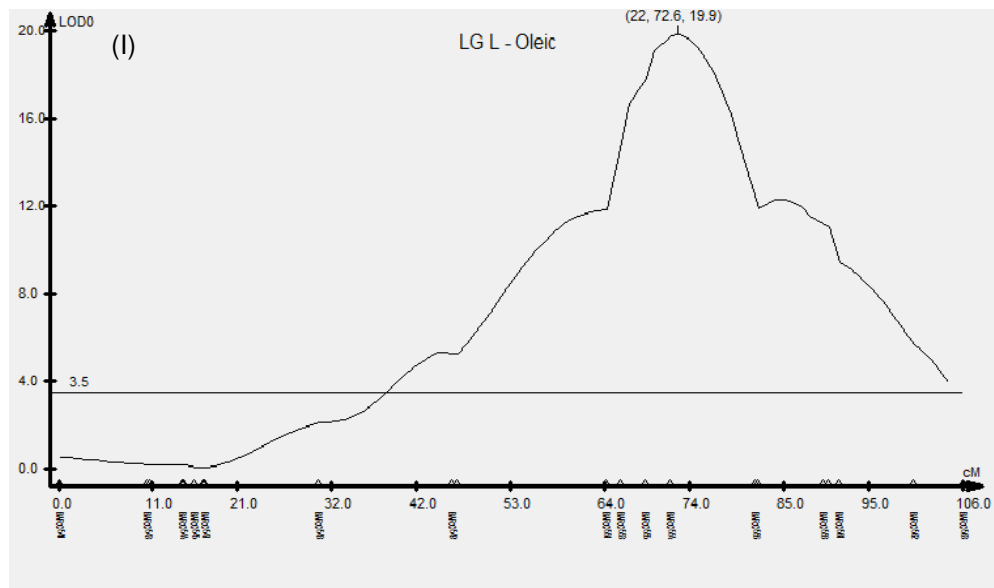


Figura 9. Continuação. (I) oléico, (II) linoléico e (III) Linolênico.

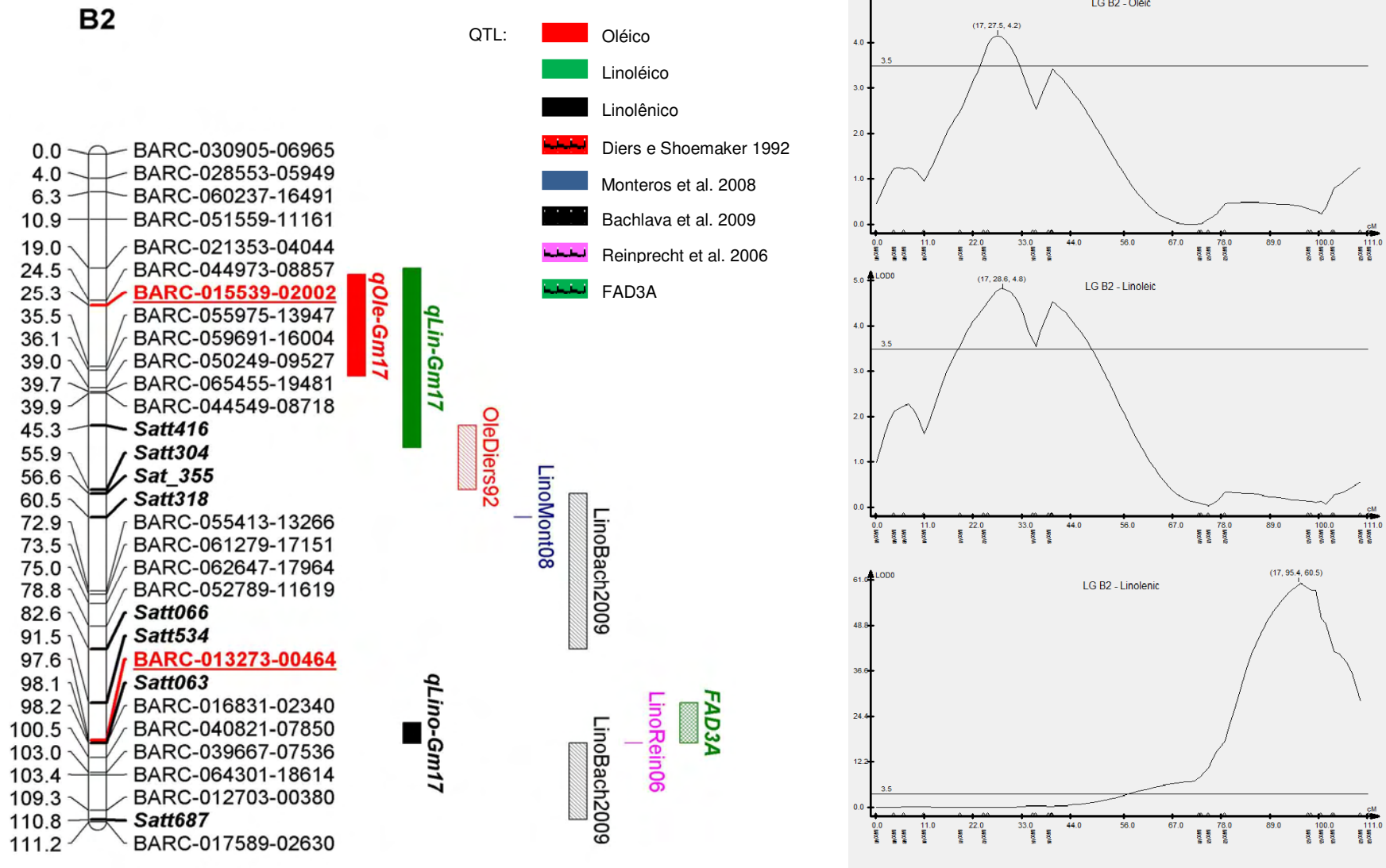


Figura 10. QTL detectados por MIM no grupo de ligação B2 para os ácidos graxos insaturados baseados no BLUP da análise conjunta de SG2010 e VIC2010. À esquerda localização dos QTL no grupo de ligação. À direita gráficos: (I) oléico, (II) linoléico e (III) linolênico. O marcador mais próximo do pico do QTL está em vermelho e sublinhado. Retângulos em vermelho significam QTL detectados para conteúdo de ácido oléico (qOle-Gm+cromossomo), em verde para conteúdo de ácido linoléico (qLin-Gm+cromossomo) e preto para conteúdo de linolênico (qLino-Gm+cromossomo) e com linhas diagonais significa QTL reportados na literatura. O ponto de corte refere-se ao LOD crítico determinado por 1000 permutações.

5. CONCLUSÕES

As estimativas de herdabilidade obtidas neste estudo sugerem que existe potencial para realizar a seleção para o aumento do conteúdo do ácido oléico em gerações precoces facilitando a condução de um programa de melhoramento do óleo de soja. Os resultados das correlações indicam que aumentos nos teores de ácido oléico implicam na redução de todas as outras características avaliadas. Entretanto, a maior magnitude dessas correlações foram encontradas entre os conteúdos de ácido oléico e linoléico.

O mapa de ligação foi construído utilizando 242 indivíduos F_2 e 595 SNP distribuídos nos 20 grupos de ligação da soja. Foram formados 23 grupos de ligação com um comprimento total de 2315,5 cM. Houve a de três sub-grupos não ligados nos cromossomos C2, B1 e F, devido a presença de poucos marcadores polimórficos, ou a ausência desses, em algumas regiões do genoma.

Este estudo revela um novo QTL para conteúdo de ácido oléico no grupo de ligação D1B com efeito moderado próximo ao marcador BARC-007889-00156, o qual foi detectado em quase todos os ambientes estudados. Outros QTL com moderados a pequenos efeitos foram encontrados nos grupos de ligação D1A, C1, C2, K, e H, também não reportados na literatura. Entretanto, somente o QTL no grupo de ligação C1 foi detectado em dois ambientes e nas análises conjuntas. Foram detectados QTL nos grupos de ligação A1, M, A2, F, B2, E, G, L e I confirmando estudos anteriores de mapeamento para conteúdo de ácido oléico. Todavia, apenas o QTL do grupo de ligação F foi detectado em todos os ambientes e na análise conjunta. A maioria dos QTL detectados possuem alelos associados com o aumento do conteúdo de ácido oléico herdados do genótipo FA22.

Os QTL detectados para conteúdo de ácido linoléico correspondem, na maioria das vezes, a QTL encontrados para conteúdo de ácido oléico, e seus efeitos tiveram sempre sentidos contrários. Foi detectado QTL de efeito maior para o conteúdo de ácido linolênico no grupo de ligação B2 explicando maior parte da variação fenotípica.

REFERÊNCIAS

ABIOVE. Associação Brasileira das Industrias de Óleos Vegetais. XXXII REUNIÃO DE PESQUISA DE SOJA DA REGIÃO CENTRAL DO BRASIL. **Tendências do mercado da soja: impactos sobre a pesquisa agrícola.** 2011. <http://www.abiove.com.br/> Acesso em: 10 de Janeiro de 2012.

ALT, J.L.; FEHR, W.R.; WELKE, G.A.; SANDHU, D. **Phenotypic and molecular analysis of oleate content in the mutant soybean line M23.** CROP SCI. v.45, p1997–2000, 2005a.

ALT, J.L.; FEHR, W.R.; WELKE, G.A.; SHANNON, J.G. **Transgressive segregation for oleate content in three soybean populations.** CROP SCI. v.45, p.2005–2007, 2005b.

ALTSHULER, D.; POLLARA, V.J.; COWLES, C.R.; VAN ETEN, W.J.; BALDWIN, J.; LINTON, L.; LANDER, E.S. **An SNP Map of the human genome generated by reduced representation shotgun sequencing.** NATURE, v.407 (6803), p.513-516, 2000.

ANAI, T.; YAMADA, T.; KINOSHITA, T.; RAHMAN, S.M.; TAKAGI, Y. **Identification of corresponding genes for three low- α -linolenic acid mutants and elucidation of their contribution to fatty acid biosynthesis in soybean seed.** PLANT SCI., v.168, p.1615-1623, 2005.

BACHLAVA, E.; DEWEY, R. E.; BURTON, J. W.; CARDINAL, A. J. **Mapping and comparison of quantitative trait loci for oleic acid seed content in two segregating soybean populations.** CROP SCI., V.49, P.433-441, 2009.

BACHLAVA, E.; DEWEY, R.E.; AUCLAIR J.; WANG, S.; BURTON, J.W.; CARDINAL, A.J. **Mapping of genes encoding microsomal omega-6 desaturase enzymes and their cosegregation with QTL affecting oleic acid content in soybean.** CROP SCI. v.48, p.640-650, 2008.

BILYEU, K.D.; PALAVALLI L.; SLEPER, D.A.; BEUSELINCK, P.R. **Molecular genetic resources for development of 1% linolenic acid soybeans.** CROP SCI., v.46, p.1913-1918, 2006.

BILYEU, K.D.; PALAVALLI L.; SLEPER, D.A.; BEUSELINCK, P.R. **Mutations in soybean microsomal omega-3 fatty acid desaturase genes reduce linolenic acid concentration in soybean seeds.** CROP SCIENCE, v.45, p.1830–1836, 2005.

BILYEU, K. D.; PALAVALLI L.; SLEPER, D. A.; BEUSELINCK, P. R. **Three microsomal omega-3-fatty acid desaturase genes contribute to soybean linolenic acid levels.** JOURNAL CROP SCI., v.43, p.1833-1838, 2003.

BILYEU, K.; GILLMAN, J. D.; LEROY, A. R. **Novel FAD3 mutant allele combinations produce soybeans containing 1% linolenic acid in the seed oil** CROP SCI., v.51, 2011.

BOLON, Y.-T.; HAUN, W.J.; XU, W.W.; GRANT, D.; STACEY, M.G.; NELSON, R.T.; GERHARDT, D.J.; JEDDELOH, J.A.; STACEY, G.; MUEHLBAUER, G.J.; ORF, J.H.; NAEVE, S.L.; STUPAR, R.M; VANCE, C.P. **Phenotypic and genomic analyses of a fast neutron mutant population resource in soybean.** PLANT PHYSIOL. v.156, p.240–253, 2011.

BRUMMER, E.C.; NICKELL, A.D.; WILCOX, J.R.; SHOEMAKER, R.C. **Mapping the fan locus controlling linolenic acid content in soybean oil.** J. HERED. v.86, p.245- 247, 1995.

BUBECK, D.M.; FEHR, W.R.; HAMMOND, E.G. **Inheritance of palmitic and stearic acid mutants of soybean.** CROP SCI., v.29, p.652–656, 1989.

BUHR, T.; SATO, S.; EBRAHIM, F.; XING, A.Q.; ZHOU, Y.; MATHIESEN, M.; SCHWEIGER, B.; KINNEY, A.; STASWICK, P.; CLEMENTE, T. **Ribozyme termination of rna transcripts downregulate seed fatty acid genes in transgenic soybean.** PLANT J. v.30, p.155-163, 2002.

BURKEY, K.O.; BOOKER, F.L.; PURSLEY, W.A.; HEAGLE, A.S. **Elevated carbon dioxide and ozone effects on peanut: ii. Seed, yield and quality.** CROP SCI. v.47, p.1488–1497, 2007.

BURTON, J.W.; WILSON, R.F.; REBETZKE, G.J.; PANTALONE, V.R. **Registration of N98-4445A mid-oleic soybean germplasm line.** CROP SCI. v.46, p.1010-1012, 2006.

BYFIELD G.E.; XUE H.; UPCHURCH, R.G. **Two genes from soybean encoding soluble Δ^9 stearoyl-*acp* desaturases.** CROP SCI v.46, p.840–846, 2006.

CARDINAL, A.; BURTON, J.W.; CAMACHO-ROGER, A.M.; WHETTEN, R.; CHAPPELL, A.S.; BILYEU, K.D.; AUCLAIR, J.; DEWEY, R.E. **Molecular analysis of *GmFAD3A* in two soybean populations segregating for the *fan*, *fap1*, and *fapnc* loci.** CROP SCI., v.51, 2011.

CARDINAL, A.J.; BURTON, J.W. **Correlations between palmitate content and agronomic traits in soybean populations segregating for the *fap1*, *fapnc*, and *fan* alleles.** CROP SCI. v.47, p.1804–1812, 2007.

CHAPPELL, A.S.; BILYEU K.D. **A *GmFAD3A* mutation in the low linolenic acid soybean line C1640.** PLANT BREED., v.125, p.535–536, 2006.

CHERRAK, C.M.; PANTALONE, V.R.; MEYER, E.J.; ELLIS, D.L.; MELTON, S. L.; WEST, D.R.; MOUNT J.R. **Low-palmitic, low-linolenic soybean development**. JAOCS, v.80, n.6, p.539-543, 2003.

CHING, A.; CALDWELL, K.S.; JUNG, M.; DOLAN, M.; SMITH, O.S.; TINGEY, S.; MORGANTE, M.; RAFALSKI, A.J. **SNP frequency, haplotype structure and linkage disequilibrium in elite maize inbred lines**. BMC, GENETICS, v.3, p.19, 2002.

CHOI, I.Y.; HYTEN, D.L.; MATUKUMALLI, L.K.; SONG, Q.; CHAKY, J.M.; QUIGLEY, C.V.; CHASE, K.; LARK, K.G.; REITER, R.S.; YOON, M.S.; HWANG, E.Y.; YI, S.I.; YOUNG, N.D.; SHOEMAKER, R.C.; VANTASSELL, C.P.; SPECHT, J.E.; CREGAN, P.B. **A soybean transcript map: gene distribution, haplotype and SNP analysis**. GENETICS. v.176, p.685–696, 2007.

CHURCHILL, G.A.; DOERGE, R.W. **Empirical threshold values for quantitative trait mapping**. GENETICS, v.138, p.963–971, 1994.

COLLINS, F.S.; BROOKS, L.D.; CHARKRAVARTI, A. **A DNA polymorphism discovery resource for research on human genetic variation**. GENOME RESEARCH, v.8; p.1229–1231, 1998.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Indicadores Agropecuários: Estimativas 2012**. Disponível em: <ww.conab.gov.br>. Acesso em: fevereiro de 2012.

CREGAN, P.B.; JARVIK, T.; BUSH, A.L.; SHOEMAKER, R.C.; LARK, K.G. KAHLER, A.L.; VAN TOAI, T.T.; LOHNES, D.G.; CHUNG, J.; SPECHT, J.E. **An integrated genetic linkage map of soybean**. CROP SCI., v.39, p.1464-1490, 1999.

DIERKING, E.; BILYEU, K. **New sources of soybean seed meal and oil composition traits identified through Tilling**. BMC PLANT BIOLOGY. v.9, p.89, 2009.

DIERS, B.W.; SHOEMAKER, R.C. **Restriction fragment length polymorphism analysis of soybean fatty acid content**. J. AM. OIL CHEM. SOC. v.69, p.1242-1244, 1992.

DUDLEY, J.M.; MOLL, R.H.. **Interpretation and use of estimates of heritability and genetics variances in plant breeding**. CROP SCI., v.9, n.3, p.257-262, 1969.

DUNTON, H.J.; LANCASTER, C.R.; EVANS, C.D.; COWAN, J.C. **The flavor problem of soybean oil VII. Linolenic acid**. J. AM. OIL CHEM. SOC, v.28, p.115-118, 1951.

FALCONER, D.S. **Introdução à genética quantitativa**. Viçosa, MG. UFV, Imprensa Universitária, 1987. 287 p.

FAN, J.B.; CHEE, M.S.; GUNDERSON, K.L. **Highly parallel genomic assays**. NATURE REVIEWS, GENETICS, v.7, p.632–644, 2006.

FAN, J.B.; OLIPHANT, A.; SHEN, R.; KERMANI, B.G.; GARCIA, F.; GUNDERSON, K.L.; HANSEN, M.; STEEMERS, F.; BUTLER, S.L.; DELOUKAS, P.; GALVER, L.; HUNT, S.; MCBRIDE, C.; BIBIKOVA, M.; RUBANO, T.; CHEN, J.; WICKHAM, E.; DOUCET, D.; CHANG, W.; CAMPBELL, D.; ZHANG, B.; KRUGLYAK, S.; BENTLEY, D.; HAAS, J.; RIGAULT, P.; ZHOU, L.; STUELPNAGEL, J.; CHEE, M.S. **Highly parallel SNP genotyping**. COLD SPRING HARBOR SYMPOSIUM ON QUANTITATIVE BIOLOGY. v.68, p.69–78, 2003.

FEHR, W.R. **Breeding for modified fatty acid composition in soybean**. CROP SCI., v.47, p.72–87, 2007.

FEHR, W.R.; CURTISS, C.F. **Breeding for fatty acid composition of soybean oil**. IN: PROCEEDINGS. IV INTERNATIONAL SOYBEAN PROCESSING AND UTILIZATION CONFERENCE. FOZ DO IGUAÇU; PR, P.815-821, 2004.

FEHR, W.R.; CAVINESS, C.E. **Stages of soybean development**. SPECIAL REPORT. AGRICULTURE AND HOME ECONOMICS EXPERIMENT STATION. IOWA STATE UNIVERSITY. v.80, p.11, 1977.

FEHR, W.R.; HAMMOND, E.G. **Reduced linolenic acid production in soybeans**. U.S. PATENT NUMBER, v.6, p.133-509, 2000.

FELTUS, F.A.; WAN, J.; SCHULZE, S.R.; ESTILL, J.C.; JIANG, N.; PATERSON, A.H. **AN SNP resource for rice genetics and breeding based on subspecies *indica* and *japonica* genome alignments**. GENOME RESEARCH, v.14, p.1812–1819, 2004.

GANAL, M.W.; ALTMANN, T.; ROUDER, M.S. **SNP identification in crop plants current opinion in plant biology**, v.12, p.211–217, 2009.

GESTEIRA, A.S.; SCHUSTER, I.; JOSÉ, I.C.; PIOVESAN, N.D.; VIANA, SORIANO, J.M.; BARROS, E.G. DE; MOREIRA, M.A. **Biometrical analyses of linolenic acid content of soybean seeds**. GENETICS AND MOLECULAR BIOLOGY, v.26, n.1, p.1415-4757, 2003.

GRIFFITHS, A.J.; MILLER, J.H.; SUZUKI, D.T.; LEWONTIN, R.C.; GELBART, W.M. **An introduction to genetic analysis**. NEW YORK W. H. FREEMAN, p.1-103, 2000.

GUPTA, P.K.; ROY, J.K.; PRASAD, M. **Single nucleotide polymorphisms: A new paradigm for molecular marker technology and DNA polymorphism detection with emphasis on their use in plants**. CURRENT SCIENCE, v.80, n.4, p.4524-535, 2001.

HA, B.K.; MONTEROS, M.J.; BOERMA, H.R. **Development of SNP assays associated with oleic acid QTL in N00-3350 soybean.** EUPHYTICA, v.176, n.3, p.403–415, 2010.

HAMMOND, E.G.; FEHR, W.R. **Registration of A5 germplasm line of soybean (REG. NO. GP44).** CROP SCI., v.23, p.192-193, 1983.

HOSHINO, T.; TAKAGI, Y.; ANAI, T. **Novel *GmFAD2-1b* mutant alleles created by reverse genetics induce marked elevation of oleic acid content in soybean seeds in combination with *GmFAD2-1a* mutant alleles.** BREED SCI. v.60, p.419–425. 2010.

HU, F.B.; SAMPFER, M.J.; MANSON, J.E.; RIMM, E.; COLDITZ, G.A.; ROSNER, B.A.; HENNEKENS, C.H.; WILLETT, W.C. **Dietary fat intake and the risk of coronary heart disease in women.** N. ENGL. J. MED. v.337, p.1491–1499, 1997.

HYTEN, D.L.; CANNON, S.B.; SONG, Q.; WEEKS, N.; FICKUS, E.W.; SHOEMAKER, R.; SPECHT, J.; FARMER, A.D.; MAY, G.D.; CREGAN, P. **High-throughput snp discovery through deep resequencing of a reduced representation library to anchor and orient scaffolds in the soybean whole genome sequence.** BMC GENOMICS, v.11, p.38, 2010b.

HYTEN, D.L.; CHOI, I.-Y.; SONG, Q.; SPECHT, J.E.; CARTER, T.E.; SHOEMAKER, R.C.; HWANG, E.-Y.; MATUKUMALLI, L.K.; CREGAN, P.B. **A high density integrated genetic linkage map of soybean and the development of a 1536 Universal Soy Linkage Panel for QTL mapping.** CROP SCI. v.50, 2010a.

HYTEN, D.L.; PANTALONE, V.R.; SAMS, C.E.; SAXTON, A.M.; LANDAU-ELLIS, D.; STEFANIAK, T.R.; SCHMIDT, M.E. **Seed quality QTL in a prominent soybean population.** THEORETICAL AND APPLIED GENETICS. v.109, p.552-561, 2004.

HYTEN, D.L.; SONG, Q.; CHOI, I.; YOON, M.; SPECHT, J.E.; MATUKUMALLI, L.K.; SHOEMAKER, R.C.; YOUNG, N.D.; CREGAN, P.B. **High-throughput genotyping with the goldengate assay in the highly complex genome of soybean.** THEORETICAL AND APPLIED GENETICS, v.116, p.945–952, 2008.

HYTEN, L.D., SONG, Q.; ZHU, Y.; CHOI, I.-Y.; NELSON, L.R.; COSTA, M.J.; SPECHT, E.J.; SHOEMAKER, R.C.; CREGAN, B.P. **Impact of genetic bottlenecks on soybean genome diversity.** PROC. NATL. ACAD. SCI. v.103, p.16666–16671, 2006.

JANDER, G.; NORRIS, S.R.; ROUNSLEY, S.D.; BUSH, D.F.; LEVIN, I.M.; LAST, R.L. **Arabidopsis map-based cloning in the post-genome era.** PLANT PHYSIOLOGY, v.129, p.440–450, 2002.

KAO, C.H.; ZENG, Z-B.; TEASDALE, R.D. **Multiple interval mapping for quantitative trait loci**. GENETICS, v.152, p.1203–1216, 1999.

KINNEY, A.J. **Development of genetically engineered soybean oils for food applications**. JOURNAL OF FOOD LIPIDS, v.3, p.273-276, 1996.

KRUGLYAK, L. **The use of a genetic map of biallelic markers in linkage studies**. NATURAL GENETICS, v.17, p.21–24, 1997.

KUMAR, P.; GUPTA, V.K.; MISRA, A.K.; MODI, D.R.; PANDEY, B.K. **Potential of molecular markers in plant biotechnology**. PLANT OMICS JOURNAL. v.2, p.141-162, 2009.

KWOK, P.Y.; DENG, Q.; ZAKERI, H.; NICKERSON, D.A. **Increasing the information content of STS-based genome maps: Identifying polymorphisms in mapped STSs**. GENOMICS, v.31, p.123–126, 1996.

LI, L.; WANG, X.; GAI, J.; YU, D. **Molecular cloning and characterization of a novel microsomal oleate desaturase gene from soybean**. J Plant Physiol, v.164, p.1516–1526, 2007.

MARGARIDO, G.R.A.; SOUZA, A.P.; GARCIA, A.A.F. **ONEMAP**: software for genetic mapping in outcrossing species. HEREDITAS, v.144, p.78-79, 2007.

MATTA, L.B. **Melhoramento genético da soja (*Glycine max* (L.) MERRILL) para baixo teor de ácido linolênico**. Viçosa, MG. UFV, 2008. 71p. (Dissertação Mestrado em Fitotecnia – Universidade Federal de Viçosa).

MEKHEDOV, S.; ILÁRDUYA, M.; OHLROGGE, J. **Toward a functional catalog of the plant genome**. A survey of genes for lipid biosynthesis. PLANT PHYSIOLOGY, v.122, p.389-402, 2000.

MONTEROS, M.J.; BURTON, J.W.; BOERMA, H.R. **Molecular mapping and confirmation of QTL associated with oleic acid content in N00-3350 soybean**. CROP SCI. v.48, p.2223–2234, 2008.

MOZAFFARIAN, D.; KATAN, M.B.; ASCHERIO, A.; STAMPFER, M.J.; WILLETT, W.C. **Trans fatty acids and cardiovascular disease**. N ENGL J MED v.354, p.1601–1613, 2006.

NASU, S. et al. **Search for and analysis of single nucleotide polymorphisms (SNP) in rice (*Oryza sativa*; *Oryza rufipogon*) and establishment of snp markers**. DNA RESEARCH, v.9, n.5, p.163–171, 2002.

NIKOLAU, B.J.; OHLROGGE, J.B.; WURTELE, E.S. **Plant biotin-containing carboxylases**. ARCHIVES OF BIOCHEMISTRY AND BIOPHYSICS, v.414, n.2, p.211–222, 2003.

NORDBORG, M.; HU, T.T.; ISHINO, Y.; JHAVERI, J.; TOOMAJIAN, C.; ZHENG, H.; BAKKER, E.; CALABRESE, P.; GLADSTONE, J.; GOYAL, R.; JAKOBSSON, M.; KIM, S.; MOROZOV, Y.; PADHUKASAHASRAM, B.; PLAGNOL, V.; ROSENBERG, N.A.; SHAH, C.; WALL, J.D.; WANG, J.; ZHAO, K.; KALBFLEISCH, T.; SCHULZ, V.; KREITMAN, M.; BERGELSON, J. **The pattern of polymorphism in *Arabidopsis thaliana***. PLOS BIOLOGY, v.3, p.196, 2005.

OHLROGGE, J.; BROWSE, J. **Lipid biosynthesis**. PLANT CELL, v.7, p.957-970, 1995.

OHLROGGE, J.; JAWORSKI, J.G. **Regulation of fatty acid synthesis**. ANNU REV. PLANT PHYSIOL. PLANT MOL. BIOL., v.48, p.109-136, 1997.

ORAGUZIE, N.C. et al. **Association mapping in plants**. NEW YORK; USA: SPRINGER, v.ix, p.277, 2007.

PANTHEE, D.R.; PANTALONE, V.R.; SAXTON, A.M. **Modifier QTL for fatty acid composition in soybean oil**. EUPHYTICA, v.152, p.67-73, 2006.

PHAM, A.-T.; LEE, J.-D.; SHANNON, J.G.; BILYEU, K. **A novel FAD2-1a allele in a soybean plant introduction offers an alternate means to produce soybean seed oil with 85% oleic acid content**. JOUR THEOR APP GENETICS. v.123, p.793-802, 2011

PHAM, A.-T.; LEE, J.-D.; SHANNON, J.G.; BILYEU, K. **Mutant alleles of FAD2-1A and FAD2-1B combine to produce soybeans with the high oleic acid seed oil trait**. BMC PLANT BIOL. v.10, p.195, 2010.

PRIMOMO, V.S.; FALK, D.E.; ABLETT, G.R.; TANNER, J.W.; RAJCAN, I. **Inheritance and interaction of low palmitic and low linolenic soybean**. CROP SCI., v.42, p.31-36, 2002.

RAFALSKI, A. **Applications of single nucleotide polymorphisms in crop genetics**. CURR. OPIN. PLANT BIOL. v.5, p.94-100, 2002.

RAHMAN, S.M.; ANAI, T.; KINOSHITA, T.; ARIMA, S.; TAKAGI, Y. **Three novel soybean germplasms with unique fatty acid composition using multiple mutant alleles**. BREED. SCI. v.54, p.225-229, 2004.

RAHMAN, S.M.; KINOSHITA, T.; ANAI, T.; TAKAGI, Y. **Combining ability in loci for high oleic and low linolenic acids in soybean**. CROP SCI. v.41, p.26-29, 2001.

RAHMAN, S.M.; TAKAGI, Y. **Inheritance of reduced linolenic acid content in soybean seed oil**. Theor and APPL. GENE, v.94, p.229-302, 1997.

RAHMAN, S.M.; TAKAGI, Y., KINOSHITA, T. **Genetic control of high oleic acid content in the seed oil of two soybean mutants.** CROP SCI., v.36, p.1125-1128, 1996.

REBETZKE, G.J.; PANTALONE, V.R.; BURTON, J.W.; CARTER JR, T.E.; WILSON, R.F. **Genotypic variation for fatty acid content in selected *Glycine max* x *Glycine soja* populations.** CROP SCI., v.37, p.1636-1640, 1997.

REINPRECHT, Y.; POYSA, V.W.; YU, K.; RAJCAN, I.; ABLETT, G.R.; PAULS, K.P. **Seed and agronomic QTL in low linolenic acid, lipoxygenase-free soybean (*Glycine max* (L.) MERRILL) GERMPLASM.** GENOME. v.49, p.1510-1527, 2006.

RESENDE, M.D.V. **O Software SELEGEN-REML/BLUP.** Campo Grande, MS: EMBRAPA GADO DE CORTE, 2006. 305p.

ROSS, A.J.; FEHR, W.R.; WELKE, G.A.; HAMMOND, E.G.; CIANZIO, S.R.. **Agronomic and seed traits of 1% - linolenate soybean genotypes.** CROP SCIENCE, v.40, p.383–386, 2000.

SAS Institute. **SAS/STAT SOFTWARE.** RELEASE 9.1.3. SAS INST., CARY, NC. 2004.

SCHLOTTERER, C. **The evolution of molecular markers - just a matter of fashion?** NATURE REVIEWS GENETICS, v.5, n.1, p.63-69, 2004.

SCHLUETER, J.A., VASYLENKO-SANDERS, I.F.; DESHPANDE, S.; YI, J.; SIEGFRIED, M.; ROE, B.A.; SCHLUETER, S.D.; SCHEFFLER, B.E.; SHOEMAKER, R.C. **The FAD2 gene family of soybean: Insights into the structural and functional divergence of a paleopolyploid genome.** THE PLANT GENOME, A SUPPL. TO CROP SCI. v. 47, p. s14-s26, 2007.

SCHMID, K.J.; RAMOS-ONSINS, S.; RINGYS-BECKSTEIN, H.; WEISSHAAR, B.; MITCHELL-OLDS, T. A. **Multilocus sequence survey in *Arabidopsis thaliana* reveals a genomewide departure from a neutral model of DNA sequence polymorphism.** GENETICS v.169, p.1601-1615, 2005.

SCHMID, K.J.; SORENSEN, T.R.; STRACKE, R.; TORJEK, O.; ALTMANN, T.; MITCHELL-OLDS, T.; WEISSHAAR, B. **Large-scale identification and analysis of genomewide single-nucleotide polymorphisms for mapping in *Arabidopsis thaliana*.** GENOME RESEARCH v.13, p.1250–1257, 2003.

SCHMUTZ, J. et al. **Genome sequence of the palaeopolyploid soybean.** NATURE, v.463, p.178-183, 2010.

SONG, Q.J.; MAREK, L.F.; SHOEMAKER, R.C.; LARK, K.G.; CONCIBIDO, V.C.. **A new integrated genetic linkage map of the soybean.** Theor. APPL. GENET, v.109, p.122–128, 2004.

STOJSIN, D.; LUZZI, B.M.; ABLETT, G.R.; TANNER, J.W. **Inheritance of low linolenic acid level in the soybean line RG10.** CROP SCIENCE, v.38, p.1441–1444, 1998.

TAKAGI, Y.; RAHMAM, S.M. **Inheritance of high oleic acid content in the seed oil of soybean mutant M23.** THEOR. APPL. GENET. v.92, p.179-182, 1996.

TANG, G.-Q.; NOVITZKY, W.P.; GRIFFIN, H.C.; HUBER, S.C.; DEWEY, R.E. **Oleate desaturase enzymes of soybean: Evidence of regulation through differential stability and phosphorylation.** PLANT J. v.44, p.433–446, 2005.

TENAILLON, M.I.; SAWKINS, M.C.; LONG, A.D.; GAUT, R.L.; DOEBLEY, J.F. **Patterns of DNA sequence polymorphism along Chromosome 1 of maize (*Zea mays* ssp. *mays* L.).** PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE USA, v.98, p.9161–9166, 2001.

UPCHURCH, R.G.; MARTHA, E.; RAMIREZ, J. **Gene expression profiles of soybeans with mid-oleic acid seed phenotype.** AM OIL CHEM SOC. v.87, p.857–864, 2010.

VENCOVSKY, R. Herança Quantitativa. IN: PATERNIANI, E.; VIEGAS, G.P. **Melhoramento e produção do milho no Brasil.** 2 ed. Campinas SP: Fundação CARGILL, p.137-214, 1987.

VORWERK, S. **Wizard genomic DNA purification kit and the isolation of plant genomic DNA.** 2001. Disponível em: <http://www.promega.com/resources/articles/pubhub/enotes/wizard-genomic-dna-purification-kit-and-the-isolation-of-plant-genomic-dna/> updated 2001. Acesso em: 10 de Jan de 2012.

WANG, S., BASTEN, C. J.; ZENG, Z.-B. **Windows QTL Cartographer 2.5.** DEPARTMENT OF STATISTICS, NORTH CAROLINA STATE UNIVERSITY, RALEIGH, NC. ([HTTP://STATGEN.NCSU.EDU/QTL CART/WQTL CART.HTM](http://STATGEN.NCSU.EDU/QTL CART/WQTL CART.HTM)). 2011.

WHITE, H.B.; QUAKENBUSH, F.W.; PROBST, A.H. **Occurrence and inheritance of linolenic and linoleic acids in soybean seeds.** J. AM. OIL CHEM. SOC., v.38, p.113-117, 1961.

WILCOX, J.R.; CAVINS, J.F.; NIELSEN, N.C. **Genetic alteration of soybean oil composition by a chemical mutagen.** J. AM. OIL CHEM. SOC., v.61, p.97-100, 1984.

WILSON, R.F.; BURTON, J.W.; BRIM, C.A. **Progress in the selection for altered fatty acid composition in soybeans.** CROP SCIENCE, v.21, p.788-791, 1981.

WRIGHT, S.I.; BI, I.V.; SCHROEDER, S.G.; YAMASAKI M.; DOEBLEY, J.F.; MCMULLEN, M.D.; GAUT, B.S. **The effects of artificial selection on the maize genome.** SCIENCE, v.308, p.1310–1314, 2005.

WU, et al.: **SNP discovery by high-throughput sequencing in soybean.** BMC GENOMICS, v.11, p.469, 2010.

WU, R.; MA, C.X.; PAINTER, I.; ZENG, Z.-B. **Simultaneous maximum likelihood estimation of linkage and linkage phases in outcrossing species.** THEORETICAL POPULATION BIOLOGY v 61, 349-363, 2002a.

WU, R.; MA, C.X.; WU, S. S.; ZENG, Z.-B. **Linkage mapping of sex-specific differences.** GENETICAL RESEARCH. v.79, p.85-96, 2002b.

YADAV, N.S. Genetic modification of soybean oil quality. IN: VERMA, D.P.S, SHOEMAKER, R.C (EDS.). **SOYBEAN: Genetics, Molecular Biology and Biotechnology.** USA: CAB INTERNATIONAL. 1996.

ZHANG, P.; BURTON, J.W.; UPCHURCH, R.G.; WHITTLE, E.; SHANKLIN, J.; DEWEY, R.E. **Mutations in a $\Delta 9$ -stearoyl-*acp*-desaturase gene are associated with enhanced stearic acid levels in soybean seeds.** CROP SCI. v.48, p.2305–2313, 2008.

ZHU, T.; SALMERON, J. **High-definition genome profiling for genetic marker discovery.** TRENDS PLANT SCI v.12, p.196–202, 2007.

ZHU, Y.L.; SONG, Q.J.; HYTEN, D.L.; VANTASSELL, C.P.; MATUKUMALLI, L.K.; GRIMM, D.R.; HYATT, S.M.; FICKUS, E.W.; YOUNG, N.D.; CREGAN, P.B.. **Single-nucleotide polymorphisms in soybean.** GENETICS. v.163, p.1123 -1134, 2003.