

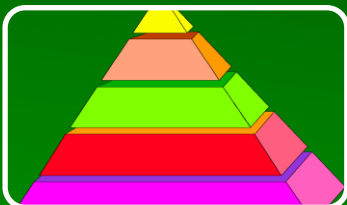


Evolução da Seleção Genômica em Aves

Mônica Ledur
Embrapa Suínos e Aves



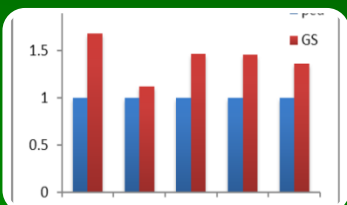
Tópicos



Melhoramento de aves



Genoma da galinha



Seleção genômica em aves



Perspectivas

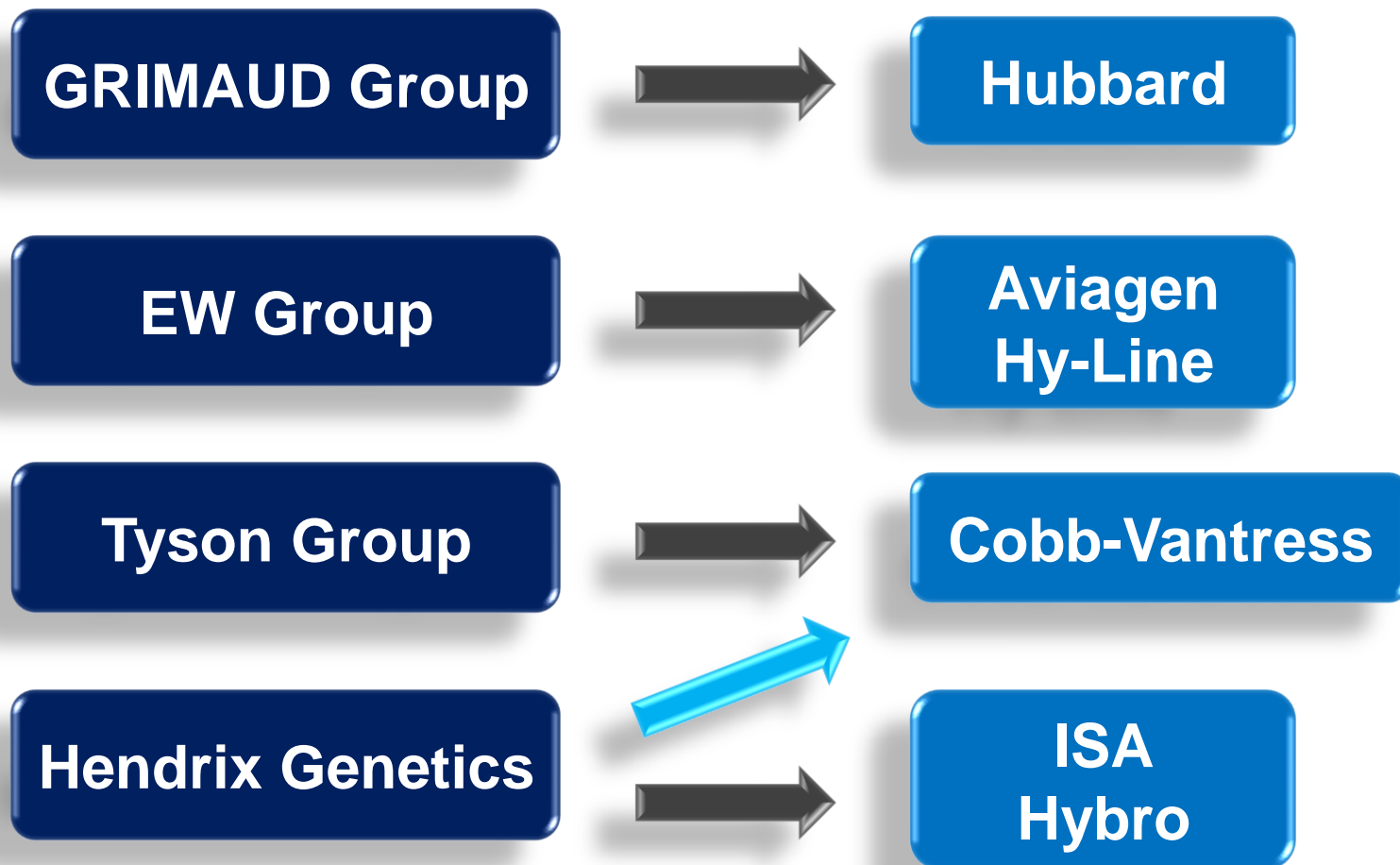
Introdução



Avicultura:

- » Importância econômica: 1,5% do PIB.
- » Importância social: 4,5 milhões de empregos
- » Melhoramento: viabilizou o desenvolvimento da indústria avícola
- » Frango: uma das mais importantes e baratas fontes de proteína

Domínio da genética mundial



Genômica de aves

- » Grandes investimentos em pesquisas com genômica
- » Esforços para manter grandes bases de dados
- » Participação em consórcios com a colaboração das principais instituições de pesquisa do mundo
- » Equipes altamente capacitadas
- » Os resultados são pouco divulgados
 - » Importância estratégica

Estrutura da avicultura

Rebanho núcleo ou de pedigree – empresas de genética

Seleção

Ganho genético

Biosseguridade

LP

Bisavós

Cruzamentos

Avós

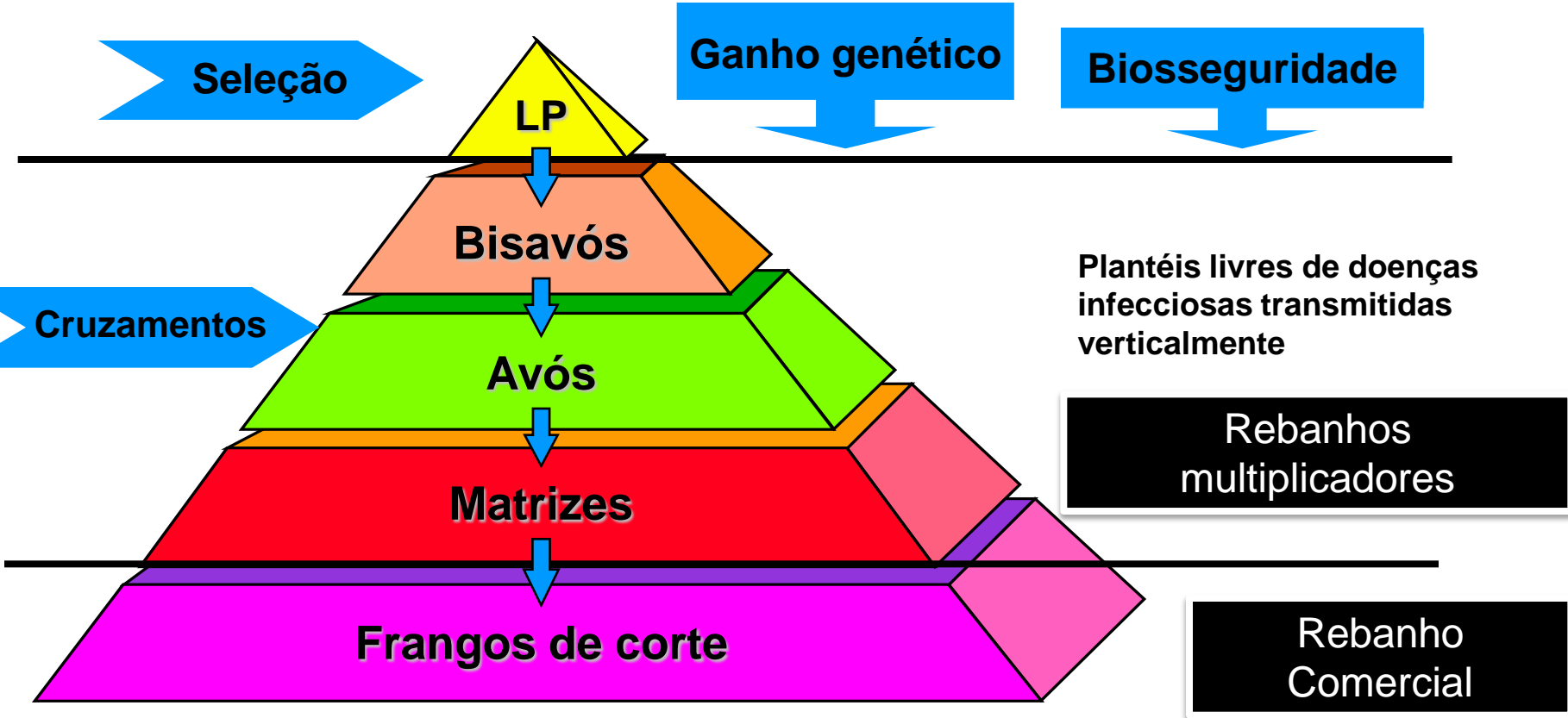
Plantéis livres de doenças infecciosas transmitidas verticalmente

Matrizes

Rebanhos multiplicadores

Frangos de corte

Rebanho Comercial



Efeito multiplicador

- » Valor do animal:
 - » Um só macho de pedigree pode ter uma descendência de ~28 milhões de frangos
 - » capaz de produzir ~ 70 mil toneladas de carne.

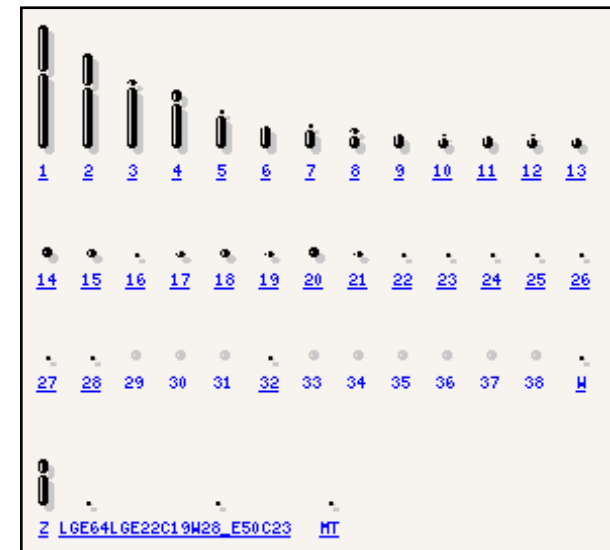


Melhoramento: 4 grandes áreas

- » Reprodução:
 - » Idade à maturidade sexual, taxa e persistência de postura, fertilidade e eclodibilidade
- » Frango vivo:
 - » Taxa de crescimento, eficiência alimentar e viabilidade
- » Rendimento de carcaça, cortes nobres e qualidade da carne
- » Características de suporte biológico:
 - » Robustez das pernas, capacidade cardiorrespiratória

Genoma da galinha

- » Genoma da galinha (2004)
- » 1,03 gb
- » Galgal 4.0
- » Boa cobertura (74x Illumina; Schmid et al., 2015): 96% do genoma
- » Microcromossomos (75% dos genes)
- » Desenvolvimento de Painéis de SNPs
- » **Redução de custos**
- » **Maior viabilidade de uso**



» Apesar do genoma da galinha ser compacto sua complexidade ainda é subestimada

Table 1. Genome statistics for the chicken reference genome assembly

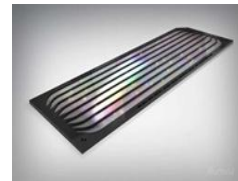
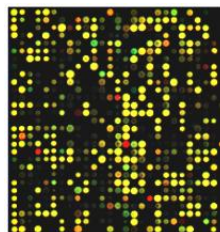
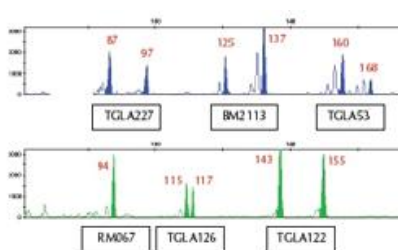
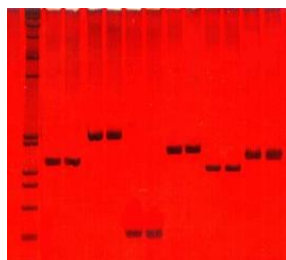
Statistics	
Genome assembly	Galgal4, Nov 2011 (GCA_000002315.2)
Database version	Ensembl 78
Base pairs	1,072,544,763
Golden path length	1,046,932,099
<i>Gene counts</i>	
Coding genes	15,508
Small noncoding genes	1,558
miRNA	1,049
rRNA	29
snoRNA	227
snRNA	79
misc_RNA	150
Mt_rRNA	2
Mt_tRNA	22
Pseudogenes	42
Gene transcripts	17,954
Genescan gene predictions	40,572

Avanço nas metodologias genômicas

- » PCR-RFLP
- » SSP
- » RAPD
- » QTLs
- » Microarranjos

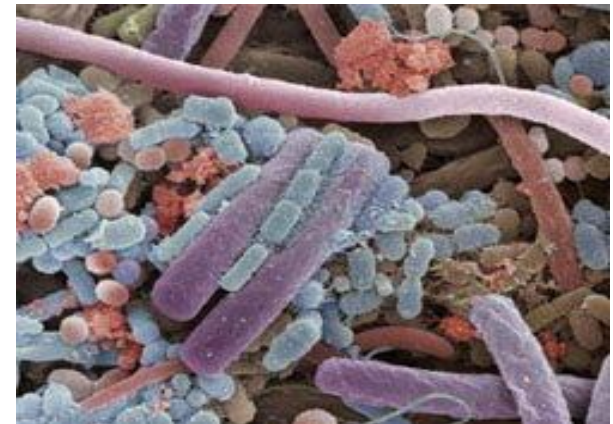
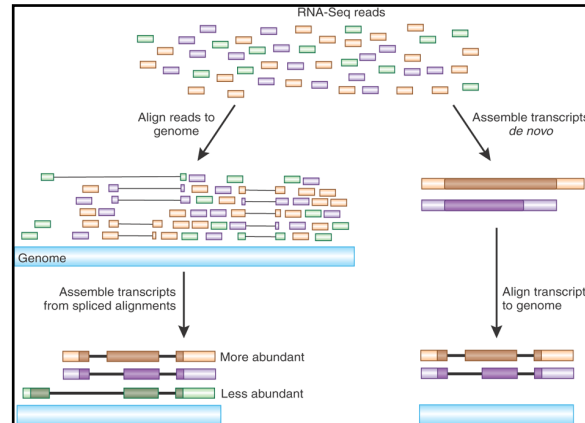
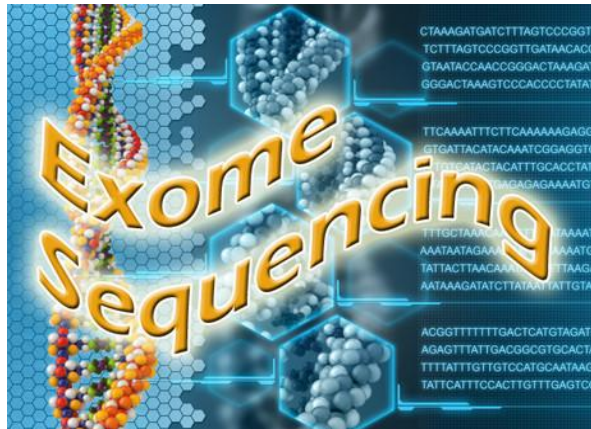


- » NGS
- » GWAS
- » Seleção genômica
- » RNA-seq
- » Exoma
- » Metagenoma
- » GBS



Aplicações em diversas áreas

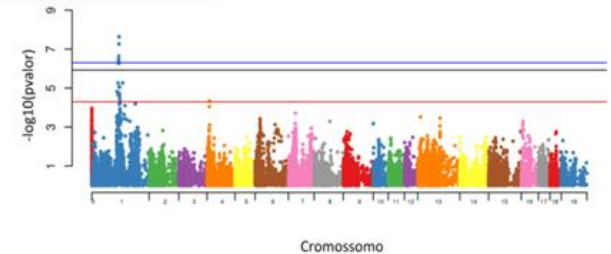
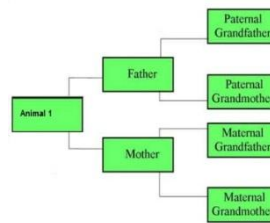
- » Conhecimento do genoma funcional
- » Identificação de genes associados a características complexas
- » Nutrigenômica
- » Caracterização da microbiota



Estudos de associação global do genoma (GWAS)

- » Identificar genes que controlam características de interesse
 - » diversos painéis de SNPs

Fenótipos + Genótipos + Pedigree



- » Resistência a doenças em aves
 - » Marek (Wolc et al., 2013); Campilobacter (Connell et al., 2013); Newcastle (Luo et al., 2013); IBV (Luo et al., 2013)

Seleção genômica

- » Estima os efeitos de cada marcador simultaneamente: GEBVs
- » Grande interesse das empresas de genética devido ao potencial ganho genético
- » Existem várias metodologias para implementação
- » Diversos programas permitem essas análises
- » Em aplicação no programa de melhoramento da AVIAGEN

Aplicações da Seleção Genômica nos programas de melhoramento

- » ↑ ganho genético: ↑ intensidade e acurácia de seleção
- » Incremento em acurácia
 - » Seleção somente com informação da família: não é possível distinguir entre irmãos completos – limita a acurácia: mesmo EBV.
 - » A genômica permite distinguir os melhores indivíduos dentro de uma família porque estima com acurácia a amostragem Mendeliana.

Ganhos em acurácia

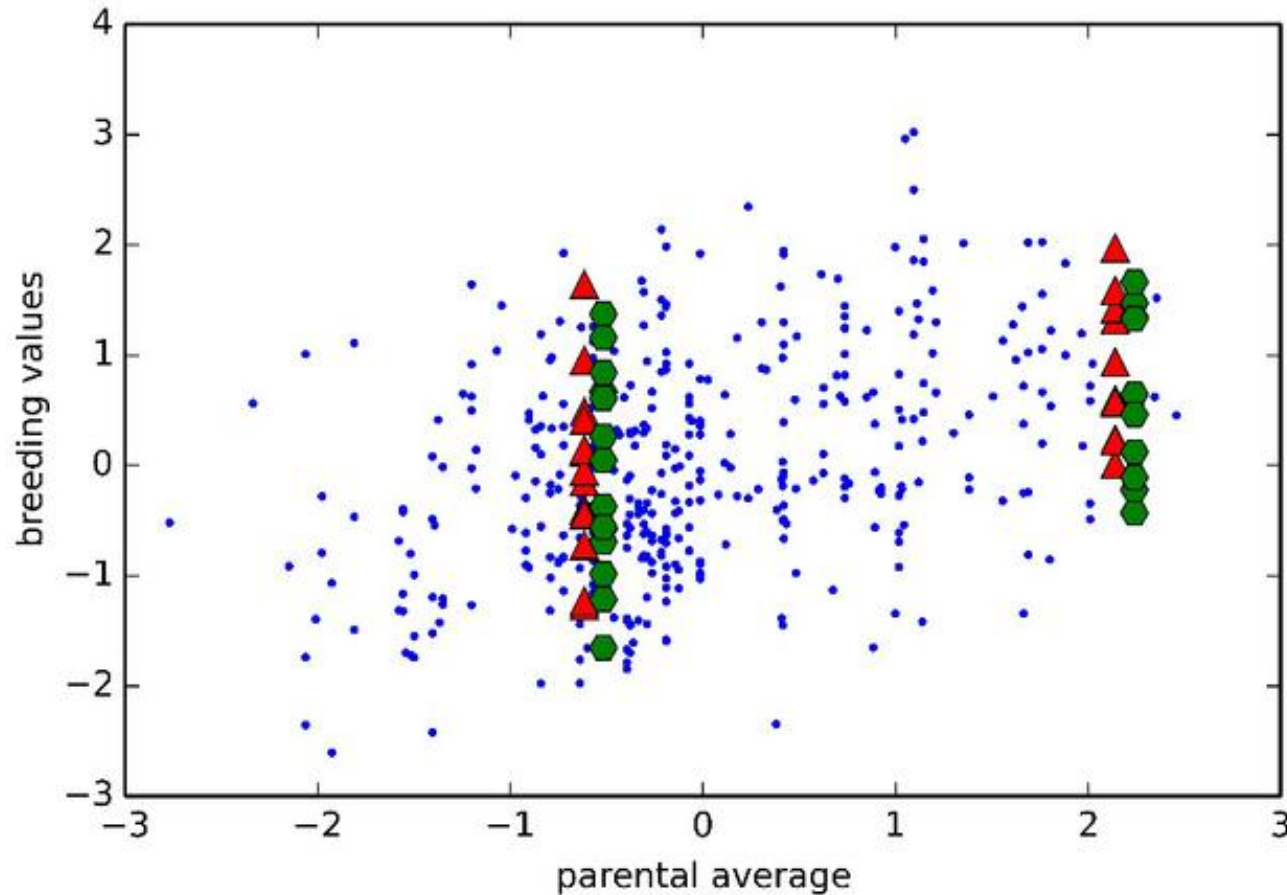


Figure 5. Relationship between genomic breeding values (red triangles: GEBVs, green hexagons: adjusted progeny means) and parental average (PA) from a pedigree-based BLUP. Two families are shown (one with low PA on the left and one with high PA on the right). All sibs have the same PA, however there is significant variation in GEBVs, suggesting some sibs rank highly in the cohort. This observation was validated using adjusted progeny means for the full sibs of the two families.

» Controle da Variação Genética

- » A genômica permite estimar a variação genética e o tamanho efetivo das populações com maior acurácia.
- » Possível acessar a variação genética dentro e entre linhas.
- » Melhor controle da endogamia.
- » Essencial para contínuo melhoramento a longo prazo.

Ganho relativo na acurácia da seleção

Animais sem fenótipos: ↑ 20 a 70%

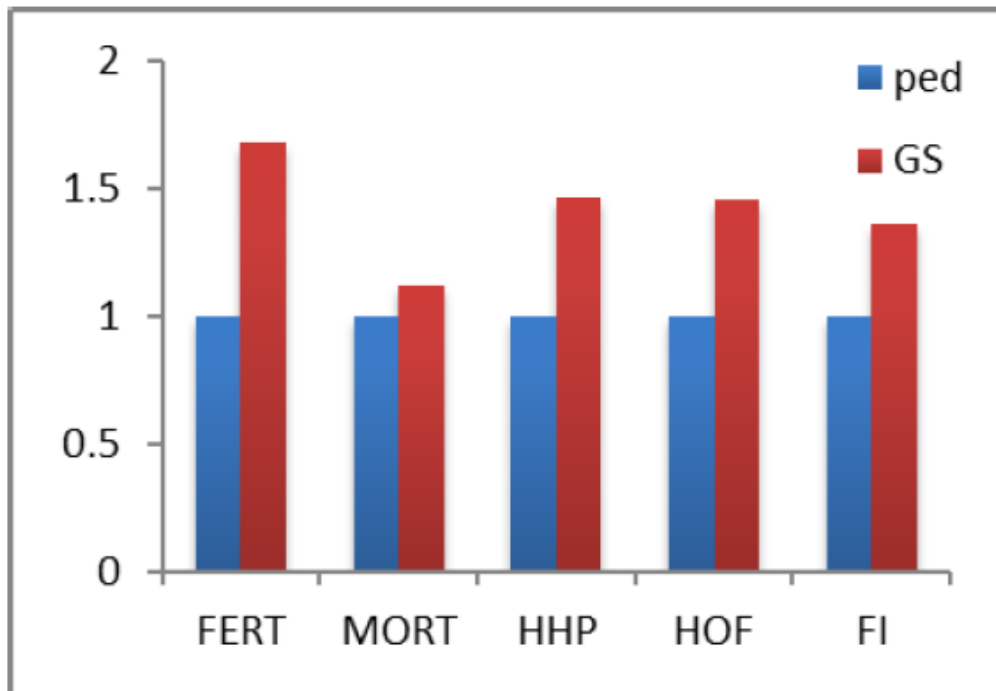
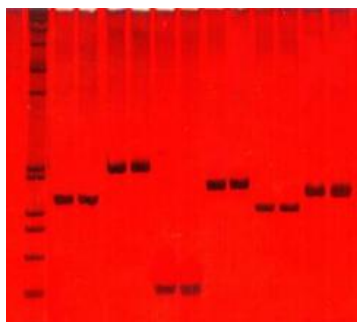
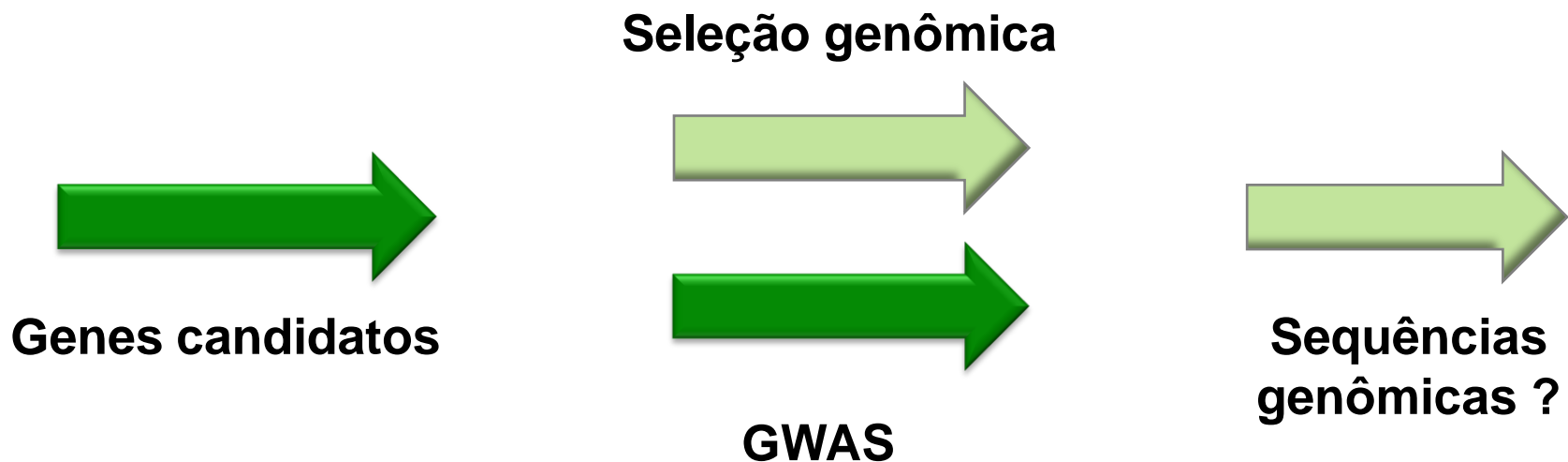


Figure 4. Relative improvement in prediction accuracy of genomic selection (GS) over pedigree-based (Ped) EBVs, measured as the correlation of EBVs with adjusted phenotype for 5 traits: fertility % (FERT), laying mortality (MORT), hen-housed egg production (HHP), hatchability % (HOF) and feed intake (FI).

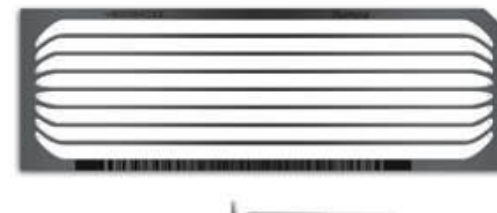
Como implentar informações genômicas?



PCR-RFLP/



Arrays



NGS

Complexidade na aplicação

Fenótipos e pedigree

- EBV
- dEBV
- Novos

Genótipos

- Banco de DNA
- LD
- HD
- imputação

Análises

- Bayes A e B
- Fast Bayes B
- Bayes Cπ
- GBLUP
- LASSO e
- BLASSO
- ssGBLUP

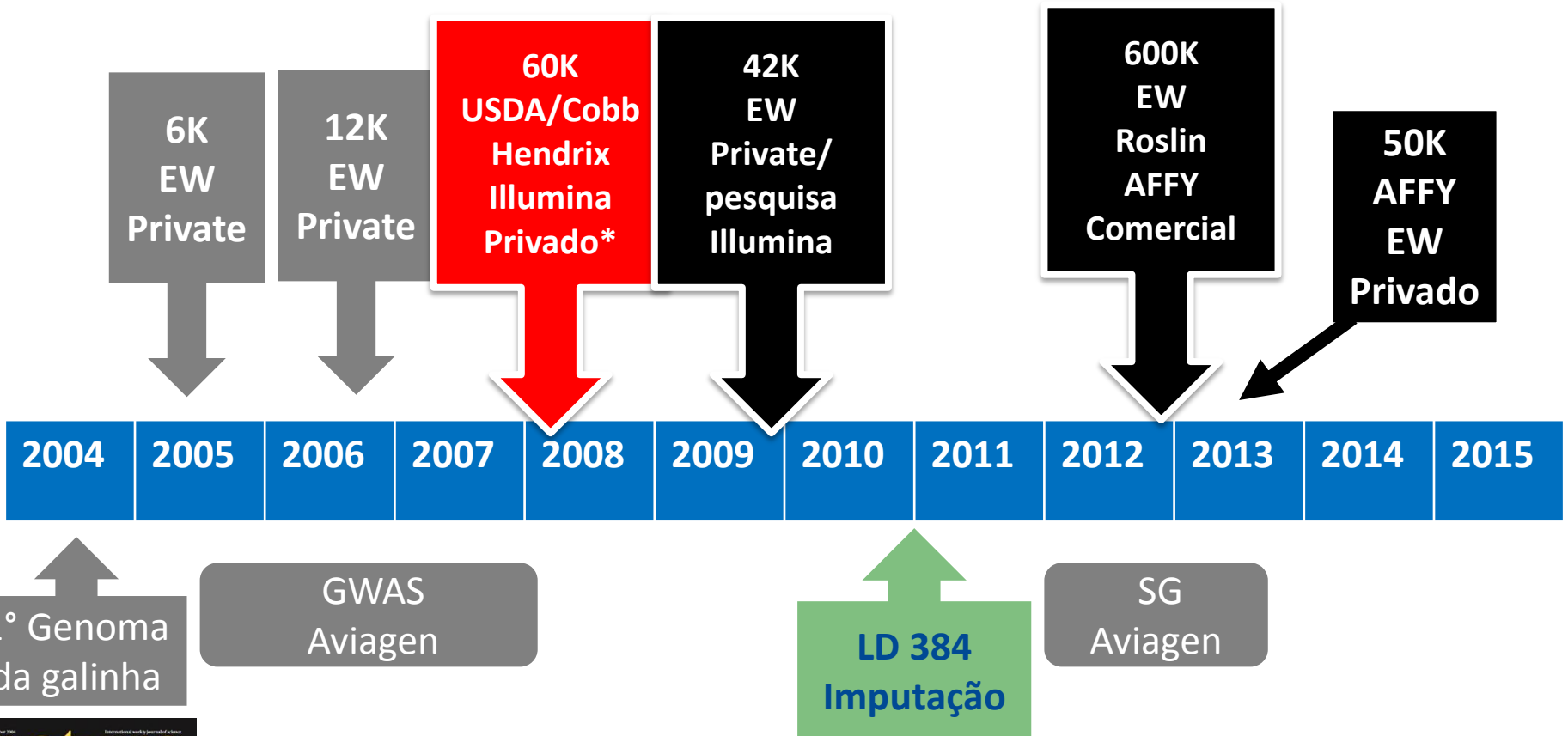
Operacionalidade no PMG

Genótipos: Bancos de DNA

- » Um ponto crítico para a implementação da SG
- » Em aves: sangue é o tecido eleito – hemácias nucleadas
- » Coleta em EDTA ou FTA cards
- » Banco dinâmico
- » Seleção semanal?



Genotipagem: Evolução dos painéis de SNPs



Chicken 60K



- » Illumina Chicken SNP 60K iSelect Beadchip (Groenen et al., 2011)
- » 57.636 SNPs
- » Densidade Moderada
- » SNPs baseados em MAF
- » 352.303 SNPs com MAF moderada
- » 2 linhas de frango e 2 linhas de postura com sequenciamento pela Illumina

**USDA
Cobb
Hendrix**

Chicken 600K-HD



- » 600K SNPs Affymetrix Axiom HD (Kranis et al., 2013)
- » Resequenciamento de 243 aves
- » 78 milhões de SNPs descobertos
- » 1,8 milhões (pre-screening)
- » Linhagens de postura de ovos brancos e castanhos, várias linhagens de frangos de corte e linhagens não-comerciais



Acurácia na predição do valor genético

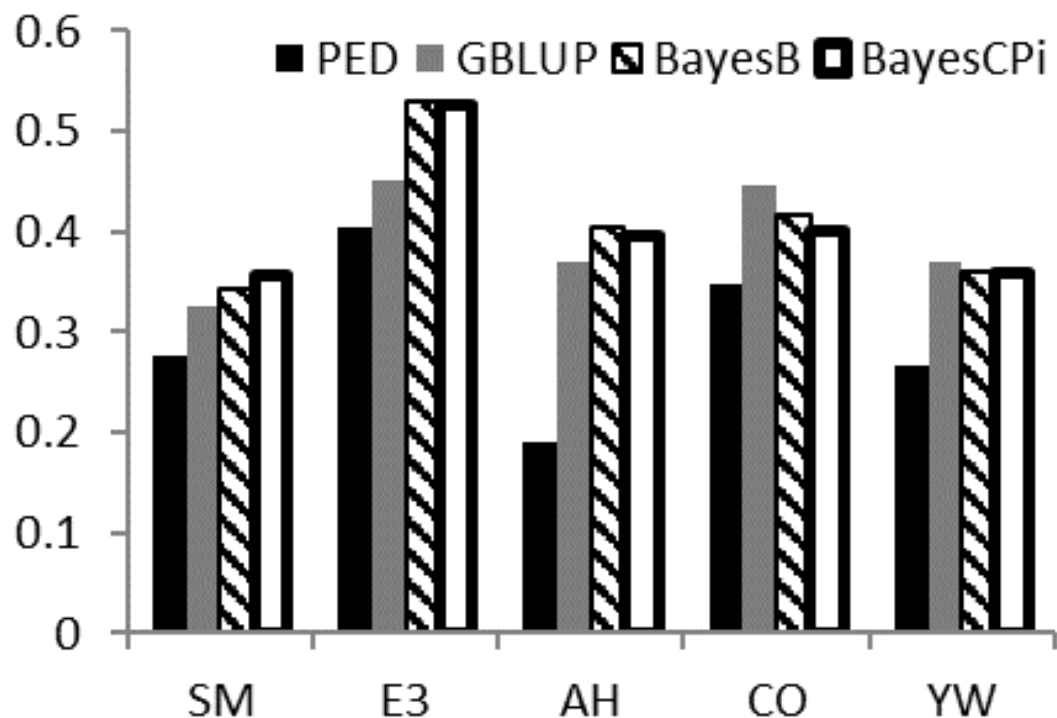
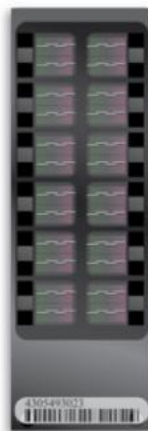


Figure 1. Validation accuracies of EBV obtained from pedigree (PED), GBLUP, BayesB, and BayesCPI methods for 5 traits: sexual maturity (SM), weight of first 3 eggs (E3), albumen height (AH), shell color (CO), and yolk weight (YW).

Desafios: análises em grande escala

- » Enorme quantidade de dados (genótipos, fenótipos e pedigree)
- » Análises computacionais
- » Infraestrutura em Tecnologia da Informação
- » Recursos humanos



Desafios: grandes populações de treinamento

Proceedings, 10th World Congress of Genetics Applied to Livestock Production

The Effect of Training Population Size and Chip Density on Accuracy and Bias of Genomic Predictions in Broiler Chickens

J. Iiska¹, A. Kranis^{1,2}, J. A. Woolliams¹

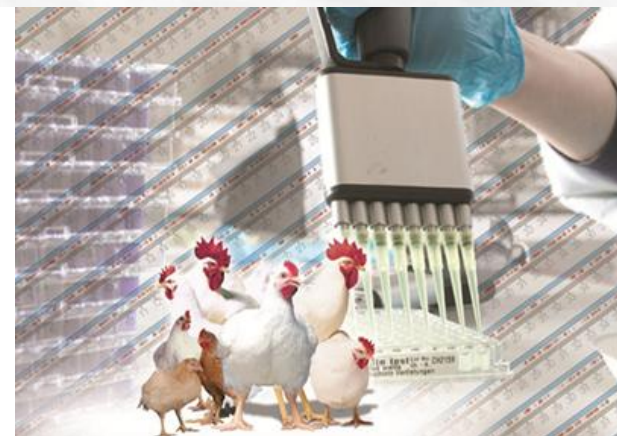
¹The Roslin Institute, R(D)SVS, University of Edinburgh, Scotland, ²Aviagen Ltd., Edinburgh, United Kingdom

- » 23.500 animais genotipados para 600K:
- » O tamanho da população de treinamento é mais importante para aumentar a acurácia da seleção genômica do que a densidade do chip.
- » Densidade do chip acima de 20K não resultou em aumento da acurácia.
- » Acurácias obtidas: 0,42 para HHP a 0,53 para FI já trazem benefícios aos programas de melhoramento.
- » Acurácia de 0,7 ou mais: necessidade de mais registros.

Implementação nas empresas

- » Grandes investimentos em genômica
 - » Aviagen WPC 2012: 850.000 \$ para implementar em uma linha
- » Estabelecimento Bancos de DNA
- » Grandes populações de treinamento
- » Imputação (384, 3k, 9k)??
- » Preocupação com novos fenótipos: saúde, bem-estar, etc.
- » Equipe treinada participando ativamente no avanço do conhecimento na área
- » Operacionalidade

Aplicações na indústria Aviagen



- » Relatos da utilização das metodologias genômicas
 - » Avendaño et al. (2010, 2014) e Dekkers et al. (2010).
- » Seleção genômica implementada desde 2012
 - » Benefícios no rebanho comercial esperados para 2016
- » Aplicação das tecnologias genômicas em Perus
 - » Genoma do Peru e painel de 600K (Dalloul et al., 2010)

Aplicações na indústria Cobb Vantress

- » A Cobb Vantress, líder em genética de frangos de corte, desenvolve pesquisas para implementar a seleção genômica no melhoramento de aves.
- » Aliança com a Hendrix Genetics.



INTERVIEW WITH JERRY MOYE & ANTOON VAN DEN BERG

Genomics research project early success of Cobb - Hendrix alliance

It is a year since the alliance between Cobb-Vantress and Hendrix Genetics was announced, with Hybro acquired by Cobb and the \$10 million genomics research program under way. In this wide-ranging interview Jerry Moye, president of Cobb-Vantress, and Antoon van den Berg, chief executive of Hendrix Genetics, give Roger Ranson their opinions on how the alliance is progressing and their hopes for the future.

in this issue

New Cobb research base in the Netherlands5

Expanding US grandparent production6/7

Going green in Brazil8

'World first' biogas plant in Germany9

New quality control laboratory in Brazil10

VIV China and Eurotier exhibits11

Awards for top US flocks / honour for Gerhard Wagner (pictured)12



Pesquisas em genômica de aves na Embrapa

- » **Linha de pesquisa desde 99:** material genético próprio como modelo
- » **Caraterísticas produtivas:** GWAS (Unidades da Embrapa, Esalq/USP, Unesp e Instituto Roslin)
- » **Miopatias peitorais:** RNAseq (UPF)
- » **Problemas locomotores:** RNAseq e Metagenoma (University of Idaho, Unidades a Embrapa e Esalq/USP)



1) Identificação de genes de interesse para avicultura

- » **GWAS:** características produtivas de importância econômica
- » **População Referência TT:**
 - » 20 machos e 100 fêmeas (1:5)
 - » 1400 descendentes
- » **Fenótipos (92 características)**
 - » Desempenho, carcaça e cortes
 - » Peles e órgãos
 - » Integridade óssea

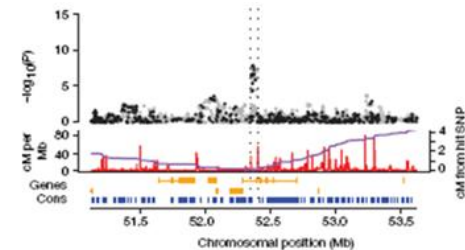
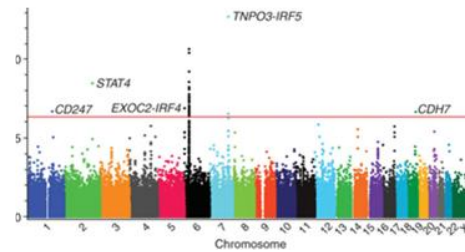


Linha paterna de frango de corte TT
20 gerações de seleção



GWAS-AVES (Embrapa e Fapesp)

- » Genotipagem com Affymetrix 600K SNP chip
 - » ESALQ (multiuser Lab.)
- » GWAS (marcadores únicos e múltiplos)
- » Metodologias de seleção genômica
 - » Bayes A, B, C, GBLUP, SSGBLUP
- » Sequenciamento completo do genoma (ESALQ)
- » Busca por genes candidatos posicionais
- » SNPs relevantes serão usados na seleção da linha TT



2) Miopatias peitorais: white striping

- » Amostras de músculo do peito de frangos comerciais machos
- » Afetados e normais



- » 11.177 genes do total de 17.108 anotados no genoma da galinha
- » 1.041 Diferencialmente Expressos
- » 8 vias metabólicas conhecidas
 - » Via de sinalização do cálcio
 - » Elevados níveis de cálcio no tecido de aves afetadas com white striping

3) Problemas Locomotores

- » Um dos principais problemas na produção de aves
 - » Perdas econômicas (desempenho, qualidade das carcaças)
 - » Comprometimento do bem-estar animal
 - » Ganhos genéticos insuficientes



- » Abordagens de estudo
 - » Necrose da cabeça do fêmur (FHN): RNAseq e metagenoma, RT-PCR
 - » Variação normal de características de integridade óssea (GWAS)

Estudo caso-control

- » Grande impacto na avicultura de corte
- » Integração de diversas estratégias genômicas:

Transcriptoma da placa de crescimento do fêmur

Metagenoma de ossos normais e lesões de FHN

Quantificação da expressão de genes candidatos funcionais



Normal

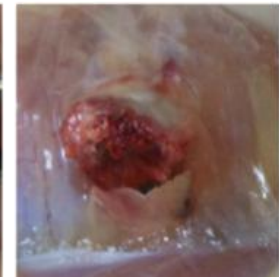
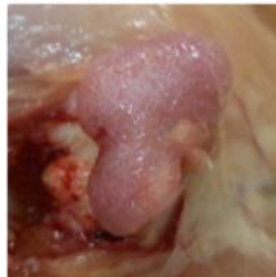
N1

N2

N3

N4

N5



Estudo do transcriptoma RNA-seq

- » Frangos de corte comerciais
 - » Dois tecidos (osso e cartilagem)
 - » Duas idades (21-CNPq e 35 dias - Embrapa)



Transcriptoma da placa de crescimento do fêmur

Regiões de *splicing* alternativo

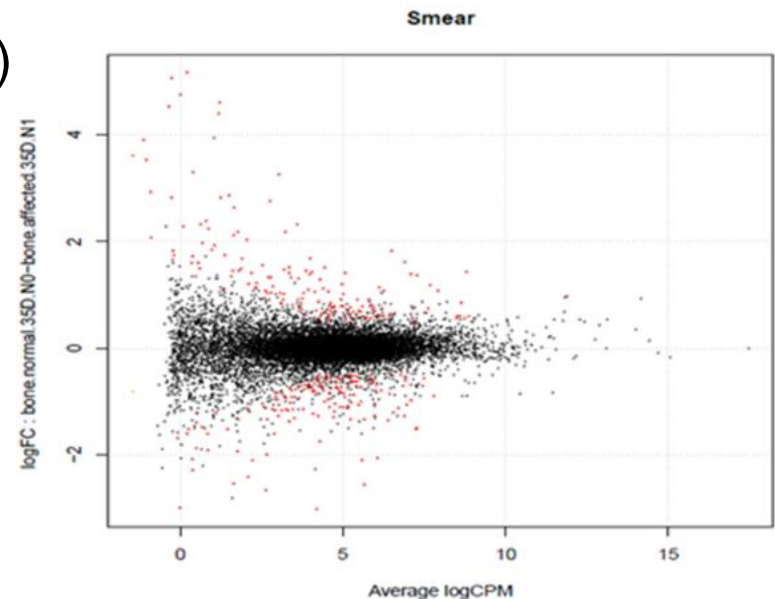
Isoformas

Genes diferencialmente expressos

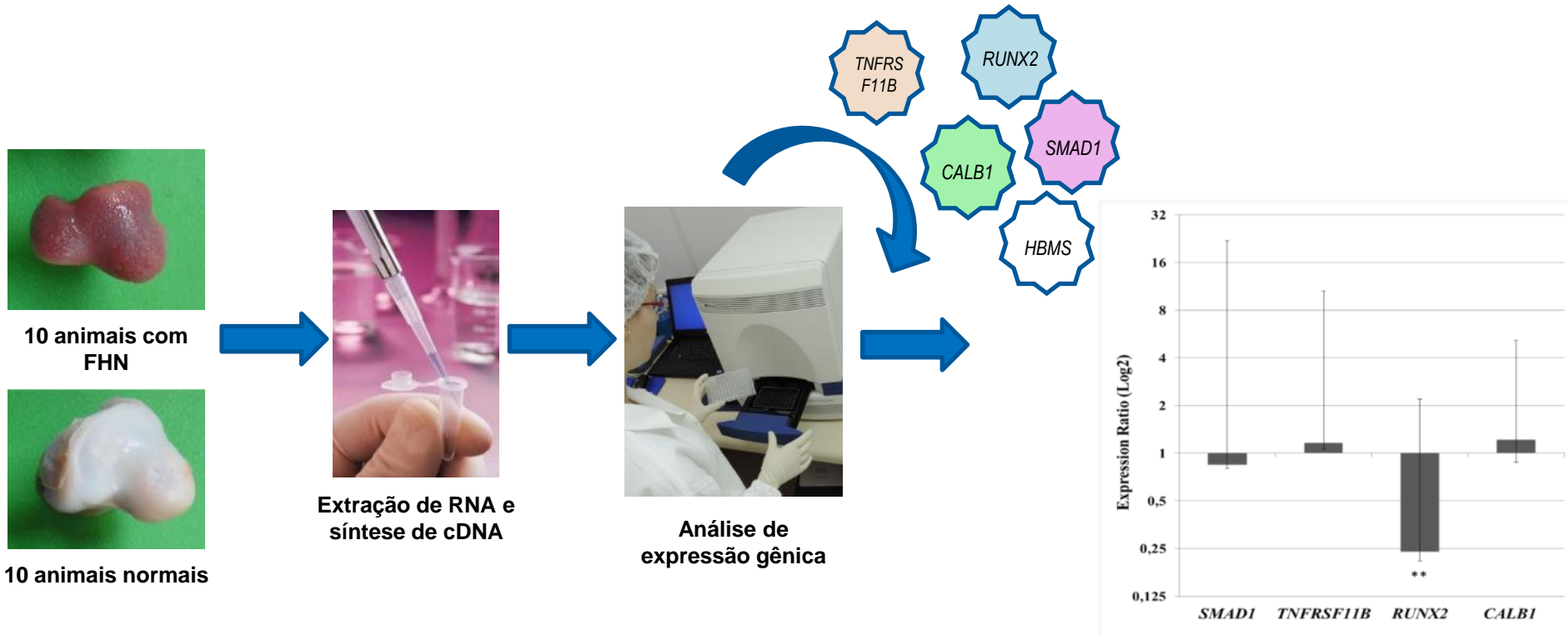
Marcadores genéticos para a seleção de aves com melhor esqueleto

Resultados: RNA seq - fêmur

- » Genes diferencialmente expressos
- » 11.500 genes expressos (dos 17.108 no genoma da galinha)
- » 153 DE expressos entre frangos normais e afetados
- » GO: 9 processos biológicos ($P < 0.05$)
 - » HSPB1 (VEGF signaling pathway)
 - » COL14A1 (osteogenesis)
 - » CCLI8 (resposta imune)



Genes candidatos funcionais



» Expressão gênica diferencial do *RUNX2*

» 4 vezes menos expresso nos animais com FHN

↑ **RUNX2** ↑ **VEGF** ↑ invasão de vasos sanguíneos na placa de crescimento

Perspectivas de aplicação da SG



Grandes investimentos em infraestrutura e metodologias



Fortalecimento de parcerias entre instituições públicas e empresas privadas



Novos direcionamentos na indústria (fenótipos, bancos de DNA, dados genotípicos)



Escolha das linhagens mais relevantes e manter o foco a longo prazo



Recursos humanos capacitados

Obrigada!!

monica.ledur@embrapa.br

