



Ferramentas biotecnológicas para o melhoramento genético do feijão-comum

Rosana Vianello

Goiânia, 04/04/2024



MINISTÉRIO DA
AGRICULTURA E
PECUÁRIA



Histórico

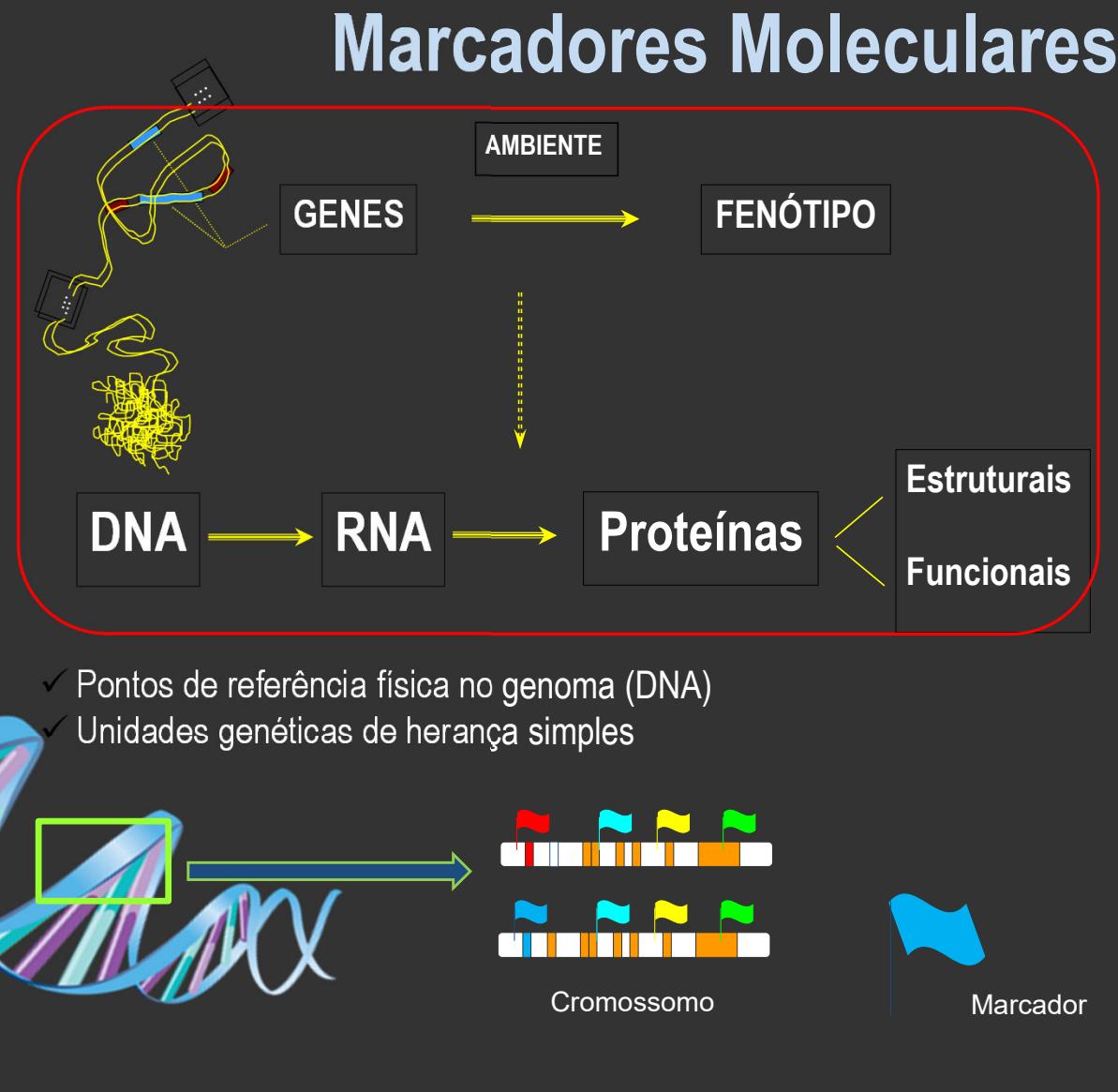


A Embrapa Arroz e Feijão é pioneira no desenvolvimento e utilização de ferramentas moleculares em apoio à administração dos bancos de germoplasma, assim como na implementação da seleção assistida por marcadores (SAM) junto aos programas de melhoramento de arroz e feijão.



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.





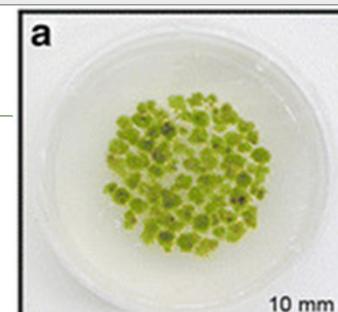
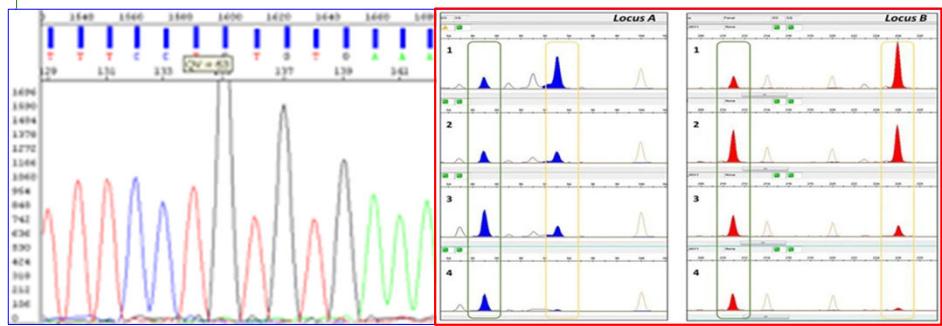
Ferramentas associadas à biotecnologia



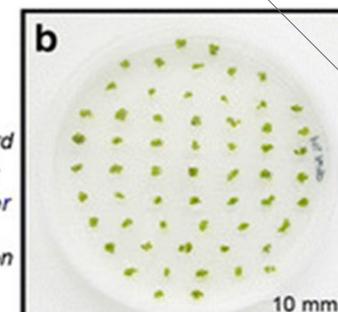
- Análise genômica
- Transcriptômica
- Proteômica
- Metabolômica
- Transformação
- Edição de genomas

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.



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, predições 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

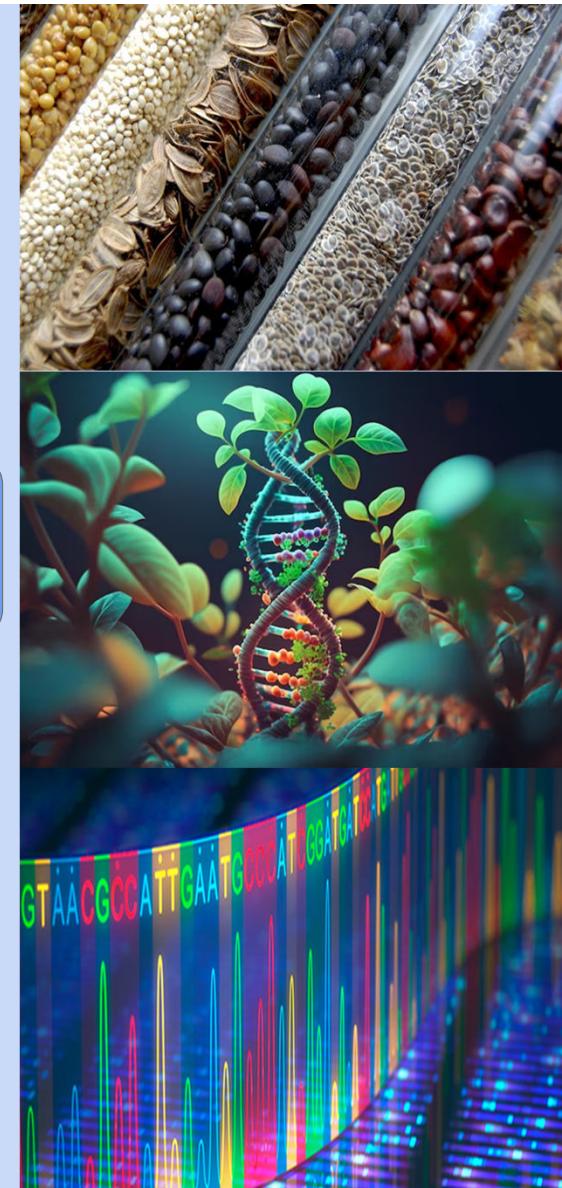
Identificação de
genes

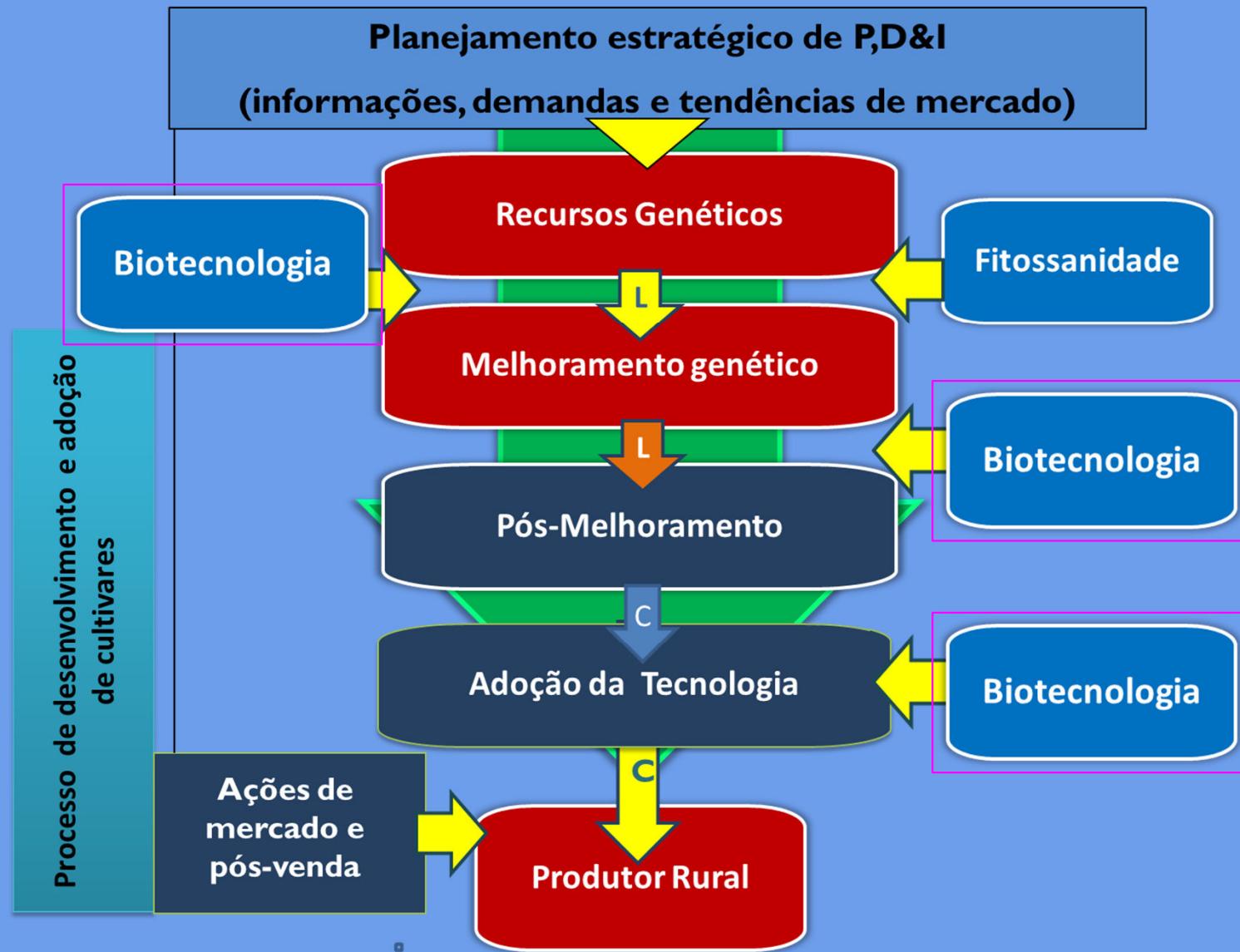
Seleção assistida
por marcadores
(SAM)

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 distinção 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

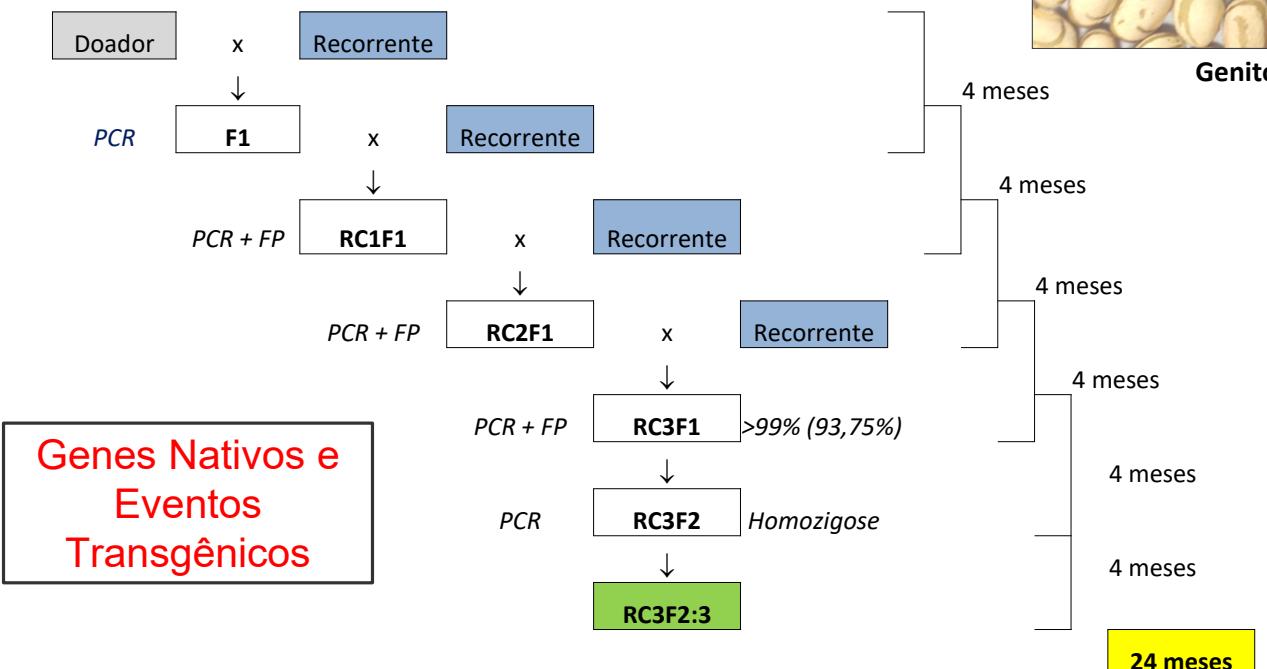
Marcador	Doença
ANDJ9XR	Antracnose
ANZTN4U	Antracnose
AHGKAA9	Antracnose
ANT2H64	Crestam. bact. comum
ANYMVJW	Mancha angular
ANAAJK6	Mancha angular
ANWC62R	Carlavírus
ANAAACDN	Mosaico dourado _ OGM
AHFBB41	Escurecimento
AHD2DYT	Mosaico comum
ANCFFDU	Murcha de fusário



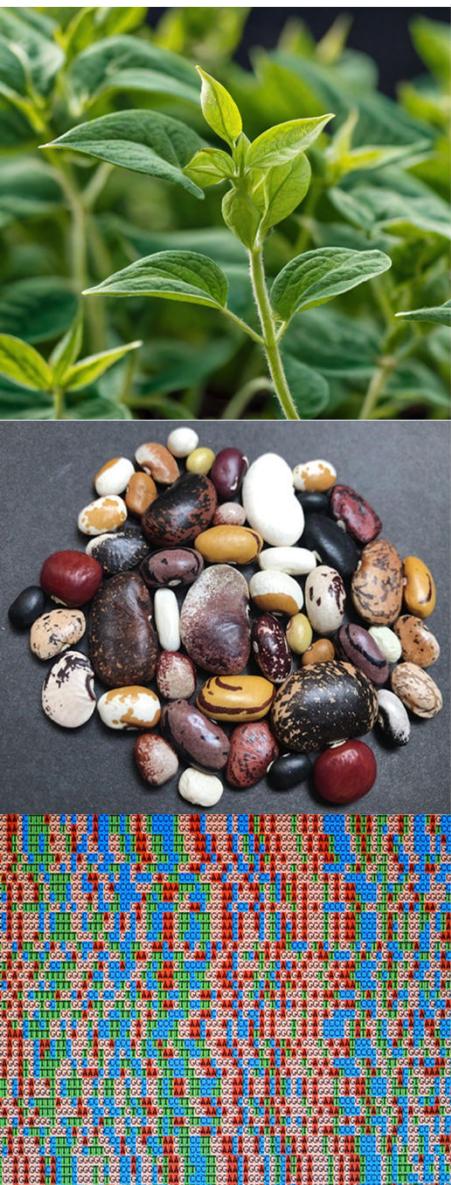
GM

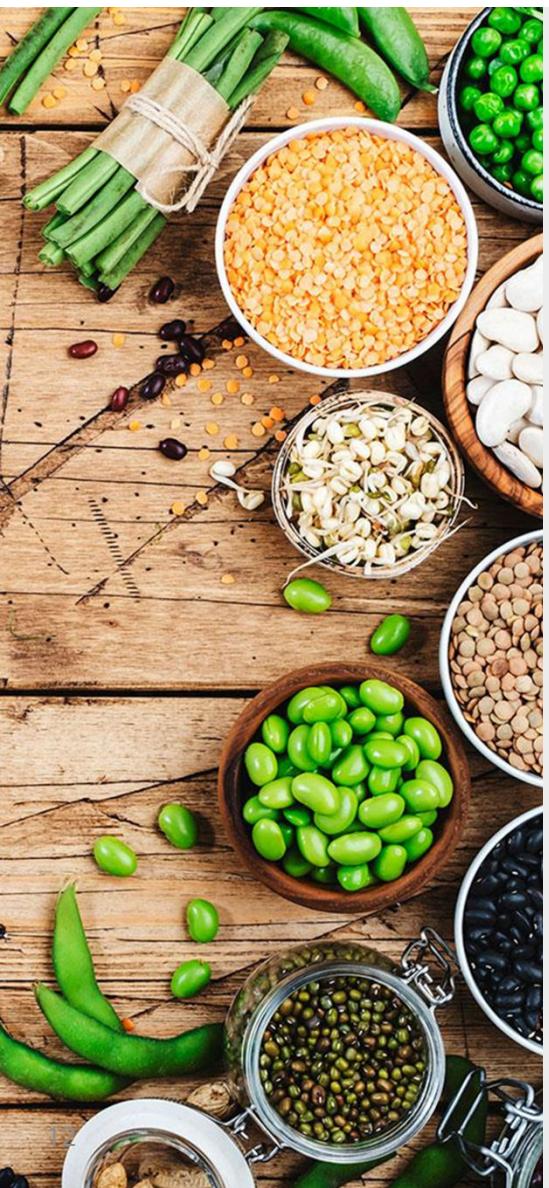
Retrocruzamento Assistido por MM

Programa Conversão de Linhagens



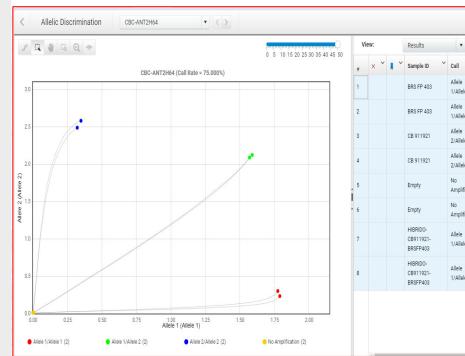
$\%GR = 100 \times [1 - (0,5)^{(n+1)}]$ - taxa de ganho genético ao longo de "n" gerações de seleção ou cruzamento



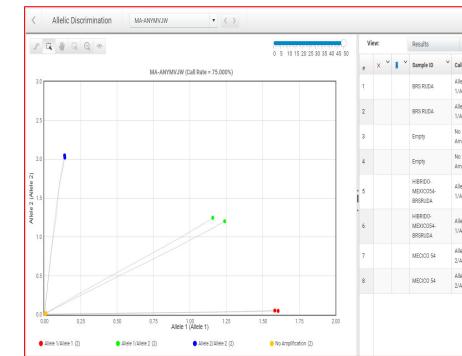


Teste diagnóstico automatizado para a detecção de alelos-alvo de resistência

1) CBB – SU91



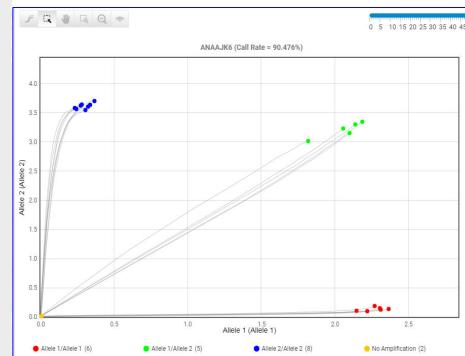
2) Mancha Angular – *Phg-2*



3) Antracnose – Co-42



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)

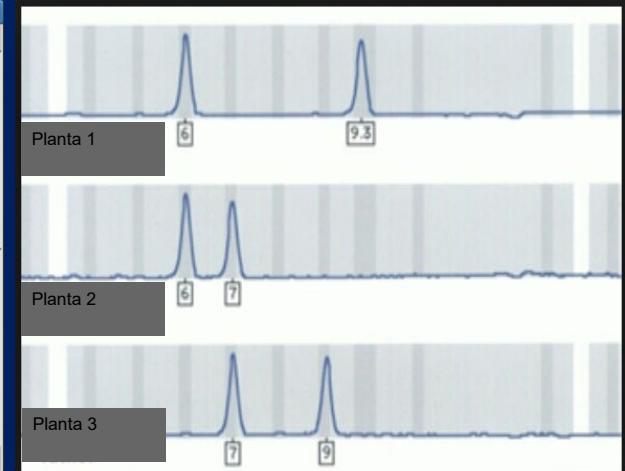
99,8% eficiência de seleção Antracnose

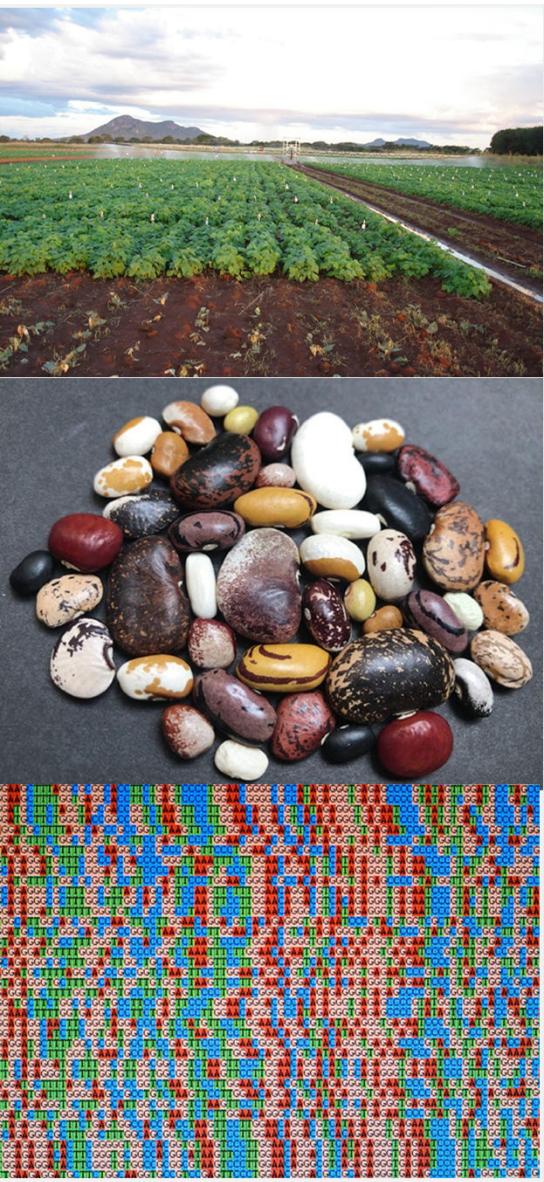
72% eficiência na seleção MF

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

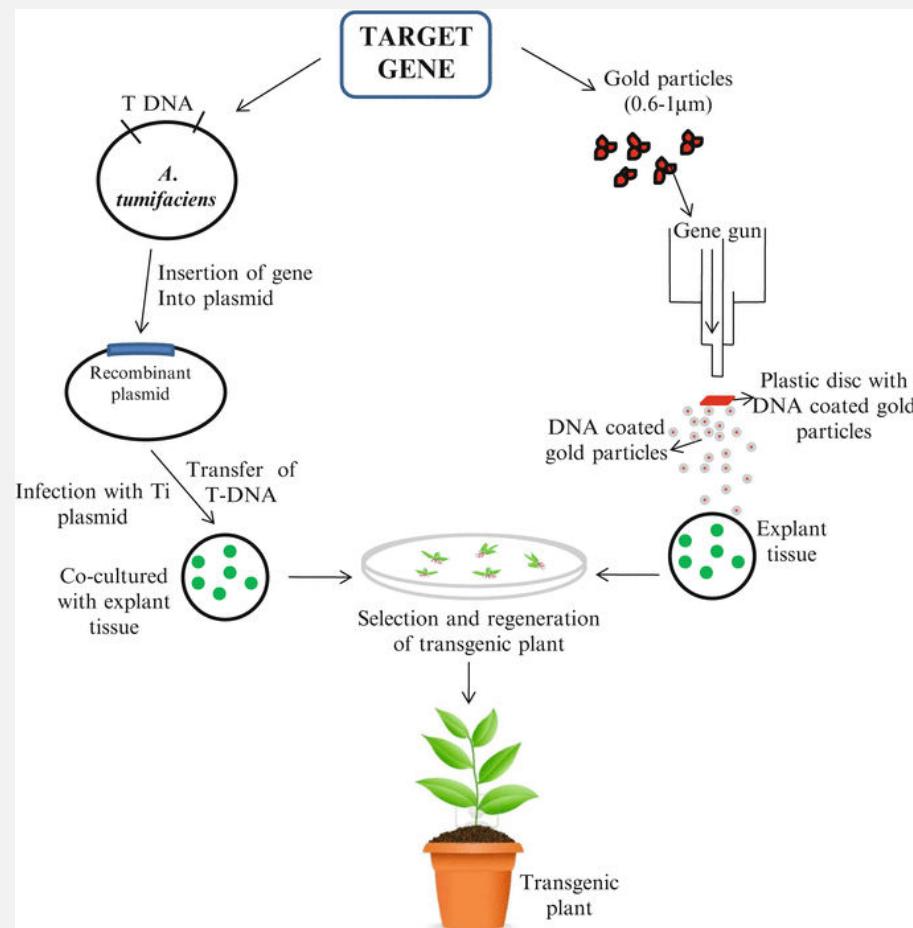


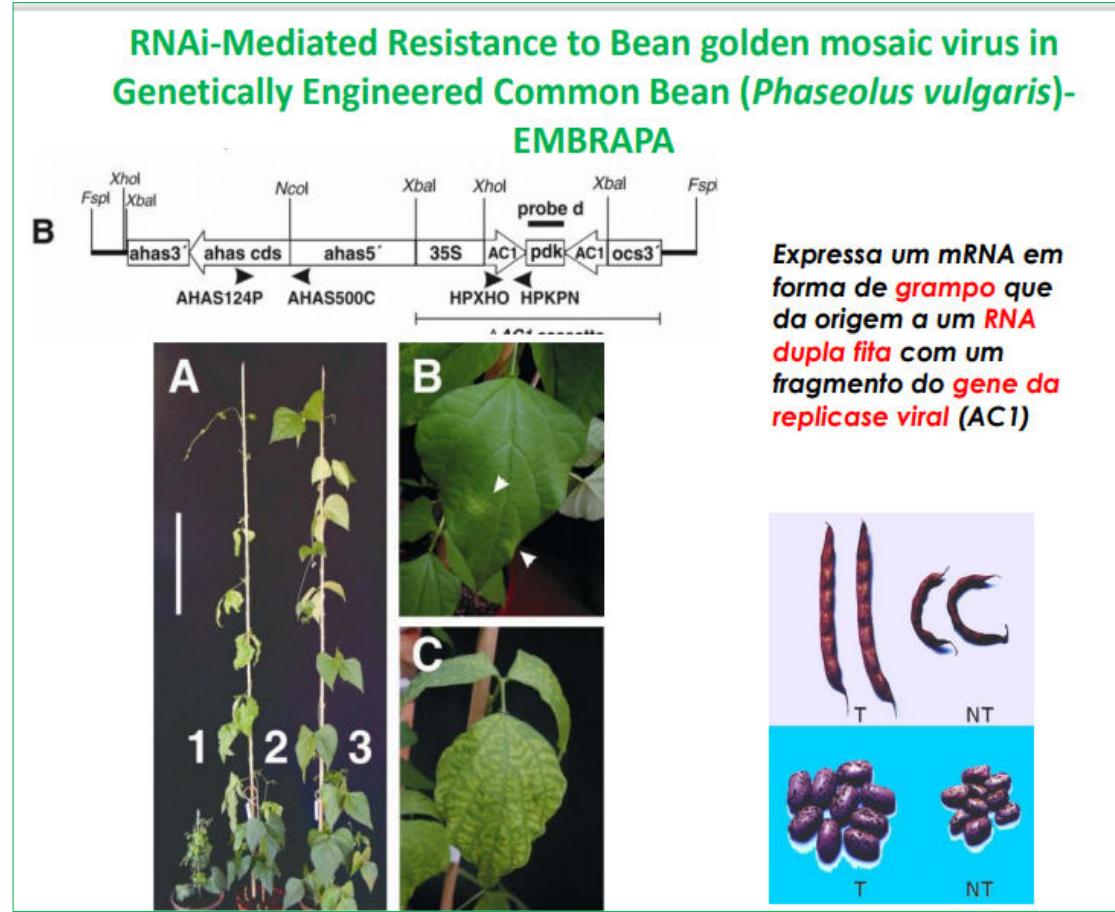
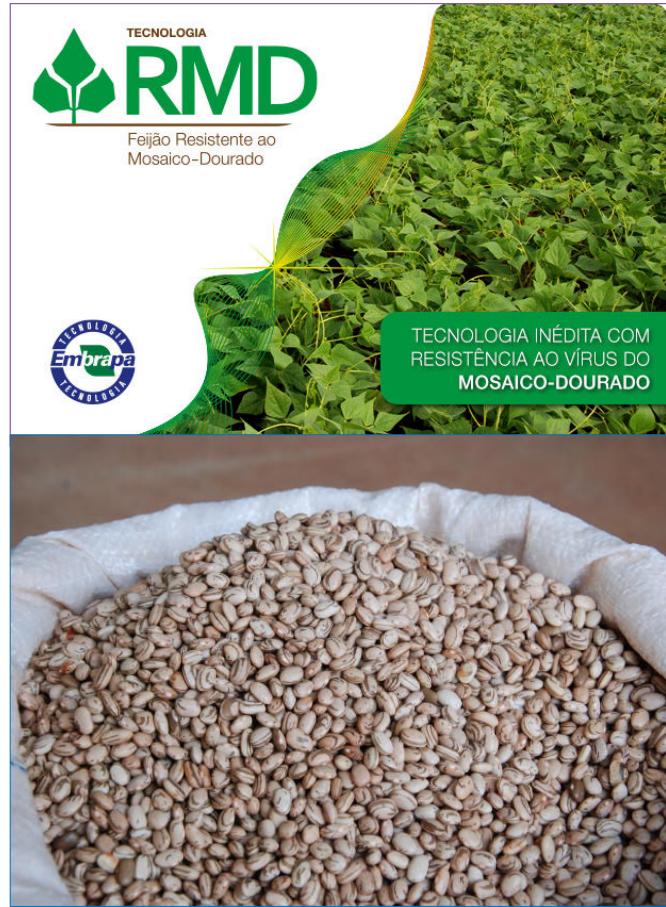
Análise de DNA representa uma melhoria significativa ao processo atual de monitoramento da pureza genética nos diferentes lotes de produção de sementes do melhorista e genética das linhagens elite e cultivares de feijão.





Feijão Geneticamente Modificado: Transformação, Edição Gênica e Desafios

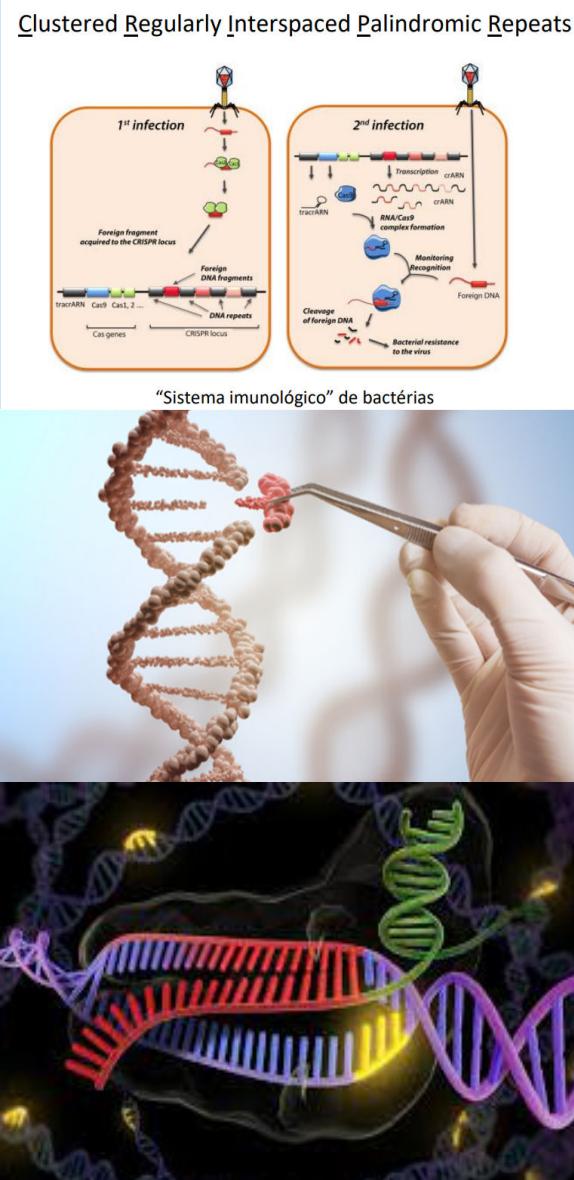




Feijão carioca BRS FC401 RMD (Resistente ao Mosaico- Dourado), desenvolvida pela Embrapa, apresenta *resistência* total ao mosaico-dourado, principal doença da cultura no país, capaz de destruir completamente as lavouras, e causada por vírus que é transmitido pela mosca-branca.

CRISPR: Edição Gênica Oportunidades

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

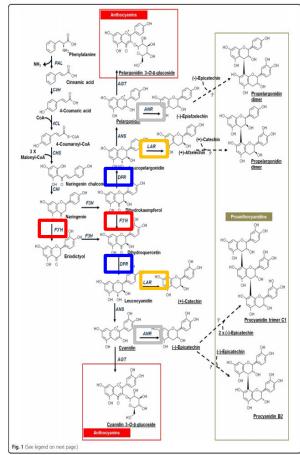


Escurecimento do tegumento de feijão pós-colheita via CRISPR-CAS9

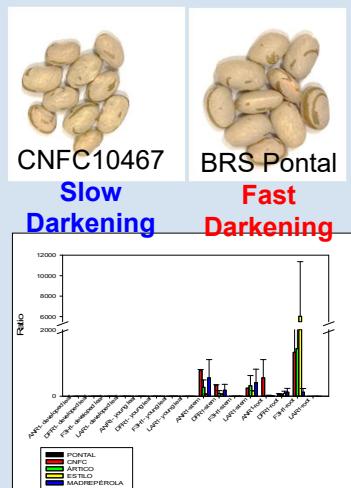
- 1) **Problema:** A suscetibilidade do feijão ao escurecimento durante o armazenamento afeta sua comercialização, e causa considerável perda econômica devido a um indesejável declínio na qualidade visual que os consumidores associam ao tempo de cozimento prolongado (principalmente no tipo de grão Carioca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



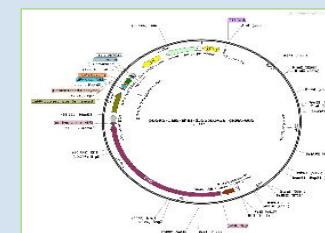
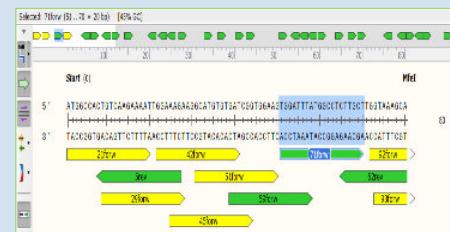
1) *Escurecimento de grãos: feijão recém-colhidos (linha superior) e armazenado por 90 dias (linha inferior)*



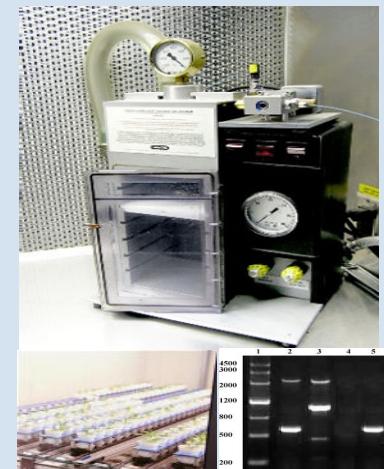
2) Genes associados ao acúmulo de proantocianidina



3) Quatro genes selecionados e confirmados via RT-qPCR



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

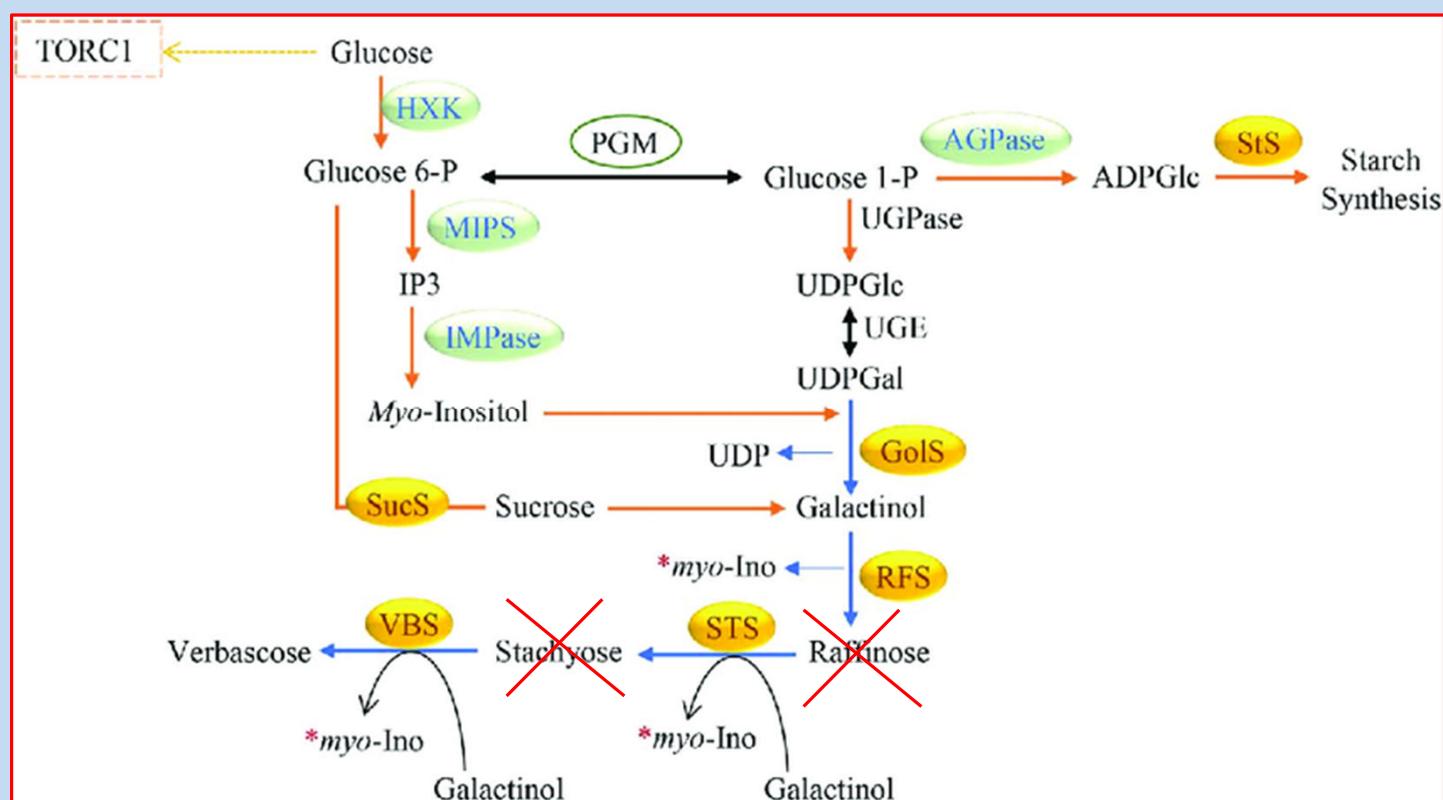


5) Transformação e seleção das plantas editadas (T0)

Preciso deixar
o feijão
de molho?



Redução dos teores de rafinose via CRISPR



Obrigada!

rosana.vianello@embrapa.br



MINISTÉRIO DA
AGRICULTURA E
PECUÁRIA

GOVERNO FEDERAL
BRASIL
UNIÃO E RECONSTRUÇÃO