



Ferramentas biotecnológicas para o melhoramento genético do feijão-comum

Rosana Vianello

Goiânia, 04/04/2024



MINISTÉRIO DA
AGRICULTURA E
PECUÁRIA



Histórico

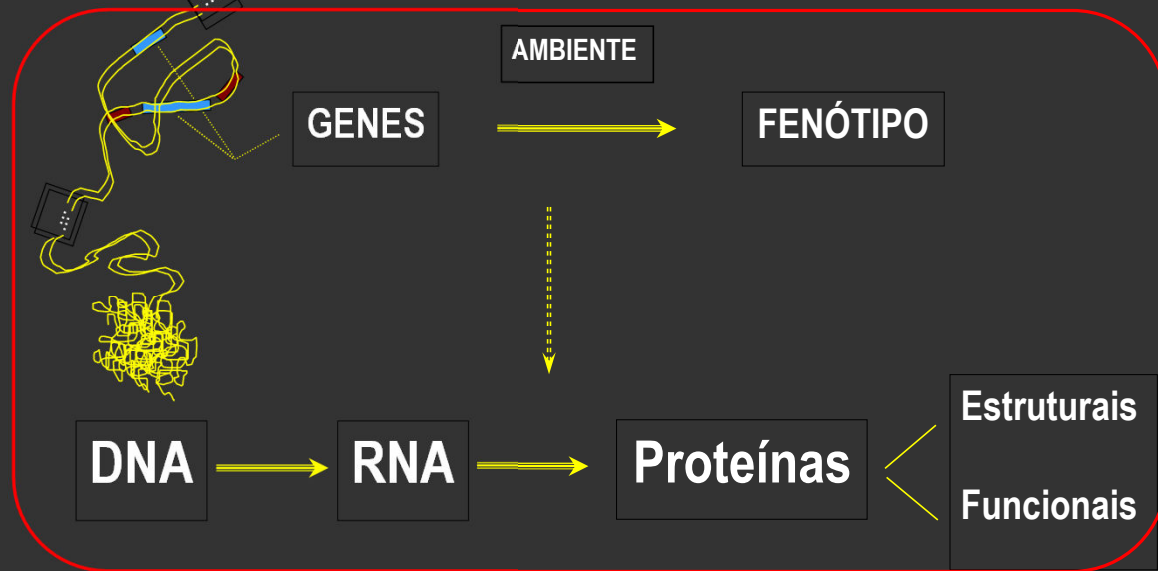
A Embrapa Arroz e Feijão é pioneira no desenvolvimento e utilização de ferramentas moleculares em apoio à administração dos bancos de germoplasma, assim como na implementação da seleção assistida por marcadores (SAM) junto aos programas de melhoramento de arroz e feijão.

O avanço acelerado da biotecnologia, aliado a um esforço permanente da equipe e ao apoio contínuo dos gestores da empresa, contribuíram para a integração definitiva da genômica junto aos programas de melhoramento de arroz e feijão.

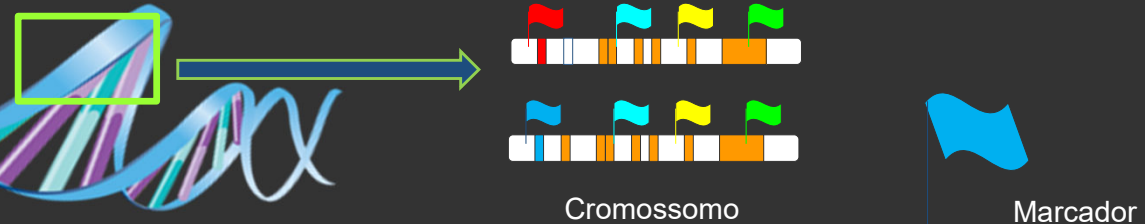




Marcadores Moleculares



- ✓ Pontos de referência física no genoma (DNA)
- ✓ Unidades genéticas de herança simples



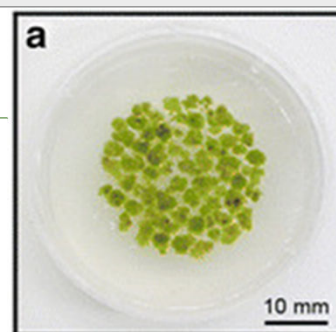
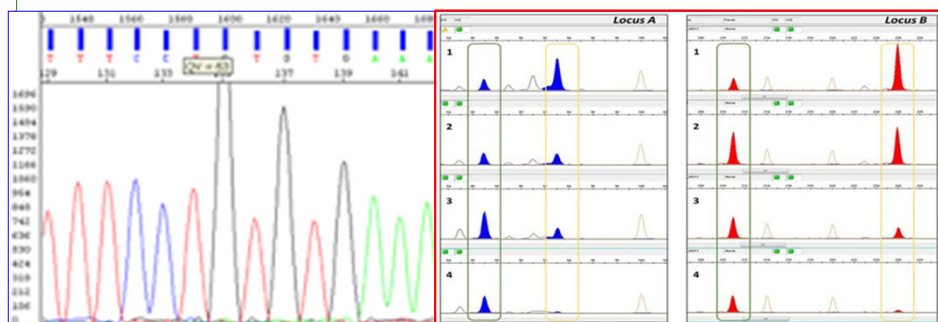
Ferramentas associadas à biotecnologia



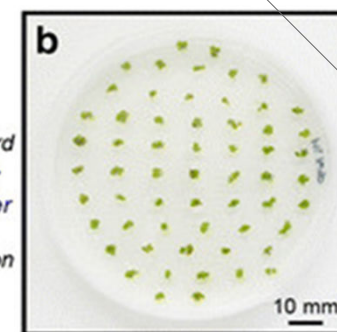
- Análise genômica
- Transcriptômica
- Proteômica
- Metabolômica
- Transformação
- Edição de genomas

2000 em diante...
SSR, SSR fluorescente, SNPs (OPAs, taqman, Axiom-chip, SNP-tag...), e executamos análises para caracterização genética, análises populacionais, mapeamento de QTLs, GWAS e seleção genômica de milhares de genótipos, transcriptoma, transformação, edição....

Atual... diversos marcadores/sistemas de genotipagem estão em uso rotineiro como suporte aos programas de melhoramento de feijão e arroz.



Bombard
Transfer
to
selection



Bombardment Plate
(MS-KT)

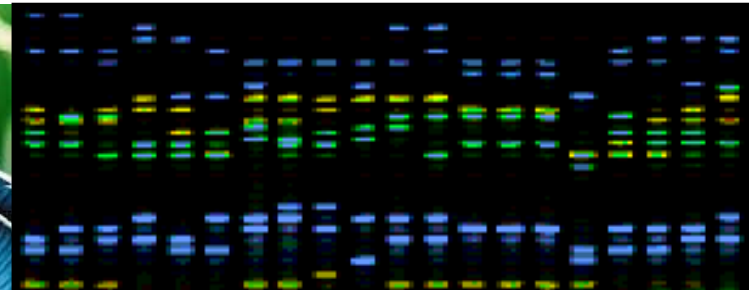
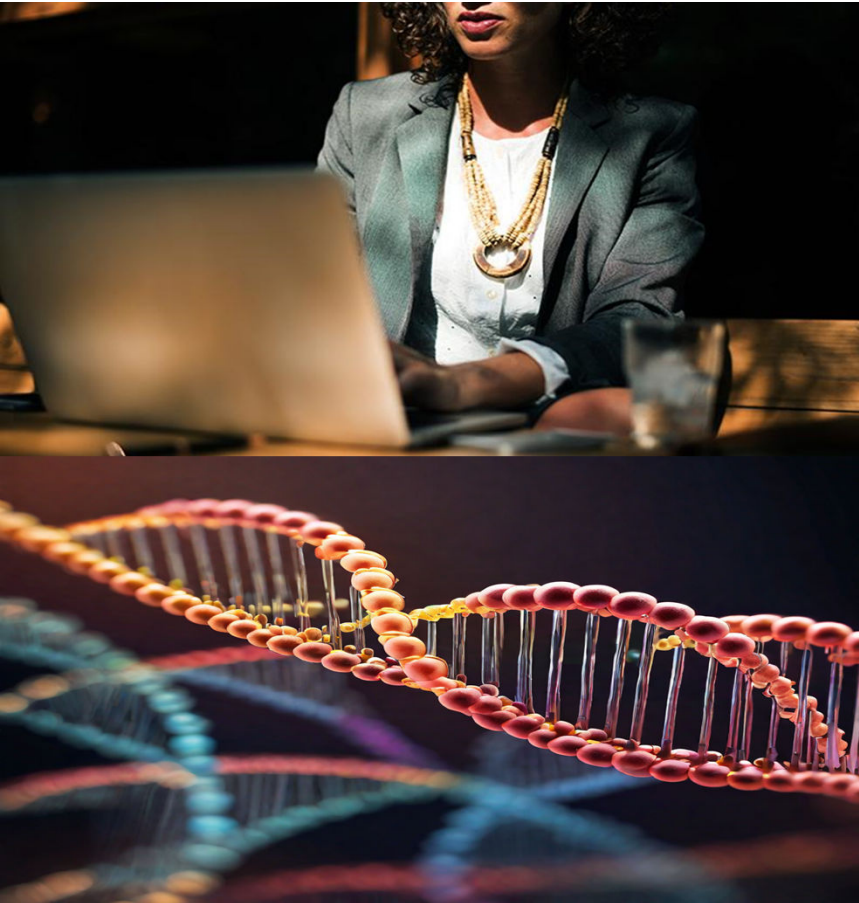
Selection Plate
(MS-antibiotic)

Genômica e bioinformática integradas ao **melhoramento de feijão**

Em conjunto fornecem uma base sólida para impulsionar estratégias eficazes de melhoramento de genético (todas as diferentes equipes que integram o grupo).

A genômica permite o estudo abrangente da estrutura, função, evolução, interações entre genes, ambiente, etc.

A bioinformática possibilita a análise e a interpretação de grandes conjuntos de dados genômicos, a identificação de ferramentas moleculares, de genes, previsões genômicas, etc.



Impactos das tecnologias no melhoramento genético (pesquisa tendo como parceiros/clientes os programas de melhoramento)

OPERACIONAIS

- *Redução nos intervalos de geração*
- *Redução de mão de obra*
- *Redução de custos (menos fenotipagem, maior eficiência de seleção)*

PRÁTICOS

- *Aumento da produtividade*
- *Qualidade nutricional de grãos*
- *Tolerância a estresses abióticos (hídrico, salinidade, frio)*
- *Tolerância a estresses bióticos (insetos, doenças)*

AMBIENTAIS

- *Menos defensivos agrícolas*
- *Agricultura mais sustentável*

Fluxos das análises

**Genômica
&
Bioinformática**

*Marcadores
moleculares*

*Mapeamento
genético*

*Análise
forense*

*Análise de
diversidade*

*Identificação de
genes*

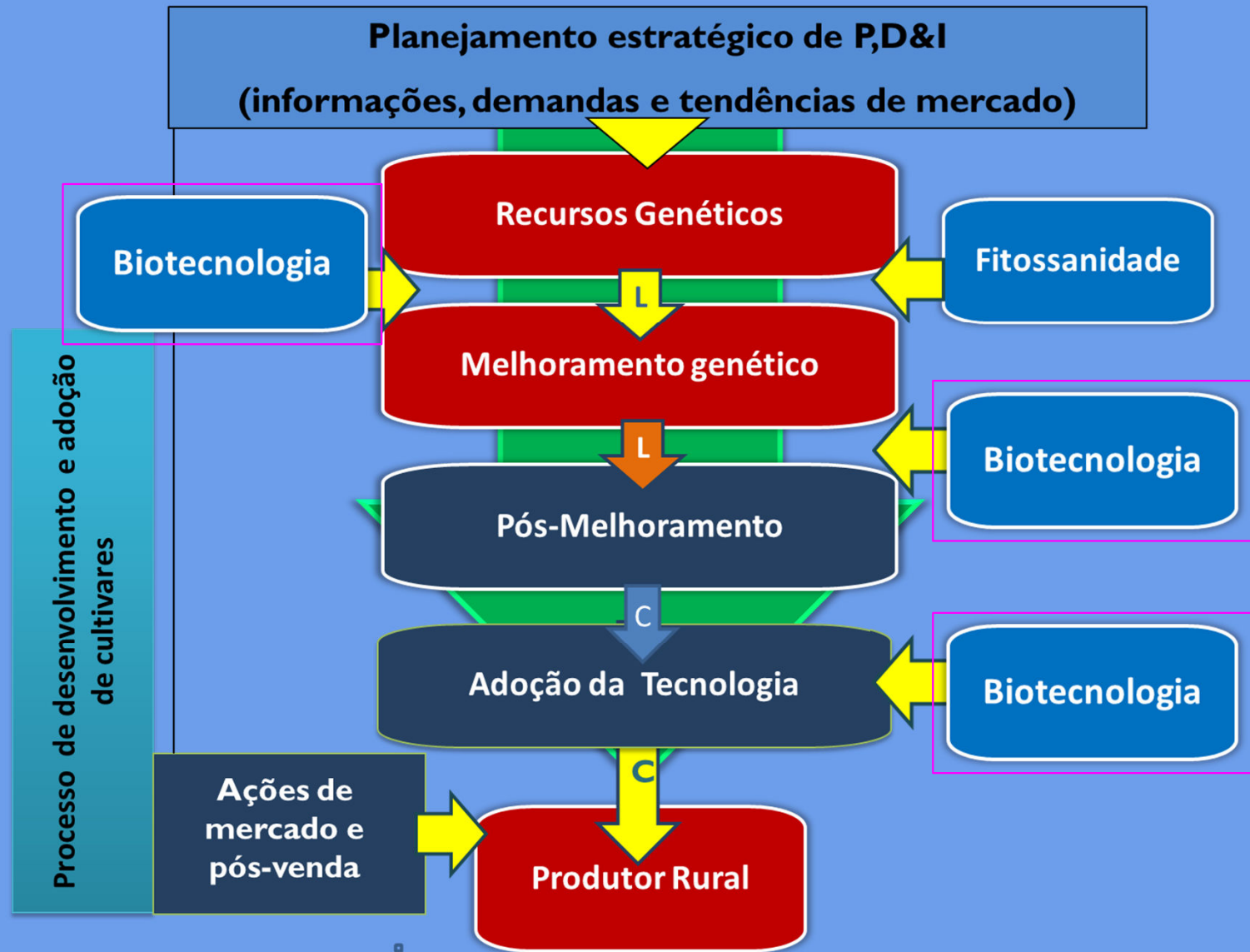
*Seleção assistida
por marcadores
(SAM)*

*Engenharia
genética*

*Caracterização
dos acessos dos
BAGs*

*Variedades melhoradas
Germoplasmas caracterizados
Proteção varietal*







IMPACTOS DOS MARCADORES MOLECULARES NO MELHORAMENTO GENÉTICO

- ✓ **Certificação da qualidade de produtos**
 - Determinação da uniformidade genética de cultivares
 - Detecção da presença de OGMs
- ✓ **Garantia do direito de propriedade intelectual**
 - Comparação do perfil de DNA da cultivar protegida em relação à variedade em questão
- ✓ **Apoio ao direito de patente de melhoristas**
 - Parâmetro acessório para determinação da distiguibilidade de uma nova cultivar
- ✓ **Auxílio a programa de melhoramento**
 - Seleção Assistida (piramidação, seleção precoce, retroc. assist. introgressão assistida, diversidade/pureza, paternidade...)
 - Seleção de plantas transgênicas
 - Certificação de cruzamentos dirigidos
- ✓ **Seleção assistida para doenças no contexto do melhoramento**



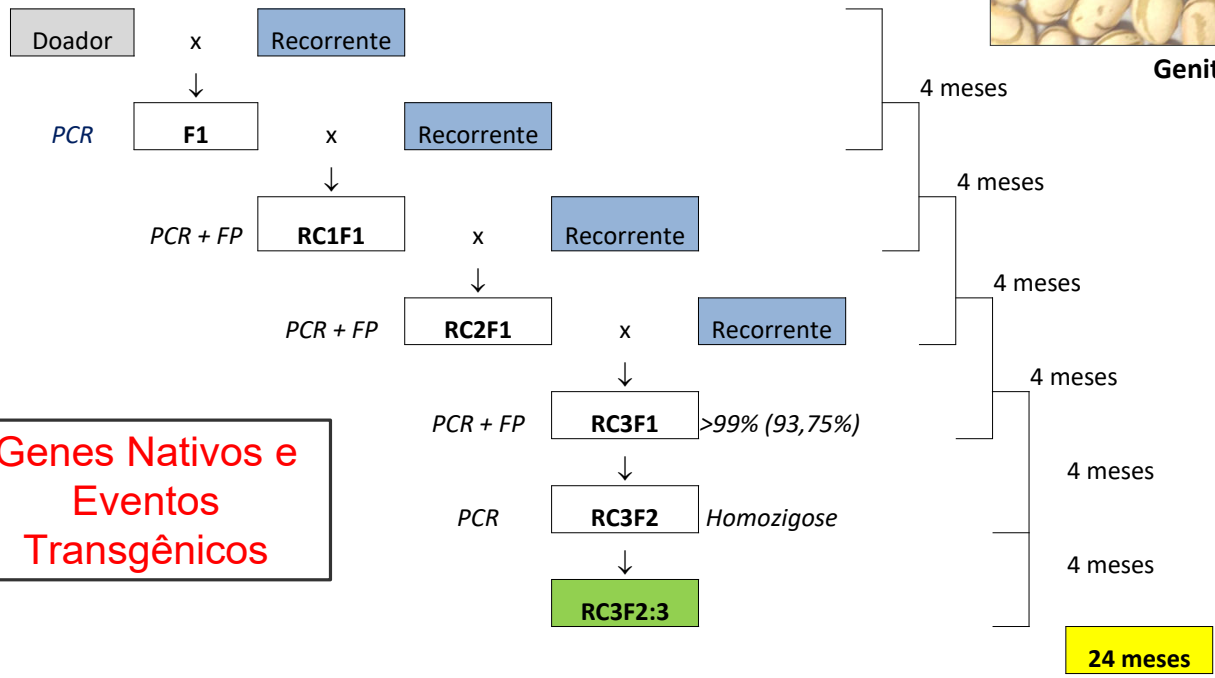
Marcadores Diagnósticos SAM – Feijão

Marcador	Doença
ANDJ9XR	Antracnose
ANZTN4U	Antracnose
AHGKAA9	Antracnose
ANT2H64	Crestam. bact. comum
ANYMVJW	Mancha angular
ANAAJK6	Mancha angular
ANWC62R	Carlavírus
ANAACDN	Mosaico dourado _OGM
AHFBB41	Escurecimento
AHD2DYT	Mosaico comum
ANCFFDU	Murcha de fusário



Retrocruzamento Assistido por MM

Programa Conversão de Linhagens



Genitor Recorrente



**Genes Nativos e
Eventos
Transgênicos**

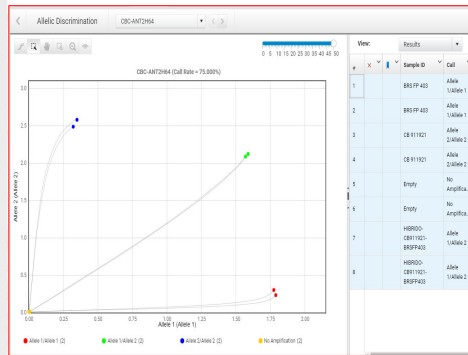
$$\%GR = 100 \times [1 - (0,5)^{(n+1)}]$$
 - taxa de ganho genético ao longo de "n" gerações de seleção ou cruzamento



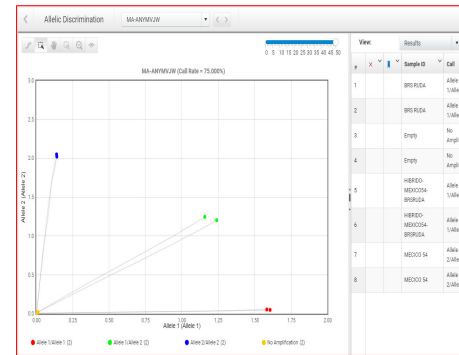


Teste diagnóstico automatizado para a detecção de alelos-alvo de resistência

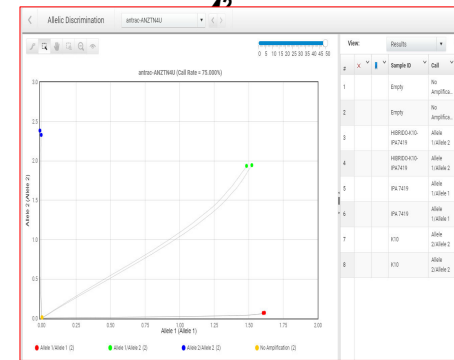
1) CBB – SU91



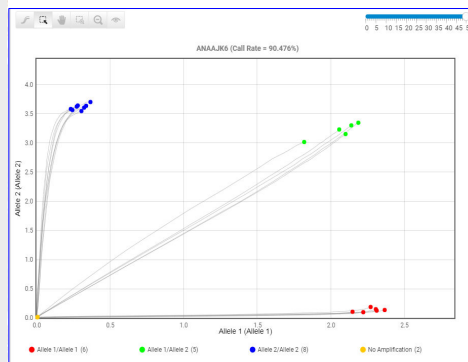
2) Mancha Angular – Phg-2



3) Antracnose – Co



4) Murcha de fusariose - Fop: Validação em amostragem ampliada demonstrou grande potencial do marcador para seleção.



Genótipo	FOP Notas	sk 5%	Total indivíduos
Allele 1/Allele 1	1,7-2,3	a	4
Allele 1/Allele 1	4	b	0
Allele 1/Allele 1	5,3-6,0	c	1
Allele 1/Allele 1	7,3	d	0
Allele 1/Allele 1	7,2		BRS HORIZONTE
Allele 1/Allele 2	2,0-3,0	a	8
Allele 1/Allele 2	3,7-4,0	b	2
Allele 1/Allele 2	5,0-6,0	c	3
Allele 2/Allele 2	3,7 - 4,7	b	8
Allele 2/Allele 2	1,7-3,3	a	46
Allele 2/Allele 2	2,75		CNFC 10794 (BRS FP403)

99,8% eficiência de seleção Antracnose

72% eficiência na seleção MF

Certificação de sementes para preservar a pureza genética e a identidade varietal

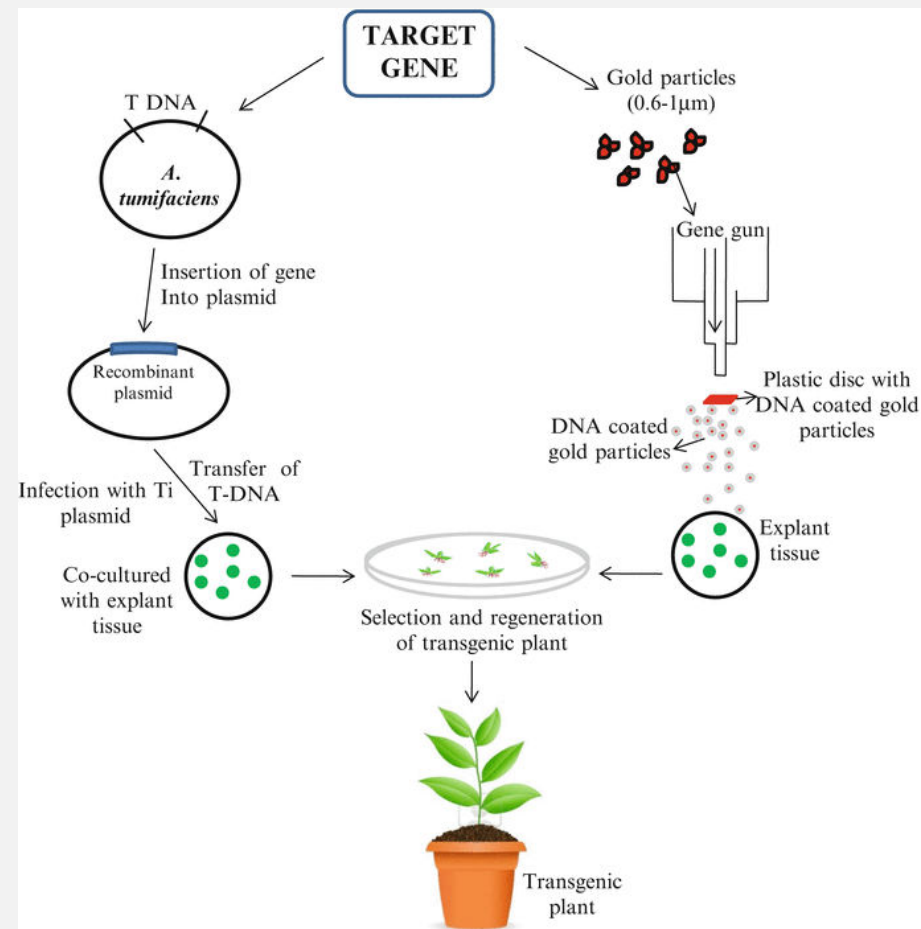


Análise de DNA representa uma melhoria significativa ao processo atual de monitoramento da pureza genética nos diferentes lotes de produção de sementes do melhorista e genética das linhagens elite e cultivares de feijão.





Feijão Geneticamente Modificado: Transformação, Edição Gênica e Desafios





RNAi-Mediated Resistance to Bean golden mosaic virus in Genetically Engineered Common Bean (*Phaseolus vulgaris*)- EMBRAPA

B

Expressa um mRNA em forma de **grampo** que da origem a um **RNA dupla fita** com um fragmento do **gene da replicase viral (AC1)**

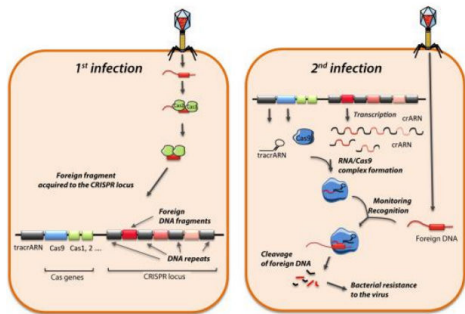
A

B

C

Feijão carioca BRS FC401 RMD (Resistente ao Mosaico- Dourado), desenvolvida pela Embrapa, apresenta *resistência* total ao mosaico-dourado, principal doença da cultura no país, capaz de destruir completamente as lavouras, e causada por vírus que é transmitido pela mosca-branca.

Clustered Regularly Interspaced Palindromic Repeats



“Sistema imunológico” de bactérias

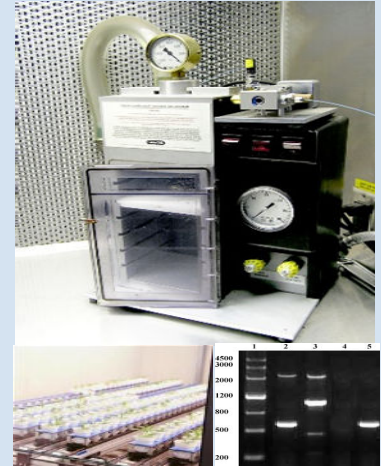
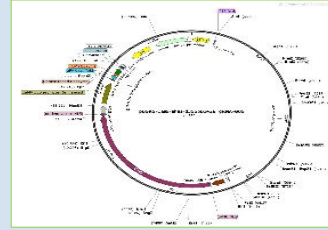
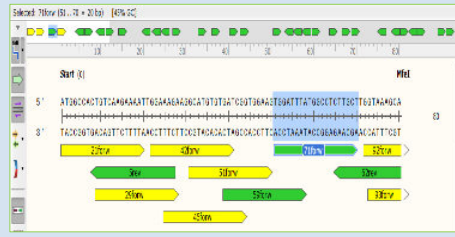
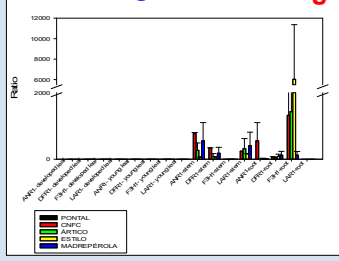
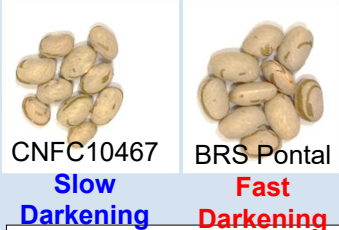
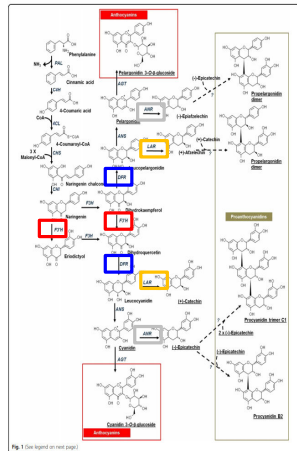


CRISPR: Edição Gênica Oportunidades

- ✓ Qualidade tecnológica dos grãos
- ✓ Aspectos nutricionais
- ✓ Fixação biológica de nitrogênio
- ✓ Resistência à doenças
- ✓ Produtividade
- ✓ Tolerância estresses abióticos

Escurecimento do tegumento de feijão pós-colheita via CRISPR-CAS9

- Problema:** A suscetibilidade do feijão ao escurecimento durante o armazenamento afeta sua comercialização, e causa considerável perda econômica devido a um indesejável declínio na qualidade visual que os consumidores associam ao tempo de cozimento prolongado (principalmente no tipo de grão Carioca - responsável por 70% da produção brasileira).
- Objetivo:** Obtenção de feijão do tipo carioca com ausência do escurecimento do tegumento durante o armazenamento pós-colheita utilizando ferramenta de edição CRISPR-Cas9.



1) *Escurecimento de grãos: feijão recém-colhidos (linha superior) e armazenado por 90 dias (linha inferior)*

2) *Genes associados ao acúmulo de proantocianidina*

3) *Quatro genes selecionados e confirmados via RT-qPCR*

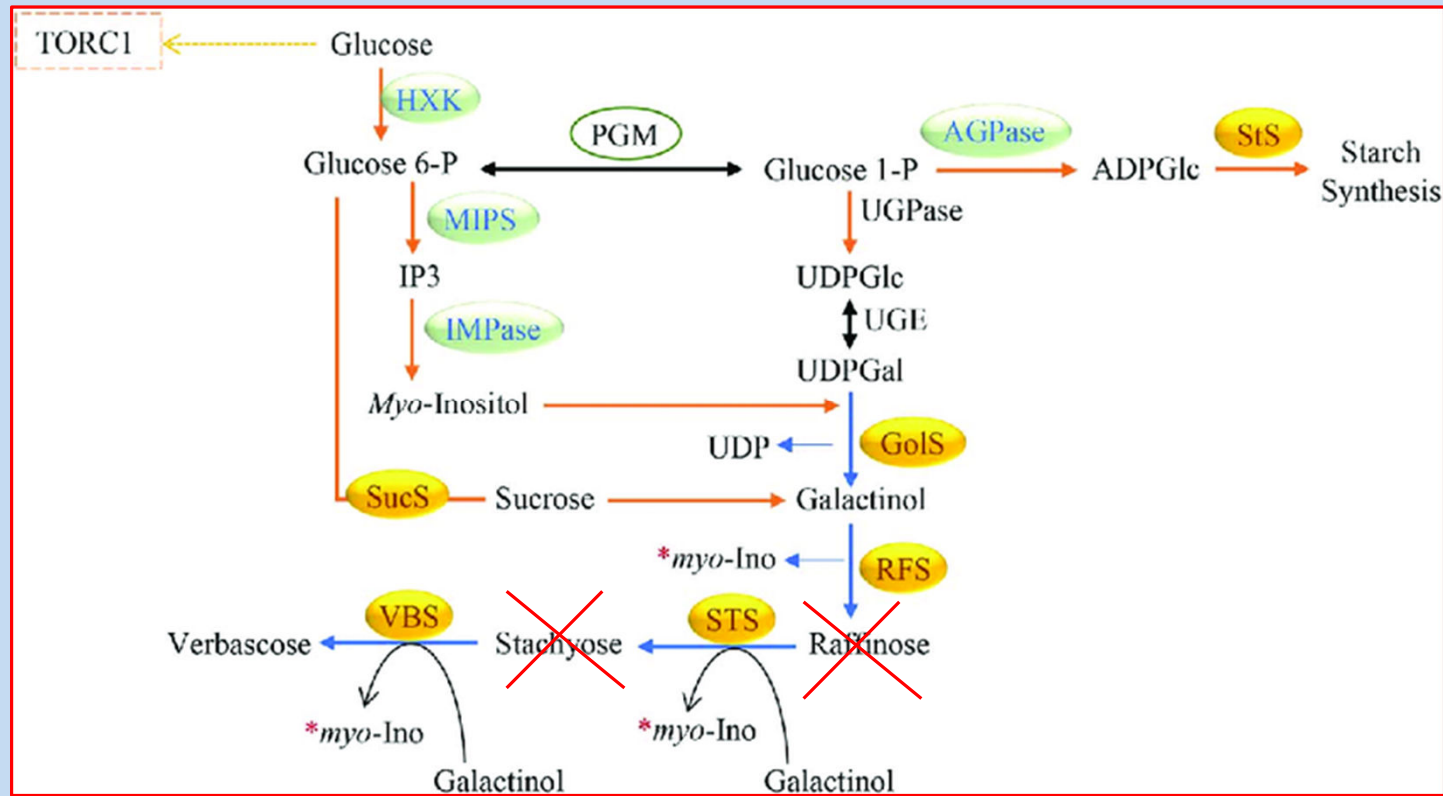
4) *Desenho gRNAs e construção do cassete de silenciamento CRISPRs-Cas9 (SDN1)*

5) *Transformação e seleção das plantas editadas (T0)*

Preciso deixar
o feijão
de molho?



Redução dos teores de rafinose via CRISPR



Obrigada!

rosana.vianello@embrapa.br



MINISTÉRIO DA
AGRICULTURA E
PECUÁRIA

