

# O Genoma do Sobreiro



**Sanidade dos Montados: Obstáculos a vencer**

# A génese da “Genómica”

**Principais marcos** - (1694 – descoberta a reprodução sexuada das plantas)

## ◆ Séc. 19 – Estudos de Mendel

- características são herdadas de forma previsível
- alelos para características únicas segregam em separado
- alelos para características diferentes distribuem-se independentemente



**GENÉTICA** (1876 – 1º cruzamento intergenérico – trigo × centeio – Triticale)

## “GENÓMICA”

- ◆ Decifrar e compreender o conteúdo genético total do organismo



# O caso humano

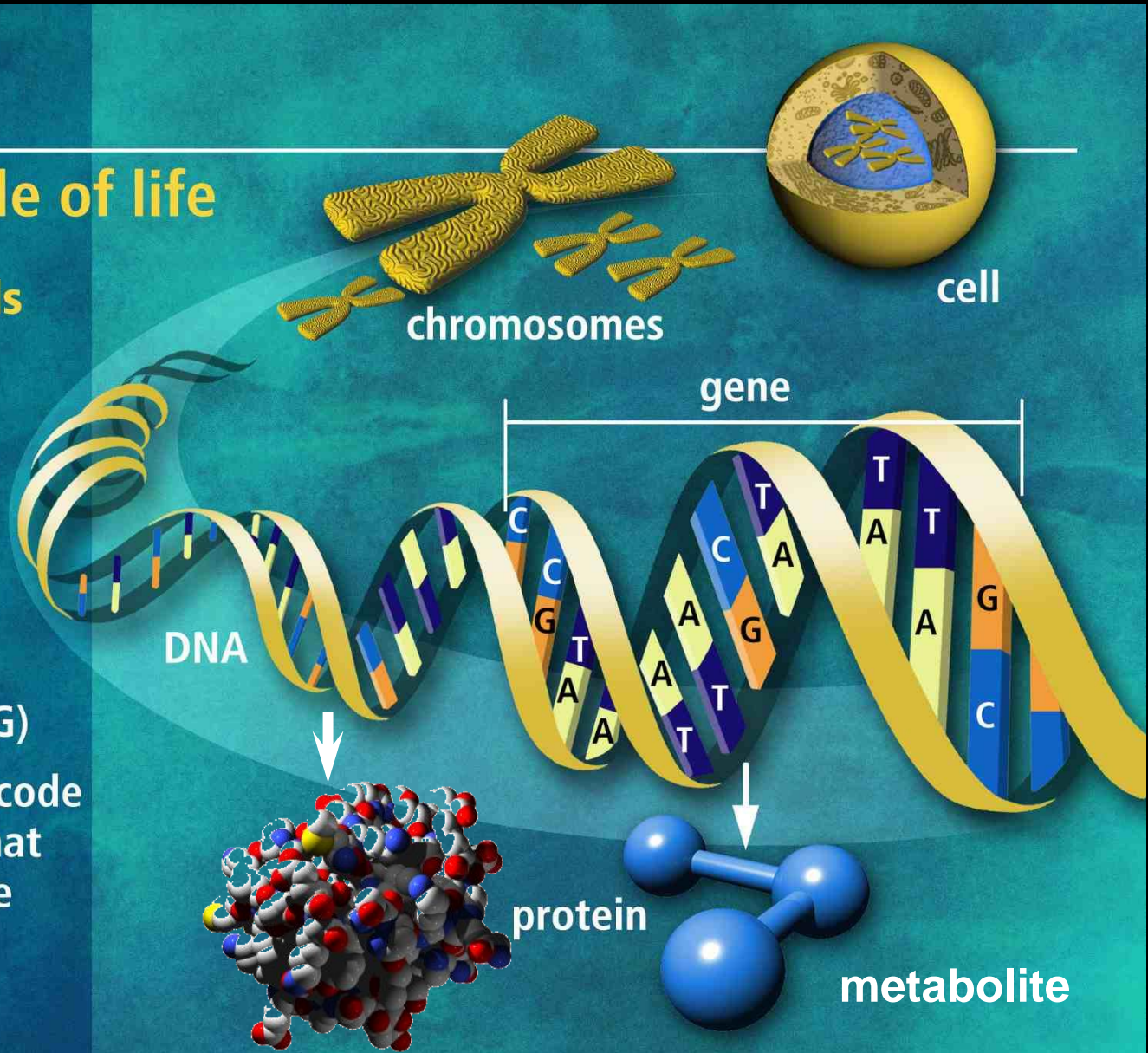
## DNA

### the molecule of life

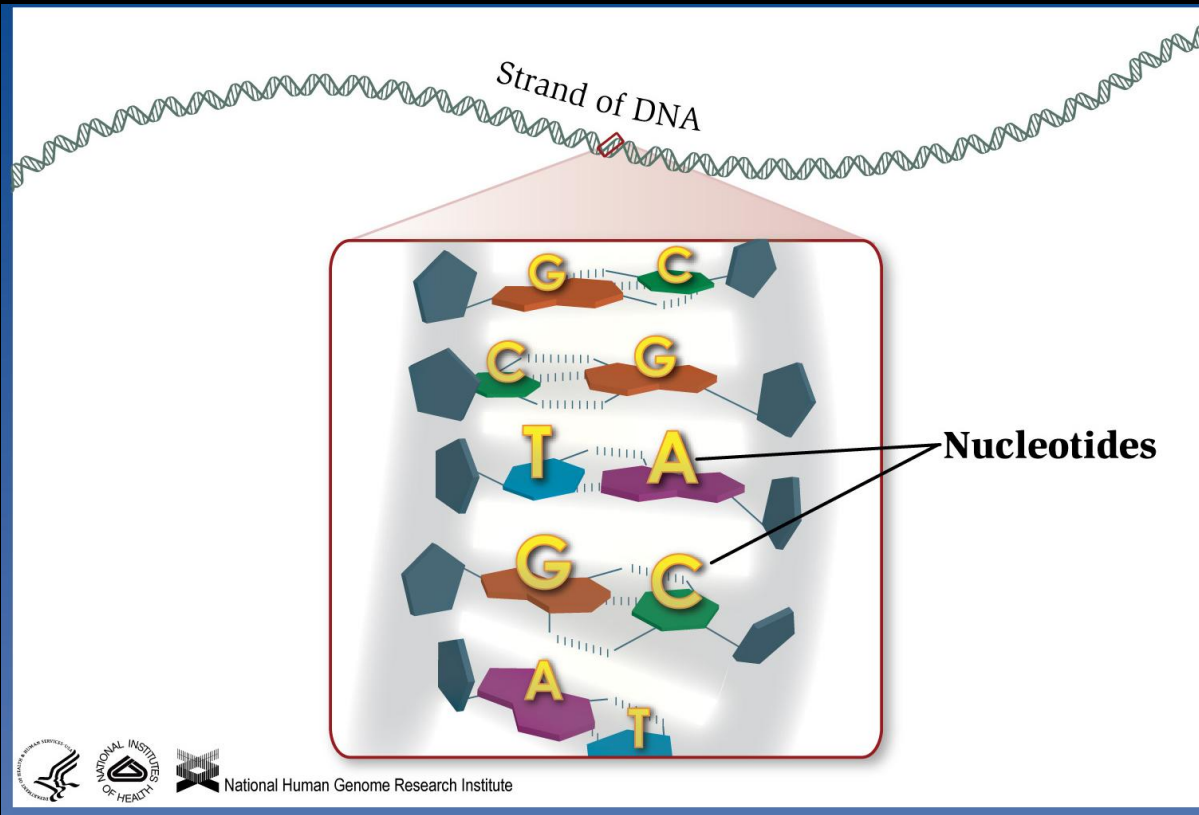
#### Trillions of cells

Each cell:

- 46 human chromosomes
- 2 m of DNA
- 3 billion DNA subunits (the bases: A, T, C, G)
- 25,000 genes code for proteins that perform all life functions



# O código genético



O emparelhamento específico dos nucleótidos determina o mecanismo de “**cópia**” do material genético e a **transferência** às células-filhas.

A possibilidade de *copiar a informação genética* abriu caminho à **biologia molecular**, manipulação do DNA e projectos de genómica.

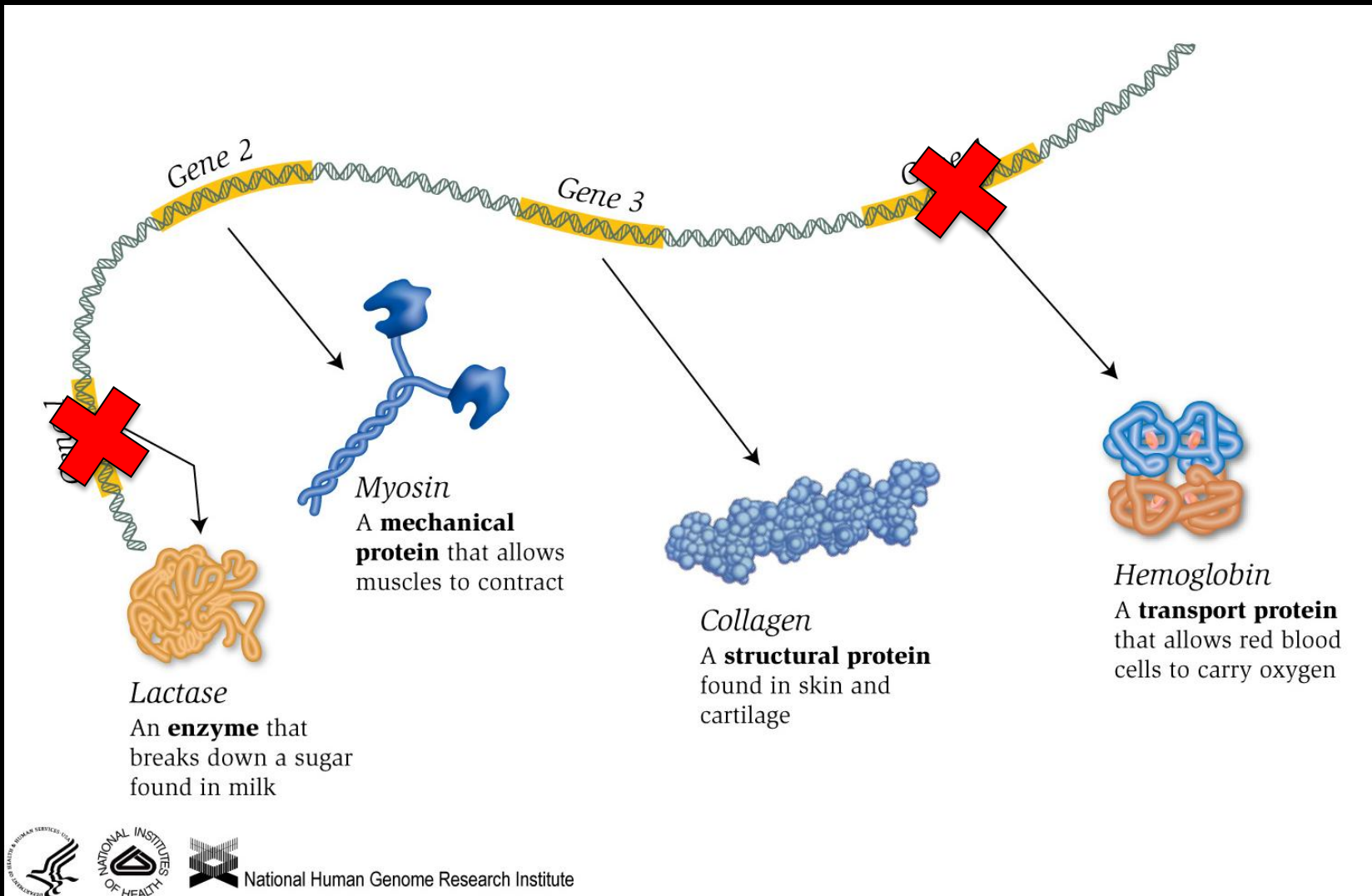
Strand of DNA

A G G T T C A G G C A T C A G A T T C G C A A T C G C T T G A G C A A T C G C T T G C A G A T A C G

DNA sequence:

...AGGTTCAGGCATCAGATTCGCAATCGCTTGAGCAATCGCTTGCAGATACGA...

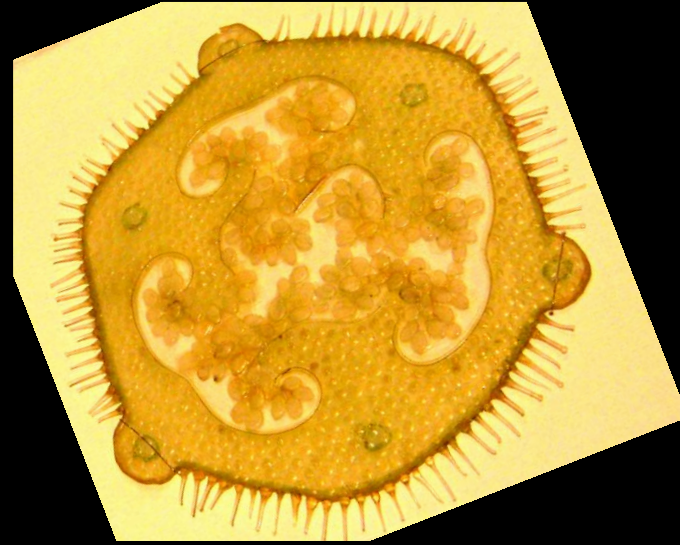
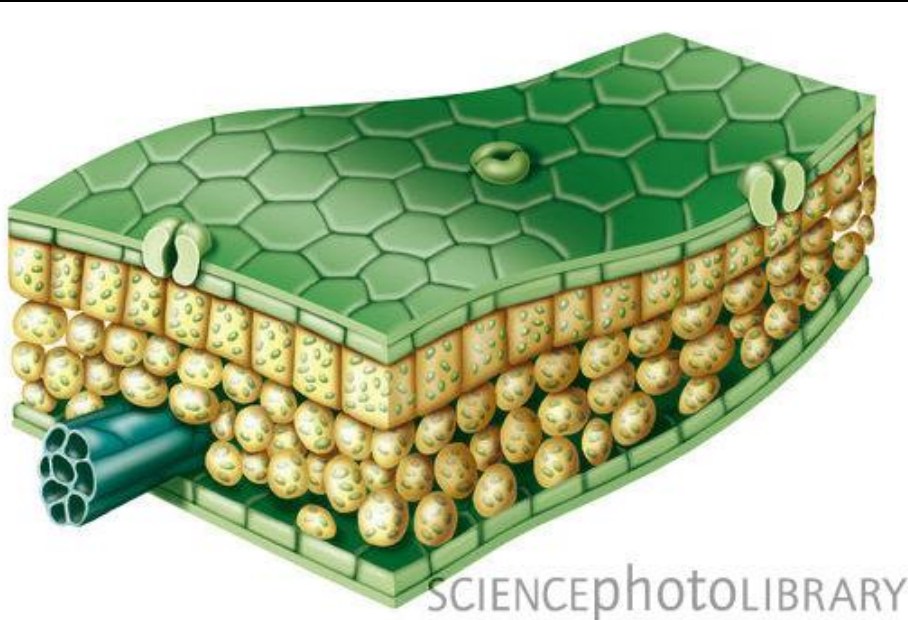
# Células com o mesmo código genético...



... podem produzir proteínas diferentes



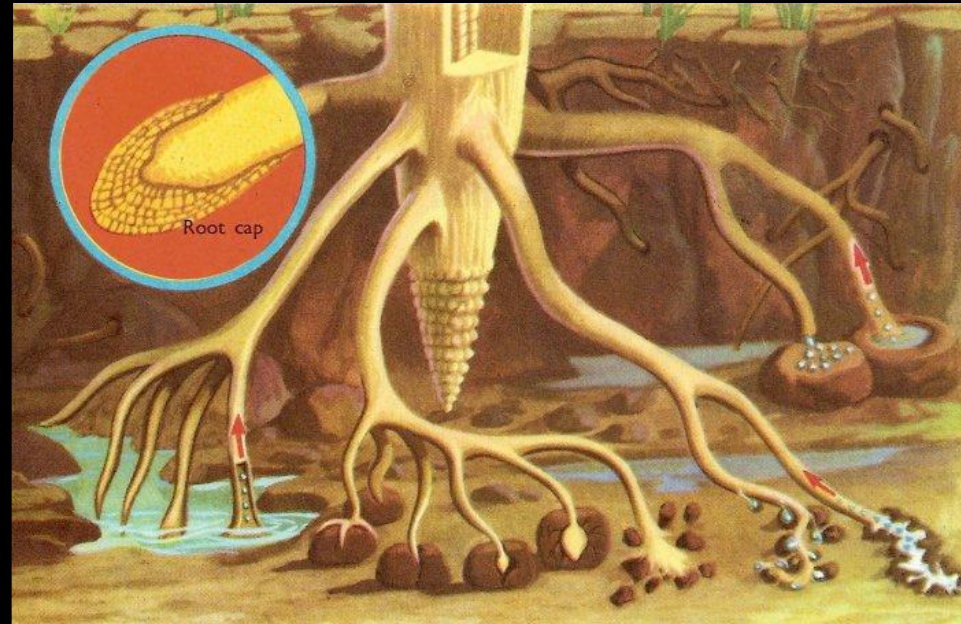
# No organismo as células especializam-se...



*(exposição de  
flores de vidro  
em Harvard)*

... e adaptam-se a  
diferentes funções

...



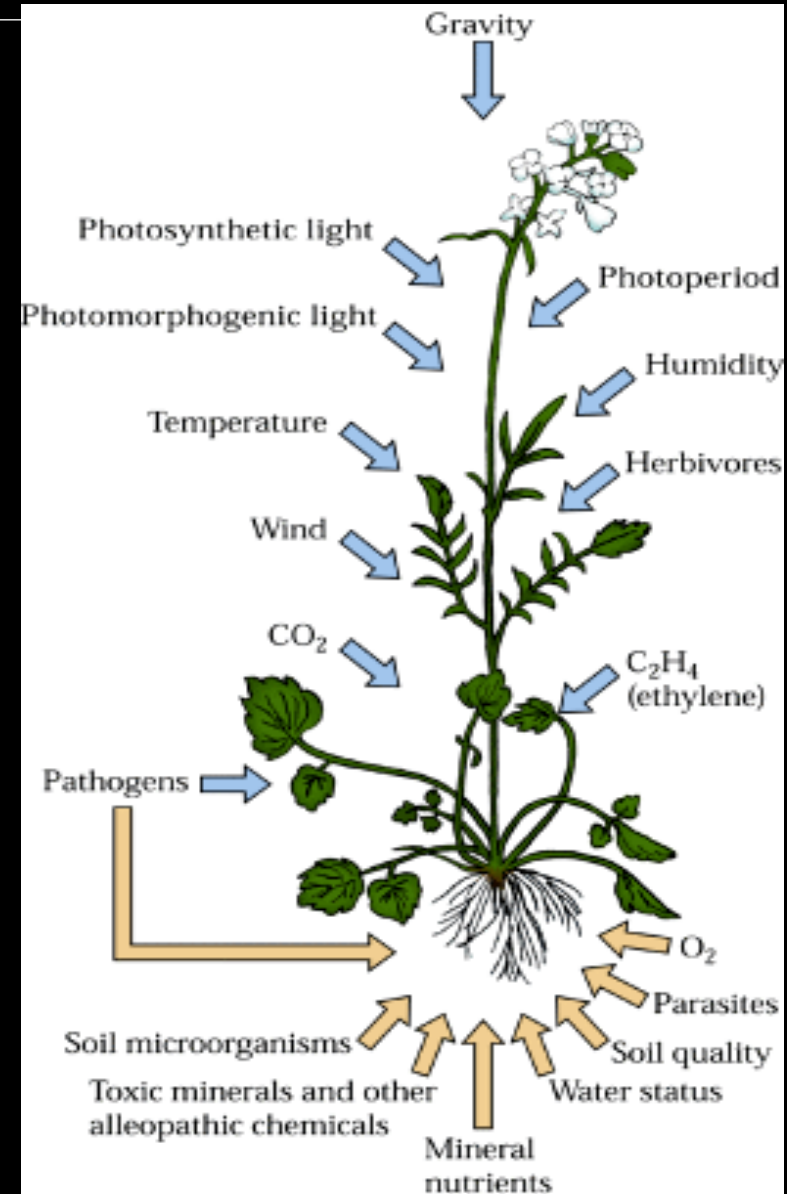
# ... porque os genes são **LIGADOS** e **DESLIGADOS**

## ◆ **Factores endógenos**

- Estádio de desenvolvimento
- hormonas
- células vizinhas

## ◆ **Factores exógenos**

- Ambiente
- Outros organismos





# O ambiente afecta as células vegetais

A única condição que não muda é a gravidade

Células adultas



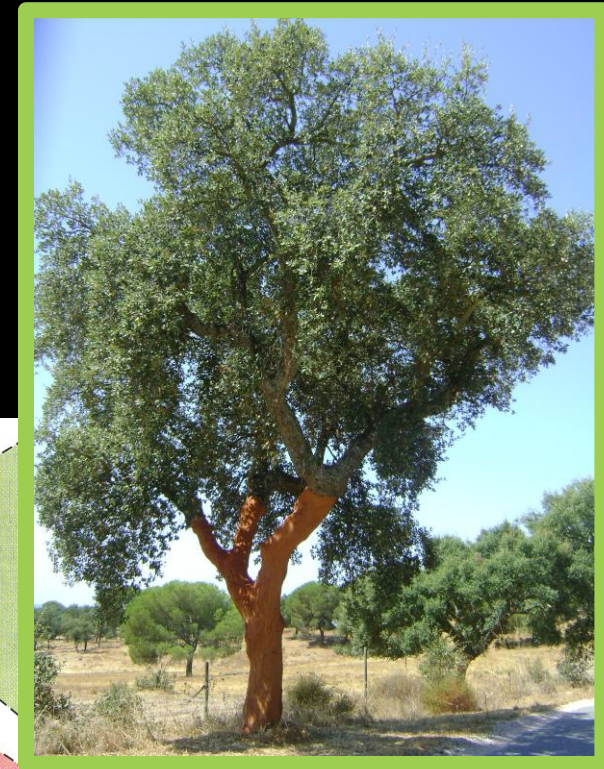
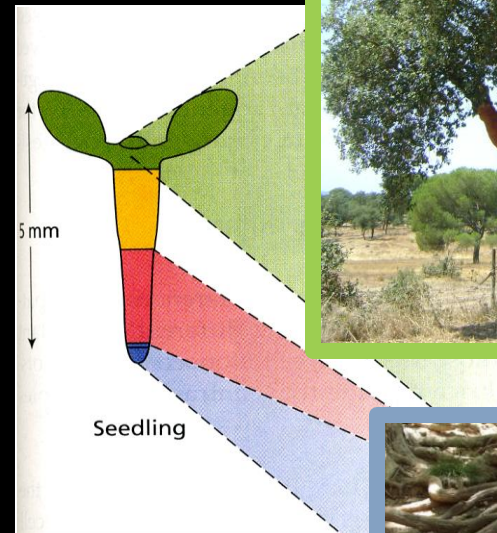
Respostas fisiológicas e bioquímicas

Células jovens



Respostas morfológicas e de desenvolvimento

Adaptação ou morte



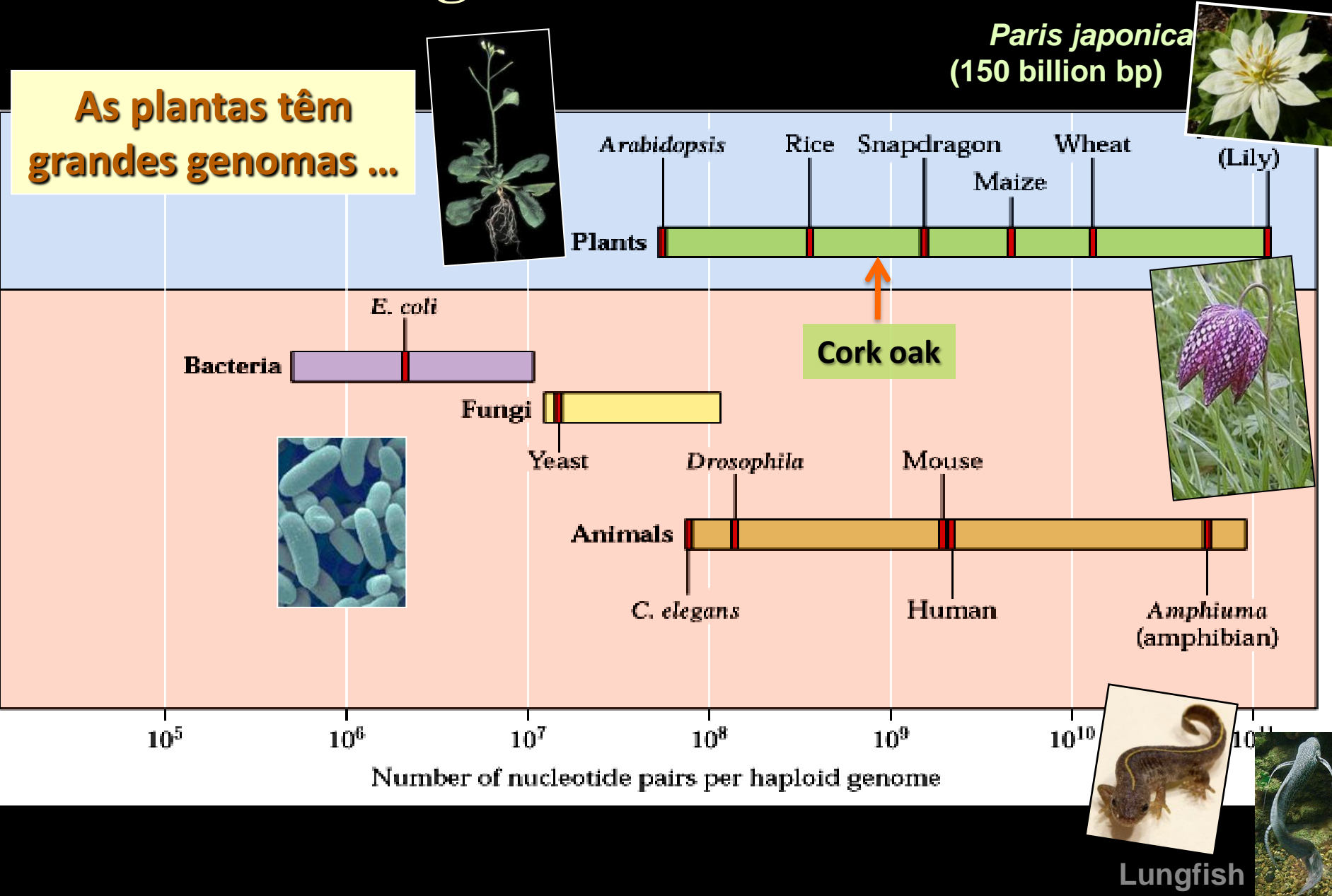


# Conhecer o genoma é uma tarefa difícil

As plantas têm grandes genomas ...

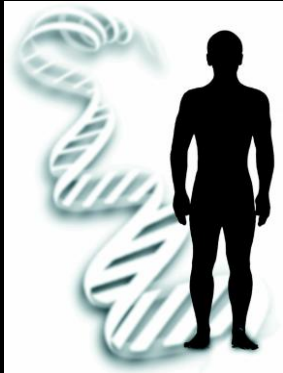


*Paris japonica*  
(150 billion bp)



# Os custos da sequenciação têm reduzido

---



## Genoma Humano

Levou **14 anos** a completar e custou  $\approx$  **3 Biliões USD**



## Genoma do Rato

Levou **5 anos** a completar e custou  $\approx$  **300 Milhões USD**

## Genoma Bovino

Levou cerca de **1 ano** a completar por  $\approx$  **30 Milhões USD**  
(já há pelo menos 3 bovinos sequenciados)





# Genomas sequenciados

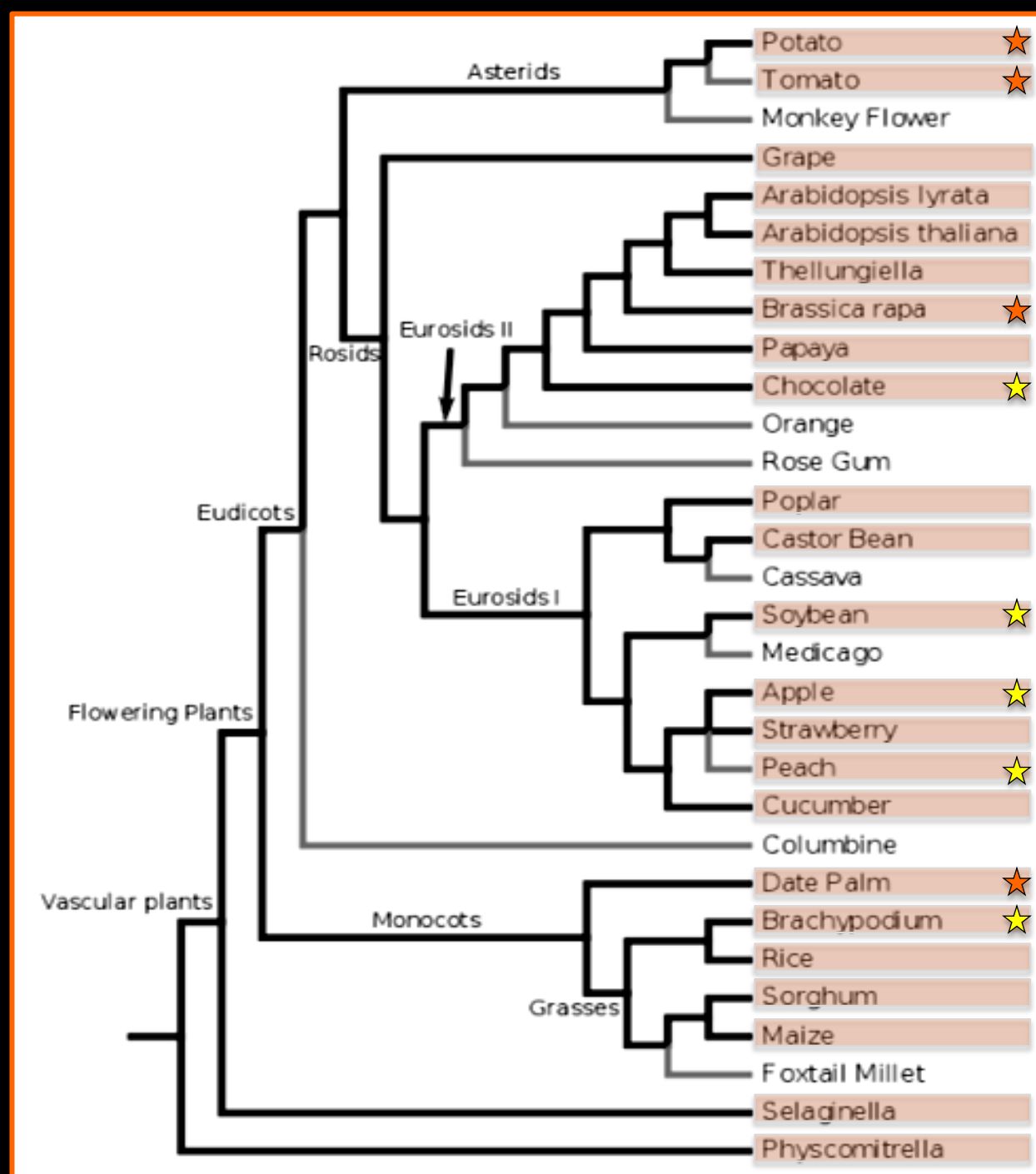
## Completos ou próximo disso:

Pinheiro (*Pinus taeda*)  
 Salgueiro (*Salix purpurea*)  
 Castanheiro (*C. mollissima*)  
Eucalipto (*E. grandis*)★

Pereira  
 Cerejeira  
 Algodão  
 Trigo de pão ★  
 Feijão  
 Choupo

## Outros genomas em curso

Cevada  
 Café  
 Alface  
 Melão  
 Amendoim  
 Beterraba açucareira



# Plataformas de sequencição de “Nova geração”

ILLUMINA (SOLEXA)



Applied Biosystems SOLiD



454 Roche



# Porquê a genómica para o sobreiro ?

## - *Presente*



**Declínio do sobreiro**

*Lab. Biotec. Mol. Fitopatol. U.Alg.*

### Detecção precoce de características de interesse:

- Qualidade da cortiça
- Eficiência do uso da água
- Tolerância acrescida a stress ambiental
- Melhor produção de semente (com elevada capacidade germinativa)
- Aumento da resistência à infecção com *Phytophthora*
- ...

### ou aplicação em :

- Aumento da diversidade genética
- Certificação / Identidade
- Melhoramento acelerado

# Porquê a genômica para o sobreiro ?

## - *Futuro*

---

- ◆ As alterações climáticas podem conduzir ao desenvolvimento de doenças mais graves

**A capacidade de adaptação das plantas pode reduzir**

- ◆ Devemos não só armazenar e preservar a diversidade biológica, mas também ...

**... conhecer a biologia das plantas, conhecer os seus genes e a sua regulação, para poder agir atempadamente garantindo a adaptação ao clima em mudança.**



# Ferramentas úteis para o projecto *GenoSuber*

---

- ◆ Iniciativa Portuguesa dos ESTs de sobreiro (consórcio)
- ◆ Um mapa físico → genoma do castanheiro (800Mb)
  - Ferramentas da biotecnologia, marcadores genéticos e grupos de ligamento compatíveis com outras plantas da mesma família (Fagaceae)
- ◆ Genomas de Fagaceae
  - *Quercus robur* - (carvalho-alvarinho)
  - *Quercus rubra* (carvalho americano)
  - *Quercus alba* (carvalho branco)
  - *Castanea mollissima* (castanheiro chinês)
  - *Castanea dentata* (castanheiro americano) (*C. sativa*)
  - *Fagus grandifolia* (Faia americana) (*F. silvatica*)

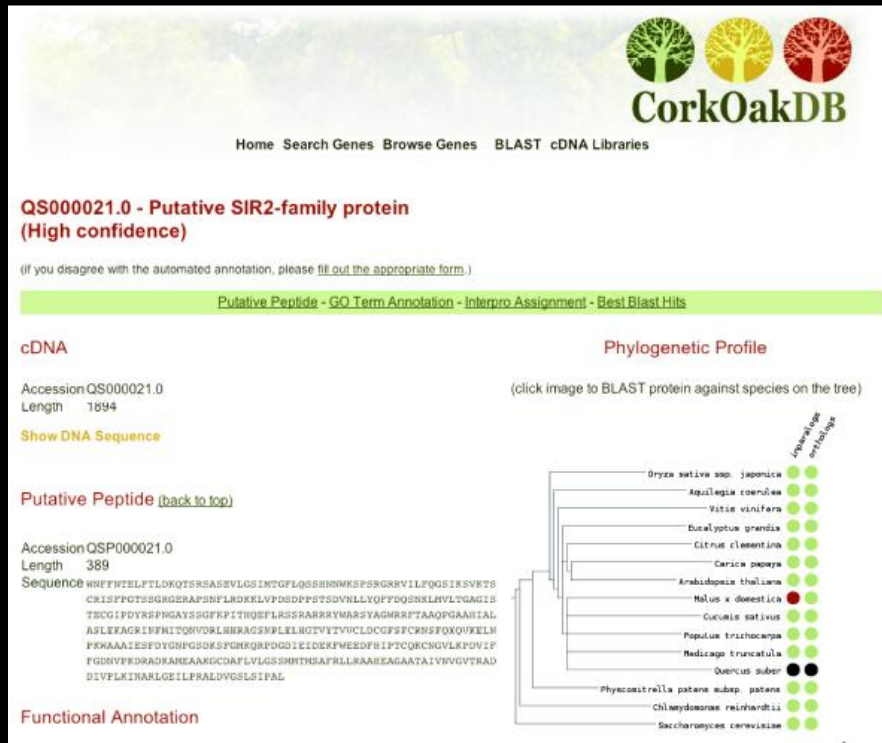
# Consórcio dos ESTs de Sobreiro

## Início

Consórcio dos ESTs – 12 projectos financiados pela FCT (3 dos quais coordenados pelo iBET) envolvendo 25 centros de investigação e o Biocant

## Primeira publicação do consórcio

“A comprehensive assessment of the transcriptome of Cork Oak (*Quercus suber*) through EST sequencing” (submetida)



**CorkOakDB**

Home Search Genes Browse Genes BLAST cDNA Libraries

**QS000021.0 - Putative SIR2-family protein (High confidence)**

(if you disagree with the automated annotation, please fill out the appropriate form.)

Putative Peptide - GO Term Annotation - Interpro Assignment - Best Blast Hits

**cDNA** **Phylogenetic Profile**

Accession QS000021.0  
Length 1894

Show DNA Sequence

Putative Peptide (back to top)

Accession QSP000021.0  
Length 389

Sequence  
WVFFNTELFILDFQTSRSASVLSINTQFLQSHNNKSPSGRRVILPQGISKSVETS  
CRISFPCTSSGGERAFSNFLDKKLVPSDDPFTSDVNLVLYFFDQSNLHVLTGAGIS  
TECGIPDYRSPNGAYSQGFPLTHQEFLESSRRRRVMARSYAGMRRFTAOPGAARIAL  
ASLEKAGRIFFHITQGVORLHRAGSFLLELHGTIVTVVCLDCGFSFCRHSFOXQVLEL  
PKAAALIESFDYGNPQOKSFGNKRQPGDDIEIDERFMEEDFBIPTCQCNGVLRQVIF  
FGDRVFDKADKANEAKGCCAFVLVGSNNHTGAFRLLEAAREAGAATAIVVGVTRAD  
DIVFLKINARLGEILFRALVQSLISIFAL

Functional Annotation

Phylogenetic Profile (click image to BLAST protein against species on the tree)

- Oryza sativa ssp. japonica
- Aquilegia coerulea
- Vitis vinifera
- Eucalyptus grandis
- Citrus clementina
- Carica papaya
- Arabidopsis thaliana
- Malus x domestica
- Cucumis sativus
- Populus trichocarpa
- Medicago truncatula
- Quercus suber
- Phycomitrella patens subsp. patens
- Chlamydomonas reinhardtii
- Saccharomyces cerevisiae

[www.corkoakdb.org](http://www.corkoakdb.org)





# Projecto GenoSuber



**Promotor:** CEBAL

**Parceiros:** ITQB, IBET, BIOCANT, IGC, INIAV

**Coordenação:** Sónia Gonçalves

8 laboratórios / 28 investigadores

**Aprovado a nível regional (Alentejo)**

**pela INALENTEJO**

**(programa operacional regional)**



## Consultores internacionais:

- **Prof. Yves van de Peer**

(Bioinformatics and Genome Biology, Ghent University, Bélgica)

- **Prof. Gerald Tuskan**

(Biosciences Division of Oak Ridge National Laboratory, EUA)

- Projeto aprovado pela Autoridade de Gestão do InAlentejo, no âmbito do Sistema de Apoio a Entidades do Sistema Científico e Tecnológico Nacional
- Financiamento 85% pelo programa COMPETE (FEDER)



**Investimento Global:**  
1,132 M€ (financiado a 85%)

**Duração:** 30 meses

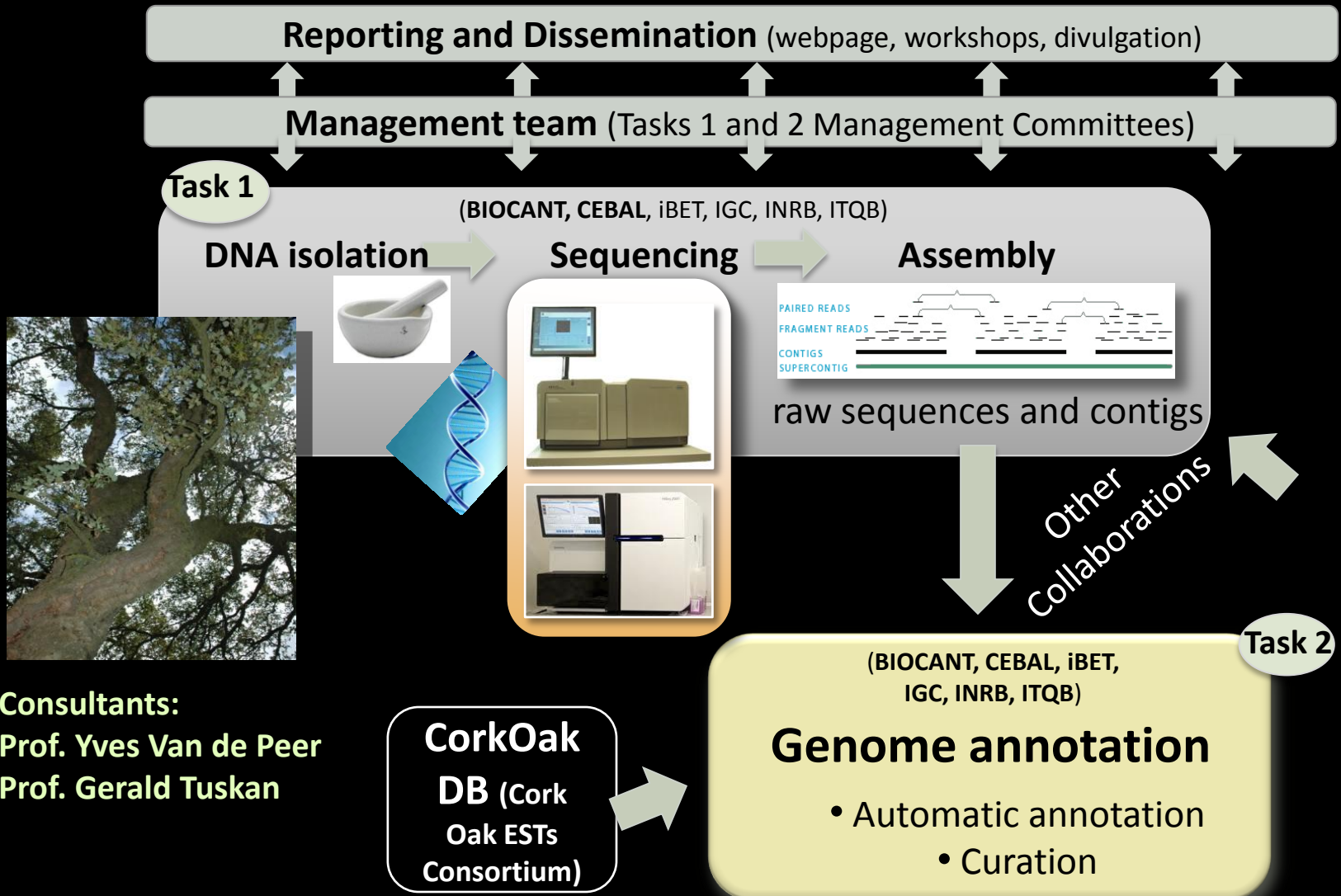
**Início:** Jan. 2013

Parceiros privados:



# OBJETIVO

O conhecimento do património genético do sobreiro, pela sequenciação massiva do genoma do sobreiro





# TAREFA 1.

## SELEÇÃO DO SOBREIRO A SEQUENCIAR



**OBJETIVO:** encontrar uma árvore com o máximo de homozigotia

### CRITÉRIOS DE SELEÇÃO

- Bons produtores de cortiça
- Considerados produtores de cortiça de boa qualidade
- Em bom estado sanitário
- Situados em ambiente sem problemas fitossanitários e de fácil acesso
- Isolados de outros Quercus
- Elevada probabilidade de conservação futura
- **50 indivíduos de 3 zonas geográficas**

# METODOLOGIA E RESULTADOS



- Extração de DNA
- Georreferenciação e fotoidentificação
- Análise de heterozigotia com 16 loci de microssatélites

- Análise de resultados a decorrer



- Seleção do indivíduo

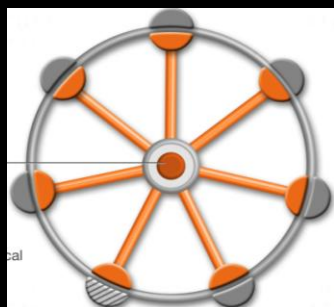


- Início da sequenciação

# A rede ELIXIR e a localização dos Nós



- Médico
- Agricultura
- Ambiente
- Farmacêutico
- Treino geral



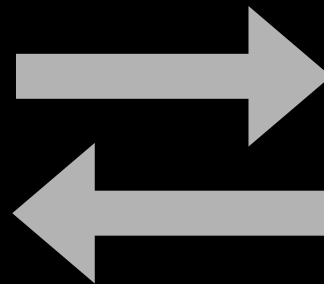
**ELIXIR** : infraestrutura sustentável de informação biológica para a Europa





Rede Portuguesa de  
Bioinformática

- treino
- computação
- domínio específico



**Nó ELIXIR de  
plantas lenhosas**

Apoiar a indústria e a  
investigação Portuguesa em  
Bio-informática **além do  
campo específico da bio-  
informática**

Disponibilizar um **serviço** à  
academia e à indústria  
**agro/florestal em:**

- Portugal
- Europa
- *Global*

# Estreita cooperação ITQB-IBET com IGC e INESC



*EBI (European Bioinformatics Institute)*

Uma base de dados internacional para espécies florestais, criada e gerida em Portugal, tendo por base o **genoma do sobreiro**

Disponibilizar um **serviço** à academia e à indústria **agro/florestal em:**

- Portugal
- Europa
- *Global*



**Genosuber**  CORK OAK GENOME SEQUENCING PROJECT

# Suporte financeiro

Envolvimento  
Institucional



*Pessoas, equipamento, espaço*

**compromisso**, detalhes da negociação

Infraestrutura  
física



*Servidores de dados, fibras, etc.*

**sugerido**, negociações em curso

- Programas de rede em colaboração com outros nós
- Envolvimento das regiões Portuguesas

*Pessoas, equipamento,*

**em preparação**

contexto, financiamento de base  
articulação, indústria, etc.



*Pessoas, equipamento,*



*Pessoas, equipamento,*



# Alicerce a projectos futuros que permitam :

---

Conhecimento fundamentado sobre a biologia do sobreiro, capaz de suportar o desenho de estratégias aplicadas visando:

- o melhoramento da qualidade da cortiça
- a selecção das plantas melhor capazes de se adaptar a um meio ambiente potencialmente pouco favorável.





-uma iniciativa nacional –  
que precisa juntar mais parceiros