

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Soja
Ministério da Agricultura e Pecuária

ISSN 3085-9514

Eventos Técnicos & Científicos

7

Junho, 2026

Resumos expandidos **40ª Reunião de Pesquisa de Soja**

10 e 11 de junho de 2026
Londrina, PR

Embrapa Soja
Londrina, PR
2026

Embrapa Soja

Rod. Carlos João Strass, s/n
Acesso Orlando Amaral, Caixa postal
4006, CEP 86085-981, Distrito de Warta,
Londrina, PR
(43) 3371 6000
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

Comitê Local de Publicações

Presidente

Roberta Aparecida Carnevali

Secretária-executiva

*Regina Maria Villas Bôas de Campos
Leite*

Membros

*Adonis Moreira, Clara Beatriz Hoffmann-
Campo, Claudine Dinali Santos Seixas,
Claudio Guilherme Portela de Carvalho,
Fernando Augusto Henning, Leandro
Eugênio Cardamone Diniz, Liliane Márcia
Mertz-Henning, Maria Cristina Neves de
Oliveira*

Organização da publicação

*Regina Maria Villas Bôas de Campos
Leite*

Liliane Márcia Mertz- Henning

Normalização

Valéria de Fátima Cardoso

Capa

Marisa Yuri Horikawa

Diagramação

*Vanessa Fuzinatto Dall'Agnol e
Marisa Yuri Horikawa*

Foto da capa

RRRufino

1ª edição

PDF digitalizado (2026)

As opiniões emitidas nesta publicação são de exclusiva e de inteira responsabilidade dos autores, não exprimindo, necessariamente, o ponto de vista da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), vinculada ao Ministério da Agricultura e Pecuária.

É de responsabilidade dos autores a declaração afirmando que seu trabalho encontra-se em conformidade com as exigências da Lei nº 13.123/2015, que trata do acesso ao Patrimônio Genético e ao Conhecimento Tradicional Associado.

É de responsabilidade dos autores que o trabalho submetido não possui frases, parágrafos e quaisquer conteúdos individuais ou agrupados produzidos por algoritmos generativos, modelos de linguagem (GPT) ou inteligência artificial, bem como que os dados apresentados, resultados e conclusões são verídicos e não possuem informações geradas artificialmente por redes neurais ou quaisquer modelos de inteligência artificial, incluindo informações interpoladas automaticamente, informações estimadas e produzidas estatisticamente por algoritmos empíricos ou conteúdos que não podem ser reproduzidos, verificados e validados.

Todos os direitos reservados

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte,
constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Soja

Reunião de Pesquisa de Soja (40. : 2026 : Londrina, PR)

Resumos expandidos XL Reunião de Pesquisa de Soja, Londrina, PR, 10 e 11 de
junho de 2026 – Londrina : Embrapa Soja, 2026.

PDF (521 p.) -- (Eventos Técnicos & Científicos / Embrapa Soja, ISSN 3085-9514;
n. 7)

1. Soja. 2. Pesquisa agrícola. I. Leite, Regina Maria Villas Boas de Campos. II.
Mertz- Henning, Liliane Márcia. III. Título. IV. Série.

CDD (21. ed.) 633.340721

Silenciamento do gene *FAD2* via CRISPR visando a obtenção de soja com alto teor de ácido oleico

Daniel Rockenbach Marin⁽¹⁾; Rodrigo Thibes Hoshino⁽²⁾; Sandra Maria Bellodi Cação⁽²⁾;

Silvana Regina Rockenbach Marin⁽³⁾; Alexandre Lima Nepomuceno⁽⁴⁾; Liliane Márcia Mertz-Henning⁽⁴⁾

⁽¹⁾ Doutorando, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, PR; ⁽²⁾ Bolsista de Pós-doutorado FAPED, Londrina, PR; ⁽³⁾ Analista, Embrapa Soja, Londrina, PR; ⁽⁴⁾ Pesquisador, Embrapa Soja, Londrina, PR.

Introdução

A soja é uma das principais *commodities* agrícolas globais, amplamente utilizada nas indústrias alimentícia, de ração animal, química, farmacêutica e de biocombustíveis, devido à sua elevada composição de proteínas, óleo e carboidratos. O óleo de soja é composto principalmente pelos ácidos graxos palmítico, esteárico, oleico, linoleico e linolênico, sendo aproximadamente 85% insaturados (Combs; Bilyeu, 2019). Apesar dos benefícios nutricionais dos ácidos graxos insaturados, os poli-insaturados, como os ácidos linoleico e linolênico, apresentam maior suscetibilidade à oxidação, comprometendo a estabilidade e a qualidade dos produtos (Derbyshire et al., 2023). Em contraste, o ácido oleico, um ácido graxo monoinsaturado, apresenta maior estabilidade oxidativa e benefícios à saúde, além de ser desejável industrialmente por aumentar a vida útil dos produtos e reduzir a formação de resíduos (Winfield et al., 2024).

A conversão de ácido oleico em linoleico é catalisada por enzimas da família *FAD2*, codificadas pelos genes *FAD2-1A*, *FAD2-1B* e *FAD2-2* (Fu et al., 2022). Nesse contexto, a edição gênica por CRISPR/Cas9 destaca-se como uma estratégia eficiente para aumento do teor de ácido oleico, por meio da inativação dos genes *FAD2-1A* e *FAD2-1B* (Song et al., 2023). Assim, este trabalho teve como objetivo editar genes da família *FAD2* em soja visando obter linhagens com maior teor de ácido oleico e melhor estabilidade oxidativa do óleo.

Material e Métodos

O silenciamento dos genes *GmFAD2* foi realizado por meio da tecnologia CRISPR/Cas9, explorando a via de reparo por junção de extremidades não homólogas (*Non-Homologous End Joining*, NHEJ). O RNA guia (gRNA) foi desenhado utilizando a ferramenta CCTop (<https://cctop.cos.uni-heidelberg.de/>), com base em sequências dos genes alvos *FAD2-1A* (Glyma.10G278000) e *FAD2-1B* (Glyma.20G111000) obtidas na plataforma Phytozome (<https://phytozome-next.jgi.doe.gov/>). O gRNA foi selecionado considerando a ausência de potenciais efeitos fora do alvo (*off-targets*), e a eficiência conforme predição de complementaridade e análise de sítios secundários (Corsi et al., 2022). O gRNA foi inserido em vetor binário contendo as sequências necessárias para expressão da maquinaria CRISPR/Cas9 e do gene de seleção *Bar*. O vetor foi inserido na estirpe EHA105 de *Agrobacterium tumefaciens*.

O processo de transformação foi realizada em cotilédones de soja, via *Agrobacterium tumefaciens* contendo o vetor recombinante e submetidos ao co-cultivo, envolvendo as etapas de regeneração em meios de cultura específicos, com seleção baseada na resistência ao glufosinato de amônio. Os explantes regenerados foram alongados, enraizados e posteriormente aclimatizados em substrato, sendo transferidos para casa de vegetação para desenvolvimento completo (Kanamori et al., 2011).

A confirmação das plantas contendo a maquinaria CRISPR/Cas9 foi realizada por extração de DNA seguida de PCR com *primers* específicos para enzima Cas9. A edição nos genes alvos foi identificada por sequenciamento Sanger, e a inferência quantitativa da eficiência de edição e da frequência de mutações foi realizada por meio do software ICE (<https://ice.editco.bio/#/>), que permitem estimar a proporção de alelos editados com base na decomposição dos sinais de sequenciamento Sanger (Doyle et al., 1990; Sanger et al., 1977).

Resultados e Discussão

As plantas regeneradas do processo de transformação foram avaliadas quanto à presença da construção gênica e à ocorrência de edições nos

genes *FAD2*. A análise por PCR convencional de oito plantas, identificou a inserção do cassete CRISPR/Cas9 em três plantas, resultando em uma eficiência de transformação de 37,5% (Figura 1).

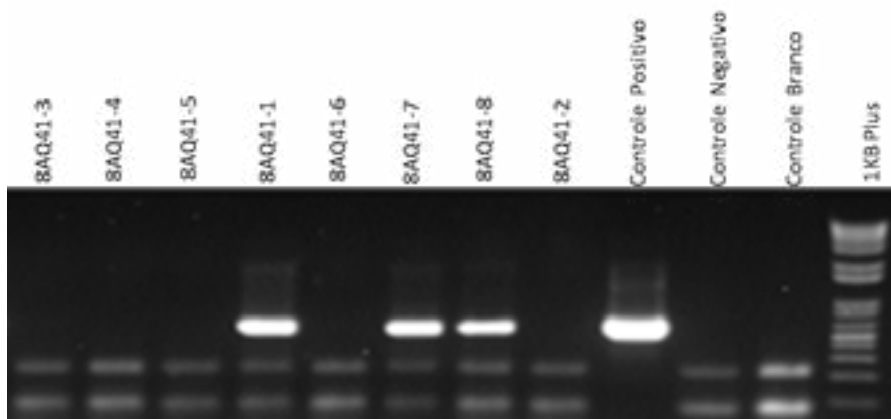


Figura 1. PCR convencional em gel de agarose 1%. A presença de produto de amplificação de 629pb indica planta com maquinaria CRISPR/Cas9, ausência de banda indica planta não transformada. Controle positivo: vetor de transformação. Controle negativo: DNA de soja não transformado. Controle Branco: reação sem DNA. 1Kb Plus (Invitrogen®): marcador de tamanho da amplificação.

O sequenciamento Sanger e posterior análise no software ICE, revelou a presença de mutações do tipo inserção/deleção (indels) na região codificadora dos genes alvos, próximas ao sítio de corte direcionado pelo gRNA, confirmando a atividade do sistema CRISPR/Cas9 nas plantas transformadas.

Foram observados diferentes padrões de edição, incluindo eventos quiméricos, frequentemente descritos em gerações iniciais de plantas editadas, que apresentam diversos alelos (Figura 2). Sendo importante selecionar os alelos com as edições capazes de gerar mutações do tipo *loss-of-function*, com potencial impacto na funcionalidade dos genes (Cong et al., 2013).



Figura 2. Proporção de alelos editados com base na decomposição dos sinais de sequenciamento Sanger. Pontilhado indica as bases deletadas e respectiva porcentagem do alelo.

Os resultados obtidos são consistentes com estudos prévios que demonstram a eficiência do sistema CRISPR/Cas9 na edição simultânea de múltiplos genes da família *FAD2* (Do et al., 2019). A obtenção de mutações nesses genes está diretamente associada ao aumento do teor de ácido oleico, indicando o potencial das linhagens obtidas para melhoria da qualidade do óleo de soja.

Conclusão

A utilização da tecnologia CRISPR/Cas9 para edição dos genes *FAD2-1A* e *FAD2-1B* mostrou-se eficiente na geração de mutações em soja, com potencial para alterar o perfil de ácidos graxos do óleo. A estratégia adotada apresenta relevância agronômica e industrial, contribuindo para o desenvolvimento de cultivares com maior estabilidade oxidativa e melhor qualidade nutricional. Estudos adicionais são necessários para a validação fenotípica e estabilidade das edições nas gerações subsequentes.

Referências

- COMBS, R.; BILYEU, K. Novel alleles of *FAD2-1A* induce high levels of oleic acid in soybean oil. **Molecular Breeding**, v. 39, article 79, 2019. 11 p. DOI: 10.1007/s11032-019-0972-9.
- CONG, L.; RAN, F. A.; COX, D.; LIN, S.; BARRETTO, R.; HABIB, N.; ZHANG, F. Multiplex genome engineering using CRISPR/Cas systems. **Science**, v. 339, n. 6121, p. 819-823, 2013. DOI: 10.1126/science.1231143.

CORSI, G. I.; QU, K.; PAN, X.; LUO, Y.; GORODKIN, J. CRISPR/Cas9 gRNA activity depends on free energy changes and on the target PAM context. **Nature Communications**, v. 13, n. 1, article 3006, 2022. 14 p. DOI: 10.1038/s41467-022-30515-0.

DERBYSHIRE, M. C.; MARSH, J.; TIRNAZ, S.; NGUYEN, H. T.; BATLEY, J.; BAYER, P. E.; EDWARDS, D. Diversity of fatty acid biosynthesis genes across the soybean pangenome. **The Plant Genome**, v. 16, n. 2, e20334, 2023. 18 p. DOI: 10.1002/tpg2.20334.

DO, P. T.; NGUYEN, C. X.; BUI, H. T.; TRAN, L. T. N.; STACEY, G.; GILLMAN, J. D.; ZHANG, Z. J.; STACEY, M. G. Demonstration of highly efficient dual gRNA CRISPR/Cas9 editing of the homeologous GmFAD2-1A and GmFAD2-1B genes to yield a high oleic, low linoleic and α -linolenic acid phenotype in soybean. **BMC Plant Biology**, v. 19, n. 1, article 311, 2019. 14 p. DOI: 10.1186/s12870-019-1906-8.

DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, v. 12, p. 13-15, 1990.

FU, M.; CHEN, L.; CAI, Y.; SU, Q.; HOU, W. CRISPR/Cas9-mediated mutagenesis of GmFAD2-1A and/or GmFAD2-1B to create high-oleic-acid soybean. **Agronomy**, v. 12, 3218, 2022. 11 p. DOI: 10.3390/agronomy12123218.

KANAMORI, N.; MERTZ-HENNING, L. M.; MARIN, S. R. R. **Metodologia para transformação de soja via *Agrobacterium tumefaciens***. Londrina: Embrapa Soja, 2017. 6 p. (Embrapa Soja. Circular técnica, 128).

SANGER, F.; NICKLEN, S.; COULSON, A. R. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 74, p. 5463-5467, 1977.

SONG, H.; TAYLOR, D. C.; ZHANG, M. Bioengineering of soybean oil and its impact on agronomic traits. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 3, 2256, 2023. 23 p. DOI: 10.3390/ijms24032256.

WINFIELD, D. D.; CERMAK, S. C.; EVANGELISTA, R. L.; MOSER, B. R.; MCKINNEY, J.; PANTALONE, V. Evaluation of a high oleic soybean oil variety in lubricant and biodiesel applications. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 101, n. 5, p. 493-499, 2024. DOI: 10.1002/aocs.12788.