



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

CARACTERIZACIÓN DE GERMOPLASMA DE SOJA POR SU APTITUD PARA CONSUMO HUMANO EN URUGUAY

Giuliana María VERA SIRI

Magíster en Ciencias Agrarias
opción Ciencias Vegetales

Marzo 2023

**CARACTERIZACIÓN DE GERMOPLASMA
DE SOJA POR SU APTITUD PARA
CONSUMO HUMANO EN URUGUAY**

Giuliana María VERA SIRI

Magíster en Ciencias Agrarias
opción Ciencias Vegetales

Marzo 2023

Tesis aprobada por el tribunal integrado por Ing. Agr. PhD. Cristina Cabrera, Ing. Alim. Dra. Sofía Barrios, y Ing. Agr. Dr. Rafael Vidal el 28 de marzo de 2023. Autora: Ing. Agr. Giuliana Vera. Director: Q.F. PhD. Daniel Vázquez.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, agradezco a INIA por la posibilidad de otorgarme el espacio y una beca para realizar esta maestría. A mi director, Daniel Vázquez, por su constante ayuda y dedicación durante toda esta etapa. A Federico Condón, por su aporte durante el análisis estadístico de los datos. A las asistentes del laboratorio de calidad de granos, María García, Patricia González y Daniela Ramallo, por su colaboración durante el trabajo en ese laboratorio y por hacerme sentir una más de su equipo. A Monika Kavanová, por la inserción al laboratorio de biotecnología y por su desmedida voluntad de ayuda. A los laboratorios de suelo y de salud animal, por los equipos brindados y por la buena disposición para colaborar con nosotros. A Sergio Ceretta, por brindarnos las muestras y a todos aquellos que estuvieron presentes para dar una mano siempre que lo necesitamos. Especialmente, a mi familia y a Daniel, por su apoyo incondicional.

¡GRACIAS!

TABLA DE CONTENIDO

	Página
PÁGINA DE APROBACIÓN.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
RESUMEN.....	VI
SUMMARY.....	VII
1. <u>INTRODUCCIÓN</u>	1
1.1 CARACTERÍSTICAS DE LA ESPECIE Y SU PRODUCCIÓN	3
1.2 COMPONENTES DEL GRANO.....	5
1.2.1 <u>Proteínas</u>	5
1.2.2 <u>Carbohidratos</u>	8
1.2.2.1 Carbohidratos insolubles	9
1.2.2.2 Carbohidratos solubles	9
1.2.3 <u>Otros componentes</u>	10
1.3 ALIMENTOS DE SOJA	12
1.3.1 <u>Alimentos tradicionales</u>	14
1.3.2 <u>Nuevas formulaciones</u>	17
1.4 HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	19
1.4.1 <u>Hipótesis</u>	19
1.4.2 <u>Objetivos</u>	19
2. <u>SOYBEAN GERMOPLASM CHARACTERIZATION FOR HUMAN</u> <u>CONSUMPTION APTITUDE IN URUGUAY</u>	20
2.1 RESUMEN	21
2.2 ABSTRACT	22
2.3 RESUMO	23
2.4 INTRODUCTION.....	24
2.5 MATERIAL AND METHODS.....	26

2.5.1 <u>Materials</u>	26
2.5.2 <u>Determination of protein and oil contents</u>	29
2.5.3 <u>Preparation of sample</u>	29
2.5.4 <u>Protein fraction</u>	29
2.5.4.1 Soluble protein content.....	29
2.5.4.2 Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE).....	30
2.5.5 <u>Determination of soluble carbohydrates</u>	31
2.5.6 <u>Statistical analysis</u>	32
2.6 RESULTS AND DISCUSSION.....	33
2.6.1 <u>Study of genotypes and environments</u>	33
2.6.1.1 Descriptive statistics	33
2.6.1.2 Genotype and environment effects	35
2.6.2 <u>Genotype variability</u>	40
2.6.2.1 Descriptive statistics	40
2.6.2.2 Variability of genotypes	41
2.6.3 <u>Correlations</u>	45
2.6.4 <u>General discussion</u>	47
2.7 CONCLUSIONS	49
2.8 REFERENCES.....	50
3. <u>DISCUSIÓN GENERAL Y CONCLUSIONES GLOBALES</u>	57
4. <u>BIBLIOGRAFÍA</u>	60

RESUMEN

El interés por las proteínas de origen vegetal está en aumento; el grano de soja es una alternativa prometedora para satisfacer las necesidades de la demanda alimentaria de una población en crecimiento. Para Uruguay, productor de este grano, es importante caracterizar granos locales por su potencial para consumo humano. Se planteó conocer la variabilidad de genotipos disponibles en Uruguay para consumo humano en cantidad y calidad de proteínas, carbohidratos y aceite, y su relación con el rendimiento, en organismos genéticamente modificados (OGM) y convencionales. Se seleccionaron los ensayos buscando obtener variabilidad ambiental y genética. En total se analizaron 48 genotipos en tres sets: el primero con 13 genotipos en 3 ambientes, el segundo con 22 genotipos, incluyendo convencionales, y el tercero con 36 genotipos OGM, ambos en un solo ambiente. El diseño experimental fue de bloques al azar. Se midió rendimiento, proteína total y aceite; a su vez, por la importancia en alimentos, se evaluó la calidad de las proteínas, determinando proteína soluble, glicinina (11S), conglucina (7S), la relación 11S/7S; por último, dada la influencia en el sabor, se midió carbohidratos solubles, sacarosa y oligosacáridos (RFO). Se observó una influencia ambiental y genética, así como ausencia de interacción genotipo/ambiente en la mayoría de los parámetros. En particular, se identificó un importante efecto genético en sacarosa, explicando 38 % de la variabilidad. Se identificaron genotipos con combinaciones deseables para consumo humano (alta proteína total, alta relación 11S/7S, alta sacarosa y bajos RFO) y algunos de ellos, además, con alto rendimiento. Se encontró variabilidad entre los genotipos disponibles en Uruguay en los parámetros estudiados, sin observar diferencias entre los convencionales con los OGM.

Palabras clave: soja, composición del grano, genotipos de Uruguay, variabilidad genética, variabilidad ambiental.

SOYBEAN GERMLASM CHARACTERIZATION FOR HUMAN
CONSUMPTION APTITUDE IN URUGUAY

SUMMARY

Interest in plant-based proteins is on the rise; the grain's soybean is a promising alternative to meet the needs of the food demand of a growing population. For Uruguay, producer of this grain, it is important to characterize local grains for their potential for human consumption. It was proposed to know the variability of genotypes available in Uruguay for human consumption in quantity and quality of proteins, carbohydrates and oil, and its relationship with yield, in genetically modified organisms (GMO) and conventional. Trials were selected to obtain environmental and genetic variability. In total, 48 genotypes were analyzed in three sets: the first with 13 genotypes in 3 environments, the second with 22 genotypes, including conventional ones, and the third with 36 GMO genotypes, both in a single environment. The experimental design was randomized blocks. Yield, total protein and oil were measured; also, due to the importance in food, the quality of the proteins was evaluated, determining soluble protein, glycinin (11S), conglycinin (7S), the 11S/7S ratio; finally, due to the influence on flavor, soluble carbohydrates, sucrose, and oligosaccharides (RFOs) were measured. An environmental and genetic influence was observed, as well as the absence of genotype/environment interaction in most of the parameters. In particular, an important genetic effect was identified in sucrose, explaining 38 % of the variability. Genotypes with desirable combinations for human consumption were identified (high total protein, high 11S/7S ratio, high sucrose and low RFOs) and some of them, also, with high yield. Variability was found among the genotypes available in Uruguay in the parameters studied, without observing differences between the conventional ones and the GMO ones.

Keywords: soybean, grain composition, genotypes of Uruguay, genetic variability, environmental variability.

1. INTRODUCCIÓN

La evidencia histórica y geográfica indica que la soja se domesticó en el norte de China y se comenzó a cultivar en la región ya en la Nueva Edad de Piedra, hace unos 5.000 años. En ese entonces conocida como *shu*, ahora como *da dou* o *huang dou* en chino, fue mencionada en registros posteriores, y fue considerada uno de los cinco granos sagrados, junto con el arroz, el trigo, la cebada y el mijo. Durante el curso del cultivo de soja, los chinos habían transformado gradualmente la soja en varios tipos de alimentos sabrosos y nutritivos, incluyendo tofu, leche de soja, brotes de soja, pasta y salsa de soja. Junto con su cultivo, los métodos de preparación de alimentos de este grano se introdujeron gradualmente en Japón, Corea y algunos otros países del Lejano Oriente hace unos 1.100 años. Los pueblos de estos países no solo aceptaron el estilo chino de preparar alimentos de soja, sino que también modificaron los métodos e incluso crearon sus propios tipos de alimentos. Mientras que en Europa y América del Norte este cultivo se introdujo por primera vez en el siglo XVIII, la introducción a gran escala en los Estados Unidos no se produjo hasta principios de 1900. Hasta 1954, China lideró la producción mundial de soja, pero, desde entonces, Estados Unidos se ha convertido en el líder (Hartman et al., 2011, Pagano y Miransari, 2016).

El cultivo de soja tiene una larga historia en América del Sur, la cual se remonta a finales del siglo XIX. El primer registro de soja en la región fue en Brasil en 1882, seguida por introducciones en Argentina, Colombia y Paraguay en el primer tercio del siglo XX. En éstas, la producción de soja principalmente apuntaba a la experimentación y adaptación (Bonato y Bonato, 1987), así como al autoabastecimiento, específicamente de grupos inmigrantes de Asia. Históricamente, en Brasil se ubica la superficie más extensa de esta oleaginosa, seguido por Argentina. Hasta 1999, Brasil aproximadamente doblaba la superficie con soja de Argentina; sin embargo, debido a que su cultivo se ha acelerado desde la aprobación de la soja GM (en 1996), en el 2007 el área plantada con soja en Argentina fue tan solo 25

% más pequeña que la de Brasil. Consiguientemente, en el año 2010 estos dos países en conjunto sembraron el 90 % del total subregional de soja, mientras que el restante 10 % se distribuyó entre Bolivia, Paraguay y Uruguay. La introducción del cultivo de soja en Uruguay aumentó cuando los productores argentinos comenzaron a cruzar el río y trajeron sus técnicas de siembra y herramientas de cosecha modernas. Es así que la producción de soja se llevaba a cabo a través de “pooles de siembra”, que eran consorcios de inversores, principalmente de Argentina, que manejan grandes áreas de producción a nivel regional. Luego de esto, los productores uruguayos comenzaron a producir este grano. Uruguay está ubicado al sur de Brasil, y su clima templado y su proximidad con el Atlántico Sur hacen de este país una excelente ubicación para la producción y exportación de soja (Oyhantcabal y Narbondo, 2011).

El grano de soja está compuesto por aproximadamente 40 % de proteínas, 30 % de carbohidratos, 20 % de aceite y el resto por minerales y diferentes compuestos activos (Thrane et al., 2017). Desde el punto de vista nutricional, la soja contiene componentes esenciales para consumo humano, convirtiéndose así en una excelente fuente de proteínas y lípidos. Cabe destacar que los niveles de estos componentes están influenciados por una serie de factores ambientales y genéticos (Fehr et al., 2003, Kumar et al., 2006).

La sustitución de las proteínas animales por las vegetales viene ganando popularidad, principalmente por el fortalecimiento que ha tenido la implementación de prácticas de desarrollo sostenible y de estrategias nutricionales promovidas por las organizaciones públicas como consecuencia del rápido crecimiento demográfico. El grano de soja se caracteriza por ser una fuente rica en proteínas y por tener aptitudes para las transformaciones tecnológicas alimentarias, permitiendo que se desarrollen una gran variedad de productos alimenticios (Messina y Messina, 2010, Rizzo y Baroni, 2018).

Uruguay produce y exporta soja en grano, por lo que se exporta mucha proteína vegetal con potencial aplicación en alimentos para consumo humano. A pesar de esto, existe poco avance en la caracterización del germoplasma de soja con este destino, lo que hace surgir el interés de investigar los genotipos de soja que representen la producción de este país. Es así que se seleccionaron genotipos comerciales y del programa de mejoramiento de INIA para estudiarlos por su aptitud para consumo humano a través de diferentes parámetros. A continuación, se describen los antecedentes recabados, la hipótesis de trabajo y los objetivos. Posteriormente se presenta el artículo «Soybean germplasm characterization for human consumption aptitude in Uruguay», en el cual se muestran y discuten los principales resultados obtenidos durante esta investigación. Por último, se presentan la discusión y las conclusiones globales de este trabajo.

1.1 CARACTERÍSTICAS DE LA ESPECIE Y SU PRODUCCIÓN

Botánicamente, la soja pertenece a la familia Leguminosae, subfamilia Papilionoideae, y el género *Glycine*, L. La forma cultivada, denominada *Glycine max* (L.) Merrill, crece anualmente. Su planta es arbustiva con una altura que oscila entre 0,50 y 1,25 m, ramificando escasa o densamente, dependiendo de los cultivares y las condiciones de crecimiento. Los granos de soja son entre esféricos y ovalados largos. La mayoría de los granos son amarillos, pero algunos son de color verde, marrón oscuro, negro violáceo o negro. El grano maduro de soja está formado por tres partes básicas: la cubierta, el embrión y una o más estructuras de almacenamiento. Sin embargo, como en la mayoría de las otras leguminosas, el grano carece esencialmente de endospermo y contiene un embrión grande y bien desarrollado. Una de las características agronómicas más importantes para la soja y muchas otras especies de leguminosas es su capacidad para tomar nitrógeno del aire y convertirlo en N en forma de amonio metabolizable, un proceso conocido como fijación de nitrógeno. Esta característica hace que la

soja sea una buena opción de rotación para cultivos como el maíz con alto consumo de nitrógeno y además ayuda a mantener los costos de producción relativamente más bajos en comparación con otros cultivos que compiten por la misma área (Liu, 1997).

Hoy en día el grano de soja es cultivado en varias partes del mundo debido a su alto contenido de proteína y aceite. La producción mundial de soja ha crecido notoriamente: ha pasado de producir 26,8 millones de toneladas en 1960-1961 a alcanzar los 385,5 millones de toneladas en 2021-2022. Los principales productores son Estados Unidos, Brasil, Argentina, China e India (Ritchie y Roser, 2021). En Uruguay, comienza la expansión de este cultivo en la primera década del siglo XXI, que pasó de cubrir 12 mil hectáreas en la zafra 2000-2001 a sembrarse más de un millón de hectáreas desde la zafra 2010-2011, y se convierte en el principal cultivo de verano y el principal cultivo agrícola del país. En estos últimos años se produjeron cerca de 3 millones de toneladas (DIEA, 2021). El aumento en la producción se puede atribuir al incremento de la demanda por parte de China, el mayor comprador de soja en el mundo. El crecimiento de su demanda impulsó, en las últimas dos décadas, el aumento de los precios internacionales, lo que estimuló el ingreso de inversión extranjera, el uso de nuevas tecnologías y, de esta manera, el incremento del área sembrada. Además de esto, se presenta la demanda para satisfacer las necesidades de alimentos y combustible de la creciente población mundial. Uruguay tiene ventajas comparativas en la producción de alimentos por su dotación de recursos naturales, el clima y sus factores productivos. Con más del 90 % de la superficie apta para la actividad agropecuaria, nuestro país es un proveedor mundial confiable de alimentos y productos agrícolas (Arbeletche, 2020).

1.2 COMPONENTES DEL GRANO

1.2.1 Proteínas

La soja es un alimento importante en los países asiáticos, y también es aceptado como un ingrediente saludable en los Estados Unidos y Europa (Nishinari et al., 2018). Uno de los componentes principales del grano de soja es la proteína, conteniendo entre un 38-44 % en base seca (Hymowitz, 2008). Por consiguiente, este grano es una fuente importante de proteína en regiones de alto consumo y tiene un gran potencial para desarrollarse aún más como fuente de proteínas para vegetarianos y también para personas que no consumen proteínas animales por razones éticas o religiosas y ambientales (Nishinari et al., 2018). El perfil de aminoácidos del grano de soja se considera bueno, pero cabe destacar que, al igual que las proteínas de la mayoría de otras leguminosas, las proteínas de la soja son bajas en aminoácidos con azufre, siendo la metionina el limitante más significativo (Gatehouse et al., 1986, Müller, 1983). Sin embargo, la proteína de soja contiene suficiente lisina, que es deficiente en la mayoría de las proteínas de cereales. Esto hace que sea particularmente valioso combinar las proteínas de cereales con la de soja, ya que son complementarias para lisina y metionina (Liu, 1997). De la misma manera, muchos autores expresan que las mezclas de alimentos vegetales pueden tener una calidad nutricional potencialmente alta, lo que permite obtener como resultado una mejor ingesta total de proteínas y otros compuestos (Ahnen et al., 2019, Friedman, 1996, Hertzler et al., 2020, Young y Pellett, 1994).

Las proteínas de grano se pueden agrupar según distintos criterios. Por un lado, por su función, se dividen en dos tipos: metabólicas y de almacenamiento. Las proteínas metabólicas incluyen las enzimáticas y las estructurales, y son las encargadas de las actividades celulares normales. Por su parte, las proteínas de almacenamiento, que se sintetizan durante el desarrollo del grano y después de la germinación de la semilla, constituyen una fuente de nitrógeno y carbono para las plántulas en desarrollo. A su vez,

según los patrones de solubilidad, las proteínas de los granos de leguminosas se dividen en albúminas y globulinas. Estas últimas, se dividen en dos tipos distintos: leguminas y vicilinas. En comparación con las vicilinas, las leguminas tienen un tamaño molecular más grande, menos solubilidad en soluciones salinas y mayor estabilidad térmica. Cabe destacar que a estos dos tipos de globulinas se las conoce comúnmente como glicinina y conglicinina en soja, respectivamente (Liu, 1997). Estos nombres comunes son derivados del nombre del género de la planta de soja, glicina (Osborne y Campbell, 1898). Las proteínas de reserva globulares (globulinas) constituyen aproximadamente el 80 % de la proteína del grano, mientras que las proteínas biológicamente activas (enzimas, inhibidores enzimáticos, lectinas, etc.) constituyen el 20 % restante (Chajuss, 2004). Las globulinas de soja se dividen en cuatro fracciones de acuerdo a sus constantes de ultracentrifugación: 2S, 7S, 11S y 15S (Wolf, 1970). También se pueden clasificar por métodos inmunológicos en glicinina, α -conglicinina, β -conglicinina y γ -conglicinina. A su vez, las globulinas se han identificado de la siguiente manera: glicinina coincide con la globulina 11S, mientras que la fracción 15S es considerada como un polímero de la glicinina, α -conglicinina siendo parte de las fracciones de globulina 2S, y β -conglicinina y γ -conglicinina parte de la fracción 7S (Catsimpoilas y Ekenstain, 1969). Cabe aclarar que estas proteínas poseen nombres numéricos explicados por los pesos moleculares aproximados y la asignación de unidades de Svedberg a cada proteína en el proceso de sedimentación por ultracentrifugación (Wolf et al., 1971). Dentro de las proteínas nombradas, la glicinina (11S) y la β -conglicinina (7S) representan la mayor parte de las globulinas (Chajuss, 2004), las cuales son solubles en agua en determinadas condiciones (Yu et al., 2016). En general, las proteínas de soja son poco solubles en agua a pH 4,5 (punto isoeléctrico) y altamente solubles a pH mayores a 8,0. Estas características de solubilidad son útiles para aislarlas o concentrarlas (Gerde et al., 2020), dado que solo la fracción de proteína soluble se puede procesar y utilizar en alimentos (Li et al., 2012, Yu et al., 2016). Por una parte, la

globulina 7S es una glucoproteína trimérica que consta de tres tipos principales de subunidades (α' , α y β) con diferentes combinaciones y propiedades fisicoquímicas. Los valores de peso molecular de las subunidades de la proteína 7S son aproximadamente 80, 70 y 50 kDa para α' , α y β , respectivamente. Desde una perspectiva nutricional, los aminoácidos azufrados son bajos en la 7S; metionina, cisteína y el triptófano se encuentran ausentes en la subunidad β . Por otro lado, la 11S es un hexámero que consiste en una proteína ácida (A) y polipéptidos básicos (B) que están unidos por un puente disulfuro. La fracción ácida se encuentra en la región entre 34 y 39 kDa, mientras que la parte básica posee aproximadamente un peso molecular de 20 kDa (Utsumi et al., 1997). Debido a las diferencias en composición y estructura, las dos principales globulinas de soja, 7S y 11S, exhiben diferencias en valores nutricionales, calidad y propiedades funcionales. En general, la globulina 11S contiene 3-4 veces más metionina y cisteína por unidad de proteína que la 7S (Kitamura, 1995). Debido a que la proteína de soja es generalmente deficiente en estos aminoácidos que contienen azufre, la proteína 11S se vuelve más valiosa desde el punto de vista nutricional. En la actualidad, se han utilizado ampliamente en muchas formulaciones alimentarias debido a sus propiedades funcionales, más particularmente su solubilidad, que es un factor crítico en la aceptabilidad de bebidas, aditivos y fortificantes. El contenido de proteína soluble con condiciones desnaturalizantes (extraídas con mercaptoetanol) aproximadamente es entre 23 y 31 % (Stanojevic et al., 2011); y en agua, entre 15 y 31 % (Yu et al., 2013).

Diferentes genotipos de soja poseen diferencias en las composiciones químicas del grano, incluidas las proteínas, los lípidos, los azúcares, el ácido fítico y otros componentes químicos, lo que afecta directamente el rendimiento y en la calidad de los alimentos. Entre estos factores, la composición de las proteínas se considera como el factor más directo e importante, dado que impacta positivamente en la producción y la calidad final de estos (Guan et al., 2021, Zhang et al., 2018). Yu et al. (2016) encontraron que el contenido de

globulinas, 11S y 7S, tienen un efecto significativo en la textura de los alimentos. De esta manera, la selección de un mayor contenido de proteína, atendiendo su composición, ha sido un objetivo importante cuando una variedad de soja está destinada a utilizarse para alimentos (Cai y Chang, 1999, Poysa et al., 2006, James y Yang, 2016). A su vez, el ambiente en el que crece y las condiciones de almacenamiento afectan indirectamente en la calidad y el rendimiento de este (Zhang et al., 2018). De todas formas, la influencia de la ubicación de siembra y la fecha de esta es más débil que la del genotipo, dado que modificando este último se cambia directamente la composición proteica del grano de soja (Khatib et al., 2002, Min et al., 2005, Poysa y Woodrow, 2002).

1.2.2 Carbohidratos

El término carbohidrato, también conocido como sacárido, se refiere a una clase de compuestos con la fórmula química general $C_n(H_2O)_m$ y sus derivados. Incluye azúcares simples (mono- y disacáridos), oligosacáridos y polisacáridos. Los polisacáridos también se conocen como carbohidratos complejos, que incluyen almidón y algunos compuestos estructurales de la pared celular. Basado en la solubilidad, los carbohidratos también se pueden agrupar en solubles e insolubles en agua. La solubilidad en agua disminuye a medida que aumenta el número de unidades de azúcar (Liu, 1997). A su vez, se pueden clasificar en carbohidratos estructurales y no estructurales. Los primeros corresponden a los polisacáridos de la pared celular (celulosa, hemicelulosa y pectinas), mientras que los carbohidratos no estructurales incluyen almidón y diferentes mono-, di- y oligosacáridos.

Los carbohidratos son el segundo componente abundante en el grano de soja, siendo el 35 % del peso del grano seco (Medic et al., 2014). Sin embargo, en valor económico se consideran mucho menos importantes que la proteína y el aceite, y debido a esto es que se han hecho menos esfuerzos para estudiarlos y ver su potencial utilización (Liu, 1997). Por otro lado, se

sabe que el contenido total de azúcar y el aceite en el grano de soja se asocian positivamente entre sí y ambos se asocian negativamente con la proteína (Cartter y Hopper, 1942); y hay una variación significativa identificada en el contenido de azúcar total, sacarosa y oligosacáridos entre genotipos (Hou et al., 2009, Jiang et al., 2018, Mozzoni et al., 2013).

1.2.2.1 Carbohidratos insolubles

La fracción de carbohidratos insolubles de la soja (60 %), fibra dietética, provienen fundamentalmente de la cáscara y las estructuras de la pared celular del grano de soja. Esta fracción se compone mayoritariamente por polisacáridos no celulósicos y minoritarios celulósicos (Wilson, 2004). Las paredes celulares contienen aproximadamente un 30 % de pectinas, 50 % de hemicelulosa y 20 % de celulosa (Liu, 1997). Los polisacáridos de la pared celular de los cascotes no pueden ser utilizados eficientemente por animales no rumiantes y, por lo tanto, se usan más favorablemente en alimentos para rumiantes dado que su microflora ruminal sintetiza y secreta enzimas celulosas $\beta 1 \rightarrow 4$ que pueden hidrolizar constituyentes de la pared celular vegetal (Medic et al., 2014).

1.2.2.2 Carbohidratos solubles

La fracción de carbohidratos solubles representa aproximadamente el 40 % (10 % de los componentes de la soja) y está constituida por sacarosa y oligosacáridos (Wilson, 2004), y, en menor proporción, por fructosa y glucosa (Hou et al., 2009). En la madurez del grano, la sacarosa constituye entre un 41 y un 68 %, la estaquiosa entre 12 y 35 % y la rafinosa y la verbascosa entre 5 y 16 % (Cui et al., 2004). Estos niveles varían en función de la variedad y las condiciones agronómicas (Bainy et al., 2008, Hagely et al., 2020, Kumar et al., 2010).

Los azúcares afectan la calidad y los valores nutricionales de los alimentos de soja. Los azúcares solubles, y especialmente la sacarosa, contribuyen a la dulzura, convirtiéndose en un componente deseable dado que son los responsables del sabor de los productos de soja, aspecto muy importante para algunos productos que son relativamente nuevos en los mercados (Sexton et al., 2019, Taira, 1990). Al mismo tiempo, aumentar su contenido es clave para lograr una tasa adecuada de fermentación (por ejemplo, el tofu fermentado) durante el proceso de elaboración de este tipo de alimentos (Hou et al., 2009).

Los oligosacáridos son azúcares indeseables porque no son fácilmente digeribles. Se ha observado en el humano que luego de ingerir productos de soja, algunos carbohidratos que no fueron eliminados o degradados (Choct et al., 2010, Liener, 1994). Rafinosa, estaquiosa y verbascosa son los oligosacáridos que contienen una, dos y tres moléculas de galactosa, respectivamente, unidas a sacarosa a través de un enlace $\alpha 1 \rightarrow 6$ glucosídico. Debido a que los mamíferos no sintetizan la enzima α -galactosidasa requerida para hidrolizar los galacto-oligosacáridos a D-galactosa y sacarosa, se producen problemas de indigestión (Kumar et al., 2010). Es importante tener en cuenta que existen métodos de procesamiento que eliminan o modifican el carbohidrato para abordar estos problemas (Egounlety y Aworh, 2003, De Fátima et al., 2005, Mulimani et al., 1997).

Como consecuencia de lo dicho, los mercados de alimentos de soja prefieren granos con alto contenido de sacarosa y bajo contenido de rafinosa y estaquiosa, dado que proporcionarán altos niveles de energía y mejor sabor, sin inducir problemas de indigestión (Hou et al., 2009).

1.2.3 Otros componentes

Los lípidos representan uno de los componentes económicamente más importantes del grano de soja. El aceite del grano de soja se encuentra

principalmente en el cotiledón y comprende alrededor del 18-23 % del peso seco (Hymowitz, 2008). Dicho porcentaje de aceite puede variar con el genotipo de soja y con diversos factores medioambientales (Breene et al., 1988, Gerde et al., 2020), siendo año a año mucho más variable que la proteína (Hurburgh, 1994). Con respecto a cómo influye este componente en los alimentos de soja, no hay evidencias de que tenga efecto sobre su calidad (Min et al., 2005). El aceite de soja tiene muy buena calidad dado que la mayor proporción de componentes grasos de la soja corresponden a ácidos grasos insaturados. Entre estos se destacan el ácido linoleico con 18 carbonos y 2 dobles enlaces (18:2) correspondiendo a la serie omega 6, en un 54 %; el ácido oleico en un 22 % con 18 carbonos y 1 doble enlace (18:1) siendo de la serie omega 9; y el linolénico con 18 carbonos y 3 dobles enlaces (18:3) y de la serie omega 3, en un 7,5 %. Además, es calificado como de bajo costo, por lo que es considerado uno de los aceites vegetales más importantes del mundo contemporáneo (Hurburgh et al., 1990, Oviedo, 2012).

El grano de soja contiene micronutrientes necesarios para una buena nutrición, incluyendo vitaminas y minerales (Ali, 2010). Con respecto a las vitaminas, se encuentran las solubles en agua y las solubles en aceite. Las vitaminas hidrosolubles presentes en el grano de soja incluyen principalmente tiamina, riboflavina, niacina, ácido pantoténico y ácido fólico (Liu, 2004), y las vitaminas solubles en aceite, las vitaminas A y E esencialmente (Simonne et al., 2000). Con respecto a los minerales, la soja seca tiene un contenido de aproximadamente 5 %. Entre los elementos, se encuentra en mayor proporción el potasio (2,3 %), seguido del fósforo (0,6 %), el magnesio (0,3 %) y el calcio (0,2 %) y en menor proporción también se encuentran silicio, zinc, hierro, manganeso, cobre, molibdeno, boro, cromo y plomo (Kumar et al., 2010). Entre los diferentes componentes bioactivos de la soja, se encuentran como importantes las isoflavonas, las cuales han sido ampliamente estudiadas por sus implicaciones para la salud (Hu et al., 2020, Kang et al., 2010, Zaheer y Humayoun, 2017). Las isoflavonas pertenecen a una clase funcional de fitoquímicos no esteroideos llamados fitoestrógenos, que poseen

una estructura química y funciones similares a estrógenos endógenos de animales (Messina, 1999, Messina, 2003, Setchell y Cassidy, 1999).

El grano de soja también está compuesto por varios factores antinutricionales (por ejemplo, inhibidores de proteasa, ácido fítico, lectinas, etc.), los cuales deben desactivarse, siendo el calentamiento el medio principal para lograr esto (Stein et al., 2008). Por su parte, el ácido fítico, al tener poder quelante, hace que muchos minerales esenciales en la soja o en las dietas no estén disponibles para su absorción y utilización ni para humanos ni para animales. Además, el ácido fítico se puede unir a las proteínas en rangos extremos de pH, lo que hace que quede menos accesible por las enzimas digestivas. Los inhibidores de la proteasa en la soja, conocidos como inhibidores de tripsina (enzima proteolítica que es importante para la digestión de proteínas), son otros de los compuestos que juegan un papel importante en las propiedades nutricionales de la soja (Walsh et al., 1964). Se encuentran dos tipos de inhibidores de tripsina: el inhibidor de Kunitz y el inhibidor de Bowman-Birk (Liu, 2004).

1.3 ALIMENTOS DE SOJA

El aumento proyectado de la población durante las próximas dos o tres décadas trae como consecuencia la preocupación de cómo poder proporcionar buena disponibilidad de nutrientes a tantas personas. Se prevé que la población mundial en 2050 llegue a los 10.000 millones de personas. Esto provocará una mayor demanda alimentaria, lo que plantea la necesidad de recurrir a procesos de producción alimentaria más eficientes y sostenibles, además de que garanticen una alimentación placentera y saludable (FAO, 2017). Para producir alimentos (en particular proteínas adecuadas) para gran parte de la población mundial en crecimiento, las proteínas de origen vegetal se consideran una de las opciones más atractivas (Nadathur et al., 2017, Sexton et al., 2019).

Con respecto a la carne, se han notado cambios en el consumo de alimentos a base de esta. Las tendencias de consumo están influenciadas por cambios constantes en los individuos y la sociedad, que están vinculados a los efectos combinados de factores económicos, culturales, sociales, demográficos y psicológicos (Cheah et al., 2020, Milford et al., 2019, Whitton et al., 2021). Los motivos principales que impulsan al mercado a buscar alternativas de la carne son: la eficiencia relativamente baja de la producción de carne animal, la negatividad hacia el impacto en la salud del consumo en exceso de algunos productos cárnicos, el estrés ambiental asociado con su producción y el bienestar animal (Kumar et al., 2015, Sanchez-Sabate y Sabaté, 2019). Una encuesta reciente (2021) que evaluó diferentes estilos de vida en 10 países europeos indicó que los omnívoros, flexitarianos, pescatarianos, vegetarianos y veganos representaban el 48-68 %, 23-42 %, 2-5 %, 3-7 %, y 1-4 % de la población, respectivamente (Smart protein, 2021). Con respecto a una encuesta en Uruguay, si bien la mayoría de los participantes eran carnívoros (89 %), una proporción significativa (38 %) indicó reducir su consumo de carne en el año 2021, principalmente debido al precio y la salud, entre las personas de nivel socioeconómico bajo-medio y alto, respectivamente. En esta investigación, un pequeño porcentaje de los participantes (2,8 %) expresó asociaciones negativas entre la carne y la nutrición y la salud humana, evidenciadas por palabras como ácido úrico, cáncer y colesterol (Realini et al., 2022). Investigaciones previas (De Boer et al., 2017, Kemper y White, 2021) han destacado que los consumidores flexitarianos perciben la nutrición y la salud como una razón para comer carne, pero también como una motivación para moderar o reducir su consumo. Esta paradoja se informa con frecuencia en la literatura dado que la carne y los productos cárnicos pueden verse como si tuvieran una imagen de doble espejo con respecto a la composición y la nutrición (Glitsch, 2000, Troy y Kerry, 2010), en parte debido a los hallazgos contradictorios de la investigación médica (Alisson-Silva et al., 2016, Stanton et al., 2022).

Es así que actualmente la industria alimentaria está explorando el potencial de la soja como alimento funcional, es decir, es considerado que, además de su valor nutritivo, contiene componentes biológicamente activos que aportan algún efecto añadido y beneficioso para la salud y reducen el riesgo de contraer ciertas enfermedades (Kaur y Das, 2011). Los alimentos elaborados con soja se pueden dividir en cuatro clases: ingredientes de soja, alimentos tradicionales de soja, alimentos de soja de segunda generación y alimentos donde la soja se utiliza como ingrediente funcional. Los ingredientes son los productos de proteína de soja procesados que incluyen harina de soja (desgrasada y entera), concentrados, aislados de soja, vegetales texturizados y proteína de soja hidrolizada. Los alimentos tradicionales incluyen leche de soja, tofu, tempe, *natto*, miso y salsa de soja. Los alimentos de segunda generación son aquellos imitadores de carne como las hamburguesas, las salchichas y el queso de soja, y la imitación de pollo. Por último, los alimentos en los que se utiliza la soja como ingrediente funcional incluyen productos horneados a los que se agrega harina de soja (Jideani, 2011, Messina et al., 2022, Qin et al., 2022). El grano de esta leguminosa es una fuente de proteínas económica y de alta calidad debido a sus ventajas nutritivas y saludables, y por esto es importante desarrollar nuevos alimentos o una gama de nuevas formulaciones de alimentos con nuevas texturas (Stanojevic et al., 2011).

1.3.1 Alimentos tradicionales

Uno de los alimentos de soja tradicional es la llamada *leche de soja*. Según el método de preparación, generalmente se divide en tradicional y moderna. La tradicional, conocida como *dou jiang* en chino, se elabora con un método tradicional en el hogar. Este producto tiene varios inconvenientes: no solo tiene una vida útil limitada, sino que también posee un sabor característico a frijol y un sabor amargo o astringente, y todos los nutrientes provienen únicamente de la soja original. Por el contrario, la leche de soja

moderna, a veces denominada bebida de soja, se produce utilizando más tecnología. Conocidos como *dou ru* o *dou nai* en chino, estos productos tienen un sabor relativamente suave y, en la mayoría de los casos, están aromatizados, endulzados y/o fortificados para un mejor sabor y una mejor nutrición, además de estar envasados para una vida útil más prolongada (Liu, 2004).

Un alimento antiguo y muy tradicional del grano de soja es el tofu. Los historiadores creen que el método para preparar tanto la leche de soja como el tofu fue inventado por Liu An en la dinastía Han en China, alrededor del año 164 a. C. (Liu, 1997). El tofu es una base de soja extraída con agua y precipitada con sal o ácido en forma de cuajada, parecido a un queso blanco suave o un yogur muy firme (Liu, 2004). Para prepararlo, básicamente, se lavan los granos de soja, se remojan por un tiempo y luego se trituran con agua. Posteriormente, lo obtenido de allí se calienta y se filtra la suspensión que contiene las fibras (Liu, 1997), lo que produce un extracto que contiene las proteínas de soja, es decir, las globulinas de reserva (11S y 7S) y las proteínas biológicamente activas. Al acidificar dicho extracto hasta un pH de 4,5 (pH isoelectrico), se da la precipitación de las globulinas de reserva y se obtienen la cuajada y el suero de soja (Sobral y Wagner, 2009). Dicho procedimiento también se puede hacer agregando un coagulante, precipitando las proteínas.

La venta de soja para la fabricación de tofu y productos relacionados se viene expandiendo, al igual que los contratos con productores o empresas de semillas para comprar genotipos específicos de soja sobre la base del color de la semilla, el contenido de proteína u otras características (Kim y Wicker, 2005, Zhang et al., 2018, Zheng et al., 2020). De todos los parámetros, las proteínas son las que más afectan la calidad del tofu. En general, el contenido de la 7S influye en la dureza del tofu, mientras que su elasticidad está relacionada con el contenido de 11S (Zhang et al., 2018). A su vez, un gel obtenido de la mezcla de ambas proteínas con una alta relación de masa de

11S/7S exhibió el más alto nivel de dureza y cohesión (Tay y Pereira, 2004). Cuando aumenta la relación 11S/7S, se pueden producir más enlaces covalentes a través de puentes disulfuro, ya que la proteína 11S contiene, en total, más grupos de cisteína que la proteína 7S. Por lo tanto, se supone que fuerzas moleculares más fuertes, como los enlaces covalentes, aumentan la dureza del tofu (Mujoo et al., 2003). Además, una mayor proporción de 11S/7S en tofu es nutricionalmente beneficioso debido al mayor contenido de aminoácidos que contienen azufre (Sharma et al., 2014). Es de destacar que la proporción de proteína 11S/7S difiere mucho entre genotipos de soja (Stanojevic et al., 2011); por lo tanto, hay autores que lo consideran un índice confiable para la selección de variedades de soja para producir productos como el tofu (Khatib et al., 2002, Meng et al., 2016).

Dentro de las alternativas de alimentos, el consumo directo de soja vegetal verde es muy popular en China, Japón y algunos otros países del lejano este. En Japón, la soja inmadura se conoce como *edamame*, y se venden frescos o congelados. Dependiendo de la etapa de madurez, el contenido de proteína de la soja vegetal verde está en el rango de 11-16 % y aceite en el rango de 8-11 %, mientras que, en base libre de humedad, tienen una composición de proteína y aceite muy cercana a la de la soja madura (Young et al., 2000).

El *natto*, otro alimento de soja, es originario de la parte norte de Japón hace unos 1000 años. Este es uno de los pocos productos en los que predominan las bacterias, tiene un aspecto viscoso, un sabor dulce y un aroma característico. En particular, el *natto* tiene una cantidad significativa de vitamina K, que se deriva del microorganismo *Bacillus subtilis* (Yanagisawa y Sumi, 2005). En diferentes estudios se ha visto que el *natto* promueve la formación de osteocalcina, una proteína ósea, y participa en la formación ósea (Yamaguchi et al., 2001).

Por último, el tempe se originó en Indonesia hace muchos siglos. Se elabora fermentando soja descascarada y cocida con moho, *Rhizopus sp.* Su

textura es similar a la carne y posee sabor a hongos. En los últimos años, se ha descubierto que el tempe proporciona algunos beneficios para la salud, incluidos efectos antimicrobianos y antioxidantes (Hachmeister y Fung, 1993).

1.3.2 Nuevas formulaciones

Los alimentos a base de soja se han considerado durante mucho tiempo como suplementos prometedores para los alimentos ricos en proteínas. El aumento en el consumo de alimentos de soja en los últimos años, debido principalmente a la mayor conciencia del consumidor sobre sus beneficios potenciales para la salud, ha resultado en una mayor demanda de productos de calidad (James y Yang, 2016). Los productos alimenticios de soja tradicionalmente preparados tienen sabores que en las sociedades occidentales son el principal obstáculo para la aceptación generalizada de muchos consumidores (Stanojevic et al., 2011). Dada la creciente adopción de estilos de vida vegetarianos, una gran variedad de productos alimenticios a base de soja está más disponible en las tiendas de comestibles; además de la demanda del mercado, una razón para su acentuada popularidad depende de las propiedades nutricionales y versátiles de los granos de soja, que son aptos para las transformaciones tecnológicas alimentarias (Hendrawati et al., 2021, Rizzo y Baroni, 2018).

Actualmente hay un mayor interés en las proteínas de origen vegetal y el grano de soja se suele utilizar como sustituto de la carne, ya que tiene un alto contenido en proteínas. Se están desarrollando análogos de los productos cárnicos que generalmente simulan estrechamente la carne de músculo entero de animal en textura, sabor y apariencia, y productos reestructurados que imitan las carnes procesadas, como hamburguesas, empanadas, salchichas y nuggets. Asociaciones y cooperaciones entre emprendedores y empresas de capital de riesgo como Beyond Meat, Impossible Foods y Gardein son ejemplos de nuevos negocios exitosos. Muchas empresas tradicionales de carne y aves de corral, incluidas Tyson, Smithfield, Perdue

Farms, Hormel Foods y Maple Leafs, también se han unido al mercado alternativo de la carne y han desarrollado sus propias marcas de productos de origen vegetal (Joshi y Kumar, 2015, Sha y Xiong, 2020, Zhang et al., 2022).

El crecimiento del mercado de la carne de origen vegetal parece estar bien posicionado para una mayor expansión e innovación. Se prevé que el crecimiento del mercado de la carne de origen vegetal aumente de 4,6 billones de dólares en 2018 a 85 billones de dólares en 2030 y, como hito para el año 2026, alcance los 30,9 billones de dólares (Watson, 2019). En mayo de 2019, Impossible Foods, en asociación con Burger King, lanzó Impossible Whoppers sin carne a base de plantas (Yaffe-Bellany, 2019); en enero de 2020, se agregaron al menú del restaurante Impossible Pork e Impossible Sausage sin carne (Lucas, 2020). En agosto de 2019, KFC comenzó a servir «alitas de pollo» deshuesadas a base de plantas y nuggets desarrollados por Beyond Meat y LightLife. Kroger, la cadena de supermercados más grande de los EE. UU., también introdujo «carne molida», «hamburguesas» y otros productos sin carne a base de proteína de guisantes bajo su línea Simple Truth Emerge. Estos ensayos comerciales iniciales han dado lugar a una ola de numerosas otras cadenas de comida rápida que prueban productos alternativos de la carne y este nuevo aumento del mercado parece continuar en los próximos años (CB Insights, 2020).

El desarrollo de las proteínas de origen vegetal tiene un gran potencial, no solo por el cambio de mentalidad de los consumidores y el crecimiento exponencial de la inversión en este mercado, ni por todos los países implicados en ello, sino por ser una alternativa comprometida con el desarrollo sostenible y la seguridad alimentaria. Los granos de soja son una de las materias primas más consideradas para los alimentos tradicionales y prometedoras para la producción de varios análogos y sustitutos de la carne (Kumar et al., 2015). Por todo esto es que este mercado tiene un futuro

prometedor, en particular para un país como Uruguay, con alta producción de soja y potencial de segregación por distintos grupos de calidad.

1.4 HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

1.4.1 Hipótesis

Las hipótesis del presente trabajo son: i) existe variabilidad entre genotipos de soja en los componentes que afectan en la calidad de alimentos de soja, principalmente, proteína soluble, relación glicinina/conglicinina y composición de carbohidratos; ii) se puede encontrar efecto del genotipo y del ambiente de los diferentes parámetros evaluados y iii) se pueden identificar genotipos de soja que son especialmente buenos para consumo humano (con alta proteína total, sacarosa, relación 11S/7S y bajos en oligosacáridos).

1.4.2 Objetivos

Como objetivo general de este trabajo se plantea caracterizar la variación en calidad de diferentes genotipos disponibles en Uruguay para consumo humano.

Como objetivos específicos, se plantea:

- i. Conocer la variabilidad entre genotipos en contenido de proteína total, proteína soluble, carbohidratos y aceite en genotipos OGM y convencionales, y su relación con el rendimiento.
- ii. Evaluar el efecto ambiente, genotipo e interacción en los diferentes parámetros.
- iii. Identificar genotipos que tengan buena combinación de parámetros de calidad para consumo humano.

2. SOYBEAN GERMPLASM CHARACTERIZATION FOR HUMAN CONSUMPTION APTITUDE IN URUGUAY

Giuliana Vera¹, Federico Condón¹, Daniel Vázquez^{1*}

¹Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA), Programa Nacional de Investigación, Estación Experimental INIA La Estanzuela, Colonia, Uruguay.

*Corresponding author: Daniel Vázquez, Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA), Estación Experimental INIA La Estanzuela, 39173, Colonia, Uruguay, e-mail: dvazquez@inia.org.uy.

2.1 RESUMEN

La soja (*Glycine max (L.) Merrill*) es un cultivo de importancia económica mundial; su grano constituye una importante fuente de proteínas y carbohidratos para el consumo humano. El objetivo de este trabajo es caracterizar genotipos disponibles en Uruguay de soja para consumo humano en cuanto a cantidad y calidad de proteína, composición de carbohidratos y contenido de aceite en relación con el rendimiento, tanto en genotipos genéticamente modificados como convencionales. En este estudio, se estudiaron 13 genotipos cultivados en 3 ambientes distintos (dos localidades, dos años), un grupo convencional (22 genotipos) y un grupo genéticamente modificado (36 genotipos), cultivados en un solo ambiente. Los parámetros medidos fueron rendimiento, proteína total, contenido de aceite, proteína soluble, glicinina (11S), conglucina (7S), relación 11S/7S, carbohidratos solubles, sacarosa y oligosacáridos totales de la familia de las rafinosas. Se detectó un efecto ambiental y del genotipo significativo para la mayoría de los parámetros. La interacción entre genotipo y ambiente fue significativa para proteína total, contenido de aceite y sacarosa. La proteína soluble y la fracción 11S solo se vieron afectadas por el ambiente; carbohidratos solubles y la fracción 7S solo fue afectada por el genotipo. Se logró identificar genotipos con buenas características para el consumo humano (alta proteína total, sacarosa, relación 11S/7S y bajos oligosacáridos) en todos los ambientes, tanto de genotipos genéticamente modificados como convencionales. Se encontró variabilidad entre los genotipos disponibles en Uruguay en los parámetros estudiados.

Palabras clave: soja, alimentos de soja, genotipos de Uruguay, proteína de soja, carbohidratos de soja, composición de soja, variabilidad genotípica, variabilidad ambiental.

2.2 ABSTRACT

Soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) is a crop of world economic importance; its grain constitutes a significant source of protein and carbohydrates for human consumption. This work's objective is to characterize soybean genotypes available in Uruguay for human consumption regarding protein quantity and quality, carbohydrates composition and oil content in relation with yield, both in genetically modified and conventional genotypes. In this study, 13 genotypes grown in 3 different environments (two locations, two years), a conventional set (22 genotypes) and a genetically modified set (36 genotypes) grown in a single environment were subject to study. The traits measured were yield, total protein, oil content, soluble protein, glycinin (11S), conglycinin (7S), the 11S/7S ratio, soluble carbohydrates, sucrose and total raffinose family oligosaccharides. A significant environmental and genotype effect was detected for most of the parameters. The interaction between genotype and environment was significant for total protein, oil content and sucrose. Soluble protein and the 11S fraction were only affected by environment; soluble carbohydrates and the 7S fraction were only affected by genotype. It was possible to identify genotypes with good characteristics for human consumption (high total protein, sucrose, ratio 11S/7S and low oligosaccharides) across environments, both genetically modified and conventional genotypes. Variability was found among the genotypes available in Uruguay in the parameters studied.

Keywords: Soybean, soy foods, genotypes of Uruguay, soybean protein, soybean carbohydrates, soybean composition, genotype variability, environmental variability.

2.3 RESUMO

A soja (*Glycine max* (L.) Merrill) é uma cultura de importância econômica mundial, sendo que seu grão constitui uma importante fonte de proteínas e carboidratos para a alimentação humana. O objetivo deste trabalho é caracterizar genótipos de soja disponíveis no Uruguai para o consumo humano em termos de quantidade e qualidade protéica, composição de carboidratos e teor de óleo em relação ao rendimento, tanto em genótipos geneticamente modificados quanto em convencionais. Neste trabalho, foram estudados 13 genótipos de soja cultivados em 3 ambientes diferentes (duas localidades, dois anos) além de um grupo convencional (22 genótipos) e outro geneticamente modificado (36 genótipos), cultivados em um único ambiente. Os parâmetros avaliados foram rendimento, proteína total, teor de óleo, proteína solúvel, glicinina (11S), conglucina (7S), relação 11S/7S, carboidratos solúveis, sacarose e oligossacarídeos totais da família da rafinose. Efeito ambiental e genotípico significativo foi detectado para a maioria dos parâmetros analisados. A interação entre genótipo e ambiente foi significativa para proteína total, teor de óleo e sacarose. A proteína solúvel e a fração 11S foram afetadas apenas pelo ambiente; carboidratos solúveis e a fração 7S foi afetada apenas pelo genótipo. Foi possível identificar genótipos com boas características para consumo humano (alto teor de proteína total, sacarose, relação 11S/7S e baixos oligossacarídeos) em todos os ambientes, tanto transgênicos quanto genótipos convencionais. Os genótipos de soja disponíveis no Uruguai apresentaram variabilidade a partir dos parâmetros estudados.

Palavras-chave: Soja, alimentos à base de soja, genótipos uruguaios, proteína da soja, carboidratos da soja, composição da soja, variabilidade genotípica, variabilidade ambiental.

2.4 INTRODUCTION

There is a growing awareness in the population about consuming healthy and sustainable foods that has led to a worldwide interest rise in plant protein sources alternatives to meat. Ethical and religious issues are also leading to concerns surrounding animal-based proteins (Hartmann and Siegrist, 2017). Population growth, expected to reach 9 billion by 2050 (Gu et al., 2021), is another factor driving the growing interest in plant-based protein sources to meet the increasing demand for proteins (Seto and Ramankutty, 2016). Soybean seed is the most used and characterized plant protein source (Messina et al., 2022; Qin et al., 2022; Zheng et al., 2022). Soybean derived ingredients have a significant presence in the plant based-protein industry due to their nutritional properties, bioavailability and techno-functionalities that enhance the textural characteristics of end products (Balestra and Petracci, 2019; Samard and Ryu, 2019). In addition, they usually have low cost compared with other food ingredients. Soy proteins have long been used in different foods such as natto, tempeh and tofu (Fukushima, 1981). Currently, these proteins are also used to make meat analogs, that is, restructured products that mimic processed meats, such as hamburgers, patties and nuggets (Sha and Xiong, 2020).

Soybean production has grown significantly over the past 20 years, becoming one of Uruguay's leading export products; at present, it is the main summer crop and the main agricultural crop of the country (Garance and Arbeletche, 2020). Additionally, the global demand of soybean for food production is increasing (Zheng et al., 2022); however, no studies on the suitability of soybean for human consumption were found.

Soybean grain had an average protein content of 38-40 %, but it can range from 35 to 50 % (Hwang et al., 2014). Genotype variability in both protein content and composition has an impact on yield and quality of soy foods (Khatib et al., 2002; Min et al., 2005). Furthermore, Murphy and Resurreccion (1984) found that protein composition is also influenced by environment; the

most important fraction of the protein is the soluble one (15-30 %) because it can be processed and utilized in traditional soy foods. Glycinin (11S) and β -conglycinin (7S) are the major storage proteins (globulins); they both are the main groups of soluble protein and have a significant effect on food texture. The 11S fraction is richer in disulfide bonds and sulfhydryl groups which leads to a gel with higher hardness and elasticity more desirable in food production. On the other hand, 7S fraction has more hydrophilic amino acids, creating gels with lower hardness and elasticity. Therefore, it is desirable to increase the 11S content and reduce the 7S content for both nutritive properties and processing soy food (Zhou et al., 2019). Furthermore, the ratio of 11S to 7S globulins (11S/7S) was positively and significantly correlated with tofu yield (Mujoo et al., 2003). Using SDS-PAGE (sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis) technique the soluble proteins 11S and 7S can be identified. The fraction 11S is a trimeric glycoprotein consisting of three major types of subunits (α' , α , β) with different combinations and physicochemical properties. The fraction 7S is a hexamer consisting of acidic (A) and basic (B) polypeptides that are linked by disulfide bridges and composed of glycinin subunits (Iibuchi and Imahori, 1978; Kitamura et al., 1976). The grain oil content is on average 20 % with a variation range of 15,4-22,0 % (Kumar et al., 2006). This variation can be related to both genotype and environmental factors (Assefa et al., 2018), but does not influence soybean food products (Schaefer and Love, 1992). Soluble carbohydrates represent a range of 7.0-10.0 % of the grain weight and are composed mostly by sucrose (4.7-5.7 %) and the raffinose family oligosaccharides (RFOs) (4.2-5.9 %): stachyose, raffinose and verbascose (Choung, 2005; Kumar et al., 2010). Raffinose, stachyose and verbascose are sucrose linked with one, two and third galactose molecules, respectively, via $\alpha 1 \rightarrow 6$ glycosidic (Obendorf et al., 1998). Due to the absence of $\alpha 1 \rightarrow 6$ galactosidase enzyme required to break down this linkage in the human gastrointestinal tract, the RFOs are not digested, producing gases and abdominal discomfort (Karr-Lilienthal et al., 2005). Therefore, sugars affect soyfood quality and nutritional values. The

benefits of soybeans for human consumption have been demonstrated, but many consumers avoid its use mainly due to the presence of off-odours and off-flavours (Esteves et al., 2010). Sucrose content contributes to the sweetness to soy-based food products like soymilk, tofu and natto; moreover, it is the major energy source for fermentation (Taira, 1990).

The main objective in this study was to describe the diversity observed among soybean genotypes and environments for human consumption in Uruguay; specifically, we wanted to measure the variability in yield, total protein content, soluble protein, carbohydrates and oil in adapted germplasm, including both GMO and conventional, and both commercial and advanced breeding genotypes. In addition, this study also sought to understand the effect of the genotype and the environment on the different parameters, and identify genotypes with a good combination of them for human consumption.

2.5 MATERIAL AND METHODS

2.5.1 Materials

A total of 48 soybean genotypes, including 38 from the INIA soybean breeding program and 10 commercial cultivars, were selected to represent the soybean genotype variability available in Uruguay (Table 1). These genotypes were sown at different environments, defined by planting date, location and year. A total of 217 samples were analyzed. Each trial had two replications of 1,28 m x 4,00 m plots. A total of 13 genotypes (4 conventional breeding lines, from INIAs breeding program, and 9 commercial GMO cultivars) were grown at three environments in order to study the influence of genotype, environment and their interaction on different factors (this set is referred as "GxE"). The first environment (LED20) was characterized by a late planting date was December 19th 2019 at INIA La Estanzuela (34°20'16.89" S; 57°41'25.90" W); the total rainfall in this period was 375 mm (low rainfall). The second environment was November 06th 2018 sowing date, also at INIA La Estanzuela (LEN19), where

the rainfall was 604 mm (medium rainfall). The third environment was obtained sowing in November 08th 2018 in Young (32°42'06.97'' S; 57°38'17.82'' W) (YON19), with a rainfall of 1138 mm (high rainfall). A second set was configured by 22 genotypes, composed by 12 non-GMO experimental lines and 10 GMO commercial cultivars as check (CONV). Location and sowing date were the same that LED20. The third set included 36 GMO genotypes, including 10 checks and 26 from breeding program (GM), sown in December 18th 2020 at INIA La Estanzuela. All GMO genotypes had the Roundup Ready (RR) event transgenic.

Table 1. List of soybean genotypes included in the three sets characterized.

Genotypes	GxE	CONV	GM	MG	Genotypes	GxE	CONV	GM	MG
DM 50i17 IPRO*	x	x	x	5.0	SJ13619*			x	5.8
NA 5009 RG*	x	x	x	5.0	SJ12395*			x	5.2
NA 5909 RG*	x	x	x	5.9	SJ12394*			x	5.2
GE 590 CI*	x	x	x	5.9	SJ14507*			x	6.6
NA 5509 RG*	x	x	x	5.5	SJ13616*			x	6.5
5958 RSF IPRO*	x	x	x	5.9	SJ13425*			x	6.8
62R63 RSF*	x	x	x	6.2	SJ13327*			x	6.7
DM 6.8i*	x	x	x	6.8	SJ12210*			x	6.6
DM 6.2i*	x	x	x	6.2	SJ13618*			x	6.5
5351 RSF*		x	x	5.3	SJ14502*			x	6.6
SJ13621	x	x		5.7	SJ13626*			x	5.5
SJ13623	x	x		5.9	SJ13371*			x	6.0
SJ13624	x	x		6.2	SJ14504*			x	5.9
SJ13625	x	x		6.2	SJ14490*			x	5.0
SJ14494		x		6.0	SJ13064*			x	5.0
SJ14497		x		4.9	SJ13615*			x	5.2
SJ14498		x		5.0	GENESIS 6201*			x	6.2
SJ14508		x		6.2	GENESIS 5601*			x	5.6
SJ14509		x		6.6	GENESIS 6301*			x	6.3
SJ14511		x		5.7	GENESIS 5602*			x	5.8
SJ14513		x		6.1	GENESIS 5501*			x	5.5
SJ14514		x		5.5	GENESIS 6602*			x	6.6
SJ13614*			x	5.9	GENESIS 5901*			x	5.9
SJ14505*			x	6.0	FS 59*			x	5.9

GxE: set of 13 genotypes grown in three environments; CONV: set of 22 genotypes grown in one environment; GM: set of 36 genotypes grown in one environment. MG: Maturity groups. * indicates GMO genotypes. Genotypes 1 through 10 are commercial checks used as standard references in yield and adaptation trials. Genotypes with the prefix “SJ”, “Genesis” and “FS” belong to INIA’s breeding program.

2.5.2 Determination of protein and oil contents

The nitrogen content was determined in 2 reps by Kjeldahl Foss 2100 (Foss, Denmark) and the total protein content was estimated using the factor 6.25 (ISO 20483:2013). The samples were ground in a Perten Laboratory mill 3303 model (Perten Instruments, Sweden), using position 5 and then reground in position 1. The oil content was obtained with no replicates by nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy using a Spinlock SLK SG 100 model (Spinlock Magnetic Resonance Solutions, Argentina), calibrated with hexane extraction data obtained with a Twisselmann system

2.5.3 Preparation of sample

The grown samples obtained for Kjeldahl were reground in a SYSPRO Lab Instruments (Agro Uruguay, Uruguay) mill. Samples were defatted with a Twisselmann system (Matthäus and Brühl, 2001); basically, 10 g were left for 3 hours in the system using hexane (petroleum ether 62-68 °C, Cicarelli, Argentina). The defatted samples were used to measure soluble protein and carbohydrates.

2.5.4 Protein fraction

2.5.4.1 Soluble protein content

Protein extraction was done as described Stanojevic et al. (2011); basically, 50 mg of sample were extracted in an Eppendorf tube with 1 mL of extraction buffer (0.03 M Tris-HCl, pH 8.0, 0.01 M β -mercaptoethanol) obtaining a sample to buffer ratio of 1:20. The tube was vortexed every 30 min for 2 hours and it was centrifuged using a centrifuge Hermle Z 300 K model (Labnet, USA) at 8000 rpm (5018 g) for 20 min, obtaining the protein extract. The protein content in the supernatant was determined in duplicates using Bradford reagent (Sigma-Aldrich, USA), with bovine serum albumin (Amresco, USA) as standard.

2.5.4.2 Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE)

The procedure of SDS-PAGE was according to Laemmli (1970), with minor modifications. The separating gel was 10 % acrylamide, 0.375 M Tris-HCl pH 8.0, 0.1 % SDS, 0.1 % tetramethylethylenediamine (TEMED), 0.04 % ammonium persulfate (APS); and stacking gel was 5 % acrylamide, 0.125 M Tris-HCl pH 6.8, 0.1 % SDS, 0.1 % TEMED and 0.04 % APS.

The protein extract was diluted to a concentration of 2,5 µg/µL of soy protein in a ratio 1:8 sample/extraction buffer; 10 µL sample was loaded into each well (i.e., about 25 µg of protein). Then, loading buffer (0.01 M Tris-HCl, 1 % SDS, 0.1 % dithiothreitol, 0.05 % bromophenol blue, 10 % glycerin), was added in a 1:1 ratio, heated at 95 °C for 10 min and cooled to room temperature. Each sample was seeded in duplicate. The gels were run in a buffer solution of pH 8.3 [0.025 M Tris, 0.192 M glycine, and 0.1 % SDS] at 80 V until the line passed the partition between the gels and then changed to 120 V. Gels were stained by shaking in the staining solution (0.1 % Coomassie Brilliant Blue R250 dissolved in 50 % trichloroacetic acid) for 1 h and they were destained with 7 % trichloroacetic acid overnight. The molecular weight of the bands was estimated using molecular weight markers of Thermo Scientific (Lithuania). These included β-galactosidase (116.0 kDa), bovine serum albumin (66.2 kDa), ovalbumin (45.0 kDa), lactate dehydrogenase (35.0 kDa), REase Bsp98I (25.0 kDa), β-lactoglobulin (18.4 kDa) and Lysozyme (14.4 kDa).

SDS-PAGE separated the subunits of the proteins 7S and 11S as it is shown in Figure 1. The separation between the proteins 11S and 7S is at 44 kDa (Liu et al., 2007). The identification of the bands was based in previous reports (Pesic et al., 2005; Fontes et al., 1984). The subunits identified of the 7S protein were α', α and β with molecular weight of 80, 70 and 50, respectively. The subunits of the 11S protein are grouped in acidic (An) and basic (Bn) ones. The band with molecular weight of 40 kDa is the acidic A3

polypeptide and the group of polypeptides close to 35 kDa corresponded to the major group of acidic polypeptides (A1, A2, A4, A6, A7; Figure 1). The other acidic polypeptide A5 located at the end of the gel had a molecular weight of about 15 kDa. The group of protein bands with molecular weight values of approximately 20 kDa were basic components (B1, B2, B4). The other band above the basic components is the B3 polypeptide of a basic subunit of the 11S fraction.

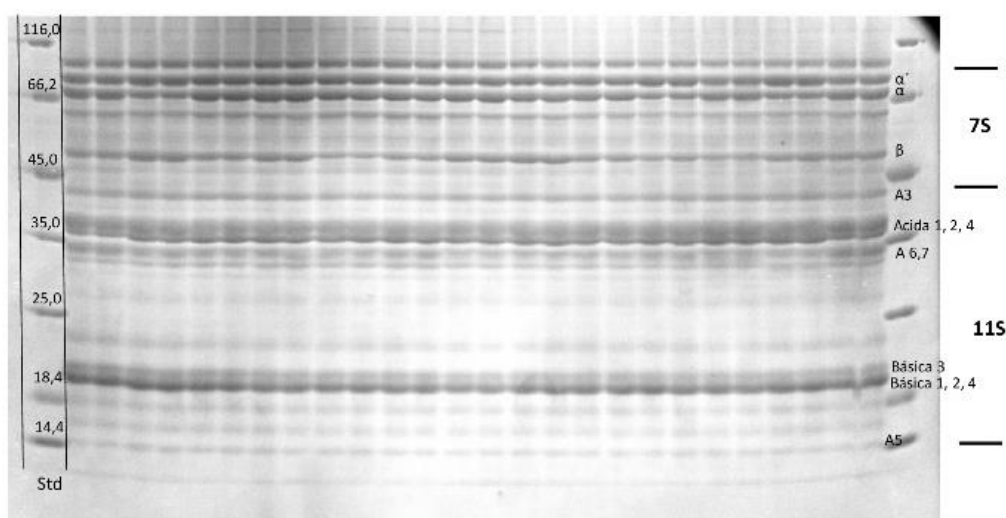


Figure 1. SDS-PAGE analysis of protein composition. Std, molecular weight standards

SDS-PAGE was performed in electrophoresis unit EIDO NA-1114 (Nihon Eido Co., Japan). The gels were analyzed using Gel Doc EZ System (BIO-RAD, USA) and Image Lab™ software (BIO-RAD, USA) for densitometry.

2.5.5 Determination of soluble carbohydrates

Soluble carbohydrates content was determined by the enzymatic kit procured from Megazyme International Ltd., Ireland. Since the samples were defatted, and assuming that the oil content to be around 20 %, 0.40 g of sample was weighed out instead of the 0.50 g suggested by the supplier. Then, 5 mL of ethanol (95 % v/v) were added and they were incubated in water bath at 84-88 °C for 5 min in order to inactivate enzymes. The soy-flour reference sample

included in the kit was defatted using chloroform, following the standard procedure. Volume was adjusted to 50 mL with sodium acetate buffer (50 mM, pH 4.5). Then, it was incubated for 15 min and mixed thoroughly to obtain uniform slurry. 1.50 mL of this solution was transferred to an Eppendorf tube and centrifuged at 1000 rpm (627 g) for 10 min. 0.20 mL of the upper aqueous solution was transferred in three tubes (A, B and C). A volume of 0.20 mL of sodium acetate buffer, invertase and a mixture of α -galactosidase/invertase was added to tubes A, B and C, respectively. All three tubes were incubated at 50 °C for 20 min. Reagent blank (0.40 mL of sodium acetate buffer) and glucose control for quadruplicated (0.10 mL of standard glucose solution and 0.30 mL of sodium acetate buffer) were included. Then, 3.0 mL of GOPOD (glucose oxidase-peroxidase) reagent was added in all tubes and incubated at 50 °C for 20 min. Absorbance was measured at 510 nm; glucose content was determined for each solution through calibration curve; the value of sucrose and RFOs was obtained by difference. Two replications were made for each sample.

2.5.6 Statistical analysis

The data were analyzed with SAS software version 9.4 (SAS Institute Inc., 1993) and with InfoStat version 2020 (Di Rienzo et al., 2020). The grain composition data was analyzed using a mixed model using PROC GLIMMIX; genotype, environment and genotype x environment interaction were considered fixed effects, while the technical repetition of each measurement for each sample at the laboratory was considered random. Adjusted means were calculated for each of the effects and their interaction. Yield and oil content were analyzed by SAS PROC GLM using a complete randomized block design. In both analyses, the means were separated using the least significant difference at the 5 % significance level. The principal components analysis and the correlations among traits were calculated using InfoStat. The

correlations between different parameters were also done and were significant at $p < 0.05$ level.

2.6 RESULTS AND DISCUSSION

2.6.1 Study of genotypes and environments

2.6.1.1 Descriptive statistics

The yield and seed quality mean, minimum and maximum observed for the GxE study, 13 genotypes grown in 3 environments representative of local variability, are presented in Table 2.

There were yield differences between environments, with LED20 expressing the highest mean yield, YON19 the lowest yield and LEN19 with the widest range. Although YON19 had the best hydric conditions (1138 mm), the yield was the lowest due to lodging caused by excessive plant growth (1.40 m on average). Also, the soil in YON19 was medium textured, degraded and, generally, improperly crop rotation (data not shown).

The results of oil, total protein, soluble carbohydrates and soluble protein content were observed within the range of what was reported in the literature. Qin et al. (2014) measured oil values in China commercial varieties ranging from 14.2 % to 22.7 %; Kumar et al. (2006) reported values from 15.4 % to 22.0 %, also in soybean commercial from India. For total protein content, Qin et al. (2014) found values from 31.7 % to 49.8 % and Kumar et al. (2006) from 32.2 % to 42.1 %. Hwang et al. (2014) analyzed germplasm of USDA, finding a wider range in total protein (35-50 %). Also, these protein and oil values were within the range observed by Cuitiño et al. (2019, 2020) for Uruguay. For soluble protein, Yu et al. (2016) observed a range of 26.5-36.0 % working with 35 different commercial varieties in China, and Stanojevic et al. (2011) detected values from 23.3 % to 31.0 % in 6 commercial varieties. Studying soluble carbohydrates content, Choung (2005) reported a range of 7.1-10.6 %

for 32 soybean genotypes and Yu et al. (2016) obtained broader variability (8.5-14.1 %).

The 7S and 11S fractions content were comparable to that reported by Cai and Chang (1999), studying 13 soybean varieties (7.3-9.9 % and 14.1-22.9 %, respectively). The 11S/7S protein ratio was similar to some literature reports, but also it was higher compared to others. Cai and Chang (1999) observed values from 1.6 to 2.5 and Stanojevic et al. (2011) from 1.7 to 1.9; whereas Murphy and Resurreccion (1984) and Žilić et al. (2011) observed similar ranges (2.1-3.4 and 2.4-3.3, respectively).

The sucrose and RFOs content were comparable with the values of Kumar et al. (2010) (1.2-5.7 % and 2.3-6.1 %, respectively), as well as Choung (2005) (2.6-6.8 % and 2.2-5.1 %, respectively) and the ones found by Yu et al. (2016) (sucrose: 1.5-7.3 %; RFOs: 3.5-6.9 %). However, in a wide genetic diversity study, Hou et al. (2009) investigated 241 genotypes from 28 origins (within Africa, Asia, Europe, and North and South America), detecting a broader range in both sucrose (0.2-9.5 %) and stachyose plus raffinose (RFOs) content (0.03-9.0%) than that observed in this work and in the cited references.

The results were within the range reported previously by other authors that studied soybean quality. In general, the observed values were similar to those found in commercial cultivars, though the study of extensive germplasm collections showed a more extended range. This indicates that the intra-specific diversity was wider than the one included in the studied germplasm set; this is expected, since the number of genotypes studied is restricted and corresponds to commercial cultivars and breeding lines from a single breeding program, all selected for yield, not for grain quality.

Table 2. Mean, minimum and maximum of studied parameters of 13 soybean genotypes in 3 environments (GxE set).

Parameter	LED20			LEN19			YON19		
	Mean	Min	Max	Mean	Min	Max	Mean	Min	Max
Yield (kg/ha)	4561	3581	5374	3898	2966	5846	3820	3000	5237
Oil (%)	20.5	20.1	21.2	20.1	19.2	20.8	21.2	20.6	22.3
Total protein (%)	41.5	40.2	43.8	41.1	39.6	43.6	39.1	37.8	40.9
Soluble protein (%)	22.9	21.7	23.9	24.1	22.7	26.1	22.4	20.3	23.6
7S (%)	6.5	5.2	7.2	6.8	6.1	7.5	6.7	5.7	7.4
11S (%)	16.4	15.3	17.7	17.3	15.9	19.0	15.7	14.4	16.9
11S/7S ratio	2.4	2.1	3.2	2.5	2.3	2.8	2.2	2.0	2.5
Sol. carb. (%)	9.5	8.8	10.0	9.5	9.1	9.9	9.5	9.1	9.9
Sucrose (%)	5.4	4.6	6.3	5.4	4.5	6.2	5.0	4.3	5.8
RFOs (%)	3.9	3.2	4.3	4.0	3.5	4.7	4.4	3.6	4.9

Min: minimum; Max: maximum; RFOs: raffinose family oligosaccharides; Sol. carb.: Soluble carbohydrates.

2.6.1.2 Genotype and environmental effects

Table 3 exhibits the significance of the genotype, environment and their interaction effects for the studied parameters; both genotype and environment had significant effect on most of them. The environment effect was significant for all traits but soluble carbohydrates and 7S content. For soluble protein and 11S fraction, only the environment effect was significant. Yield, soluble carbohydrates, RFOs, 7S and 11S/7S ratio were parameters not affected by the interaction between genotype and environment and could be differentiated using the genotypes mean. The genotype x environment interaction (GxE) was significant for oil, total protein and sucrose content; for these traits, although a high proportion of the variation was due to environment, with proportion of 87 %, 90 % and 50 %, respectively (Table 4), the genotype effect in sucrose accounted for 38 % of the total variation.

Table 3. Genotype, environment and their interaction effects on yield and grain quality parameters; and observed means for the GxE genotype set (sorted by yield).

	Yield (kg/ha)	Oil (%)	Total protein (%)	Soluble protein (%)	7S (%)	11S (%)	11S/7S ratio	Sol. carb. (%)	Sucrose (%)	RFOs (%)
G	S	S	S	NS	S	NS	S	S	S	S
E	S	S	S	S	NS	S	S	NS	S	S
GxE	NS	S	S	NS	NS	NS	NS	NS	S	NS
5958 RSF IPRO	5429 ^a	21.1 ^{bc}	40.6 ^{bcd}	22.2	6.1 ^{cd}	16.0	2.5 ^{abc}	9.1 ^d	5.1 ^{fg}	3.9 ^{cd}
DM 6.8i	4738 ^b	20.4 ^{fg}	39.8 ^{de}	23.2	7.0 ^{ab}	16.2	2.2 ^{cd}	9.7 ^{ab}	5.6 ^{bcd}	4.0 ^{cd}
62R63 RSF	4355 ^{bc}	20.5 ^{ef}	39.4 ^e	22.9	6.7 ^{abc}	16.2	2.3 ^{bcd}	9.8 ^{ab}	5.7 ^{ab}	4.0 ^{cd}
SJ13625	4179 ^{bcd}	20.3 ^{fg}	40.7 ^{bcd}	23.1	6.6 ^{abc}	16.5	2.4 ^{abcd}	9.2 ^d	4.6 ⁱ	4.5 ^a
NA 5509 RG	4125 ^{cd}	20.7 ^{de}	40.8 ^{abcd}	24.4	6.9 ^{ab}	17.4	2.2 ^{cd}	9.7 ^{ab}	5.7 ^{abc}	3.9 ^{cd}
DM 6.2i	4050 ^{cde}	20.8 ^{bcd}	40.7 ^{bcd}	23.4	6.9 ^{ab}	16.5	2.3 ^{bcd}	9.9 ^a	5.9 ^a	3.9 ^d
GE 590 CI	4031 ^{cde}	21.1 ^b	39.6 ^e	22.5	6.3 ^{cd}	16.2	2.5 ^{abc}	9.7 ^{ab}	5.4 ^{cde}	4.2 ^{cd}
NA 5909 RG	4010 ^{cde}	21.4 ^a	39.8 ^{de}	23.3	6.9 ^{ab}	16.3	2.3 ^{bcd}	9.6 ^{bc}	5.3 ^{def}	4.2 ^{bc}
SJ13624	3976 ^{cde}	20.3 ^{fg}	40.4 ^{cde}	23.0	6.8 ^{abc}	16.3	2.2 ^d	9.3 ^{cd}	4.8 ^{hi}	4.5 ^{ab}
SJ13623	3889 ^{cde}	20.2 ^g	41.1 ^{abc}	22.9	6.7 ^{abc}	16.2	2.3 ^{bcd}	9.2 ^d	4.7 ^{hi}	4.5 ^{ab}
DM 50i17 IPRO	3650 ^{def}	20.8 ^{cde}	41.3 ^{abc}	22.4	5.9 ^d	16.5	2.6 ^a	9.1 ^d	4.9 ^{gh}	4.1 ^{cd}
SJ13621	3510 ^{ef}	20.4 ^{fg}	41.5 ^{ab}	23.1	6.4 ^{bcd}	16.7	2.5 ^{ab}	9.3 ^{cd}	5.8 ^{ab}	3.4 ^e
NA 5009 RG	3273 ^f	20.2 ^g	41.7 ^a	23.9	7.0 ^a	16.8	2.4 ^{abc}	9.4 ^{cd}	5.2 ^{ef}	4.1 ^{cd}

S: Significant ($p < 0.05$); NS: Non significant ($p > 0.05$); G: Genotype; E: environment; GxE: genotype x environment interaction; RFOs: raffinose family oligosaccharides; Sol. carb.: Soluble carbohydrates.

Means in the same column with different letters are significantly different ($p < 0.05$) for genotype effect.

Table 4. Components of variance of the parameters with significant GxE interaction

	Oil (%)	Total protein (%)	Sucrose (%)
Environment	87	90	50
Genotype	10	7	38
GxE	2	3	4
Rep	1	0	8

GxE: genotype x environment interaction; Rep: repetition

The genotypes with the highest yield were 5958 RSF IPRO (5429 kg/ha) and DM 6.8i (4738 kg/ha), while NA 5009 RG was the genotype with the lowest yield (3273 kg/ha) (Table 3). Although GxE interaction effect was detected on oil content, the same genotypes maintained in the top ranking across environments (NA 5909 RG, 5958 RSF IPRO and GE 590; Figure 2A). For total protein, the GxE interaction was also statistically significant, but several genotypes were located at the top in the different environments, presenting values over 40 %: NA 5009 RG, DM 50i17 IPRO and SJ13621 (Figure 2B). The genotype effect was significant for the 7S protein fraction. The concentration of 7S ranged from 5.9 % to 7.0 %; the genotype with the highest percentage was the NA 5009 RG, whereas DM 50i17 IPRO had the lowest 7S protein content (Table 3). It has been reported that soy protein is deficient in sulfur amino acids (methionine and cysteine); the 11S fraction contains more S-amino acids than 7S fraction (Krishnan, 2005). The 11S/7S ratio had significant differences between the genotypes. Particularly, those that had highest 11S/7S ratio were DM 50i17 IPRO (2.6), SJ13621 (2.5), 5958 RSF IPRO (2.5) and GE 590 CI (2.5). Total soluble carbohydrates and their components are very relevant factors to analyze. The genotype DM 6.2i had high content of soluble carbohydrates (9.9 %; Table 3) with low percentage of RFOs (3.9 %). The genotype with lowest content of oligosaccharides was SJ13621 (3.4 %), while SJ13623, SJ13624 and SJ13625 had highest RFOs content (average value: 4.5 %). Although GxE interaction effect was detected on sucrose content, two genotypes (DM 6.2i and SJ13621) consistently showed the highest levels of sucrose; they presented values over 5.5 % in all environments (Figure 2C). Thus, these genotypes had the most desirable combination (high sucrose and low RFOs) for soy food (Mozzoni et al., 2013).

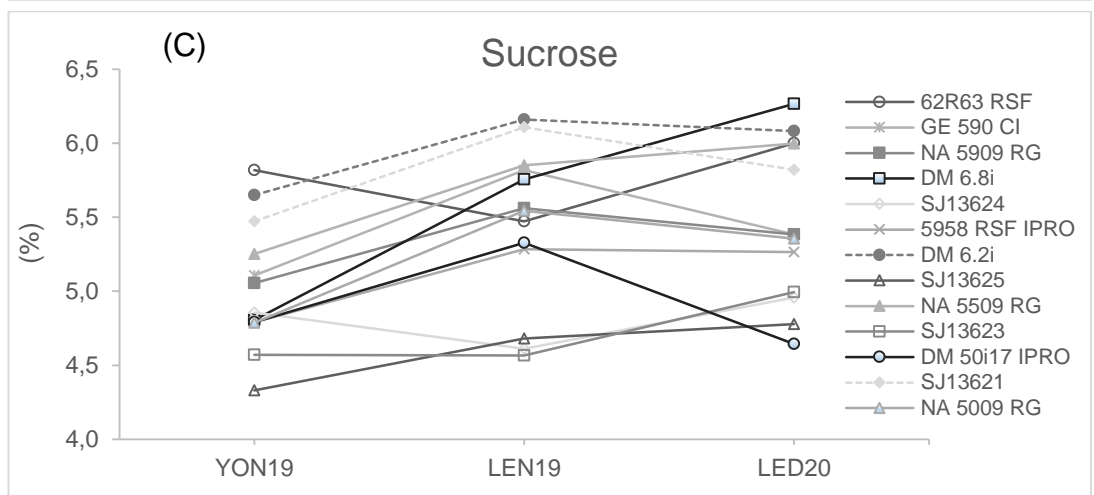
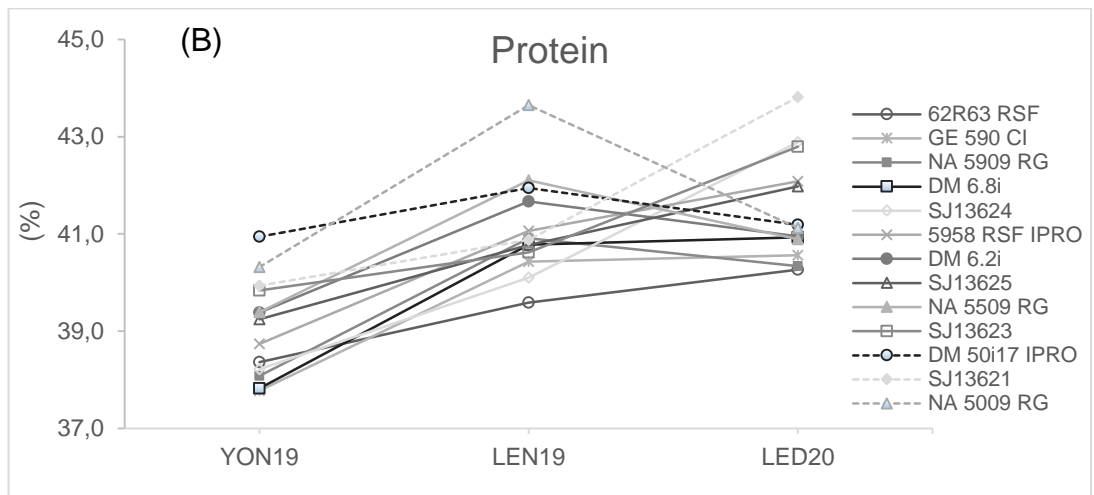
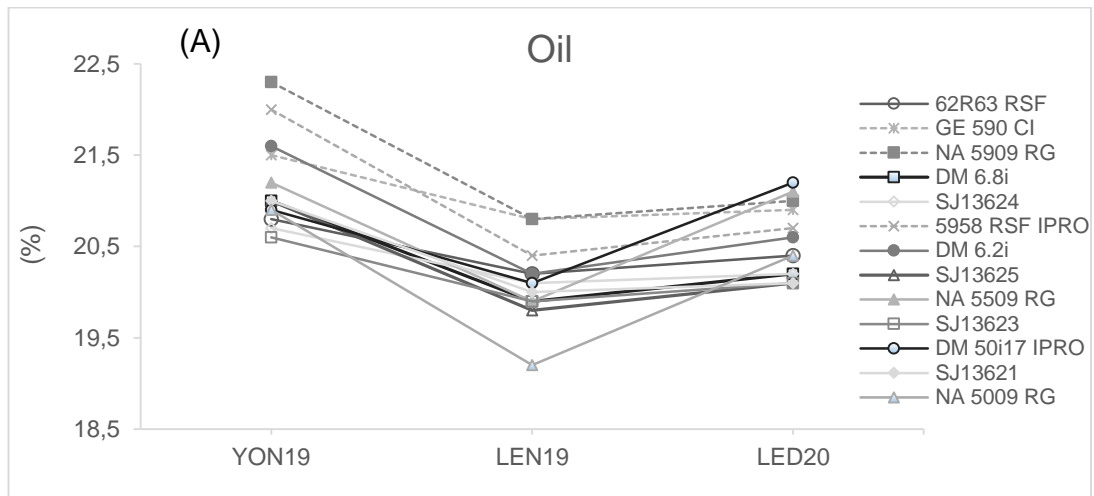


Figure 2. Mean of the 13 genotypes to each environment of the parameters with interaction GxE, including (A) oil, (B) total protein and (C) sucrose. Dotted lines correspond to genotypes with high parameter values in all three environments.

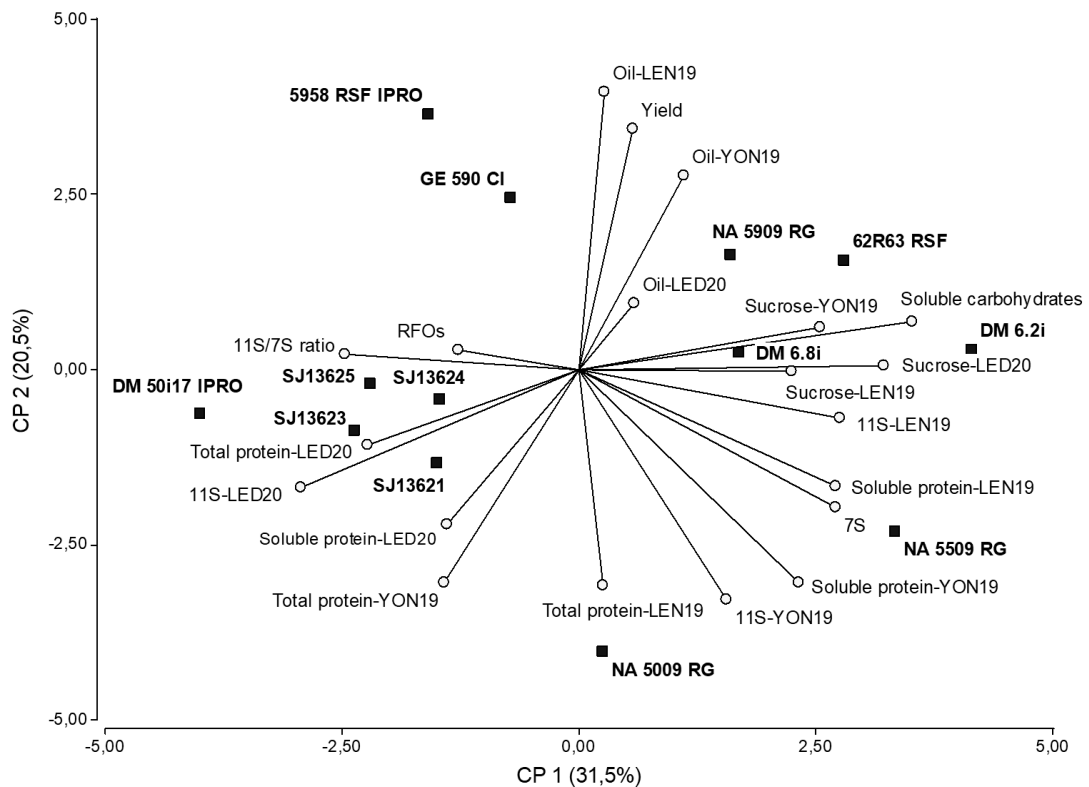


Figure 3. Principal component analysis of the 13 genotypes.

Figure 3 showed principal component analysis among the different parameters for the 13 genotypes; parameters with significant GxE interaction or without significant genotype effect have a vector to each environment. The first and second principal components (CP 1 and CP 2) represented 52,0 % of the total variation among genotypes for the 10 traits considered. The yield and oil content vectors were correlated positively, and negatively correlated to total protein, for each of the environments. Although the GxE interaction effect was significant on oil, sucrose and total protein content, the vectors were correlated. On the contrary, the vectors for the 11S fraction and soluble protein had different magnitudes and these were in different sectors. The sucrose and RFOs vectors showed a negative correlation. Confirming the high oil mean of NA 5909 RG, 5958 RSF IPRO and GE 590 CI in the biplot these genotypes were near to oil vectors. Also, 5958 RSF IPRO had the highest yield and high values of 11S/7S ratio. The genotypes SJ13623, SJ13624 and SJ13625 had high RFOs content and they were close to RFOs vector. The genotype

SJ13621 had high values of total protein and soluble protein (mostly in the environment LED20), and it was represented on the same side of these vectors. The genotype NA 5009 RG was at the bottom of the biplot because it had high total protein content, mostly in LEN19. On the left, was the point of DM 50i17 IPRO indicating a high 11S/7S ratio, total protein and RFOs content. Conversely, the points of DM 6.2i, DM 6.8i and 62R63 RSF were on the right of the biplot, confirming the high soluble carbohydrates content with high values of sucrose.

2.6.2 Genotype variability

2.6.2.1 Descriptive statistics

In order to search genotype diversity, two sets of samples were also studied. The first one included 10 GMO as checks and 12 non-GMO lines, totalizing 22 genotypes (CONV), and other with 36 GMO lines genotypes (GM). In this case, they had been grown in a single environment each.

Table 5 shows the averages and ranges of each set (CONV and GM). Both sets yield means were similar (around 4500 kg/ha). The range was wider in CONV than in GM. The oil content mean was the same in both sets (20.8 %) and the range was higher in GM. On the contrary, the total protein content was higher in CONV than GM but had less variability. Means of oil and total protein content were similar the GxE set. The content of soluble protein, the fractions 7S and 11S and 11S/7S ratio content were higher in GM than in CONV. Values of soluble protein and their fractions were similar to the range observed in the GxE study previously described. The results of carbohydrates were similar between sets and the range was wider in GM than in CONV. Additionally, these results were comparable with the detected in the GxE study.

Table 5. Mean and range for different parameters of the groups CONV and GM

Parameter	CONV			GM		
	Mean	Min	Max	Mean	Min	Max
Yield (kg/ha)	4524	3581	5374	4575	3744	5316
Oil (%)	20.8	20.1	21.9	20.8	19.7	22.1
Total protein (%)	41.4	39.5	43.8	40.3	37.2	42.9
Soluble protein (%)	22.9	21.7	23.9	23.6	21.0	25.4
7S (%)	6.5	5.2	7.2	6.8	5.8	8.4
11S (%)	16.3	15.0	17.7	16.8	14.4	18.1
11S/7S ratio	2.4	1.9	3.2	2.3	1.6	3.2
Soluble carbohydrates (%)	9.4	8.4	10.0	9.9	9.2	10.4
Sucrose (%)	5.4	4.6	6.3	5.9	4.8	6.9
RFOs (%)	3.9	3.2	4.3	4.0	3.3	4.7

Min: minimum; Max: maximum; RFOs: raffinose family oligosaccharides

2.6.2.2 Variability of genotypes

Tables 6 and 7 exhibit the genotype effect on the parameters in both sets. Yield, oil and total protein had significant effect both in CONV and GM, as already observed in GxE study. Conversely, the genotype effect was nonsignificant on soluble protein and 11S in both sets and in GxE study. The results of soluble carbohydrates, sucrose and RFOs showed that it had significant genotype effect in CONV and GM. The protein 7S and the 11S/7S ratio had significant genotype effect only in CONV.

Table 6. Genotype effect on the different parameters and differentiation of means in 22 genotypes (CONV), including conventional genotypes and GMO checks.

	Yield (kg/ha)	Oil (%)	Total protein (%)	Soluble protein (%)	7S (%)	11S (%)	11S/7S ratio	Sol. carb. (%)	Sucrose (%)	RFOs (%)
G	S	S	S	NS	S	NS	S	S	S	S
DM 6.8i*	5374 ^a	20.2 ^{ghi}	41.0 ^{fgh}	23.0	7.1 ^{abc}	16.0	2.2 ^{cde}	9.9 ^a	6.3 ^a	3.5 ^{def}
SJ14494	5338 ^{ab}	20.4 ^{fghi}	41.8 ^{cdefg}	23.0	7.2 ^a	15.8	2.0 ^{de}	9.3 ^{bcde}	5.4 ^{efg}	3.7 ^{abcdef}
5958 RSF IPRO*	5204 ^{abc}	20.7 ^{def}	42.1 ^{bcde}	22.3	6.2 ^{de}	16.1	2.5 ^{bcd}	9.1 ^{def}	5.3 ^{ghi}	3.6 ^{cdef}
SJ14514	5104 ^{abcd}	21.2 ^{bc}	39.5 ^j	22.1	7.1 ^{ab}	14.9	1.9 ^e	9.1 ^{de}	5.4 ^{fgh}	3.7 ^{cdef}
SJ13623	5065 ^{abcd}	20.1 ⁱ	42.8 ^{abc}	22.9	6.3 ^{cd}	16.6	2.5 ^{bcd}	9.2 ^{de}	4.9 ^{jk}	4.1 ^{abcd}
62R63 RSF*	4785 ^{abcde}	20.4 ^{fghi}	40.3 ^{hij}	21.9	6.6 ^{abcd}	15.3	2.2 ^{cde}	9.8 ^{abc}	6.0 ^{bc}	3.8 ^{abcde}
SJ13625	4755 ^{bcde}	20.1 ⁱ	41.9 ^{bcdef}	22.8	6.1 ^{de}	16.7	2.6 ^{bc}	9.2 ^{bcde}	4.8 ^{kl}	4.3 ^a
NA 5509 RG*	4725 ^{cde}	21.1 ^{bcd}	40.9 ^{ghi}	23.6	7.2 ^a	16.4	2.1 ^{de}	9.9 ^{ab}	6.0 ^{bc}	3.8 ^{abcde}
SJ14511	4690 ^{cdef}	20.7 ^{def}	41.8 ^{cdefg}	23.9	6.8 ^{abcd}	17.1	2.4 ^{bcde}	9.5 ^{abcd}	5.6 ^{de}	3.9 ^{abcde}
SJ13624	4680 ^{cdef}	20.2 ^{hi}	42.9 ^{ab}	23.4	7.1 ^{ab}	16.3	2.0 ^{de}	9.0 ^{def}	4.9 ^{jk}	4.0 ^{abcd}
DM 6.2i*	4561 ^{defg}	20.6 ^{efg}	41.0 ^{fgh}	21.7	6.4 ^{abcd}	15.3	2.3 ^{cde}	10.0 ^a	6.1 ^{ab}	3.8 ^{abcde}
GE 590 CI*	4525 ^{defgh}	20.9 ^{cde}	40.6 ^{hi}	23.4	6.6 ^{abcd}	16.8	2.4 ^{bcde}	9.6 ^{abcd}	5.4 ^{fgh}	4.1 ^{abc}
SJ14498	4523 ^{defgh}	21.3 ^{bc}	41.7 ^{defg}	22.8	5.5 ^{ef}	17.3	2.8 ^{ab}	9.1 ^{def}	5.1 ^{hij}	3.9 ^{abcde}
SJ14497	4441 ^{efghi}	21.9 ^a	41.9 ^{bcdef}	23.3	6.4 ^{abcd}	16.8	2.3 ^{bcde}	8.4 ^f	5.1 ^{ij}	3.3 ^{ef}
DM 50i17 IRPO*	4112 ^{fghij}	21.3 ^{bc}	41.2 ^{defgh}	22.9	5.2 ^f	17.7	3.2 ^a	8.8 ^{ef}	4.6 ^l	4.1 ^{abcd}
5351 RSF*	4091 ^{fghij}	21.4 ^b	39.9 ^{ij}	22.8	6.3 ^{cde}	16.5	2.3 ^{bcde}	8.7 ^{ef}	4.6 ^l	4.0 ^{abcd}
NA 5909 RG*	4076 ^{ghij}	21.0 ^{bcd}	40.3 ^{hij}	22.8	6.6 ^{abcd}	16.1	2.2 ^{cde}	9.6 ^{abcd}	5.4 ^{fgh}	4.2 ^{abc}
SJ14513	4051 ^{ghij}	20.5 ^{fgh}	42.2 ^{bcd}	23.1	6.6 ^{abcd}	16.4	2.2 ^{cde}	9.2 ^{cde}	5.1 ^{hij}	4.0 ^{abcd}
SJ14509	4046 ^{ghij}	21.2 ^{bc}	41.2 ^{defgh}	21.8	6.4 ^{abcd}	15.4	2.3 ^{cde}	9.9 ^a	5.6 ^{def}	4.3 ^a
SJ14508	3955 ^{hij}	21.2 ^{bc}	41.0 ^{fgh}	22.8	7.1 ^{ab}	15.6	2.0 ^{de}	9.9 ^{ab}	5.7 ^{de}	4.1 ^{abc}
NA 5009 RG*	3854 ^{ij}	20.4 ^{fghi}	41.1 ^{efgh}	23.2	6.5 ^{abcd}	16.7	2.4 ^{bcde}	9.6 ^{abcd}	5.3 ^{ghi}	4.2 ^{ab}
SJ13621	3581 ^j	20.1 ⁱ	43.8 ^a	23.9	6.3 ^{cd}	17.6	2.7 ^{bc}	9.1 ^{def}	5.8 ^{cd}	3.2 ^f

S: Significant ($p < 0.05$); NS: Non significant ($p > 0.05$); G: Genotype;

E: environment; RFOs: raffinose family oligosaccharides; Sol. carb: Soluble carbohydrates. * indicates GMO genotypes.

Means in the same column with different letters are significantly different ($p < 0.05$).

Table 6 also presents the differentiation of means in the parameters that had significant effect, with genotypes sorted by yield. The genotypes with the highest yield were DM 6.8i and SJ14494 (5374 kg/ha and 5338 kg/ha, respectively), while SJ13621 had the lowest yield (3581 kg/ha). The oil content was higher in the genotype SJ14497 with a mean of 21.9 %. In total protein, high variability was observed among genotypes, being INIA lines the ones with highest values: SJ13621 (43.8 %), SJ13624 (42.9 %) and SJ13623 (42.8 %). The 11S/7S ratio was significantly higher in the genotypes DM 50i17 IPRO (3.2), SJ14498 (2.8) and SJ13621 (2.7). The highest value of soluble carbohydrates was 10 % in the genotype DM 6.2i, mostly explained by high content of sucrose (6.1 %). The genotype DM 6.8i had the highest sucrose with a mean of 6.3 %. They also had high content of this carbohydrate: 62R63 RSF (6.0 %), NA 5509 RG (6.0 %) and SJ13621 (5.8 %). Of those genotypes with high sucrose, DM 6.8i and SJ13621 had low content of RFOs with means of 3.5 % and 3.2 %, respectively. Also, SJ14497 showed low RFOs (3.3 %).

Table 7 presents the means difference of the genotypes in GM, which are sorted according to yield. In yield, although it had a wide range, it was difficult to differentiate the genotypes from each other, but a significant variability was observed for quality parameters (oil, total protein and soluble carbohydrates). The mentioned negative correlation between oil and protein content was evidenced when the genotype with highest oil content had the lowest content of total protein (SJ12394) and genotypes high total protein had low percentage of oil, like SJ14502 and SJ13618. SJ13619 had the highest value of sucrose content (6.9 %) and the lowest of RFOs (3.3 %); furthermore, this genotype had high yield (4833 kg/ha) and total protein (41.3 %). A similar situation was observed in the genotype DM 6.8i with 6.6 % of sucrose, 3.3 % of RFOs and 4991 kg/ha of yield. Conversely, the genotype with the highest value of RFOs (5351 RSF; 4.7 %) had the lowest value of sucrose (4.8 %).

Table 7. Genotype effect on the different parameters and means of 36 GMO genotypes (GM).

	Yield (kg/ha)	Oil (%)	Total protein (%)	Soluble protein (%)	7S (%)	11S (%)	11S/7S ratio	Sol. carb. (%)	Sucrose (%)	RFOs (%)
G	S	S	S	NS	NS	NS	NS	S	S	S
5958 RSF IPRO	5316 ^a	20.6 ^{hijk}	40.9 ^{cdef}	21.0	7.6	16.3	1.6	9.7 ^{abcdef}	5.7 ^{ghij}	4.0 ^{defghijk}
FS 59	5236 ^{ab}	20.4 ^{ijk}	40.4 ^{cdefghij}	24.6	7.3	17.3	2.4	10.0 ^{abc}	5.5 ^{ghijk}	4.4 ^{abcdef}
62R63 RSF	5125 ^{abc}	20.3 ^{ijk}	40.5 ^{cdefghi}	23.1	6.0	17.0	3.0	10.1 ^{abc}	6.2 ^{bcdef}	3.8 ^{hijkl}
NA 5909 RG	5067 ^{abcd}	20.8 ^{fghi}	40.1 ^{efghij}	23.7	6.7	17.0	2.5	10.0 ^{abc}	6.0 ^{bcdefghi}	3.9 ^{efghijkl}
GENESIS 5501	4994 ^{abcde}	21.4 ^{bcde}	39.5 ^{ijk}	24.1	7.5	16.6	1.9	10.4 ^a	6.4 ^{abc}	3.9 ^{ghijkl}
SJ14504	4993 ^{abcde}	20.4 ^{ijk}	42.3 ^{ab}	23.4	7.9	15.6	1.8	9.2 ^{ef}	5.1 ^{klm}	4.1 ^{bcdefghij}
DM 6.8i	4991 ^{abcde}	20.3 ^{ijk}	40.5 ^{cdefghij}	21.0	6.6	14.4	2.3	9.9 ^{abcde}	6.6 ^{ab}	3.3 ^m
SJ14505	4916 ^{abcdef}	20.7 ^{ghijk}	40.8 ^{cdef}	23.3	7.0	15.6	2.1	10.0 ^{abc}	6.0 ^{bcdefghi}	3.9 ^{fghijkl}
SJ13619	4833 ^{abcdefg}	20.6 ^{hijk}	41.3 ^{cd}	23.9	6.3	17.6	2.7	10.2 ^{ab}	6.9 ^a	3.3 ^m
SJ14502	4803 ^{abcdefg}	20.3 ^{ijk}	42.9 ^a	25.4	8.4	17.1	1.9	9.2 ^f	5.4 ^{ijkl}	3.8 ^{ijkl}
SJ13614	4792 ^{abcdefgh}	20.2 ^{jk}	41.3 ^{bc}	23.8	6.6	17.2	2.6	9.8 ^{abcdef}	5.6 ^{ghij}	4.1 ^{cdefghij}
GENESIS 5901	4777 ^{abcdefgh}	21.4 ^{cde}	38.4 ^l	24.2	6.3	17.9	2.8	10.4 ^a	6.4 ^{abc}	3.9 ^{fghijkl}
GENESIS 6201	4758 ^{abcdefghi}	20.4 ^{ijk}	39.9 ^{fghijk}	23.0	7.3	15.9	1.9	9.9 ^{abcdef}	5.5 ^{hijk}	4.3 ^{abcdefg}
SJ13064	4720 ^{abcdefghij}	20.9 ^{efghi}	39.2 ^{kl}	23.2	6.4	16.8	2.4	10.2 ^{abc}	5.9 ^{bcdefghij}	4.1 ^{abcdefghij}
SJ13615	4698 ^{bcdefghij}	20.5 ^{ijk}	41.4 ^{bc}	23.3	6.5	16.7	2.4	10.3 ^{ab}	5.8 ^{efghij}	4.4 ^{abcd}
SJ14490	4638 ^{bcdefghij}	21.7 ^{abc}	39.6 ^{ghijk}	23.7	6.8	16.9	2.4	10.2 ^{abc}	6.0 ^{bcdefgh}	4.0 ^{cdefghij}
NA 5509 RG	4623 ^{bcdefghij}	20.8 ^{fghi}	39.6 ^{hijk}	23.8	5.8	17.9	3.2	10.2 ^{abc}	6.1 ^{bcdefg}	4.0 ^{defghijk}
GENESIS 5602	4595 ^{cdefghij}	21.3 ^{cde}	39.5 ^{ijk}	24.0	7.0	17.0	2.2	9.8 ^{abcdef}	5.4 ^{ijkl}	4.4 ^{abcde}
SJ13327	4529 ^{cdefghijk}	21.0 ^{efgh}	40.0 ^{efghij}	22.5	6.8	15.7	1.9	10.3 ^{ab}	6.4 ^{abc}	3.8 ^{hijkl}
GENESIS 6602	4524 ^{cdefghijk}	20.4 ^{ijk}	40.2 ^{defghij}	23.4	7.4	15.9	1.8	9.9 ^{abcd}	5.9 ^{cdefghij}	4.0 ^{defghijk}
SJ12210	4519 ^{cddefghijk}	19.7 ^l	41.3 ^{bc}	24.3	6.2	18.0	2.7	9.9 ^{abcd}	6.3 ^{bcde}	3.6 ^{ijklm}
GE 590 CI	4517 ^{cddefghijkl}	21.2 ^{def}	39.2 ^{kl}	24.3	6.4	17.9	2.8	9.7 ^{bcdef}	5.4 ^{ijkl}	4.2 ^{abcdefghi}
SJ13618	4479 ^{defghijkl}	20.2 ^{kl}	42.5 ^a	25.2	7.3	17.9	2.5	9.8 ^{abcdef}	5.8 ^{efghij}	4.0 ^{defghijkl}
SJ14507	4445 ^{efghijkl}	20.8 ^{fghi}	40.6 ^{cdefgh}	23.2	6.4	16.7	2.7	10.1 ^{abc}	6.0 ^{bcdefghi}	4.0 ^{defghijk}
DM 50i17 IPRO	4412 ^{efghijkl}	21.7 ^{abc}	40.1 ^{efghij}	23.7	6.9	16.8	2.2	9.3 ^{def}	4.9 ^{lm}	4.4 ^{abcdef}
SJ13626	4383 ^{efghijkl}	21.0 ^{efgh}	39.7 ^{ghijk}	22.8	6.2	16.6	1.9	9.9 ^{abcdef}	6.2 ^{bcdef}	3.6 ^{klm}
GENESIS 5601	4368 ^{fghijkl}	21.2 ^{defg}	40.5 ^{cdefghij}	22.4	6.0	16.4	2.7	9.5 ^{cdef}	5.7 ^{efghij}	3.7 ^{ijklm}
DM 6.2i	4300 ^{ghijklm}	20.7 ^{fghij}	40.1 ^{efghij}	23.4	6.7	16.7	2.5	10.3 ^{ab}	6.4 ^{abcd}	3.8 ^{hijkl}
GENESIS 6301	4252 ^{ghijklm}	21.5 ^{bcde}	38.9 ^{kl}	23.0	6.5	16.6	2.3	10.1 ^{abc}	5.8 ^{defghij}	4.2 ^{abcdefghi}
SJ12394	4211 ^{hijklm}	22.1 ^a	37.2 ^m	24.7	7.6	17.0	1.9	9.9 ^{abcd}	5.6 ^{ghij}	4.2 ^{abcdefgh}
SJ13616	4155 ^{ijklm}	19.7 ^l	41.1 ^{cde}	23.3	6.1	17.2	2.9	10.0 ^{abc}	6.1 ^{bcdefg}	3.9 ^{ghijkl}

SJ12395	4115 ^{ijklm}	21.7 ^{abcd}	39.2 ^{ijkl}	23.7	6.6	17.1	2.4	10.4 ^a	5.8 ^{defghij}	4.5 ^{abc}
SJ13371	4025 ^{ijklm}	20.5 ^{hijk}	40.7 ^{cdefg}	23.9	7.3	16.6	1.9	9.5 ^{cdef}	5.6 ^{ghij}	3.8 ^{hijkl}
SJ13425	3957 ^{klm}	20.7 ^{ghij}	40.7 ^{cdefg}	22.3	6.3	16.1	2.4	9.4 ^{cdef}	5.8 ^{defghij}	3.5 ^{lm}
5351 RSF	3903 ^{lm}	21.9 ^{ab}	38.2 ^{lm}	22.5	6.9	15.6	1.9	9.5 ^{cdef}	4.8 ^m	4.7 ^a
NA 5009 RG	3744 ^m	20.8 ^{fghi}	40.4 ^{cdefghij}	24.2	6.4	17.8	2.6	10.1 ^{abc}	5.5 ^{ijk}	4.5 ^{ab}

S: Significant ($p < 0.05$); NS: Non significant ($p > 0.05$); G: Genotype;

E: environment; RFOs: raffinose family oligosaccharides; Sol. carb: Soluble carbohydrates.

Means in the same column with different letters are significantly different ($p < 0.05$).

2.6.3 Correlations

Table 8 shows the correlations between traits that have been reported as significant in the literature or in our analyses. In the three sets, yield was not significantly correlated with quality parameters (data not shown), which indicates that within the germplasm set considered and Uruguay's cropping environment it is possible to select genotypes with relatively good quality composition independently from their yield values. Eventually, it may be possible to select good quality breeding lines without affecting their yield performance. However, other authors had found significant correlation of yield with oil and total protein content (Chung et al., 2003; Wilcox and Shilbes, 2001).

Protein and oil content were negatively correlated in two of the three environments in GxE set, LED20 $r = -0.60$ and LEN19 $r = -0.56$, respectively, and also in CONV and GM ($r = -0.48$ and $r = -0.78$, respectively). Qin et al. (2014) also reported that content of protein was negatively correlated with content of oil. Additionally, this correlation is frequent in Uruguay (Marina Castro, personal communication, 2022), which is undesirable because the goal is to obtain high values on both parameters.

In GxE set, total protein content showed a negative and statistically significant correlation with soluble carbohydrates, with coefficient of correlations of -0.67 in LED20 and -0.56 in YON19, in agreement with Wilcox and Shilbes (2001). This correlation also was significant in the set GM ($r = -0.34$).

Fehr et al. (2003) and Harada et al. (1983) did not find significant correlations between total protein and the fractions. It was the same in our study, with the exception of 7S fraction in LEN19 and 11S in CONV. In our study, total and soluble protein were not correlated in the three environments of GxE nor in GM set, although this relationship was found significant in the studies of Pesic et al. (2005) and Zhang et al. (2017). The fractions 11S and 7S were positively and significantly correlated with soluble protein both in GxE study and the sets CONV and GM.

The correlation between sucrose and RFOs was negative and significant across the three environments: coefficient of correlation was -0.65, -0.91 and -0.71 for LED20, LEN19 and YON19, respectively. In GM, this correlation was also significant ($r = -0.70$). This negative relationship was also observed by Mozzoni et al. (2013) and Qin et al. (2014). This is valuable for developing new soybean cultivars with improvements in flavor (high in sucrose) and digestibility (low in RFOs).

Table 8. Correlation coefficients between investigated parameters for the three sets.

	GxE			CONV	GM
	LED20	LEN19	YON19		
Total protein/oil	-0.60*	-0.56*	-0.36	-0.48*	-0.78**
Total protein/sol. carb.	-0.67*	-0.03	-0.56*	-0.32	-0.34*
Total protein/11S	0.47	0.30	0.16	0.50*	0.01
Total protein/7S	-0.12	0.60*	-0.23	-0.16	0.22
Total protein/ 11S/7S ratio	0.26	0.44	0.22	0.31	0.05
Total protein/soluble protein	0.44	0.43	0.02	0.48*	0.16
Soluble protein/11S	0.72**	0.96**	0.82**	0.72**	0.75**
Soluble protein/7S	0.23	0.71**	0.75**	0.15	0.42*
Sucrose/RFOs	-0.65*	-0.91**	-0.71**	-0.36	-0.70**

Sol. carb.: Soluble carbohydrates, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

2.6.4 General discussion

This study verified that genotype, environment and genotype x environment interaction are all important as determinants of the grain quality parameters for food use in soybean. The traits in which it was possible to detect differences among genotypes were yield, soluble carbohydrates, RFOs, 7S and 11S/7S ratio, that allow to select the genotypes with the best values for these characteristics in all environments. In GxE set, the parameters that only had environment influence were soluble protein and 11S, indicating it may be necessary to elucidate which environmental factors influence them and if it is possible to change them through agronomic management practices to ensure the achievement of the quality values desired. Those parameters in the CONV and GM sets did not have a significant genotype effect either. The parameters that showed genotype x environment interaction were oil, total protein and sucrose. For them, it is necessary to select the best combination of environment/genotype to obtain the best values.

Regarding the diversity, the set studied presented similar ranges to the studies of Qin et al. (2014), Yu et al. (2016), Stanojevic et al. (2011) and Kumar

et al. (2006) in commercial cultivars, and lower than the ranges observed in the characterization of collections of diverse germplasm (Hou et al., 2009; Hwang et al., 2014). This indicates that even local variability is similar to the observed in most studies; it is possible to expand diversity at the soybean breeding program to achieve better quality values.

In both GxE study and CONV (Table 3 and Table 6), conventional genotypes alternated their place in the ranking the GMO ones. Therefore, since consumers prefer non-GMO cultivars, it suggests that breeders do not need to include GMOs in their program in order to find more variability.

Some genotypes were identified in the top or the bottom in all set, indicating that a differentiation is possible. In yield, the genotypes that had high values were 5958 RSF IPRO, DM 6.8i and 62R63 RSF in the GxE study as well as in CONV and GM (Table 3, Table 6 and Table 7). Conversely, NA 5009 RG, DM 50i17 and 5351 RSF were at the bottom of the tables. The genotype 5351 RSF had oil content over 21 % in the analyzed groups. In the case of total protein, the genotype SJ13621 was in the top both in the GxE study and in CONV, and DM 50i17 IPRO and NA 5009 RG had high total protein in the three sets. In opposition, GE 590 CI and 5351 RSF had low values of total protein in all sets. Observing the profile of carbohydrates, 5 genotypes (DM 6.2i, SJ13621, DM 6.8i, NA 5509 RG and 62R63 RSF) maintained high content of sucrose in all sets. It is important to emphasize that the same genotypes had low content of RFOs. The conventional genotypes SJ13623 and SJ13625 were in the top in GxE study as well as in CONV with high values of RFOs; NA 5009 RG and DM 50i17 IRPO had high oligosaccharides content both in CONV and GM. In the case of the 11S/7S ratio, the genotypes that maintained high values in both sets were DM 50i17 IPRO, 5958 RSF IPRO and SJ13621; while NA 5509 RG, SJ13624 and DM 6.8i had low values (Table 3 and Table 6).

Integrating the results, it was observed that some genotypes had interesting combinations of different parameters in all the groups. For example, DM 6.8i had high yield in all sets and had good profile of carbohydrates (high

sucrose-low RFOs) in CONV and GM; DM 6.2i comparatively high sucrose and low RFOs content, with the total protein content never below 40 %; SJ13621 had high content of total protein, high sucrose, low values of RFOs and high of the ratio 11S/7S.

2.7 CONCLUSIONS

Although the observed grain quality values were strongly influenced by environment both in their absolute value and through interaction with genotype, it was possible to identify genotypes with a better combination of quality parameters for human consumption processing. Among these parameters, the sucrose content can be considered as the most relevant to select genotypes for human consumption. It should be selected in breeding programs for soybean improvements, but also protein related parameters should be selected. Furthermore, since non-GMO materials are preferred by the consumers, it is very relevant to state that no apparent difference was found between studied GMO and conventional genotypes; moreover, a non-GMO line had one of the best combinations of desired parameters.

Further than understanding the effect of genotype, environment and their interaction on studied parameters, more variability was explored with two specific set of samples. Comparing the three analyzed sets, the variability among genotypes was higher in the sets with more genotypes (CONV and GM), suggesting that a higher variability may be available. In addition, some genotypes were stable at different environments, suggesting that it is possible to select by stability in the studied parameters. However, further study including more environments would be recommendable to confirm these observations.

2.8 REFERENCES

- Assefa, Y., Bajjalieh, N., Archontoulis, S., Casteel, S., Davidson, D., Kovács, P., Naeve, S., & Ciampitti, I. A. (2018). Spatial characterization of soybean yield and quality (amino acids, oil, and protein) for United States. *Scientific Reports*, 8(1), 1-11. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-32895-0>.
- Balestra, F., & Petracci, M. (2019). Technofunctional ingredients for meat products: Current challenges. In C. M. Galanakis (Ed.), *Sustainable meat production and processing* (pp. 45-68). Cesena: Academic Press.
- Cai, T., & Chang, K. C. (1999). Processing effect on soybean storage proteins and their relationship with tofu quality. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(2), 720-727. <https://doi.org/10.1021/jf980571z>.
- Choung, M. G. (2005). Determination of soluble carbohydrates in soybean seeds. *Korean Journal of Crop Science*, 50(5), 319-324. Retrieved from <http://www.koreascience.or.kr/journal/JMHHBK.page>.
- Chung, J., Babka, H. L., Graef, G. L., Staswick, P. E., Lee, D. J., Cregan, P. B., Shoemaker, R. C. & Specht, J. E. (2003). The seed protein, oil, and yield QTL on soybean linkage group I. *Crop Science*, 43(3), 1053-1067. <https://doi.org/10.2135/cropsci2003.1053>.
- Cuitiño, M. J., Manasliski, S., Stewart, S., Morales, X., & Cardozo, V. (2019). Resultados. In: Resultados experimentales de la evaluación nacional de cultivares de soja (pp. 15-53). INIA La Estanzuela. Retrieved from: http://www.inia.org.uy/convenio_inase_inia/resultados/index_00.htm.
- Cuitiño, M. J., Manasliski, Morales, X., & Cardozo, V. (2020). Resultados. In: Resultados experimentales de la evaluación nacional de cultivares de soja (pp. 15-62). INIA La Estanzuela. Retrieved from: http://www.inia.org.uy/convenio_inase_inia/resultados/index_00.htm.

- Di Rienzo, J. A., Casanoves, F., Balzarini, M. G., Gonzalez, L., Tablada, M., & Robledo, C. W. (2020). InfoStat versión 2018. Centro de Transferencia InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Esteves, E. A., Martino, H. S. D., Oliveira, F. C. E., Bressan, J., & Costa, N. M. B. (2010). Chemical composition of a soybean cultivar lacking lipoxygenases (LOX2 and LOX3). *Food chemistry*, 122(1), 238-242. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.02.069>.
- Fehr, W. R., Hoeck, J. A., Johnson, S. L., Murphy, P. A., Nott, J. D., Padilla, G. I., & Welke, G. A. (2003). Genotype and environment influence on protein components of soybean. *Crop Science*, 43(2), 511-514. <https://doi.org/10.2135/cropsci2003.5110>.
- Fontes, E. P. B., Moreira, M. A., Davies, C. S., & Nielsen, N. C. (1984). Urea-elicited changes in relative electrophoretic mobility of certain glycinin and β -conglycinin subunits. *Plant physiology*, 76(3), 840-842. <https://doi.org/10.1104/pp.76.3.840>.
- Fukushima, D. (1981). Soy proteins for foods centering around soy sauce and tofu. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 58(3), 346-354. <https://doi.org/10.1007/BF02582376>.
- Garance, M. P., & Arbeletche, P. (2020). Descripción y análisis de la cadena de valor de la soja en Uruguay. *Revista de Investigaciones de la Facultad de Ciencias Agrarias-UNR*, (35), 007. <https://doi.org/10.35305/agro35.294>.
- Gu, D., Andreev, K., & Dupre, M. E. (2021). Major trends in population growth around the world. *China CDC weekly*, 3(28), 604. <https://doi.org/10.46234/ccdcw2021.160>.
- Harada, K., Toyokawa, Y., & Kitamura, K. (1983). Genetic analysis of the most acidic 11S globulin subunit and related characters in soybean seeds. *Japanese Journal of Breeding*, 33(1), 23-30. <https://doi.org/10.1270/jsbbs1951.33.23>.

- Hartmann, C., & Siegrist, M. (2017). Consumer perception and behaviour regarding sustainable protein consumption: A systematic review. *Trends in Food Science & Technology*, 61, 11-25.
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.12.006>.
- Hou, A., Chen, P., Alloatti, J., Li, D., Mozzoni, L., Zhang, B., & Shi, A. (2009). Genetic variability of seed sugar content in worldwide soybean germplasm collections. *Crop Science*, 49(3), 903-912.
<https://doi.org/10.2135/cropsci2008.05.0256>.
- Hwang, E. Y., Song, Q., Jia, G., Specht, J. E., Hyten, D. L., Costa, J., & Cregan, P. B. (2014). A genome-wide association study of seed protein and oil content in soybean. *BMC genomics*, 15(1), 1-12.
<https://doi.org/10.1186/1471-2164-15-1>.
- libuchi, C., & Imahori, K. (1978). Heterogeneity and its relation to the subunit structure of the soybean 7S globulin. *Agricultural and Biological Chemistry*, 42(1), 31-36.
<https://doi.org/10.1080/00021369.1978.10862918>.
- Karr-Lilienthal, L. K., Kadzere, C. T., Grieshop, C. M., & Fahey Jr, G. C. (2005). Chemical and nutritional properties of soybean carbohydrates as related to nonruminants: A review. *Livestock Production Science*, 97(1), 1-12.
<https://doi.org/10.1016/j.livprodsci.2005.01.015>.
- Khatib, K. A., Aramouni, F. M., Herald, T. J., & Boyer, J. E. (2002). Physicochemical characteristics of soft tofu formulated from selected soybean varieties. *Journal of Food Quality*, 25(4), 289-303.
<https://doi.org/10.1111/j.1745-4557.2002.tb01026.x>.
- Kitamura, K., Takagi, T., & Shibasaki, K. (1976). Subunit structure of soybean 11S globulin. *Agricultural and Biological Chemistry*, 40(9), 1837-1844.
<https://doi.org/10.1080/00021369.1976.10862297>.

- Krishnan, H. B. (2005). Engineering soybean for enhanced sulfur amino acid content. *Crop science*, 45(2), 454-461. <https://doi.org/10.2135/cropsci2005.0454>.
- Kumar, V., Rani, A., Solanki, S., & Hussain, S. M. (2006). Influence of growing environment on the biochemical composition and physical characteristics of soybean seed. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(2-3), 188-195. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2005.06.005>.
- Kumar, V., Rani, A., Goyal, L., Dixit, A. K., Manjaya, J. G., Dev, J., & Swamy, M. (2010). Sucrose and raffinose family oligosaccharides (RFOs) in soybean seeds as influenced by genotype and growing location. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(8), 5081-5085. <https://doi.org/10.1021/jf903141s>.
- Laemmli, U. K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227(5259), 680-685. <https://doi.org/10.1038/227680a0>.
- Liu, S., Zhou, R., Tian, S., & Gai, J. (2007). A study on subunit groups of soybean protein extracts under SDS-PAGE. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 84(9), 793-801. <https://doi.org/10.1007/s11746-007-1111-z>.
- Matthäus, B., & Brühl, L. (2001). Comparison of different methods for the determination of the oil content in oilseeds. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 78(1), 95-102. <https://doi.org/10.1007/s11746-001-0226-y>.
- Messina, M., Sievenpiper, J. L., Williamson, P., Kiel, J., & Erdman Jr, J. W. (2022). Perspective: soy-based meat and dairy alternatives, despite classification as ultra-processed foods, deliver high-quality nutrition on par with unprocessed or minimally processed animal-based counterparts. *Advances in Nutrition*, 13(3), 726-738. <https://doi.org/10.1093/advances/nmac026>.

- Min, S., Yu, Y., & Martin, S. S. (2005). Effect of soybean varieties and growing locations on the physical and chemical properties of soymilk and tofu. *Journal of Food Science*, 70(1), C8-C21. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.tb09026.x>.
- Mozzoni, L., Shi, A., & Chen, P. (2013). Genetic analysis of high sucrose, low raffinose, and low stachyose content in V99-5089 soybean seeds. *Journal of Crop Improvement*, 27(5), 606-616. <https://doi.org/10.1080/15427528.2013.812998>.
- Mujoo, R., Trinh, D. T., & Ng, P. K. (2003). Characterization of storage proteins in different soybean varieties and their relationship to tofu yield and texture. *Food Chemistry*, 82(2), 265-273. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00547-2](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00547-2).
- Murphy, P. A., & Resurreccion, A. P. (1984). Varietal and environmental differences in soybean glycinin and beta-conglycinin content. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 32(4), 911-915. <https://doi.org/10.1021/jf00124a052>.
- Obendorf, R. L., Horbowicz, M., Dickerman, A. M., Brenac, P., & Smith, M. E. (1998). Soluble oligosaccharides and galactosyl cyclitols in maturing soybean seeds in planta and in vitro. *Crop Science*, 38(1), 78-84. <https://doi.org/10.2135/cropsci1998.0011183X003800010014x>.
- Pesic, M. B., Vucelic-Radovic, B. V., Barac, M. B., & Stanojevic, S. P. (2005). The influence of genotypic variation in protein composition on emulsifying properties of soy proteins. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 82(9), 667-672. <https://doi.org/10.1007/s11746-005-1126-x>.
- Qin, P., Song, W., Yang, X., Sun, S., Zhou, X., Yang, R., Li, N., Hou, W., Wu, C., Han, T., & Ren, G. (2014). Regional distribution of protein and oil compositions of soybean cultivars in China. *Crop Science*, 54(3), 1139-1146. <https://doi.org/10.2135/cropsci2013.05.0314>.

- Qin, P., Wang, T., & Luo, Y. (2022). A review on plant-based proteins from soybean: Health benefits and soy product development. *Journal of Agriculture and Food Research*, 7, 100265. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2021.100265>.
- Samard, S., & Ryu, G. H. (2019). Physicochemical and functional characteristics of plant protein-based meat analogs. *Journal of Food Processing and Preservation*, 43(10), e14123. <https://doi.org/10.1111/jfpp.14123>.
- SAS Institute Inc. (1993). SAS 9.1.3 Help and Documentation. *SAS Institute Inc., Cary; NC, USA*.
- Schaefer, M. J., & Love, J. (1992). Relationships between soybean components and tofu texture 1. *Journal of Food Quality*, 15(1), 53-66. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4557.1992.tb00975.x>.
- Seto, K. C., & Ramankutty, N. (2016). Hidden linkages between urbanization and food systems. *Science*, 352(6288), 943-945. Retrieved from <https://www.science.org/loi/science/group/d2010.y2016>.
- Sha, L., & Xiong, Y. L. (2020). Plant protein-based alternatives of reconstructed meat: Science, technology, and challenges. *Trends in Food Science & Technology*, 102, 51-61. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.05.022>.
- Stanojevic, S. P., Barac, M. B., Pesic, M. B., & Vucelic-Radovic, B. V. (2011). Assessment of soy genotype and processing method on quality of soybean tofu. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(13), 7368-7376. <https://doi.org/10.1021/jf2006672>.
- Taira, H. (1990). Quality of soybeans for processed foods in Japan. *Japan Agricultural Research Quarterly*, 24(3), 224-230. Retrieved from <https://www.jircas.go.jp/en/publication/list/jarq>.

- Wilcox, J. R., & Shibles, R. M. (2001). Interrelationships among seed quality attributes in soybean. *Crop Science*, 41(1), 11-14. <https://doi.org/10.2135/cropsci2001.41111x>.
- Yu, X., Yuan, F., Fu, X., & Zhu, D. (2016). Profiling and relationship of water-soluble sugar and protein compositions in soybean seeds. *Food chemistry*, 196, 776-782. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.09.092>.
- Zhang, D., Lü, H., Chu, S., Zhang, H., Zhang, H., Yang, Y., Li, H., & Yu, D. (2017). The genetic architecture of water-soluble protein content and its genetic relationship to total protein content in soybean. *Scientific Reports*, 7(1), 1-13. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-04685-7>.
- Zheng, L., Regenstein, J. M., Zhou, L., & Wang, Z. (2022). Soy protein isolates: A review of their composition, aggregation, and gelation. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 21(2), 1940-1957. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12925>.
- Zhou, Y., Li, X., Hua, Y., Kong, X., Zhang, C., Chen, Y., & Wang, S. (2019). The absence of lipoxxygenase and 7S globulin of soybeans and heating temperatures on the properties of soymilks and soy yogurts. *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie- Food Science and Technology*, 115(4), 108431. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108431>.
- Žilić, S. M., Barać, M. B., Pešić, M. B., Mladenović Drinić, S. D., Ignjatović-Mićić, D. D., & Srebrić, M. B. (2011). Characterization of proteins from kernel of different soybean varieties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(1), 60-67. <https://doi.org/10.1002/jsfa.4148>.

3. DISCUSIÓN GENERAL Y CONCLUSIONES GLOBALES

El grano de soja en Uruguay es mayormente exportado (más del 90 %) como un *commodity*; sin embargo, actualmente está creciendo la demanda mundial como alimento para consumo humano (Yu et al., 2013), lo que le daría un valor agregado muy atractivo para nuestro sistema productivo. Es por esto que es importante estudiar la caracterización de germoplasma uruguayo por su aptitud para consumo humano. Para llevar a cabo dicho propósito, en el presente trabajo, se estudiaron distintas muestras que incluían cultivares comerciales y líneas experimentales de INIA. Se midieron diferentes parámetros que ayudan a identificar genotipos que podrían tener mejor aptitud para consumo humano, tales como cantidad y calidad de proteínas y carbohidratos; además de relacionarlo con los parámetros aceite y rendimiento. Fue interesante ver que los rangos que se obtuvieron fueron comparables con los encontrados por otros autores y que, además, mediante las muestras seleccionadas, se logró obtener alta variabilidad ambiental y genética.

Dentro de las metodologías utilizadas, de dos de ellas no se encontraron referencias de que hubieran sido utilizadas antes en Uruguay. Una de estas es la cuantificación de subunidades de proteína soluble de soja mediante electroforesis en gel de poliacrilamida (SDS-PAGE). La otra es la técnica de carbohidratos solubles, donde se puso a punto un kit de Megazyme (Irlanda), y se obtuvieron resultados de calidad que dieron oportunidad de análisis. Por lo tanto, se dejó un protocolo para cada técnica que permitirá al Laboratorio de Calidad de Grano de INIA analizar las proteínas y los carbohidratos solubles del grano de soja en futuros proyectos propios o en coordinación con otros grupos uruguayos. Si bien la metodología utilizada demostró ser útil para los objetivos planteados, su desarrollo también mostró cuales serían sus limitaciones en futuros trabajos. Durante el análisis de las proteínas 11S y 7S, se pudieron diferenciar mejor las bandas de la proteína 7S. Esto puede estar explicado porque, al no hacerse un gel con gradiente de poliacrilamida, las

bandas superiores, que son las de mayor tamaño, se ven más nítidas que las inferiores. Por lo que, si se quisiera diferenciar genotipos mediante las subunidades de estas proteínas, sería más confiable a través de la 7S o habría que generar un gel de poliacrilamida con gradiente 5-15 %. Otra de las limitaciones que se vio en el análisis de los datos fue la gran incertidumbre del método de Bradford, por lo que quizás sea conveniente ajustar la metodología utilizada.

Al analizar el grupo de genotipos que estuvieron en diferentes ambientes, se observó que en 8 de los 10 parámetros estudiados fue significativo el efecto ambiente. Además de esto, considerando los componentes de varianza, este efecto presentaba el mayor valor en todos los casos. A su vez, el efecto genotipo fue significativo en la mayoría de las variables en los tres sets analizados, lo cual es alentador para establecer objetivos de mejoramiento. Una de las variables que se destacó fue la sacarosa, no solo porque el efecto genético fue significativo en todos los grupos, sino porque, en los componentes de varianza en el set GxE, este efecto representó casi el 40 %. Esto significa que sacarosa podría ser un parámetro muy relevante para seleccionar genotipos de soja para consumo humano.

Con el objetivo de encontrar mayor variabilidad en los parámetros estudiados, se seleccionó un set con más genotipos (GM). Al observar el rango entre el mínimo y el máximo en las variables estudiadas se notó que se logró obtener mayor variabilidad en este set. Por otro lado, en el set GxE y en CONV donde se estudiaron genotipos convencionales junto con los GMO, se vio que no hubo diferencias entre sí en los parámetros estudiados. Esto significa que, a pesar de que el mercado de soja para consumo humano prefiera a los que no tienen modificación genética, observándolo desde el punto de valores nutricionales y componentes de impacto tecnológico, no habría diferencias entre estos.

Un punto a destacar es que se estudió la relación de los grupos de madurez (corto, medio y largo) con los distintos parámetros en cada set, pero no se encontró una relación muy clara (información no presentada). Solo se vio una leve tendencia a que los ciclos de madurez más largos tuvieran mayor contenido de sacarosa. De todas formas, para generar conclusiones valiosas, habría que estudiarlo más en profundidad con mayor cantidad de genotipos y ambientes con el fin de ver si se sigue dando esta relación con mayor variabilidad.

A través de los resultados obtenidos se consiguió diferenciar genotipos, lo que significa que se pudieron identificar aquellos que cuentan con características más aptas para consumo humano. Se observó que NA 5509 RG y 62R63 RSF tuvieron buen perfil de carbohidratos (alta sacarosa y bajos RFO). Otro de ellos fue el DM 6.2i, que contiene alta sacarosa y bajos RFO y cuyo contenido de proteína total no fue menor a 40 % en todos los ambientes. El otro material del mismo origen, el DM 6.8i, también presentó buen perfil de carbohidratos con altos valores de sacarosa y bajos de RFO, además de tener un alto rendimiento. Otro genotipo que tuvo buenos parámetros de calidad fue el SJ13621, con alto contenido de proteína soluble, buen perfil de carbohidratos y alta relación 11S/7S. A esto se le suma que es un genotipo convencional y que ya fue lanzado al mercado desde el programa de mejoramiento de INIA, por lo que está disponible en caso de elegirlo con fin para consumo humano. El genotipo SJ13619 se destacó en los mismos parámetros, excepto en la relación 11S/7S, y tuvo alto rendimiento. Con buen perfil proteico se observó al DM 50i17 IPRO, dado que tuvo alta proteína total y alta relación 11S/7S. Además de esos genotipos con combinaciones de parámetros deseables, se pudieron identificar genotipos destacados en algún parámetro específico. Cabe destacar que, debido a la fuerte influencia del efecto ambiente que se observó en el set GxE, sería necesario estudiar en mayor profundidad a los genotipos que se destacaron por alguna característica, en especial en los sets de un ambiente.

La necesidad de disponer de alimentos de calidad para una población en expansión sumada a la imperante necesidad mundial de lograr que las cadenas de valor sean más sostenibles hace que las proteínas provenientes de fuentes distintas de los animales entren en escena, solas o en combinación con la carne. La producción de proteínas de calidad para alimentar a la población supone un gran desafío, y el grano de soja se considera una buena fuente proteica para producir alimentos. Actualmente se observa un crecimiento en la venta de este grano con destino para alimentación humana. De esta manera, en un país productor de este grano como Uruguay, el haber caracterizado diferentes genotipos por su potencial para consumo humano propone un valor agregado para nuestros productos y brinda la oportunidad de ingresar en diferentes mercados. En conclusión, Uruguay tiene la capacidad de ofrecer cantidades significativas de proteínas a la creciente demanda mundial.

4. BIBLIOGRAFÍA

- Ahnen RT, Jonnalagadda SS, Slavin JL. 2019. Role of plant protein in nutrition, wellness, and health. *Nutrition Reviews*, 77(11): 735-747.
- Ali N. 2010. Soybean Processing and Utilization. En: Singh G. (Ed.). *The Soybean: Botany, Production and Uses*. Ludhiana: CABI. (CABI Series in agriculture, environment, human sciences, plant health, leisure tourism, and veterinary and animal science). 345-374.
- Alisson-Silva F, Kawanishi K, Varki A. 2016. Human risk of diseases associated with red meat intake: Analysis of current theories and proposed role for metabolic incorporation of a non-human sialic acid. *Molecular Aspects of Medicine*, 51: 16–30. doi: 10.1016/j.mam.2016.07.002.

- Arbeletche P. 2020. El agronegocio en Uruguay: su evolución y estrategias cambiantes en el siglo XXI. *Rivar* (Santiago), 7(19): 109-129. doi: 10.35588/rivar.v7i19.4355.
- Bainy EM, Tosh SM, Corredig M, Poysa V, Woodrow L. 2008. Varietal differences of carbohydrates in defatted soybean flour and soy protein isolate by-products. *Carbohydrate Polymers*, 72(4): 664-672. doi: 10.1016/j.carbpol.2007.10.008.
- Bonato ER, Bonato ALV. 1987. A soja no Brasil: história e estatística. EMBRAPA: 1-61.
- Breene WM, Lin S, Hardman L, Orf J. 1988. Protein and oil content of soybeans from different geographic locations. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 65: 1927-1931.
- Cai T, Chang KC. 1999. Processing effect on soybean storage proteins and their relationship with tofu quality. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(2): 720-727.
- Cartter JL, Hopper TH. 1942. Influence of variety, environment, and fertility level on the chemical composition of soybean seed. United states Department of Agriculture, (787): 1-65.
- Catsimpoolas N, Ekenstam C. 1969. Isolation of alpha, beta, and gamma conglycinins. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 129(2): 490-497. doi: 10.1016/0003-9861(69)90206-9.
- CB Insights. 2020. Our Meatless Future: How The \$2.7T Global Meat Market Gets Disrupted [En línea]. 4 enero 2021. Disponible en: <https://www.cbinsights.com/research/future-of-meat-industrial-farming/>.
- Chajuss D. 2004. Soy Protein Concentrate: Technology, Properties, and Applications. En: Liu K. (Ed.). *Soybeans as Functional Foods and Ingredients*. Columbia: AOCS Press. (AOCS Monograph Series on Oilseeds). 121-133.

- Cheah I, Shimul AS, Liang J, Phau I. 2020. Drivers and barriers toward reducing meat consumption. *Appetite*, 149: 1-9. doi: 10.1016/j.appet.2020.104636.
- Choct M, Dersjant-Li Y, McLeish J, Peisker M. 2010. Soy oligosaccharides and soluble non-starch polysaccharides: a review of digestion, nutritive and anti-nutritive effects in pigs and poultry. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 23(10): 1386-1398.
- Cui Z, James AT, Miyazaki S, Wilson RF, Carter TE. 2004. Breeding Specialty Soybeans for Traditional and New Soyfoods. En: Liu K. (Ed.). *Soybeans as Functional Foods and Ingredients*. Champaign: AOCS Press. (AOCS Monograph Series on Oilseeds). 264-322.
- De Boer J, Schösler H, Aiking H. 2017. Towards a reduced meat diet: Mindset and motivation of young vegetarians, low, medium and high meat-eaters. *Appetite*, 113: 387–397. doi: 10.1016/j.appet.2017.03.007.
- De Fátima S, Guimarães VM, José IC, e Oliveira MG, Costa NMB, De Barros EG, Moreira MA, De Rezende ST. 2005. Hydrolysis of oligosaccharides in soybean flour by soybean α -galactosidase. *Food Chemistry*, 93(4): 665-670.
- Dirección de Estadísticas Agropecuarias (DIEA). 2021. Encuesta Agrícola «Invierno 2021» [En línea]. 3 junio 2022. Disponible en: https://www.gub.uy/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/sites/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/files/2021-10/PUBLICACION_INV_2021.pdf.
- Egounlety M, Aworh OC. 2003. Effect of soaking, dehulling, cooking and fermentation with *Rhizopus oligosporus* on the oligosaccharides, trypsin inhibitor, phytic acid and tannins of soybean (*Glycine max* Merr.), cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) and groundbean (*Macrotyloma geocarpa* Harms). *Journal of Food Engineering*, 56: 249-254.

- Fehr WR, Hoeck JA, Johnson SL, Murphy PA, Nott JD, Padilla GI, Welke GA. 2003. Genotype and environment influence on protein components of soybean. *Crop Science*, 43(2): 511-514. doi: 10.2135/cropsci2003.5110.
- Friedman M. 1996. Nutritional value of proteins from different food sources. A review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(1): 6-29.
- Gatehouse JA, Evans IM, Croy RR, Boulter D. 1986. Differential expression of genes during legume seed development. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. B, Biological Sciences*, 314(1166): 367-384.
- Gerde JA, Hammond EG, Johnson LA, Su C, Wang T, White PJ. 2020. Soybean Oil. En: Shahidi F. (Ed.). *Bailey's Industrial Oil and Fat Products*. Hoboken: Wiley. (Wiley Series in Agrochemicals and Plant Protection). 1-68.
- Glitsch K. 2000. Consumer perceptions of fresh meat quality: cross-national comparison. *British Food Journal*, 102(3): 177-194.
- Guan X, Zhong X, Lu Y, Du X, Jia R, Li H, Zhang M. 2021. Changes of soybean protein during tofu processing. *Foods*, 10(7): 1-16.
- Hachmeister KA, Fung DY. 1993. Tempeh: a mold-modified indigenous fermented food made from soybeans and/or cereal grains. *Critical Reviews in Microbiology*, 19(3): 137-188.
- Hagely KB, Jo H, Kim JH, Hudson KA, Bilyeu K. 2020. Molecular-assisted breeding for improved carbohydrate profiles in soybean seed. *Theoretical and Applied Genetics*, 133(4): 1189-1200.
- Hartman GL, West ED, Herman TK. 2011. Crops that feed the World 2. Soybean—worldwide production, use, and constraints caused by pathogens and pests. *Food Security*, 3: 5-17. doi: 10.1007/s12571-010-0108-x.

- Hendrawati TY, Audini K, Ramadhan AI, Gustia H. 2021. Effects and characterization of different soybean varieties in yield and organoleptic properties of tofu. *Results in Engineering*, 11: 1-6.
- Hertzler SR, Lieblein-Boff JC, Weiler M, Allgeier C. 2020. Plant proteins: Assessing their nutritional quality and effects on health and physical function. *Nutrients*, 12(12): 3704.
- Hou A, Chen P, Alloatti J, Li D, Mozzoni L, Zhang B, Shi A. 2009. Genetic variability of seed sugar content in worldwide soybean germplasm collections. *Crop Science*, 49(3): 903-912. doi: 10.2135/cropsci2008.05.0256.
- Hu C, Wong WT, Wu R, Lai WF. 2020. Biochemistry and use of soybean isoflavones in functional food development. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(12): 1-15. doi: 10.1080/10408398.2019.1630598.
- Hurburgh CR, Brumm TJ, Guinn JM, Hartwig RA. 1990. Protein and oil patterns in US and world soybean markets. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 67(12): 966-973.
- Hurburgh CR. 1994. Long-term soybean composition patterns and their effect on processing. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 71(12): 1425-1427.
- Hymowitz T. 2008. The history of the soybean. En: Lawrence AJ, White PJ, Galloway R. (Eds.). *Soybeans: Chemistry, Production, Processing, and Utilization*. Urbana: AOCS Press. (AOCS Monograph Series on Oilseeds). 1-31.
- James AT, Yang A. 2016. Interactions of protein content and globulin subunit composition of soybean proteins in relation to tofu gel properties. *Food Chemistry*, 194: 284-289. doi: 10.1016/j.foodchem.2015.08.021.

- Jiang GL, Chen P, Zhang J, Florez-Palacios L, Zeng A, Wang X, Bowen RA, Miller A, Berry H. 2018. Genetic analysis of sugar composition and its relationship with protein, oil, and fiber in soybean. *Crop Science*, 58(6): 2413-2421.
- Jideani VA. 2011. Functional properties of soybean food ingredients in food systems. *Soybean-Biochemistry, chemistry and physiology*. Ciudad del Cabo: IntechOpen. 345-366.
- Joshi VK, Kumar S. 2015. Meat Analogues: Plant based alternatives to meat products-A review. *International Journal of Food and Fermentation Technology*, 5(2): 107-119.
- Kang J, Badger TM, Ronis MJ, Wu X. 2010. Non-isoflavone phytochemicals in soy and their health effects. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(14): 8119-8133.
- Kaur S, Das M. 2011. Functional foods: An overview. *Food Science and Biotechnology*, 20: 861-875. doi: 10.1007/s10068-011-0121-7.
- Kemper JA, White SK. 2021. Young adults' experiences with flexitarianism: The 4Cs. *Appetite*, 160: 1-11. doi: 10.1016/j.appet.2020.105073.
- Khatib KA, Aramouni FM, Herald TJ, Boyer JE. 2002. Physicochemical characteristics of soft tofu formulated from selected soybean varieties. *Journal of Food Quality*, 25(4): 289-303.
- Kim Y, Wicker L. 2005. Soybean cultivars impact quality and function of soymilk and tofu. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(15): 2514-2518. doi: 10.1002/jsfa.2287.
- Kitamura K. 1995. Genetic improvement of nutritional and food processing quality in soybean. *Japan Agricultural Research Quarterly*, 29: 1-8.
- Kumar V, Rani A, Solanki S, Hussain SM. 2006. Influence of growing environment on the biochemical composition and physical characteristics

- of soybean seed. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(2-3): 188-195.
- Kumar V, Rani A, Goyal L, Dixit AK, Manjaya JG, Dev J, Swamy M. 2010. Sucrose and raffinose family oligosaccharides (RFOs) in soybean seeds as influenced by genotype and growing location. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(8): 5081-5085. doi: 10.1021/jf903141s.
- Kumar P, Chatli MK, Mehta N, Singh P, Malav OP, Verma AK. 2015. Meat analogues: Health promising sustainable meat substitutes. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(5): 923-932. doi: 10.1080/10408398.2014.939739.
- Li YS, Du M, Zhang QY, Wang GH, Hashemi M, Liu XB. 2012. Greater differences exist in seed protein, oil, total soluble sugar and sucrose content of vegetable soybean genotypes [*Glycine max*'(L.) Merrill] in Northeast China. *Australian Journal of Crop Science*, 6(12): 1681-1686.
- Liener IE. 1994. Implications of antinutritional components in soybean foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 34(1): 31-67. doi: 10.1080/10408399409527649.
- Liu K. 1997. *Soybeans: Chemistry, Technology, and Utilization*. Singapore: Springer. (Springer Series in the Data Sciences). 532.
- Liu K. 2004. Soybeans as a Powerhouse of Nutrients and Phytochemicals. En: Liu K. (Ed.). *Soybeans as Functional Foods and Ingredients*. Champaign: AOCS Press. (AOCS Monograph Series on Oilseeds).
- Lucas A. 2020. CNBC. Impossible Foods is launching meatless pork and sausage as it prepares for a global push. [En línea]. 01 noviembre 2022. Disponible en: <https://www.cnbc.com/2020/01/06/impossible-foods-is-launching-meatless-pork-and-sausage-as-it-prepares-for-a-global-push.html>.

- Medic J, Atkinson C, Hurburgh CR. 2014. Current knowledge in soybean composition. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 91(3): 363-384. doi: 10.1007/s11746-013-2407-9.
- Meng S, Chang S, Gillen AM, Zhang Y. 2016. Protein and quality analyses of accessions from the USDA soybean germplasm collection for tofu production. *Food chemistry*, 213: 31-39. doi: 10.1016/j.foodchem.2016.06.046.
- Messina MJ. 1999. Legumes and soybeans: overview of their nutritional profiles and health effects. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 70(3): 439S-450S. doi: 10.1093/ajcn/70.3.439s.
- Messina MJ. 2003. Potential public health implications of the hypocholesterolemic effects of soy protein. *Nutrition*, 19(3): 280-281.
- Messina M, Messina V. 2010. The role of soy in vegetarian diets. *Nutrients*, 2(8): 855-888. doi: 10.3390/nu2080855.
- Messina M, Sievenpiper JL, Williamson P, Kiel J, Erdman JW. 2022. Perspective: soy-based meat and dairy alternatives, despite classification as ultra-processed foods, deliver high-quality nutrition on par with unprocessed or minimally processed animal-based counterparts. *Advances in Nutrition*, 13(3): 726-738.
- Milford AB, Le Mouël C, Bodirsky BL, Rolinski S. 2019. Drivers of meat consumption. *Appetite*, 141: 1-11. doi: 10.1016/j.appet.2019.06.005.
- Min S, Yu Y, Martin SS. 2005. Effect of soybean varieties and growing locations on the physical and chemical properties of soymilk and tofu. *Journal of Food Science*, 70(1): C8-C21.
- Mozzoni L, Shi A, Chen P. 2013. Genetic analysis of high sucrose, low raffinose, and low stachyose content in V99-5089 soybean seeds. *Journal of Crop Improvement*, 27(5): 606-616.

- Mujoo R, Trinh DT, Ng PK. 2003. Characterization of storage proteins in different soybean varieties and their relationship to tofu yield and texture. *Food chemistry*, 82(2): 265-273. doi: 10.1016/S0308-8146(02)00547-2.
- Mulimani VH, Thippeswamy S, Ramalingam. 1997. Enzymatic degradation of oligosaccharides in soybean flours. *Food Chem*, 59: 279-282.
- Müller HP. 1983. The genetic control of seed protein production in legumes. En: Gottschalk W, Muller HP. (Eds.). *Seed Proteins: Biochemistry, Genetics, Nutritive Value Proteins*. Boston: Springer. (2;1). 309-353.
- Nadathur SR, Wanasundara JPD, Scanlin L. 2017. Proteins in the Diet: Challenges in Feeding the Global Population. En: Nadathur SR, Wanasundara JPD, Scanlin L. (Eds.). *Sustainable Protein Sources*. Chennai: Academic press. (Academic Press Series in Engineering). 1-19.
- Nishinari K, Fang Y, Nagano T, Guo S, Wang R. 2018. Soy as a food ingredient. En: Yada RY. (Ed.). *Proteins in Food Processing*. Vancouver: Woodhead Publishing. (Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition). 149-186.
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). 2017. El futuro de la alimentación y la agricultura-Tendencias y Desafíos. [En línea]. 6 junio 2022. Disponible en: <https://www.fao.org/3/i6881s/i6881s.pdf>.
- Osborne TB, Campbell GF. 1898. Proteids of the soy bean (*Glycine hispida*). *Journal of the American Chemical Society*, 20(6): 419-428.
- Oviedo ED. 2012. Argentina y China: causas de la disputa en torno al aceite de soja. *Estudios de Asia y África*, 47(2): 337-376.
- Oyhantcabal G, Narbondo I. 2011. Radiografía del agronegocio sojero. Descripción de los principales actores y los impactos socio-

económicos en Uruguay [en línea]. Redes–Amigos de la tierra (REDES-AT). Montevideo. 31 marzo 2023. Disponible en: <https://www.redes.org.uy/publicaciones/>

Pagano MC, Miransari M. 2016. En: Miransari M. (Ed.). The importance of soybean production worldwide. Abiotic and biotic stresses in soybean production. Isfahan: Academic Press. 1-26.

Poysa V, Woodrow L. 2002. Stability of soybean seed composition and its effect on soymilk and tofu yield and quality. *Food Research International*, 35(4): 337-345.

Poysa V, Woodrow L, Yu K. 2006. Effect of soy protein subunit composition on tofu quality. *Food Research International*, 39(3): 309-317.

Qin P, Wang T, Luo Y. 2022. A review on plant-based proteins from soybean: Health benefits and soy product development. *Journal of Agriculture and Food Research*, 7: 1-8.

Realini CE, Ares G, Antúnez L, Brito G, Luzardo S, Del Campo M, Saunders C, Farouk MM, Montossi FM. 2022. Meat insights: Uruguayan consumers' mental associations and motives underlying consumption changes. *Meat Science*, 192: 1-9. doi: 10.1016/j.meatsci.2022.108901.

Ritchie H, Roser M. 2021. Forests and Deforestation. Our World in Data. [En línea]. 3 junio 2022. Disponible en: <https://ourworldindata.org/forests-and-deforestation>.

Rizzo G, Baroni L. 2018. Soy, soy foods and their role in vegetarian diets. *Nutrients*, 10(1), 43. doi: 10.3390/nu10010043.

Sanchez-Sabate R, Sabaté J. 2019. Consumer attitudes towards environmental concerns of meat consumption: A systematic review. *International journal of environmental research and public health*, 16(7): 1-37. doi: 10.3390/ijerph16071220.

- Setchell KD, Cassidy A. 1999. Dietary isoflavones: biological effects and relevance to human health. *The Journal of Nutrition*, 129(3): 758S-767S. doi: 10.1093/jn/129.3.758S.
- Sexton AE, Garnett T, Lorimer J. 2019. Framing the future of food: The contested promises of alternative proteins. *Environment and Planning E: Nature and Space*, 2(1): 47-72. doi: 10.1177/2514848619827009.
- Sha L, Xiong YL. 2020. Plant protein-based alternatives of reconstructed meat: science, technology, and challenges. *Trends in Food Science & Technology*, 102: 51-61. doi: 10.1016/j.tifs.2020.05.022.
- Sharma S, Kaur M, Goyal R, Gill BS. 2014. Physical characteristics and nutritional composition of some new soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) genotypes. *Journal of Food Science and Technology*, 51: 551-557. doi: 10.1007/s13197-011-0517-7.
- Simonne AH, Smith M, Weaver DB, Vail T, Barnes S, Wei CI. 2000. Retention and changes of soy isoflavones and carotenoids in immature soybean seeds (Edamame) during processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(12): 6061-6069. doi: 10.1021/jf000247f.
- Smart protein. 2021. What consumers want: a survey on European consumer attitudes towards plant-based foods [en línea]. 27 enero 2023. Disponible en: <https://smartproteinproject.eu/consumer-attitudes-plant-based-food-report/>.
- Sobral P, Wagner J. 2009. Relación entre la composición y la actividad antitriptica de sueros de soja y tofu y comportamiento térmico de sus proteínas aisladas. *Información Tecnológica*, 20(5): 65-73. doi: 10.1612/inf.tecnol.4115it.08.
- Stanojevic SP, Barac MB, Pesic MB, Vucelic-Radovic BV. 2011. Assessment of soy genotype and processing method on quality of soybean

- tofu. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(13): 7368-7376. doi: 10.1021/jf2006672 10.1021/jf2006672.
- Stanton AV, Leroy F, Elliot C, Mann N, Wall P, De Smet S. 2022. 36-fold higher estimate of deaths attributable to red meat intake in GBD 2019: Is this reliable? *The Lancet*, 399: e23–e26. doi: 10.1016/S0140-6736(22)00311-7.
- Stein HH, Berger LL, Drackley JK, Fahey GC, Hernot DC, Parsons CM. 2008. Nutritional Properties and Feeding Values of Soybeans and Their Coproducts. En: Lawrence AJ, White PJ, Galloway R. (Eds.). *Soybeans: Chemistry, Production, Processing, and Utilization*. Urbana: AOCS Press. (AOCS Monograph Series on Oilseeds). 613-660.
- Taira H. 1990. Quality of soybeans for processed foods in Japan. *Japan Agricultural Research Quarterly*, 24(3): 224-230.
- Tay SL, Pereira CO. 2004. Physicochemical properties of 7S and 11S protein mixtures coagulated by glucono- δ -lactone. *Journal of food science*, 69(4): FEP139-FEP143.
- Thrane M, Paulsen PV, Orcutt MW, Krieger TM. 2017. Soy Protein: Impacts, Production, and Applications. En: Nadathur SR, Wanasundara JP, Scanlin L. (Eds.). *Sustainable Protein Sources*. London: Elsevier. 23-45.
- Troy DJ, Kerry JP. 2010. Consumer perception and the role of science in the meat industry. *Meat Science*, 86(1): 214-226. doi: 10.1016/j.meatsci.2010.05.009.
- Utsumi S, Matsumura Y, Mori T. 1997. Structure-function relationships of soy proteins. En: Damodaran S, Paraf A. (Eds.). *Food Proteins and Their Applications*. New York: Marcel Dekker. 257-291.
- Walsh KA, Kauffman DL, Kumar KS, Neurath H. 1964. On the structure and function of bovine trypsinogen and trypsin. *Proceedings of the National*

Academy of Sciences of the United States of America, 51(2): 301-308.
doi: 10.1073/pnas.51.2.301.

Watson J. 2019. Plant-based meat market to reach USD 30.92 Billion by 2026. Reports and Data. [En línea]. 01 noviembre 2022. Disponible en: <https://www.globenewswire.com/news-release/2019/10/14/1929284/0/en/Plant-based-Meat-Market-To-Rreach-USD-30-92-Billion-By-2026-Reports-And-Data.html/>.

Whitton C, Bogueva D, Marinova D, Phillips CJC. 2021. Are we approaching peak meat consumption? Analysis of meat consumption from 2000 to 2019 in 35 countries and its relationship to gross domestic product. *Animals*, 11(3466): 1-15. doi: 10.3390/ani11123466.

Wilson RF. 2004. Seed composition. En: Shibles RM, Harper JM, Wilson RF, Shoemaker RC. (Eds.). *Soybeans: Improvement, production, and uses*. Madison: Wiley. 621-677.

Wolf WJ. 1970. Soybean Proteins: Their Functional, Chemical, and Physical Properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 18(6): 969-976. doi: 10.1021/jf60172a025.

Wolf WJ, Cowan JC, Wolff H. 1971. Soybeans as a food source. *CRC Critical Reviews in Food Technology*, 2(1): 81-158. doi: 10.1080/10408397109527117.

Yaffe-Bellany D. 2019. The new makers of plant-based meat? [En línea]. 4 enero 2021. Disponible en: <https://www.nytimes.com/2019/10/14/business/the-new-makers-of-plant-based-meat-big-meat-companies.html>.

Yamaguchi M, Sugimoto E, Hachiya S. 2001. Stimulatory effect of menaquinone-7 (vitamin K2) on osteoblastic bone formation in vitro. *Molecular and cellular biochemistry*, 223: 131-137.

- Yanagisawa Y, Sumi H. 2005. Natto bacillus contains a large amount of water-soluble vitamin K (menaquinone-7). *Journal of Food Biochemistry*, 29(3): 267-277.
- Young VR, Pellett PL. 1994. Plant proteins in relation to human protein and amino acid nutrition. *American Journal of Clinical Nutrition*, 59(5): 1203S-1212S. doi: 10.1093/ajcn/59.5.1203S.
- Young G, Mebrahtu T, Johnson J. 2000. Acceptability of green soybeans as a vegetable entity. *Plant Foods for Human Nutrition*, 55(4): 323-333.
- Yu H, Song Y, Liu X, Tian Z, Hu Y, Kang L. 2013. Analysis of protein characteristic in different soybean varieties. *Journal of Jilin Agricultural Sciences*, 38: 68-71.
- Yu X, Yuan F, Fu X, Zhu D. 2016. Profiling and relationship of water-soluble sugar and protein compositions in soybean seeds. *Food Chemistry*, 196: 776-782. doi: 10.1016/j.foodchem.2015.09.092.
- Zaheer K, Humayoun Akhtar M. 2017. An updated review of dietary isoflavones: Nutrition, processing, bioavailability and impacts on human health. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(6): 1280-1293.
- Zhang Q, Wang C, Li B, Li L, Lin D, Chen H, Liu Y, Li S, Qin W, Liu J, Liu W, Yang W. 2018. Research progress in tofu processing: from raw materials to processing conditions. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 58(9): 1448-1467. doi: 10.1080/10408398.2016.1263823.
- Zhang J, Chen Q, Kaplan DL, Wang Q. 2022. High-moisture extruded protein fiber formation toward plant-based meat substitutes applications: Science, technology, and prospect. *Trends in Food Science & Technology*. 128: 202-216.
- Zheng L, Regenstein JM, Teng F, Li Y. 2020. Tofu products: A review of their raw materials, processing conditions, and packaging. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 19(6): 3683-3714.