

“Mitigation of climate change in agriculture”

*ALEXANDRE NEPOMUCENO, Ph.D.
Embrapa Soybean General Head*

Brazilian Agricultural Research Corporation

The Embrapa logo features the word "Embrapa" in a bold, blue, sans-serif font. A green leaf-like shape is positioned behind the letter 'r', partially overlapping it.A smaller version of the Embrapa logo, consisting of the word "Embrapa" in blue with a green leaf shape behind the 'r'.

49 anos

MINISTÉRIO DA
AGRICULTURA, PECUÁRIA
E ABASTECIMENTO

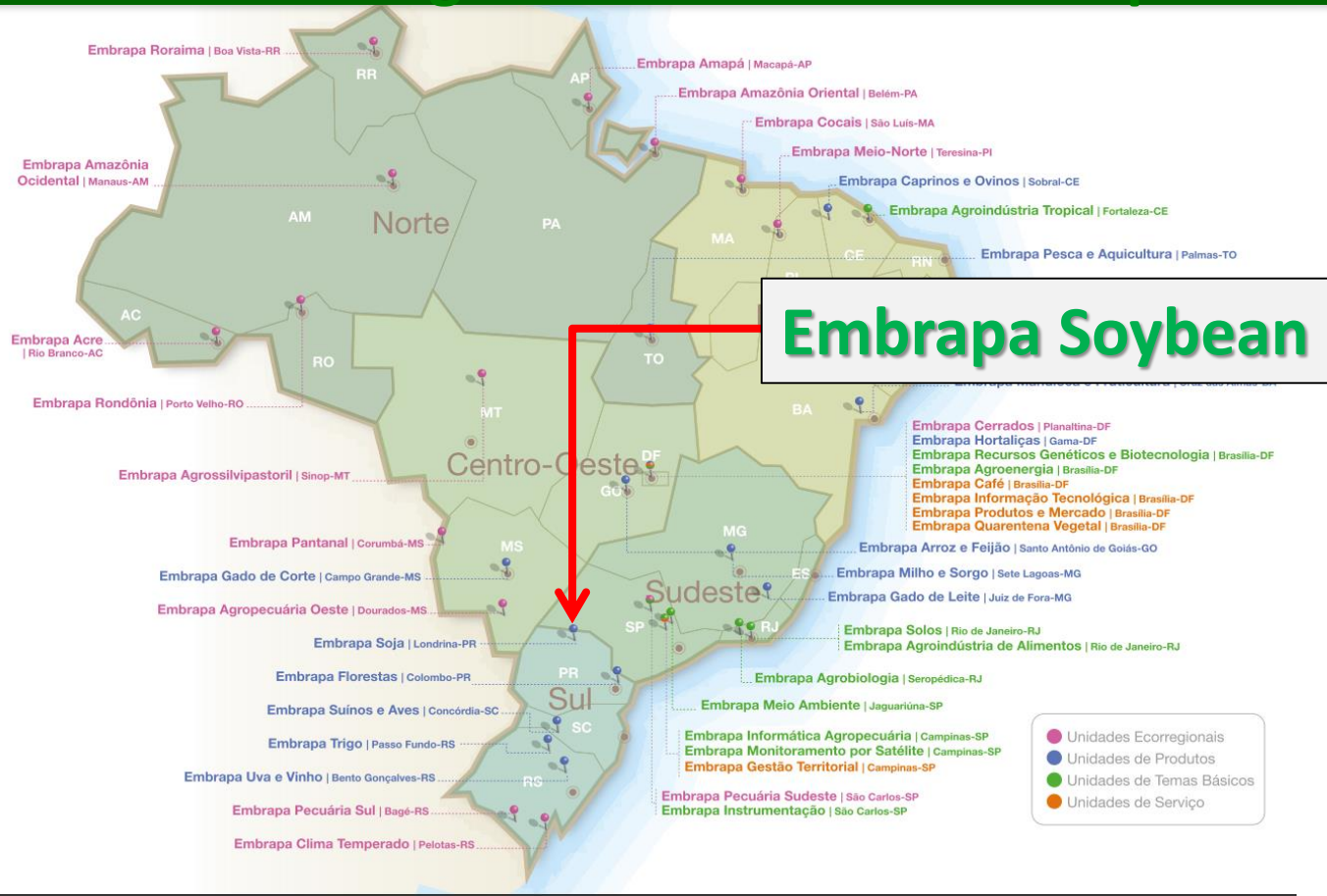


Brazilian Soybean Research Center – Embrapa Soybean



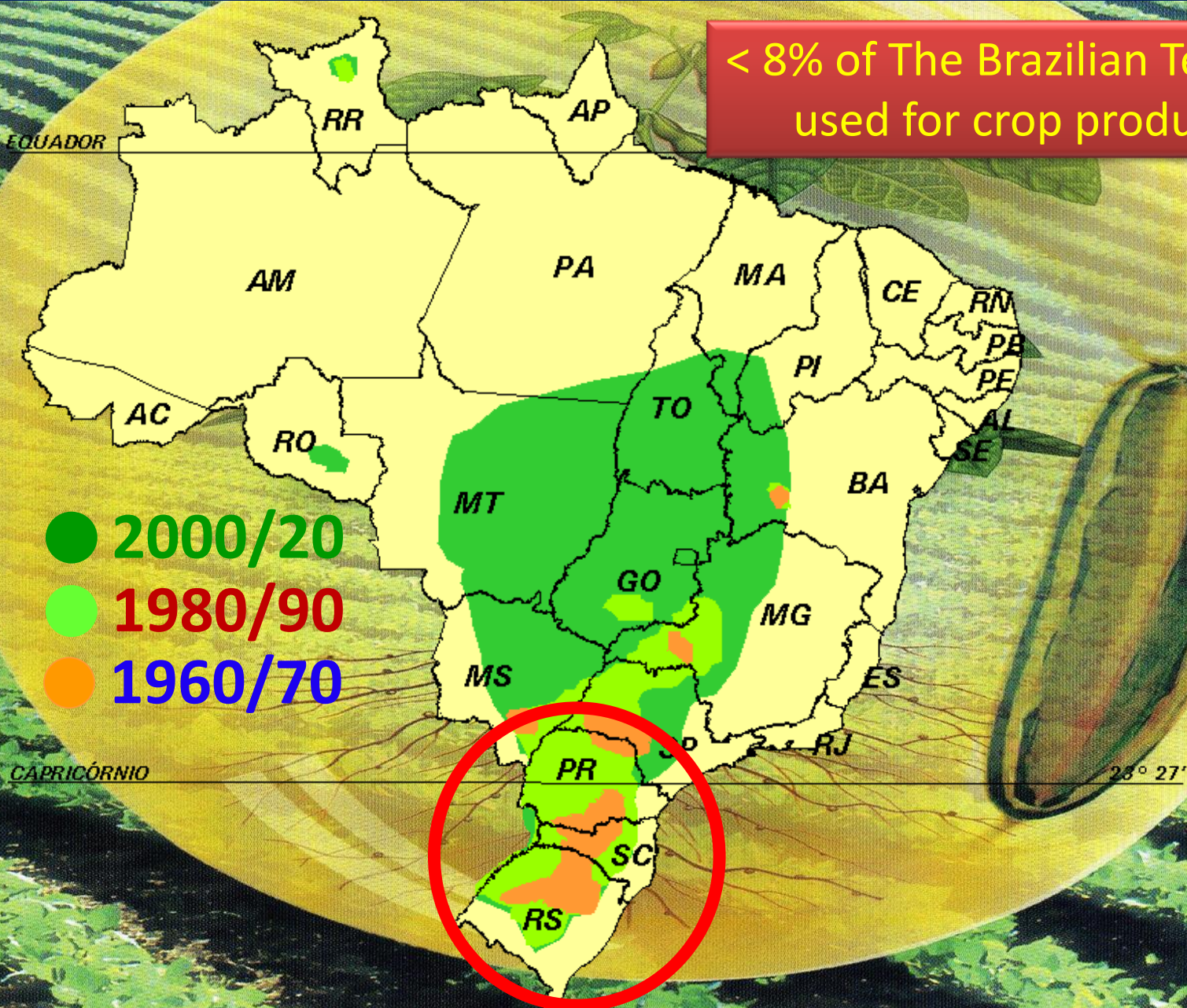
Embrapa

Brazilian Agricultural Research Corporation



Soybean (Grain) Evolution in Brazil: 2014

< 8% of The Brazilian Territory is used for crop production



Harvest Season 2021/22

Biggest Drought of the last 93 years

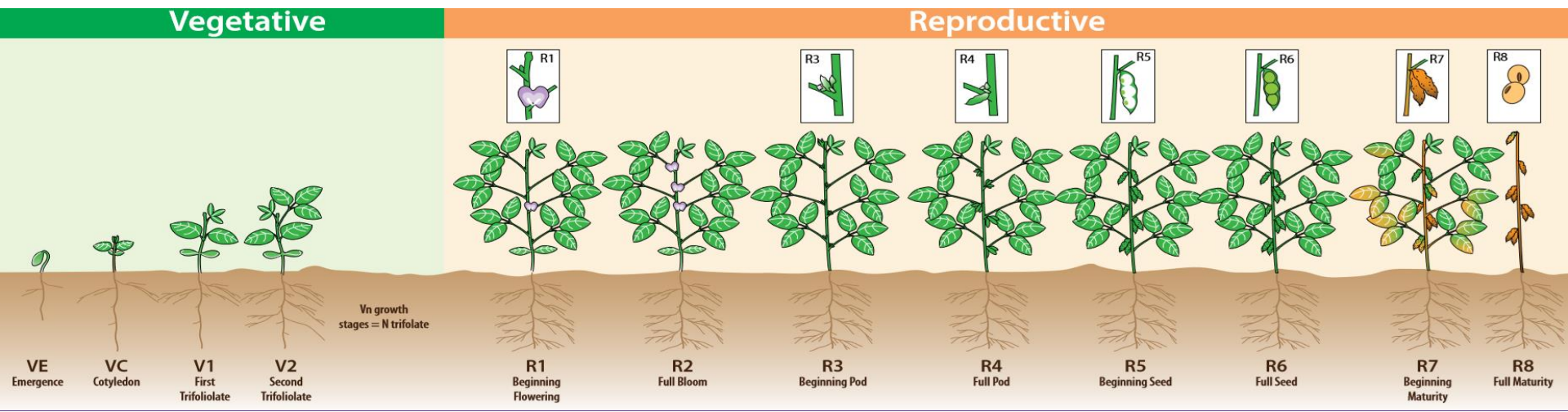
Drought
High unpredictability
and high level of
economical damage

State	Productivity (Ton/ha)		Losses (Ton/ha)	Sowed Area (ha x million)	Losses (U\$ billion)
	Expected	Actual			
RS	3,300	1,620	-1,680	6,4	6,07
SC	3,480	2,880	-600	0,7	0,24
PR	3,660	2,040	-1,620	5,7	5,23
MS	3,600	2,520	-1,080	3,5	2,20
					↓ 13,74

**~24 Million Ton
not harvested**



Source: Embrapa Soybean, 2022





**How to deal with this
Challenge?**

Strategies to Improve Drought Tolerance in Crop Production

Pre-Crop Management

In-Crop Management

Management Influence

Management

Genetics

Long Term History	Sequence	Fallow
3+ years	1 year	0.5 years

In Crop

Soil Structure
Soil Fertility
Seed Bank

Diseases
Nitrogen
Water
Weeds

Weed Control
Struggle
Grazing

Sowing Date
Density

No Tillage

Disease/Insect Control
Irrigation

GENOTYPE

Classical Breeding
GM Plants
GE Plants

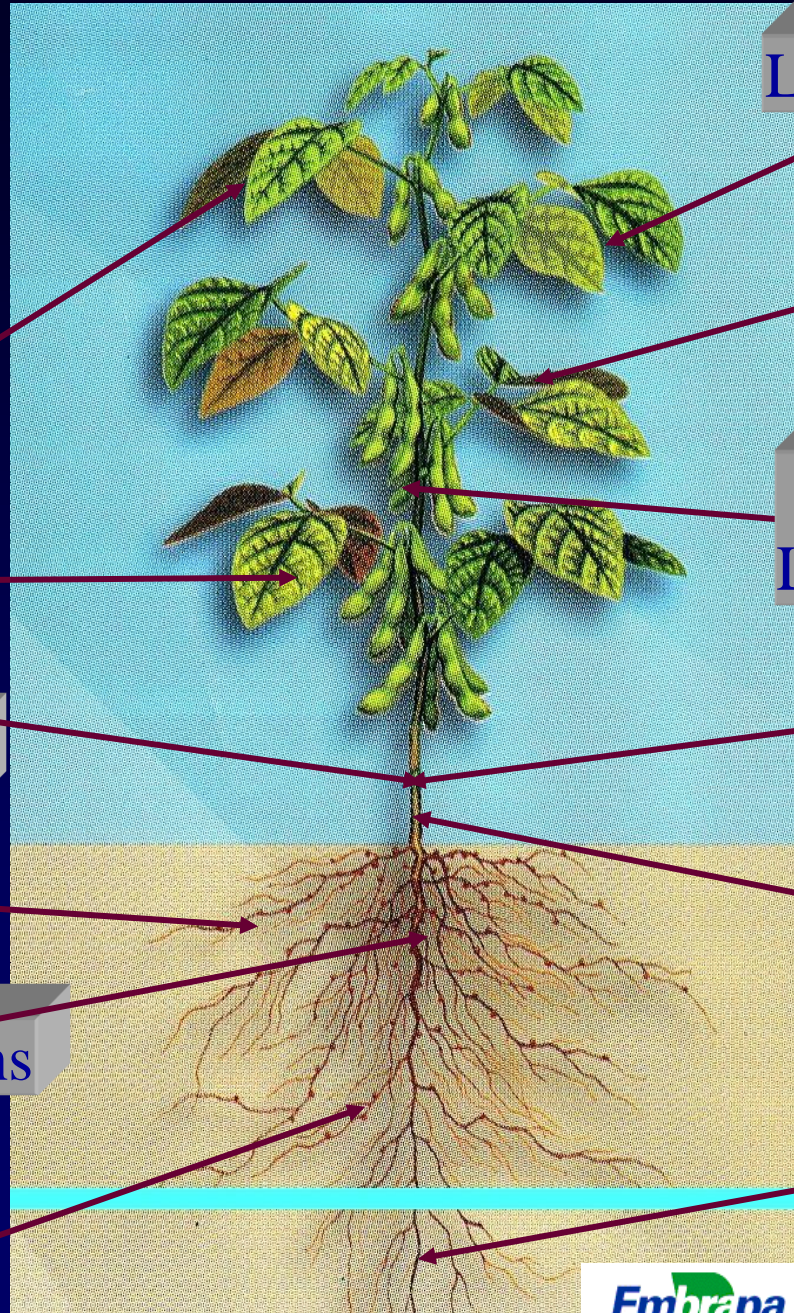
Increase soil water capture and Storage

Crop Vigor/Reduce evaporative loss

Canopy Management/Harvest Index

Complex Response Mechanisms

Agronomic and Physiological



Leaves Movement

Leaves Pubescence

Flowers and Legume Abscission

Nutrient Translocation

Photosynthates Translocation

Root system profundity

Gas Exchange

Leaves Color

Water Translocation

Root Hairs

Root system ramifications

Nitrogen Fixation



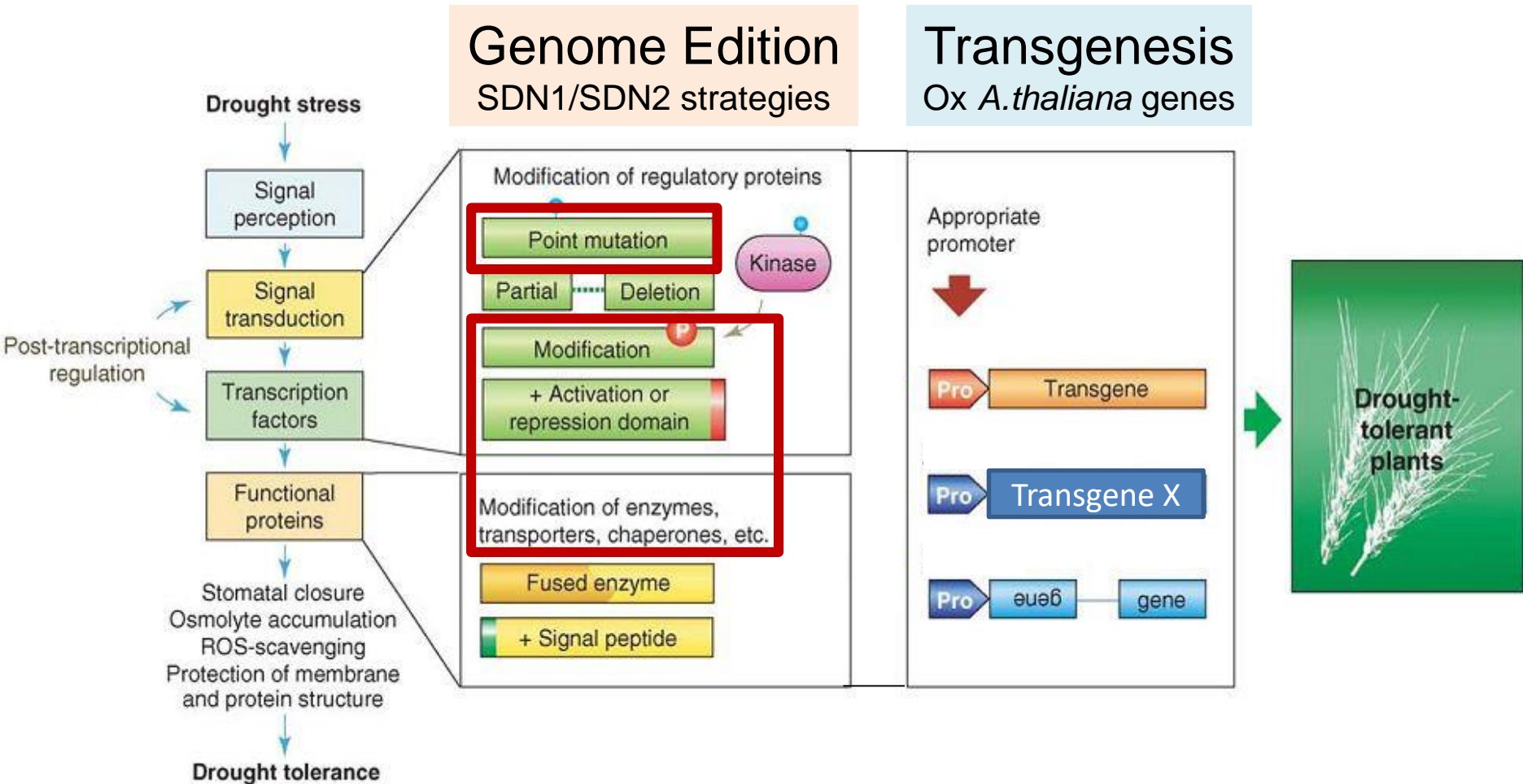
Plant Responses to Drought

- Drought resistance is a complex characteristic to express in plants.
- There are many genes and mechanisms involved.

Plant-Soil-Atmosphere Interactions



Strategies for the drought mitigation in soybean using Transgenesis and Genome Edition



Adapted: Umezawa et al 2006, 17:113-122

Current Opinion in Biotechnology

DROUGHT PHENOTYPING IN THE FIELD 26 DAYS OF STRESS



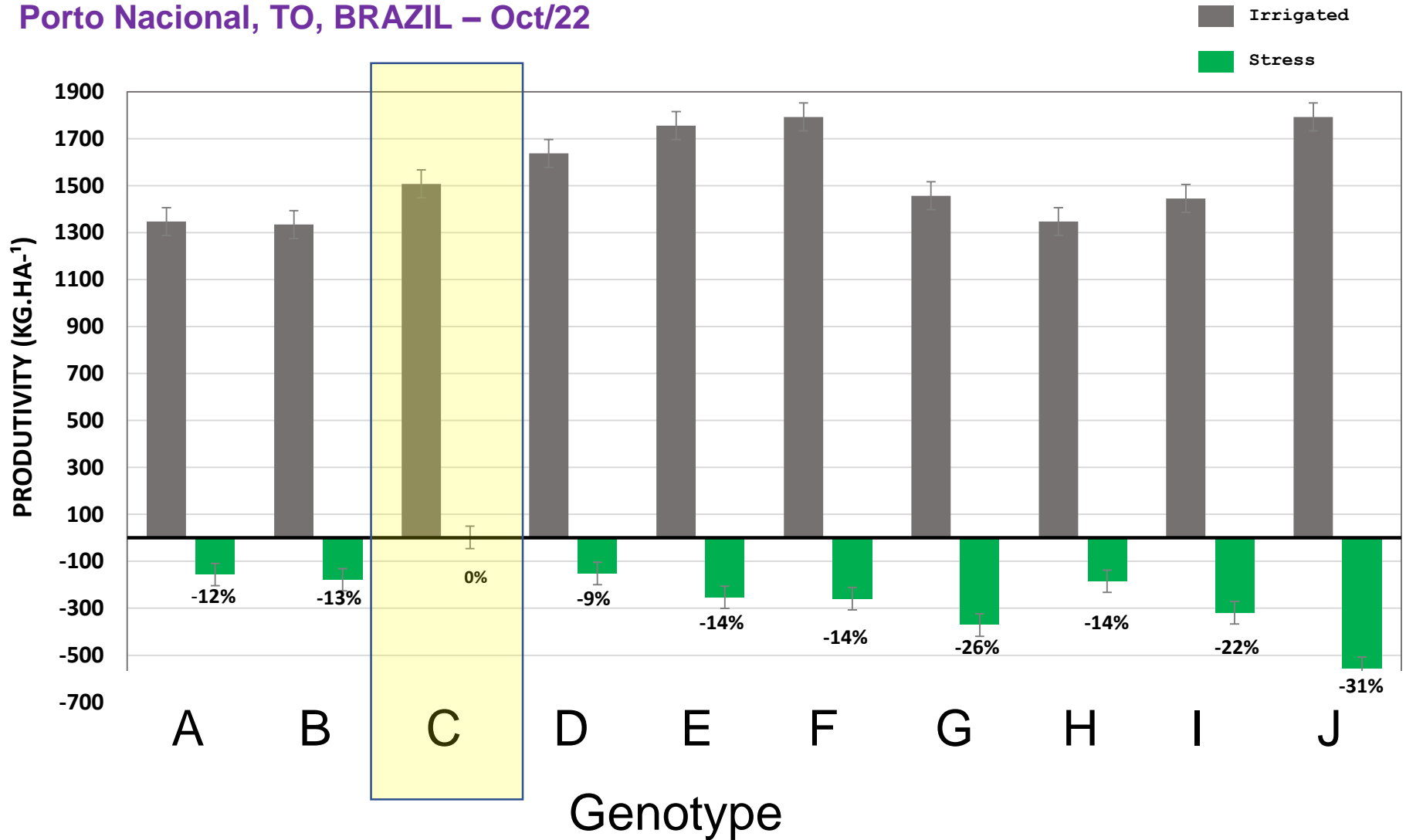
Conventional genotypes
x
Transgenic genotypes



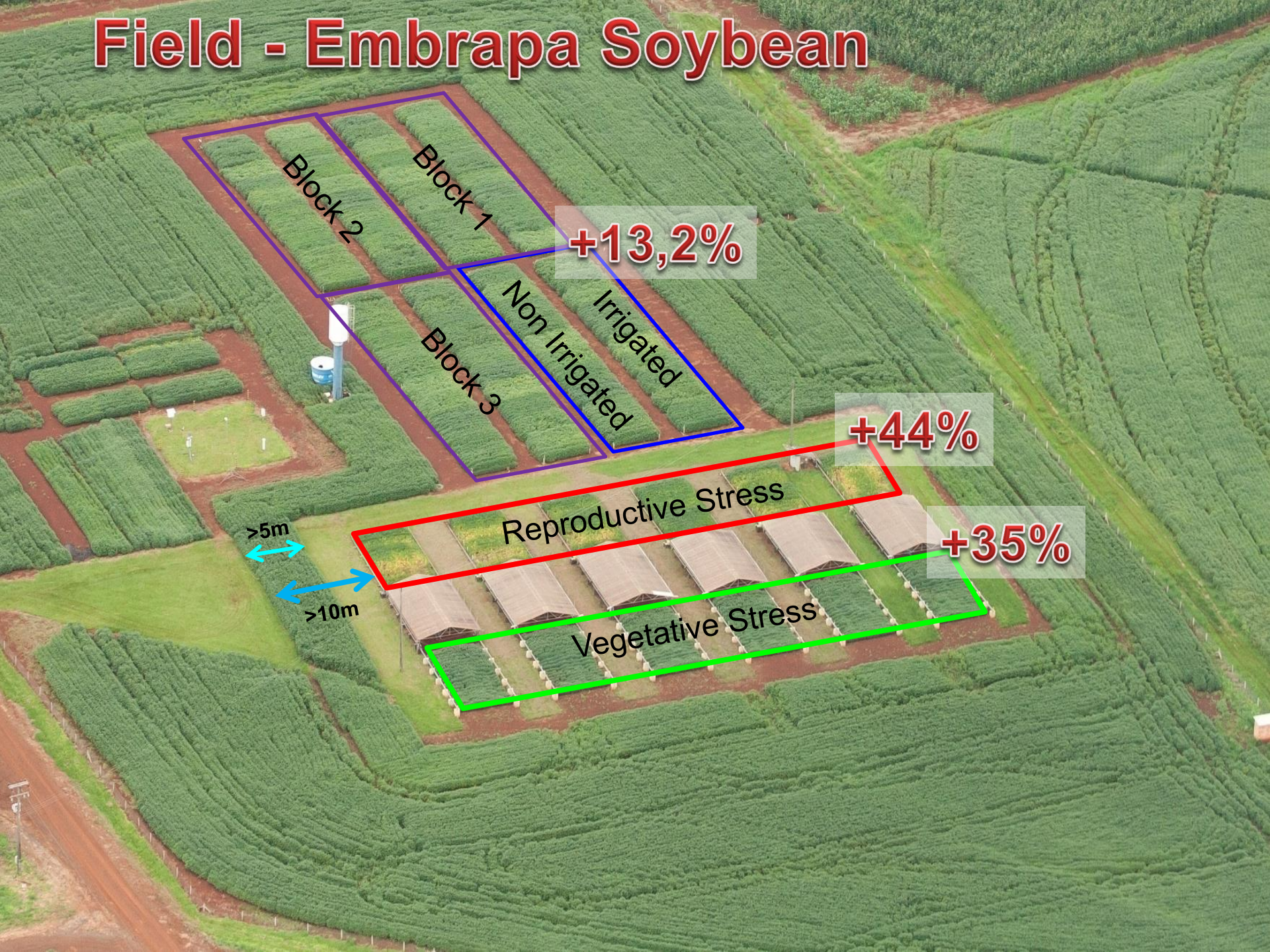
PRODUCTIVITY (KG.HA⁻¹): LOSSES UNDER WATER DEFICIT

FIELD TEST OF TRANSGENIC GENOTYPES FOR DROUGHT TOLERANCE

Porto Nacional, TO, BRAZIL – Oct/22



Field - Embrapa Soybean



Block 2

Block 1

Block 3

+13,2%

Non Irrigated

Irrigated

+44%

Reproductive Stress

+35%

Vegetative Stress

>5m

>10m

Overexpression of the ABA-Dependent *AREB1* Transcription Factor from *Arabidopsis thaliana* Improves Soybean Tolerance to Water Deficit

Elton Gargioni Grisoste Barbosa · Juliana Paula Leite ·
Silvana Regina Rockenbach Marin · Juliane Prela Marinho ·
Josirley de Fátima Corrêa Carvalho · Renata Fuganti-Pagliarini ·
José Renato Bouças Farias · Norman Neumaier ·
Francismar Corrêa Marcelino-Guimarães · Maria Cristina Neves de Oliveira ·
Kazuko Yamaguchi-Shinozaki · Kazuo Nakashima · Kyonoshin Maruyama ·
Norihito Kanamori · Yasunari Fujita · Takuya Yoshida · Alexandre Lima Nepomuceno



Genetics and Molecular Biology, 36, 4, 556-565 (2013)
Copyright © 2013, Sociedade Brasileira de Genética. Printed in Brazil
www.sbg.org.br

Research Article

Introduction of the *rd29A:AtDREB2A* CA gene into soybean (*Glycine max* L. Merrill) and its molecular characterization in leaves and roots during dehydration

Cibelle Engels¹, Renata Fuganti-Pagliarini², Silvana Regina Rockenbach Marin²,
Francismar Corrêa Marcelino-Guimarães², Maria Cristina Neves Oliveira², Norihito Kanamori³,
Junya Mizoi⁴, Kazuo Nakashima³, Kazuko Yamaguchi-Shinozaki^{3,4} and Alexandre Lima Nepomuceno²



Molecular, anatomical and physiological properties of a genetically modified soybean line transformed with *rd29A:AtDREB1A* for the improvement of drought tolerance

A.M. Polzeil¹, M.E. Medri¹, K. Nakashima², N. Yamanaka², J.R.B. Farias³,
M.C.N. de Oliveira³, S.R.R. Marin³, R.V. Abdelnoor³, F.C. Marcelino-Guimarães³,
R. Fuganti³, F.A. Rodrigues³, R. Stolf-Moreira³, M.A. Beneventi⁴, A.A.P. Rolla¹,
N. Neumaier³, K. Yamaguchi-Shinozaki⁵, J.F.C. Carvalho³ and A.L. Nepomuceno³

Publications

Transgenic Res
DOI 10.1007/s11248-013-9723-6

ORIGINAL PAPER

Phenotyping soybean plants transformed with *rd29A:AtDREB1A* for drought tolerance in the greenhouse and field

Amanda Alves de Paiva Rolla · Josirley de Fátima Corrêa Carvalho ·
Renata Fuganti-Pagliarini · Cibelle Engels · Alexandre do Rio · Silvana Regina Rockenbach Marin ·
Maria Cristina Neves de Oliveira · Magda A. Beneventi · Francismar Corrêa Marcelino-Guimarães ·
José Renato Bouças Farias · Norman Neumaier · Kazuo Nakashima ·
Kazuko Yamaguchi-Shinozaki · Alexandre Lima Nepomuceno

Received: 13 March 2013 / Accepted: 8 June 2013
© Springer Science+Business Media Dordrecht 2013

Plant Mol Biol Rep (2016) 34:410–426
DOI 10.1007/s11105-015-0928-0



ORIGINAL PAPER

Characterization of Molecular and Physiological Responses Under Water Deficit of Genetically Modified Soybean Plants Overexpressing the *AtAREB1* Transcription Factor

Juliane Prela Marinho^{1,2} · Norihito Kanamori³ · Leonardo Cesar Ferreira² ·
Renata Fuganti-Pagliarini² · Josirley de Fátima Corrêa Carvalho² ·
Rafaela Alves Freitas^{2,4} · Silvana Regina Rockenbach Marin^{1,2} ·
Fabiana Aparecida Rodrigues² · Liliâne Márcia Mertz-Henning² ·
José Renato Bouças Farias² · Norman Neumaier² · Maria Cristina Neves de Oliveira² ·
Francismar Corrêa Marcelino-Guimarães² · Takuya Yoshida⁵ · Yasunari Fujita³ ·
Kazuko Yamaguchi-Shinozaki⁵ · Kazuo Nakashima³ · Alexandre Lima Nepomuceno²

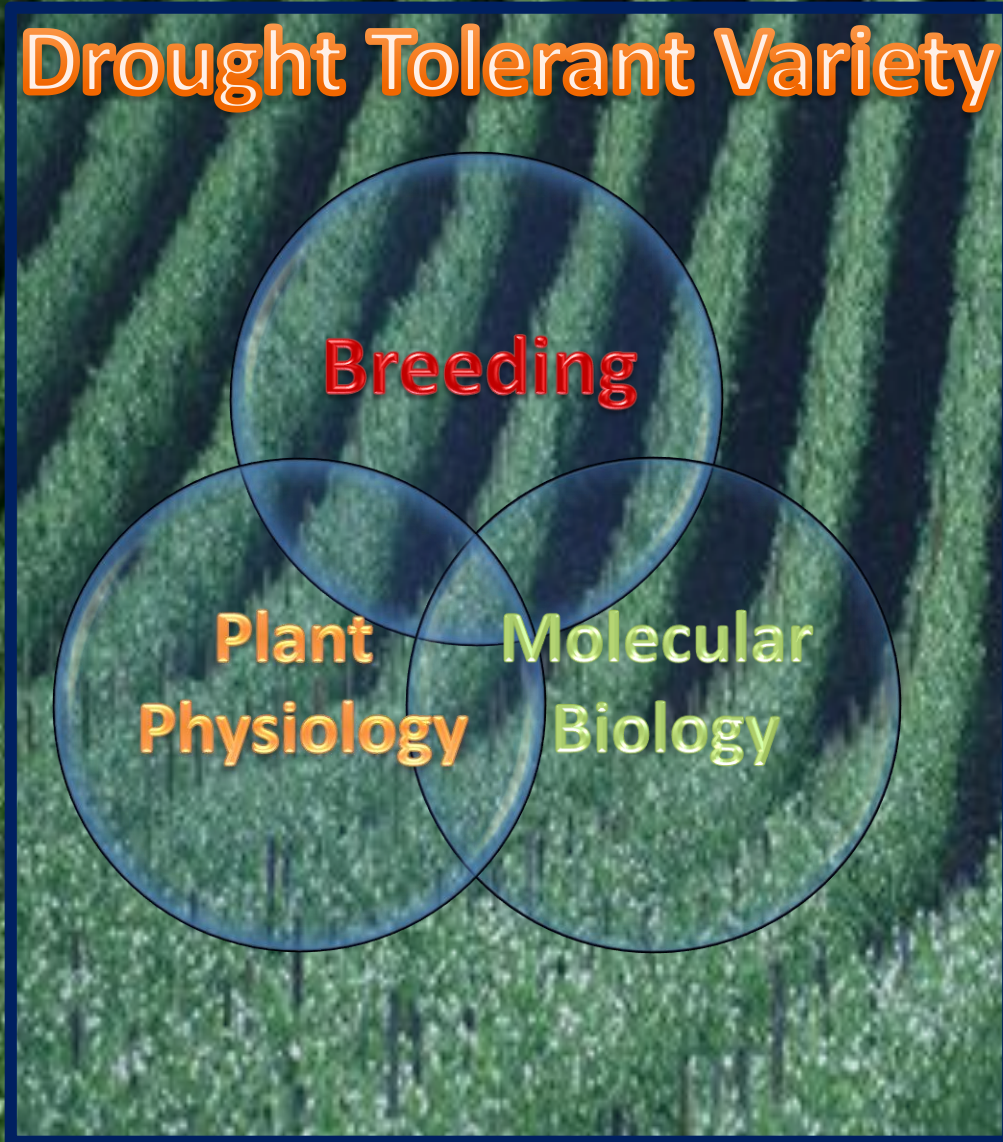
Drought Tolerant Variety

Breeding

Plant
Physiology

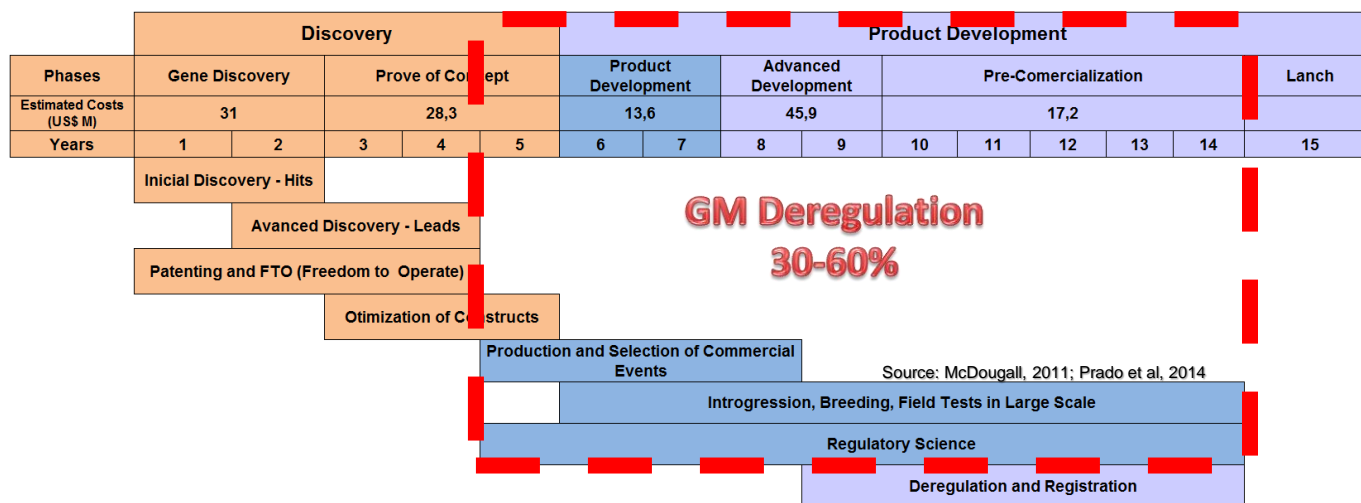
Molecular
Biology

Agronomical
Drought
Tolerant Crop



OGM: Each country created its own rule

Phases and Costs to Development of a GM Crop



Today, basically, only four companies can place GM Crop Varieties in the Market

Bayer (+Monsanto)

BASF

Corteva (Dow+DuPont+Pioneer)

Syngenta (+ChemChina)

Estimated Costs: ~U\$136 million

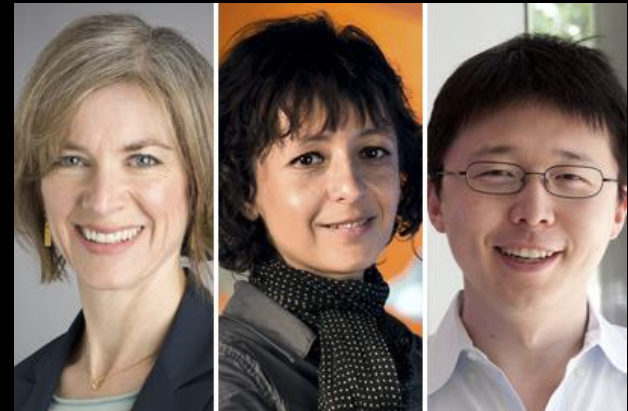
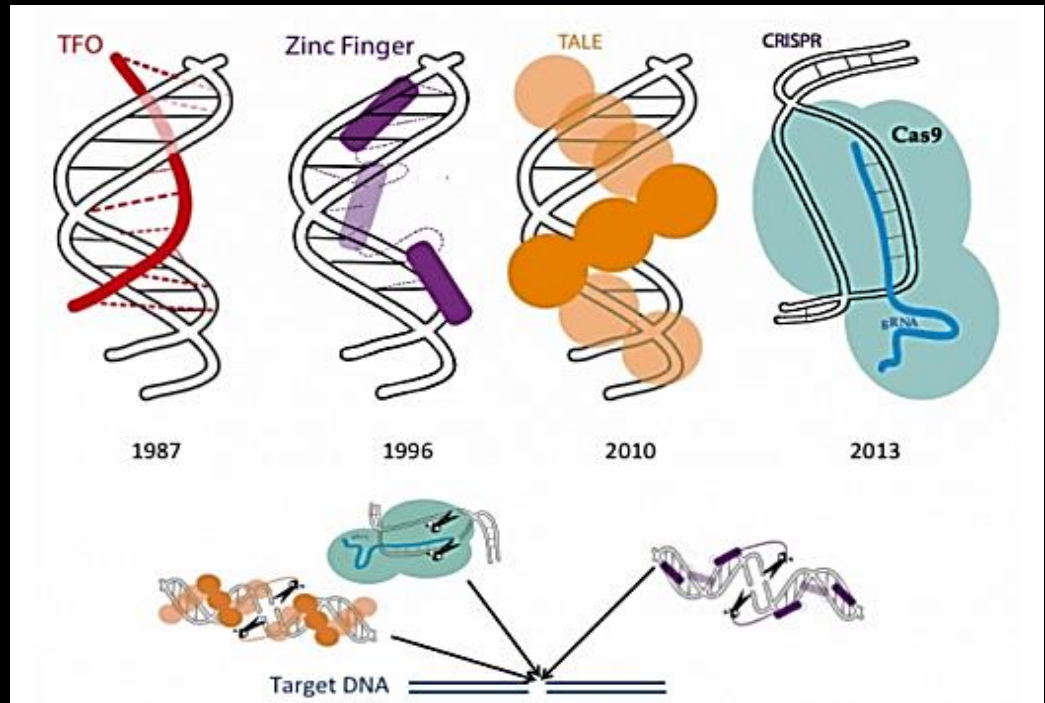
Estimated Costs of Deregulation Phase: ~U\$75 million

It can take ~12-20 years from discovering a gene(s) and placing a GM Commercial Variety in the Market.

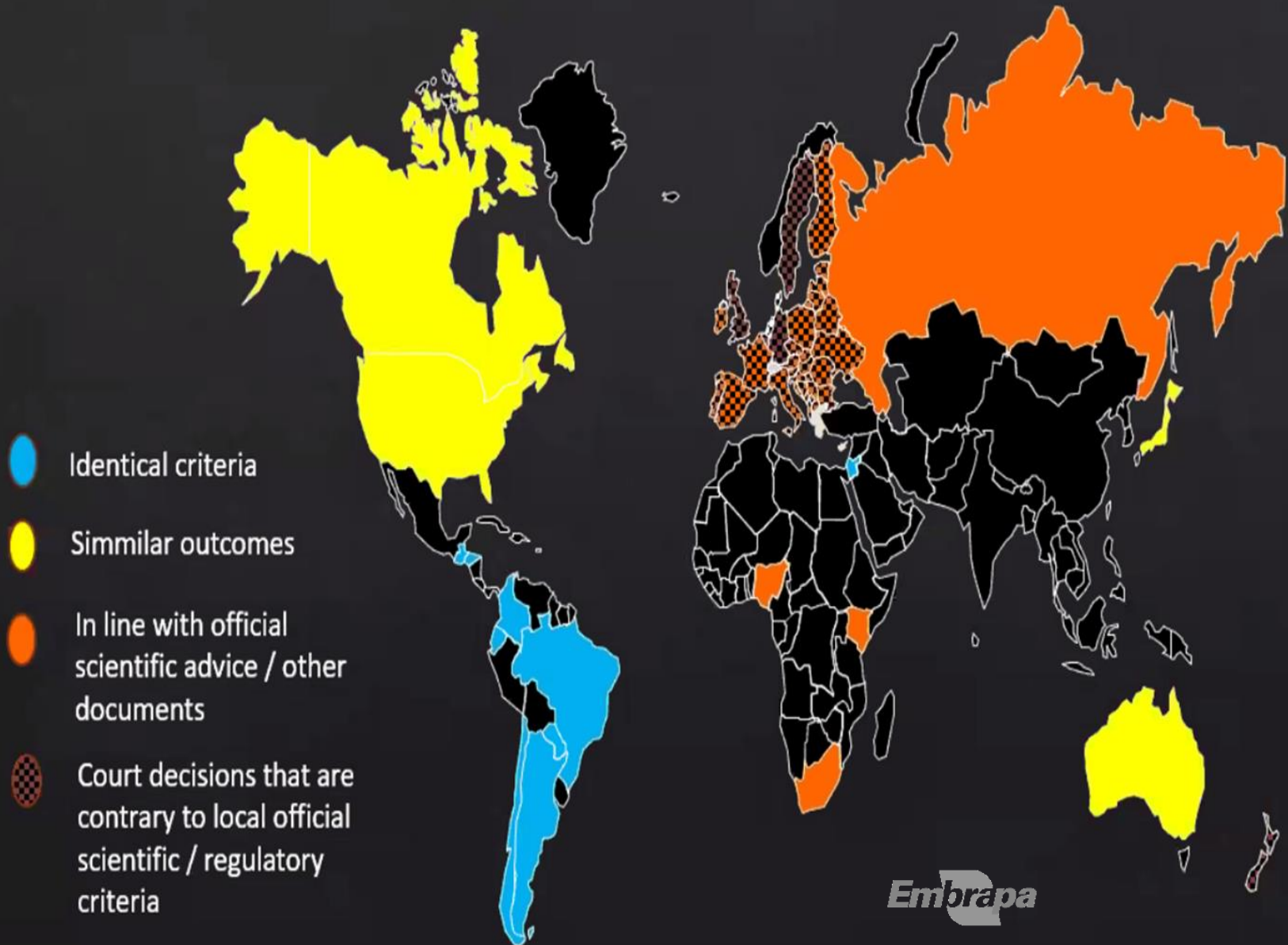
Also, limited the use of Biotech in Agriculture to major crops (Soybean, Cotton, Corn, Eucalyptus, Sugarcane, etc...)

... but evolution on genetics
keeps moving fast...

... CRISPRs
Technology
brought a
revolution in
Genome Editing
and is
democratizing the
use of
biotechnology in
agriculture



A more assertive global legislation is **DEMOCRATIZING** the use of biotechnology allowing more cultures, small and medium companies to also participate in the Market.



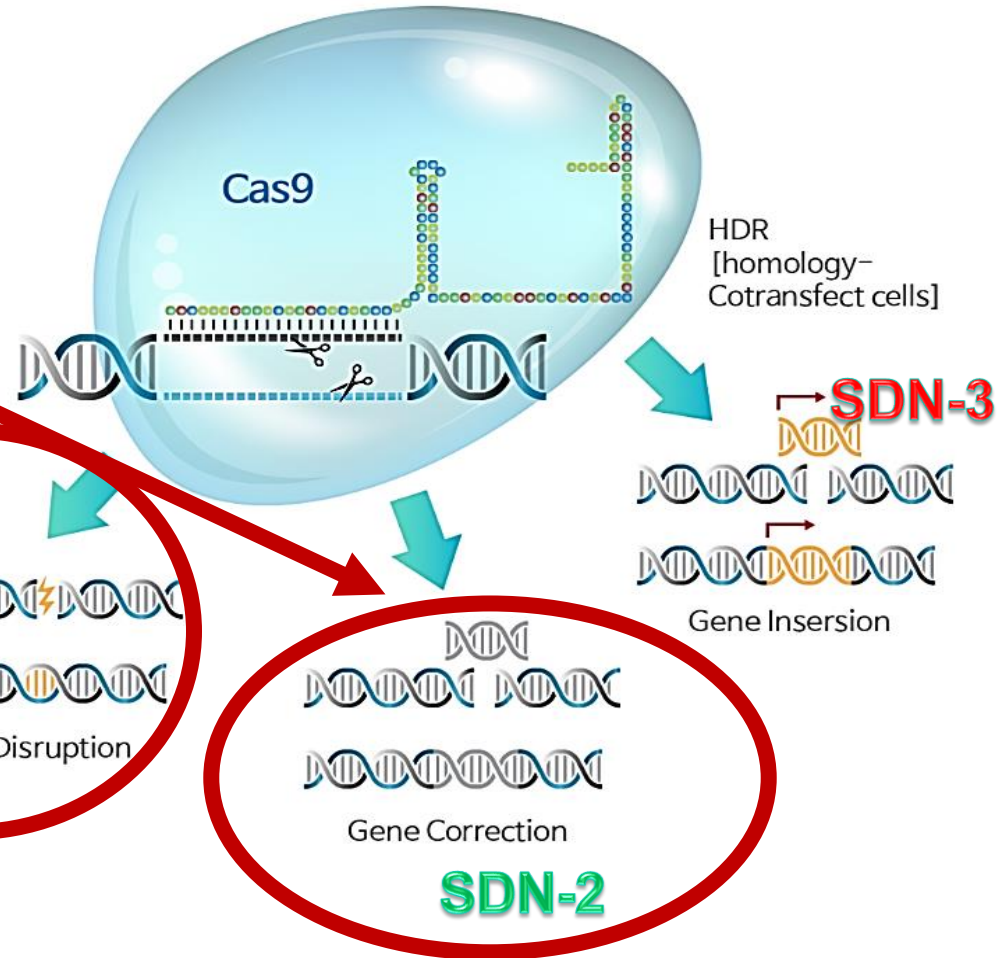
Genome Edition with CRISPR

Site Directed Mutagenesis type:

SDN1
SDN2
SDN3

Clustered
Regularly
Interspaced
Short
Palindromic
Repeats

Não OGM



DNA cutting is done in regions (sequences) chosen with precision

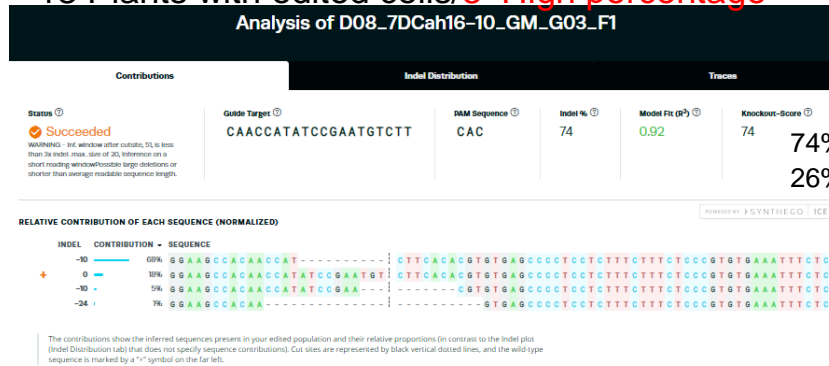
Similar to mutations that occur in nature and are responsible for evolution on planet earth

Submission (Oct/22) at CTNBio to evaluate if a SDN1 mutation made in a Embrapa Soybean variety be considered a conventional genotype

EMBRAPA SOYBEAN - Genome Edited Soybean for Drought Tolerance

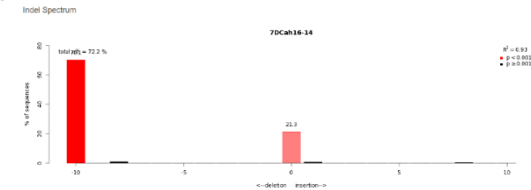
KNOCKOUT OF THE Gene A

13 Plants with edited cells/3 High percentage



Analyzes using TIDE and ICE software

gRNA2 Glyma.XXXXXX



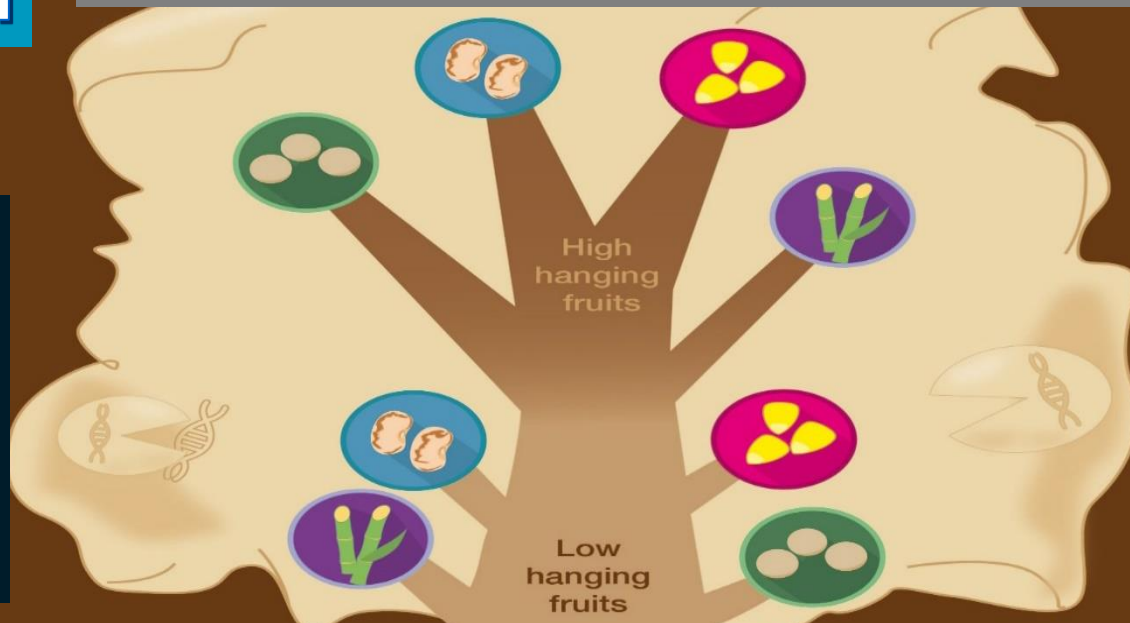
- Regeneration T0 lines
- T1 - Transgene-free with editing heritable
- T2 - Homozygous seeds
- Molecular and phenotypic characterization in greenhouse



CRISPRevolution

Four Crops and Two Strategies

Leading project
on Genome
Edition at
EMBRAPA



Knock-out (SDN1)

Soybean: Anti-nutritional Factors/Drought
Sugarcane: Cell wall structure (2G Ethanol)
Corn: Cell wall structure (2G Ethanol)
Common Bean: Tegument Color

HDR (SDN2)

Soybean: Drought
Sugarcane: Drought
Corn: Drought
Common Bean: Drought

Geneticamente editada para aumento da digestibilidade da biomassa
Geneticamente editado para aumento da digestibilidade da biomassa

Embrapa Soybean first genome edited evaluated by CTNBio

Lectin (soybean antinutritional factor) - knockout by SDN1 strategy



Considered NON GM in 01 September, 2022



COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA
PARECER TÉCNICO Nº 1069/2022/SEI-CTNBio - Membros

PARECER TÉCNICO: 8151/2022

Lectina

Turn Off

Alíneo selvagem...
Alíneo editado...
Alíneo selvagem...
Alíneo editado...
Alíneo selvagem...
Alíneo editado...
Alíneo selvagem...
Alíneo editado...
Alíneo selvagem...
Alíneo editado...
Alíneo selvagem...
Alíneo editado...
Alíneo selvagem...
Alíneo editado...
Alíneo selvagem...
Alíneo editado...
Alíneo selvagem...
Alíneo editado...
Alíneo selvagem...
Alíneo editado...

DNA Genômico

Editado

Processo: 01245.009925/2022-20

Requerente: Embrapa Soja;

Assunto: Carta Consulta TIMP;

Data de Protocolo: 23/06/2022;

Presidente da CTBIO: Liliane Marcia Mertz Henning;

Extrato Prévio: 8346/2022

Decisão: Deferido

Reunião: 254ª Reunião Ordinária ocorrida em 01/09/2022

Endereço: Rodovia Carlos João Strass, Acesso Orlando Amaral, Distrito de Warta - Caixa Postal 231, Londrina/PR;

Descrição: A Comissão Interna de Biossegurança do Centro Nacional de Pesquisa de Soja - Embrapa Soja - endereço, e esta Comissão, uma Carta Consulta sobre a possível qualificação regulatória de uma soja geneticamente editada pela tecnologia CRISPR/Cas, visando o silenciamento do gene da lectina (LE1), em uma Tecnologia Inovadora de Melhoramento de Precisão, isto é, aspirando-se a afirmação de não se tratar de um Organismo Geneticamente Modificado, consoante a Resolução Normativa nº16 de 15 de janeiro de 2018;

Fundamentação Técnica: Como fato público e notório, o Brasil possui grande destaque na produção e exportação de carne e outros derivados de animais monogástricos - a citar, frango e porco, por exemplo - e a soja se consolidou como fonte proteica das rações de diversas práticas pecuárias. Apesar de seu elevado teor de proteína, a soja apresenta alguns fatores antinutricionais no grão, reduzindo, portanto, seu potencial nutritivo - menor aproveitamento da ração - sendo aqueles mais prejudiciais os inibidores de tripsina e lectina. A indústria, no geral, a fim de reduzir a concentração desses fatores antinutricionais no grão, realiza tratamento térmico da soja para a fabricação de ração. Não obstante, esse procedimento apresenta um custo elevado e pode resultar na perda de aminoácidos essenciais e na alteração das propriedades da soja. Decorrente do exposto, a eliminação genética desses compostos prejudiciais - antinutricionais -, recorrendo a edição genômica, torna-se uma estratégia notável. O sistema CRISPR/Cas de edição genômica se baseia em dois componentes importantes - uma nuclease que cliva o DNA dupla-fita e um pequeno RNA guia quimérico (gRNA) que dirige essa enzima a uma sequência de DNA-alvo no genoma. Por consequência, a consecução da edição se dá pela introdução da quebra da dupla-fita de

Parecer:

Diante da análise realizada pela CTNBio nos dados aportados pela requerente, considera-se que a edição genômica que resultou na soja geneticamente editada pela tecnologia CRISPR/Cas visando o silenciamento do gene da lectina (LE1) foi realizada utilizando técnicas inovadoras de melhoramento de precisão previstas na Resolução Normativa 16 da CTNBio. Portanto, soja geneticamente editada pela tecnologia CRISPR/Cas visando o silenciamento do gene da lectina (LE1) não se enquadra como um novo OGM nas definições do artigo 3o da Lei 11.105 de março de 2005.

Data: 05/09/2022

(assinado eletronicamente)
Dr. Paulo Augusto Vianna Barroso
Presidente da CTNBio



Documento assinado eletronicamente por Paulo Augusto Vianna Barroso, Presidente da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança, em 06/09/2022, às 10:17 (horário oficial de Brasília), com fundamento no § 3º do art. 4º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.

The screenshot shows a news article from Canal Rural and Folha de S. Paulo. The headline reads: "Soja com redução de fatores antinutricionais é aprovada pelo CTNBio". The article mentions that the organ was considered non-transgenic and avoids the complex commercial deregulation process. The article is signed by journalist Mauro Zafalon. Below this, there is another article titled "A agricultura brasileira entra na fase da edição gênica, de menor custo", signed by Mauro Zafalon, discussing the entry of Brazilian agriculture into gene editing with lower costs.

Thank you!

Alexandre.Nepomuceno@Embrapa.BR

General Head Embrapa Soybean
Cel/WhatsApp +55 (43) 99667 4425
BRAZIL



49 anos

