

Seminário Parcial de Acompanhamento e Avaliação

Desenvolvimento e Validação de Ferramentas Genômicas para Gestão e Melhoramento Genético de Espécies de Interesse Zootécnico

Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal

Coordenador: Alexandre Rodrigues Caetano

Instituição Executora: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Instituição Parceira: Universidade de Brasília
e Embrapa Caprinos e Ovinos

Breve contextualização do projeto e relevância do tema

Grandes avanços de produtividade têm sido obtidos pela pecuária nacional como resultado do trabalho realizado por programas públicos e/ou privados de avaliação e melhoramento genético

Grandes contribuições da Embrapa e instituições parceiras:

- Melhoramento genético de raças especializadas e localmente adaptadas de caprinos e ovinos
- Outras espécies de interesse zootécnico (bovinos de corte e leite, aves e suínos)
- Mais recentemente, tem trabalhado com espécies nativas e exóticas de peixes com potencial aquícola.

A equipe da proposta vem trabalhando para desenvolver e utilizar ferramentas genômicas de alta definição para:

- a) implementar a seleção genômica em programas de melhoramento genético já bem estruturados nos quais atua
- b) desenvolver, validar e inserir testes moleculares para genes específicos e testes para determinação de parentesco, de baixo custo
 - a) selecionar e acasalar reprodutores, minimizando cruzamentos endogâmicos e/ou;
 - b) maximizar ganhos genéticos
 - c) gerenciar plantéis de reprodutores e certificar a pureza específica de germoplasma de tambaqui (*Colossoma macropomum*)

Principais problemas

1. Falta de bons processos de controle de pedigree
 - a. Nos pequenos ruminantes, pequenos produtores, com baixo nível de tecnificação
 - b. Nos peixes, alta prolificidade, formas jovens minúsculas (dificuldade de marcação)

2. Objetivos de seleção de características qualitativas (além de quantitativas)
 - a. Cor de pelagem
 - b. Prolificidade
 - c. Presença/ausência de chifres
 - d. Criptorchidismo

3. Produtos com certificação de origem, com valor diferenciado, associados à raças

Objetivo Geral: Desenvolver e Validar Ferramentas Genômicas para Gestão e Melhoramento Genético de Espécies de Interesse Zootécnico

Objetivos Específicos

- Validar um painel de marcadores SNP com alelos espécie-específicos para análise de pureza específica de Tambaqui para certificação de reprodutores e alevinos.
- Validar um painel de marcadores SNP para análise de paternidade em raças Brasileiras de ovinos
- Validar um painel de marcadores SNP para seleção de ovinos deslanados de raças Brasileiras localmente adaptadas com base em genes que controlam prolificidade (número de cordeiros por parição), cor de pelagem, e resistência/susceptibilidade ao scrapie e pneumonia progressiva ovina.
- Validar um painel de marcadores SNP para rastreabilidade e certificação de origem para pelo menos três raças de ovinos (Santa Inês, Morada Nova e Crioula);

Materiais e Métodos

- Relatar e justificar modificações metodológicas realizadas após o projeto aprovado
- Não houve alteração
- Geração de dados localmente em equipamentos instalados na Embrapa

Atividades planejadas x realizadas

Atividades	Semestres								% Alcance
	1°	2°	3°	4°	5°	6°	7°	8°	
<u>Painel de ovinos</u>									
Coleta de amostra dos Núcleos conservação e produtores	x		x		x		x		90%
Processamento das amostras e extração DNA	x		x		x		x		90%
Seleção dos SNPs para confirmação de paternidade	x	x							80%
Seleção SNPs para certificação/rastreabilidade		x	x						80%
Seleção SNPs em genes de efeito maior	x	x	x						100%
Confecção de reagentes para testes			x	x	x				75%
Genotipagem das amostras				x	x	x	x		75%
Análise de dados e interpretação dos resultados					x	x	x		75%
Elaboração de comunicados científicos e divulgação de resultados						x	x	x	50%
<u>Painel de pureza específica de tabaqui</u>									
Coleta de peixes e tecidos	x	x	x						90%
Processamento de amostras e extração de DNA	x	x	x	x					90%
Seleção das SNPs para compor o painel de certificação de pureza específica	x	x	x						80%
Confecção de reagentes para testes		x	x	x	x				75%
Genotipagem das amostras		x	x	x	x	x			75%
Análise de dados e interpretação dos resultados		x	x	x	x	x	x		75%
Elaboração de comunicados científicos e divulgação de resultados		x	x	x	x	x	x	x	50%

Atividades planejadas x realizadas

Pontos críticos que afetaram a execução

- a) Houve atraso nos desembolsos dos recursos por parte da FAPDF
 - a) Adiamos a aquisição de insumos críticos para a execução dos experimentos previstos.
 - b) Segundo desembolso coincidiu com a pandemia de COVID, o que limitou nossa capacidade de uso do recurso, pelos motivos expostos abaixo;
- b) Grande parte dos insumos utilizados é importada e cotada em dólar, e elevações observadas na taxa de câmbio, depois da aprovação do projeto, têm requerido maior parcimônia na realização de compras e importações de insumos para garantir a exequibilidade do projeto;
- c) A pandemia observada no Brasil desde o início de 2020 tem afetado significativamente a capacidade da equipe em realizar as atividades propostas no projeto.
 - a) A Embrapa tem operado em regime de teletrabalho
 - b) Limitando assim nossa capacidade de realizar experimentos laboratoriais, coletas de amostras, etc.
 - c) Processos de importação e aquisição de insumos ficou mais demorado
 - d) Insumos tem tempo de prateleira limitado, e portanto só devem ser adquiridos quando há certeza de que vamos poder realizar os experimentos previstos.

Recurso aprovado x gasto

- Relatar montante aprovado e montante gasto até o momento.

EXECUÇÃO FINANCEIRA			
	Recursos Liberados	Recursos Gastos	Saldo
Capital	R\$ 280.000,00	R\$ 161,112.90	R\$ 118,887.10
Custeio	R\$ 284.860,00	R\$ 64,903.22	R\$ 219,956.78
Bolsa	-	-	-
Saldo	R\$ 564.860,00	R\$ 226.016,12	R\$ 338,843.88
Data da situação	20/05/2021		20/05/2021

Contrapartidas de outros projetos da Embrapa.



=



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO

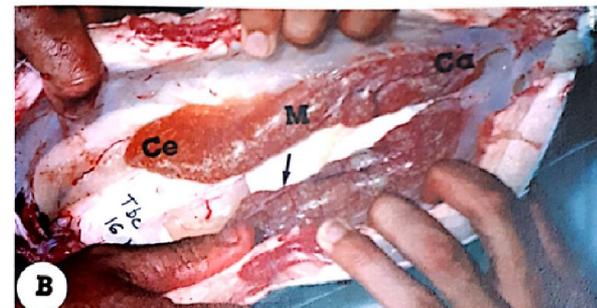
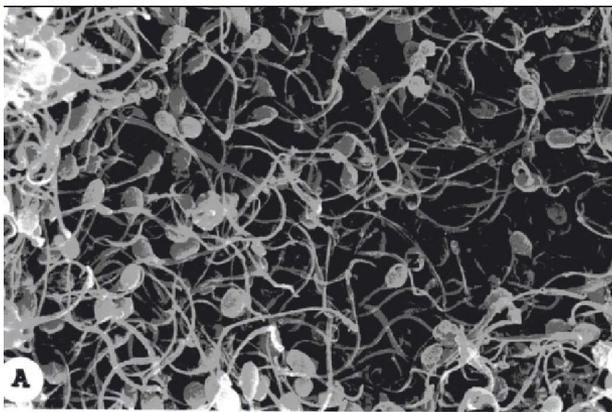


ESTUDOS ESTRUTURAIS E ULTRAESTRUTURAIS DAS
GÔNADAS DO PEIXE HÍBRIDO TAMBACU.



Laura Satiko Okada Nakaghi

Ribeirão Preto
1996



Nakaghi, Laura Satiko Okada
Estudos estruturais e ultra-estruturais das
gônadas do peixe híbrido tambacu. Ribeirão
Preto, 1996.
108p.; 2,4cm.
Tese de Doutorado, apresentada à
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto /
USP, Depto. de Morfologia.
Orientador: Gonçalves, Renato Pinto

Cruzamentos Interespecíficos

- Métodos moleculares para diagnóstico já desenvolvidos

SHORT COMMUNICATION
Molecular identification of hybrids between Neotropical catfish species *Pseudoplatystoma corruscans* and *Pseudoplatystoma reticulatum*

Fernanda Dotti de Prado¹, Diogo Teruo Hashimoto², Fernando Fernandes Mendonça², José Augusto Senhorini², Fausto Foresti³ & Fábio Porto-Foresti³



Figure 2. Multiplex-PCR patterns of the RAG2 marker gene (a) and BCL2 mitochondrial gene (b). Lane 1: *Pseudoplatystoma corruscans*; 2-4, hybrids; 5-6, *Pseudoplatystoma reticulatum*; M, molecular weight marker (kb).

Journal of Fish Biology (2013) 83, 671–676
 doi:10.1111/jfb.12194, available online at wileyonlinelibrary.com

Molecular identification of the hybrid between the catfish species *Pseudoplatystoma corruscans* and *Pseudoplatystoma reticulatum* using a set of eight microsatellite markers

D. CARDOSO DE CARVALHO¹*, A. S. SEERIG², B. DOS SANTOS ALVES FIGUEIREDO BRASILEIRO³, D. VIEIRA CREPALDE⁴ AND D. APARECIDA ANDRADE DE OLIVEIRA⁵

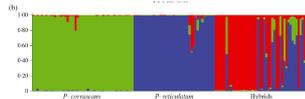


Fig. 1. (a) Principal components analysis based on genetic distance of 127 samples (a, hybrids, *Pseudoplatystoma* spp.; b, *Pseudoplatystoma corruscans*; c, *Pseudoplatystoma reticulatum*). (b) Balance of population structure using the model based on the software STRUCTURE. Each vertical line represents a single vertical line divided into K levels of grey, where K is the number of clusters assumed and the grey-scale shows the estimated individual proportion of cluster membership. Results are shown for $K = 3$.

Genetic Identification of F1 and Post-F1 Serrasalmid Juvenile Hybrids in Brazilian Aquaculture

Diogo Teruo Hashimoto^{1*}, José Augusto Senhorini², Fausto Foresti³, Paulino Martinez⁴, Fábio Porto-Foresti⁵

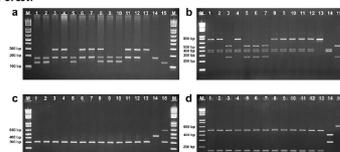
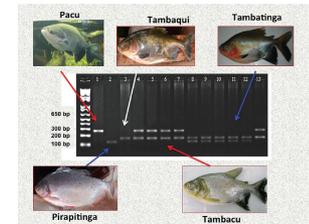


Figure 2. Molecular identification of the TP23 locus using the nuclear rbcL1a and rbcL2b1 genes, and mitochondrial rbcL1a and rbcL2b1 genes. Lane A, 11, and 12 genotype A; lane 1, genotype B; lanes 3, 4, and 7 genotype C; lane 2, 5, and 10 genotype D; lane 6, genotype E; and lanes 9, 14, and 15 control DNA samples from the pure species, tambaqui, and pirapitinga, respectively. doi:10.1371/journal.pone.0089992.g002

Innovative molecular approach to the identification of *Coleostema macropomum* and its hybrids
 FÁBIO PORTO-FORRESTI¹, CLAUDESLEY ALBERTO², JOSEFINO LANDOLFI³,
 DIEGO RAMOS VITO⁴ & FÁBIO PORTO-FORRESTI^{1*} AND TRACIE DA SAMPAYO⁵



Quantos marcadores são necessários?

Resultados parciais alcançados

Painel de marcadores SNP com alelos espécie-específicos para análise de pureza específica de Tambaqui



Genetics and Molecular Biology 43, 3, e20190324 (2020)
Copyright © 2020, Sociedade Brasileira de Genética.
DOI: <https://doi.org/10.1590/1678-4685-GMB-2019-0324>

Research Article
Animal Genetics

Determining minimum numbers of di-allelic diagnostic markers required to identify introgressions in diploid cross-species hybrid individuals from different types of inter- and backcross populations

Joseane Padilha da Silva¹ and Alexandre Rodrigues Caetano¹

¹Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Parque Estação Biológica, Brasília, DF, Brazil

% de espécie indesejada	Population Type	Estimated numbers based on power analysis	
		$\alpha = 0.05$	$\alpha = 0.01$
50%	F2	3	4
25%	BC1	5	7
12,5%	BC2	11	17
6,25	BC3	23	35
3,13	BC4	47	72
1,6	BC5	95	145
0,8	BC6	191	293

(n=X=27)

Resultados parciais alcançados

1. Painel para identificação de híbridos e introgressões já é funcional (76 marcadores validados)
 1. Estamos oferecendo acesso à ferramenta a todos os produtores
 2. Já testamos >1600 amostras de 16 produtores
2. Nova versão, trocando marcadores que não estão funcionando aguardando aquisição e testes de validação

Resultados parciais alcançados

Painel de marcadores SNP para seleção de ovinos com base em genes que controlam prolificidade (número de cordeiros por parição), cor de pelagem, e resistência/ susceptibilidade ao scrapie e outras doenças.

Locus	Allele/n	Barbados	Bergamacia	Corridale	Hampshire	Ille de France	Morada Nova	Pantaneira	Rabo Largo	Sant Ines	Suffolk	Texel
ADAMTS2_421GT	N	1	10	11	1	2	23	2	7	20	5	2
	3	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
BMP15_Grivette_FecXGr	N	1	15	12	2	2	23	2	6	23	6	2
	2	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
BMPR1B_rs418841713	N	1	15	12	2	2	23	2	7	23	7	2
	4	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
GDF9_3655	N	1	15	12	2	2	23	2	7	23	7	2
	1	0.000	0.000	0.000	0.750	0.000	0.000	0.000	0.143	0.000	0.071	0.000
	3	1.000	1.000	1.000	0.250	1.000	1.000	1.000	0.857	1.000	0.929	1.000
GDF9_G5_nearFecGEII	N	1	14	12	2	2	23	2	7	22	5	2
	1	1.000	0.964	0.792	0.750	1.000	1.000	0.750	0.929	0.932	0.400	1.000
	3	0.000	0.036	0.208	0.250	0.000	0.000	0.250	0.071	0.068	0.600	0.000
GDF9_rs426065119	N	1	3	10	1	1	16	2	6	17	3	2
	3	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
OAR_PRNP_A136V	N	1	14	12	2	2	23	2	7	23	6	2
	2	0.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.870	1.000	1.000
	4	1.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.130	0.000	0.000
OAR_PRNP_Q171H	N	1	14	11	2	2	23	2	7	23	6	1
	3	1.000	1.000	0.955	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.978	0.917	0.500
	4	0.000	0.000	0.045	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.022	0.083	0.500
OAR10_29978908	N	1	15	11	2	2	23	2	7	23	5	2
	1	0.500	0.467	0.409	1.000	0.750	0.522	0.250	0.571	0.522	1.000	1.000
	2	0.500	0.533	0.591	0.000	0.250	0.478	0.750	0.429	0.478	0.000	0.000

Resultados parciais alcançados

Painel de marcadores SNP para seleção de ovinos com base em genes que controlam prolificidade (número de cordeiros por parição), cor de pelagem, e resistência/ susceptibilidade ao scrapie e outras doenças.

80% dos marcadores funcionaram

Novos ensaios foram desenhados para os 20% que não funcionaram e estão aguardando aquisição

Resultados parciais alcançados

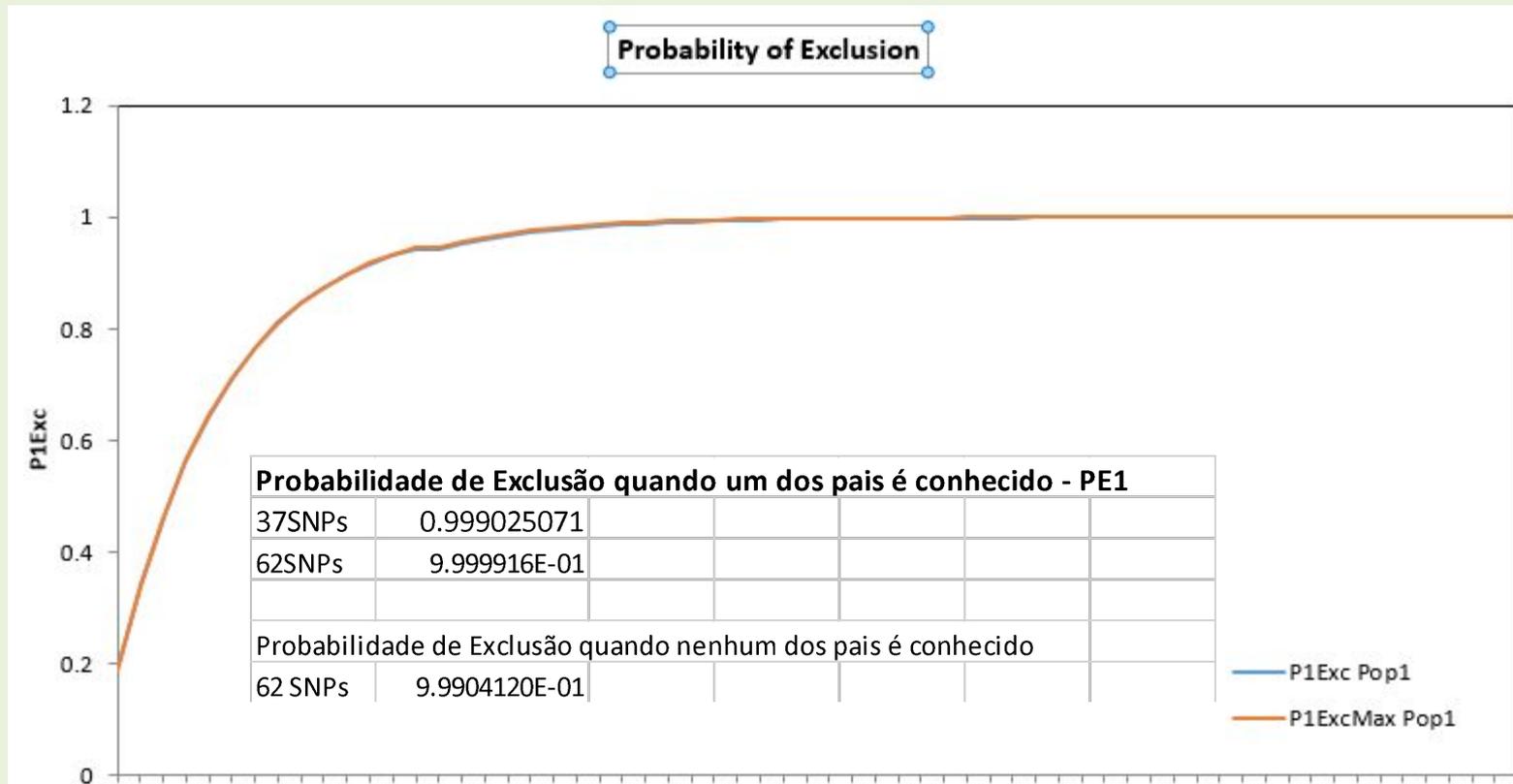
- Validar um painel de marcadores SNP para análise de paternidade em raças Brasileiras de ovinos

Marker	Chrom.	Call Rate	Minor Allele Frequency
DU271929	1	0.958	0.42
OAR1_157030645	1	0.792	0.48
OAR1_294925418	1	0.917	0.49
OAR1_71967991	1	0.729	0.41
s45194	1	0.865	0.37
DU247686	2	0.781	0.49
DU383209	2	0.063	0.25
DU442796	2	0.042	0.13
OAR2_128341984	2	0.708	0.24
OAR2_190320103	2	0.958	0.43
OAR2_223631460	2	0.740	0.39
OAR2_33300171	2	0.958	0.47
OAR2_94396643	2	0.885	0.42
s67506	2	0.719	0.39
DU200069	3	0.000	-
OAR3_135899441	3	0.563	0.36
OAR3_202159984	3	0.635	0.50
s01403	3	0.813	0.33
DU440434	4	1.000	0.50
OAR4_118854495	4	0.000	-
OAR4_43261444	4	0.885	0.41
s27879	4	0.802	0.36
DU444709	5	0.000	-
OAR5_102547933	5	0.969	0.33
OAR5_22550669	5	0.958	0.46
OAR5_38307430	5	0.948	0.46
OAR5_76848731	5	0.740	0.23
OAR5_86630257	5	0.250	0.48
DU209581	6	1.000	0.50
OAR6_1332069	6	0.604	0.30
s32989	6	0.948	0.49
s56628	6	0.656	0.35
OAR7_103904918	7	0.885	0.25
OAR7_51517611	7	0.844	0.48
OAR7_94809144	7	0.552	0.37
OAR8_29625247	8	0.677	0.47
OAR8_3577608	8	0.896	0.01
OAR8_45304793	8	0.635	0.36
OAR8_49798546	8	0.958	0.40
DU189970	9	0.000	-
DU425414	9	1.000	0.50
OAR9_30909060	9	0.281	0.43
OAR9_32131604	9	0.823	0.44
s65989	9	0.677	0.03
OAR10_14682785	10	0.844	0.42
OAR10_50822307	10	0.969	0.34
s12970	10	0.979	0.50

s62798	10	0.948	0.47
OAR11_56075682	11	1.000	0.50
OAR11_63578072	11	0.969	0.47
s15530	11	0.833	0.41
s50812	12	0.594	0.47
s56765	12	0.979	0.43
s60632	12	0.906	0.44
OAR13_17982125	13	0.635	0.40
OAR13_27965407	13	1.000	0.00
OAR13_51134025	13	0.813	0.37
OAR14_22951681	14	0.521	0.43
OAR14_29863888	14	0.927	0.16
OAR14_614123	14	0.385	0.47
DU285942_378	15	0.646	0.40
OAR15_14317931	15	0.969	0.49
s35266	15	0.615	0.42
OAR16_21872776	16	0.885	0.46
OAR16_64958730	16	0.885	0.15
s67480	16	0.927	0.49
DU378819	17	0.469	0.09
OAR17_18071528	17	0.375	0.00
OAR17_6395356	17	0.833	0.39
s64918	17	0.854	0.44
DU325612	18	0.448	0.49
DU396708	18	0.990	0.50
OAR18_13304454	18	0.990	0.32
OAR18_17686790	18	0.875	0.44
OAR18_52112673	18	0.615	0.47
OAR19_11957218	19	0.927	0.28
OAR19_20359879	19	0.427	0.44
s32596	19	0.958	0.39
DU183112	20	0.668	0.26
OAR20_37437726	20	0.948	0.43
DU245518	21	1.000	0.50
OAR21_37069978	21	0.958	0.43
OAR22_30541802	22	0.875	0.15
OAR22_45246633	22	0.854	0.49
OAR22_8623862	22	0.510	0.31
OAR23_39185159	23	0.833	0.44
OAR23_63721248	23	0.375	0.42
OAR23_6952059	23	0.656	0.44
s63178	23	0.271	0.48
DU452167	24	0.000	-
s70259	24	0.958	0.49
s14557	25	0.760	0.26
s60999	25	0.958	0.41
OAR26_17762928	26	0.781	0.21
OAR26_40381225	26	0.344	0.42
s12967	26	0.792	0.36

Resultados parciais alcançados

- Validar um painel de marcadores SNP para análise de paternidade em raças Brasileiras de ovinos



Amostragem ainda é parcial

Resultados parciais alcançados

- Validar um painel de marcadores SNP para análise de paternidade em raças Brasileiras de ovinos

- Novos ensaios foram desenhados para gerar uma segunda versão do painel e estão aguardando aquisição
 - Amostragem será ampliada com a segunda versão

Cronograma proposto para finalização das atividades programadas

Atividades	Semestres			
	1°	2°	3°	4°
<u>Painel de ovinos</u>				
Aquisição de reagentes para testes	x	x		
Coleta de amostra dos Núcleos conservação e produtores	x		x	
Processamento das amostras e extração DNA	x		x	
Genotipagem das amostras	x	x	x	
Análise de dados e interpretação dos resultados	x	x	x	x
Elaboração de comunicados científicos e divulgação de resultados		x	x	x
<u>Painel de pureza específica de tabaqui</u>				
Aquisição de reagentes para testes	x	x		
Genotipagem das amostras	x	x	x	
Análise de dados e interpretação dos resultados	x	x	x	
Elaboração de comunicados científicos e divulgação de resultados	x	x	x	x

Novas ações em execução pela equipe em consequência do financiamento obtido pelo projeto Pronex-FAPDF

- Estruturação de plataforma de desenvolvimento de ferramentas para análise genética de espécies de interesse aquícola - AquaPLUS
 - Foco em oferecer análises e soluções simples, práticas e de baixo custo para o setor produtivo
 - Ferramenta para análise de parentesco, paternidade e estrutura genética de camarão Vannamei (em fase final de entrega)
 - Ferramenta para análise de parentesco, paternidade e estrutura genética de Tilápia (em fase de prototipagem)
 - Ferramenta para análise de parentesco, paternidade e estrutura genética de Pirarucu (em fase de prototipagem)

	Função	Instituição
Alexandre R Caetano	Pesq Principal, Coordenador	Embrapa CENARGEN
Samuel Rezende Paiva	Pesquisador Principal	Embrapa Sede
Concepta Mc Pimentel	Pesquisador Principal	UnB
Eduardo Sousa Varela	Pesquisador Colaborador	Embrapa Pesca e Aquicultura
Luciana Vasques Villela	Pesquisador Colaborador	Embrapa Pesca e Aquicultura
Michel Yamagishi	Pesquisador Colaborador	Embrapa Informática na Agricultura
Leandro Carrijo Cintra	Pesquisador Colaborador	Embrapa Informática na Agricultura
Naiara A M da Silva	Apoio Técnico	Embrapa CENARGEN
Poliana F Giachetto	Pesquisador Colaborador	Embrapa Informática na Agricultura
Adhemar Zerlotini Neto	Pesquisador Colaborador	Embrapa Informática na Agricultura
Roberto Hiroshi Higa	Pesquisador Colaborador	Embrapa Informática na Agricultura
Patricia Ianella	Pesquisador Colaborador	Embrapa CENARGEN
Olivardo Facó	Pesquisador Colaborador	Embrapa Caprinos e Ovinos
Kleibe de Moraes Silva	Pesquisador Colaborador	Embrapa Caprinos e Ovinos
Hymerson Costa Azevedo	Pesquisador Colaborador	Embrapa Tabuleiros Costeiros
Sandra Aparecida Santos	Pesquisador Colaborador	Embrapa Pantanal
Geraldo Magela Carvalho	Pesquisador Colaborador	Embrapa Meio Norte
José C Ferrugem Moraes	Pesquisador Colaborador	Embrapa Pecuária Sul
Tânia Maria Leal	Pesquisador Colaborador	Embrapa Meio Norte
Adriana Mello de Araújo	Pesquisador Colaborador	Embrapa Meio Norte
Alexandre F Ramos	Pesquisador Colaborador	Embrapa CENARGEN
Ramayana M Braga	Pesquisador Colaborador	Embrapa Roraima
Gleison Ricardo de Biazio	Apoio Técnico	Embrapa CENARGEN