Comprendre le rapport entre génotype et phénotype à l'aide des outils moléculaires

Pere Arús

Élu membre associé de la Section 1 depuis décembre 2016

IRTA
RESEARCH & TECHNOLOGY
FOOD & AGRICULTURE

Une entreprise publique du Gouvernement de la Catalogne, associée au Département d'Agriculture, Alimentation et Action Rurale (DAAM), soumise à la loi privée, crée le 28 de novembre de 1985.

CRAG

(CSIC-IRTA-UAB-UB)

Centre de Recherche en Agrigénomique

Location: Barcelona, Bellaterra

Associated with the CSIC, UAB and UB

Staff:

Research staff: 47

Support staff: 61

Pre and postdocs: 87

Facilities:

Centre located at UAB campus in Bellaterra.

Greenhouses in the centre and Torre Marimon.

Genotyping platforms, Genomics, DNA sequencing, confocal microscopy and image analysis.

Campus UAB - Edifici CRAG
Bellaterra - Cerdanyola del Vallès
08193 Barcelona
Tel.: 93563 66 00
Fax: 93 563 66 01

Director:
Dr José Luis Riechmann

Generalitat de Catalunya

Ingénieur Agronome (Université de València 1974)

1976-1978: Coordinateur des courses de l'Institut Agronomique Méditerranéen de Saragosse

1978-1982: Étudiant de doctorat à l'Université de Californie, Davis

1989-2009: Directeur du département de Génétique Végétale de l'IRTA

2006-2009: Directeur du centre de Cabrils de l'IRTA

2009-2015: Directeur scientifique de l'IRTA

2004-présent: Sous-directeur du CRAG (CSIC-IRTA-UAB-UB)

Présent: Rechercheur de l'IRTA au CRAG

OBJECTIFS de RECHERCHE

1. **COMPRENDRE LA GÉNÉTIQUE DES CHARACTÈRES À IMPORTANCE ÉCONOMIQUE**
   - **Qualité du fruit**
   - **Résistance aux maladies**

2. **ÉLABORER DES OUTILS POUR LA SÉLECTION DE CES CHARACTÈRES DANS L'AMÉLIORATION**
   - **Outils génétiques (marqueurs, sélection assistée par marqueurs, cartes génétiques, nouvelles stratégies d'amélioration)**
   - **Matériaux (populations appropriées pour le phénotypage, matériaux pre-breeding)**

Rosaceae

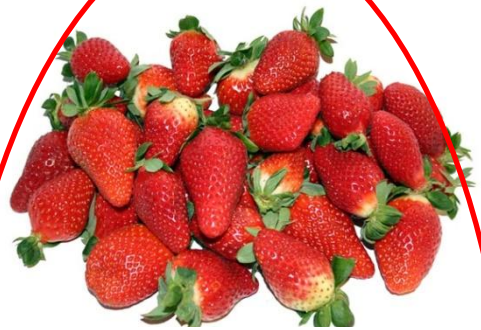
Spiraeoideae

PÊCHE
(*Prunus persica*)
Auto-compatible
DIPLOÏDE
2n=*2x=16*
220 Mbp
SÉQUENCÉ

Ar

Pyreae

POMME
(*Malus domestica*)
Auto-incompatible
ALLO-TETRAPLOÏDE
2n=*4x=34*
750 Mbp
SÉQUENCÉ



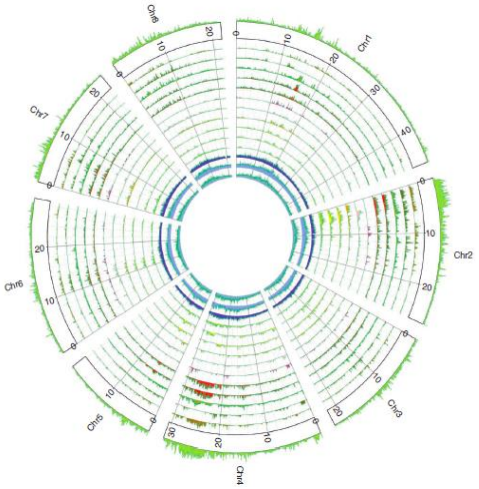
FRAISE
(*Fragaria x ananassa*)
Auto-compatible
OCTOPLÏDE
2n=*8x=56*
600 Mbp
DIPLOÏDE (*F. vesca*)
SÉQUENCÉ

IRTA
RECERCA | TECNOLOGIA AGROALIMENTÀRIES

crag CENTRE DE RECERCA EN AGRIGENÒMICA
CSIC IRTA UAB

LE PÊCHER EST LE MOINS VARIABLE DES *PRUNUS* CULTIVÉS

	Isoenzymes			SSRs			SNP (reséquence)
Species	**P**	**A**	**Ho**	**P**	**A**	**Ho**	$\theta_{\pi} \times 10^3$
Almond	78	2.3	0.28	92	5.9	0.62	18,37
Japanese Plum	67	2.8	0.25	91	4.5	0.62	-
Apricot	58	2.3	0.13	80	3.3	0.55	-
Cherry	56	-	-	53	3.1	0.51	-
Peach	8	2.0	0.02	46	2.6	0.42	2.70



9-12 isoenzymes
Byrne (1990)

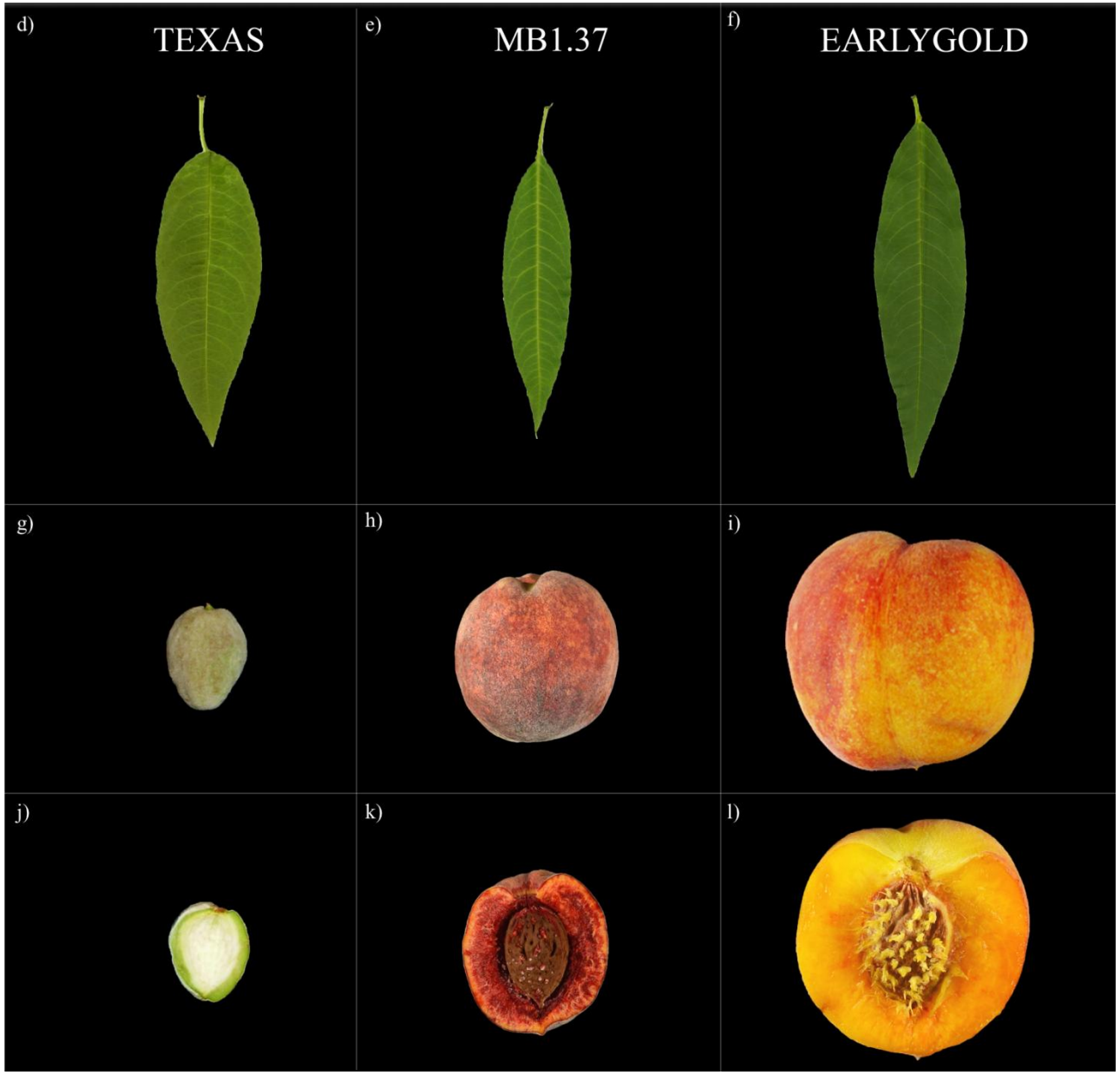
146 SSRs
8 génotypes/espèce
Mnejja et al. (2010)

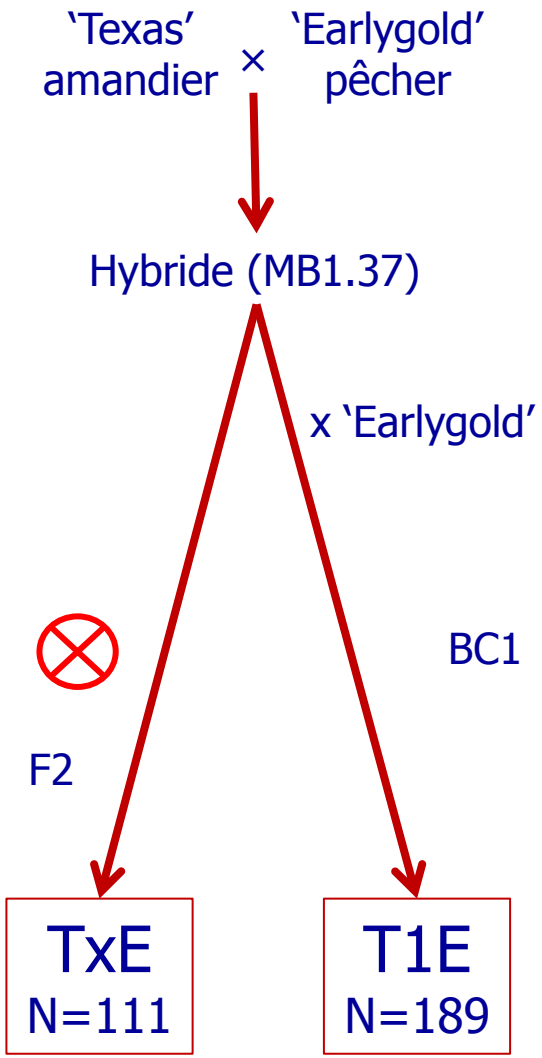
Reséquence
(>4.6×10^6 SNPs)
Verde et al. (2013)
Velasco et al. (2016)

P= % loci polymorphiques
A= # moyen d'alleles/locus
Ho= hétérozygosité observée

IRTA
RECERCA I TECNOLOGIA AGROALIMENTÀRIES

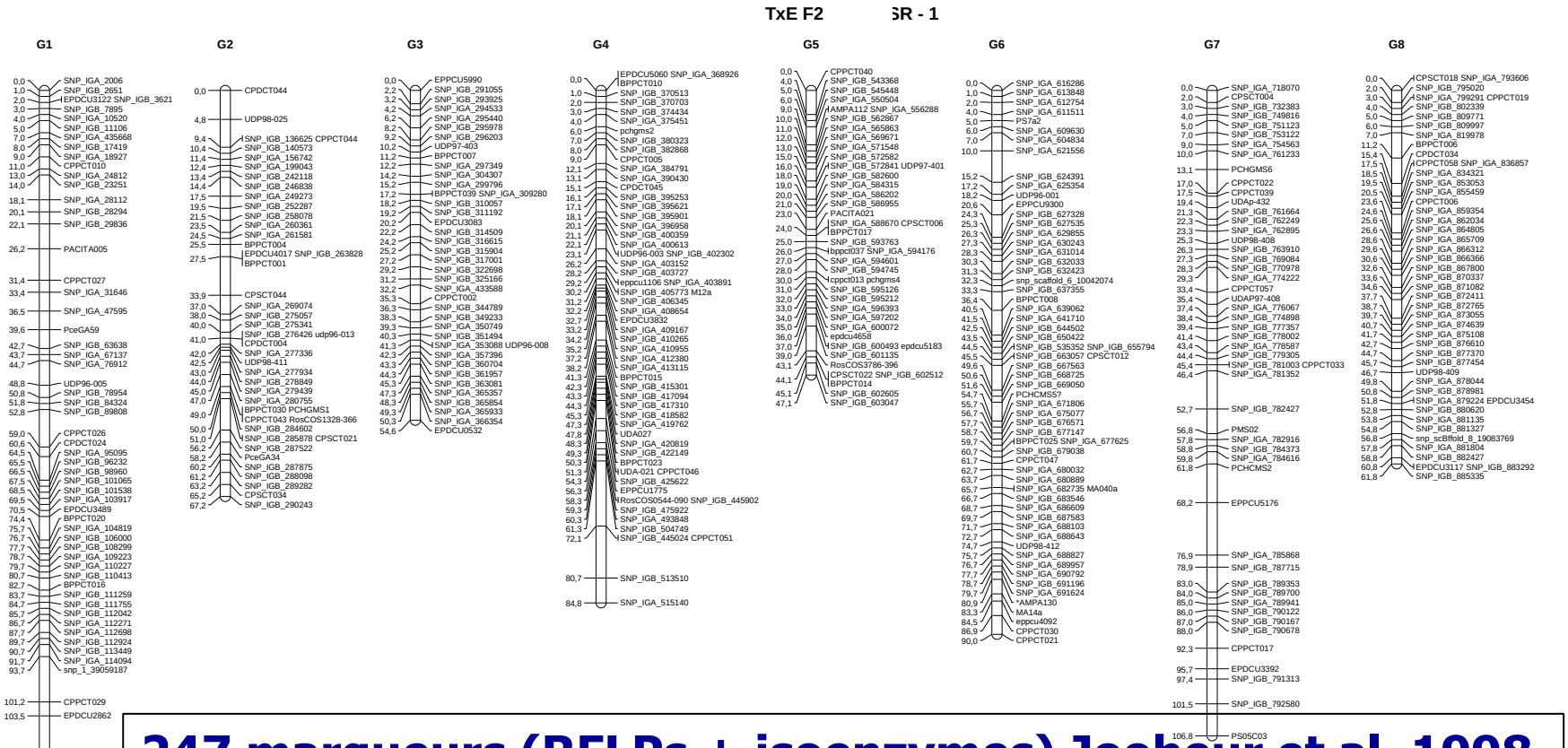
POPULATIONS POUR LA CONSTRUCTION DE CARTES GÉNÉTIQUES





IRTA
RECERCA | TECNOLOGIA AGROALIMENTÀRIES

CARTE de REFERENCE de *PRUNUS* (TxE) (almond x peach F2)



247 marqueurs (RFLPs + isoenzymes) Joobeur et al. 1998

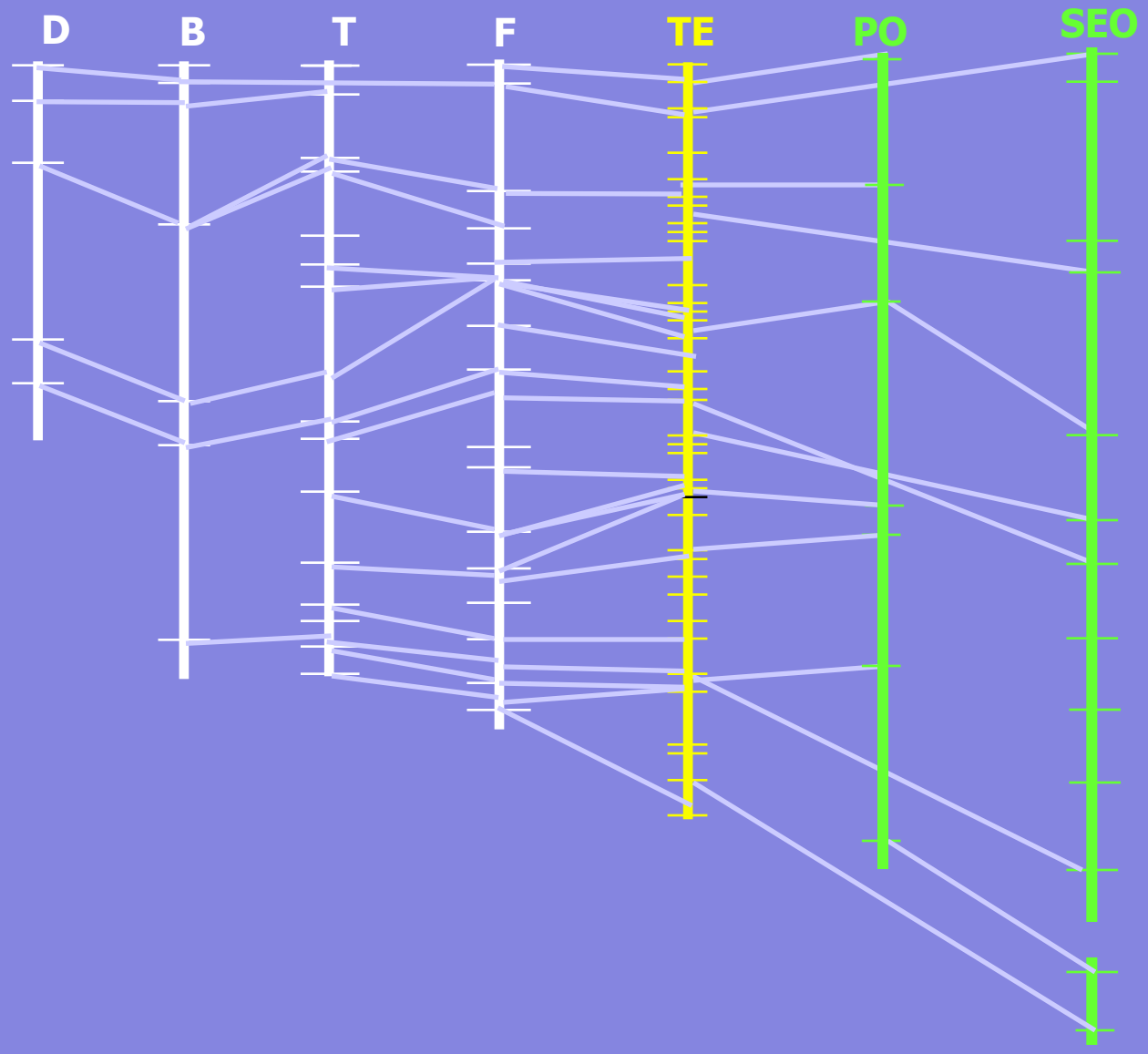
826 (+SSRs) Dirlewanger et al. 2004

2,700 (+ 9k Illumina SNP chip) Donoso et al. 2015

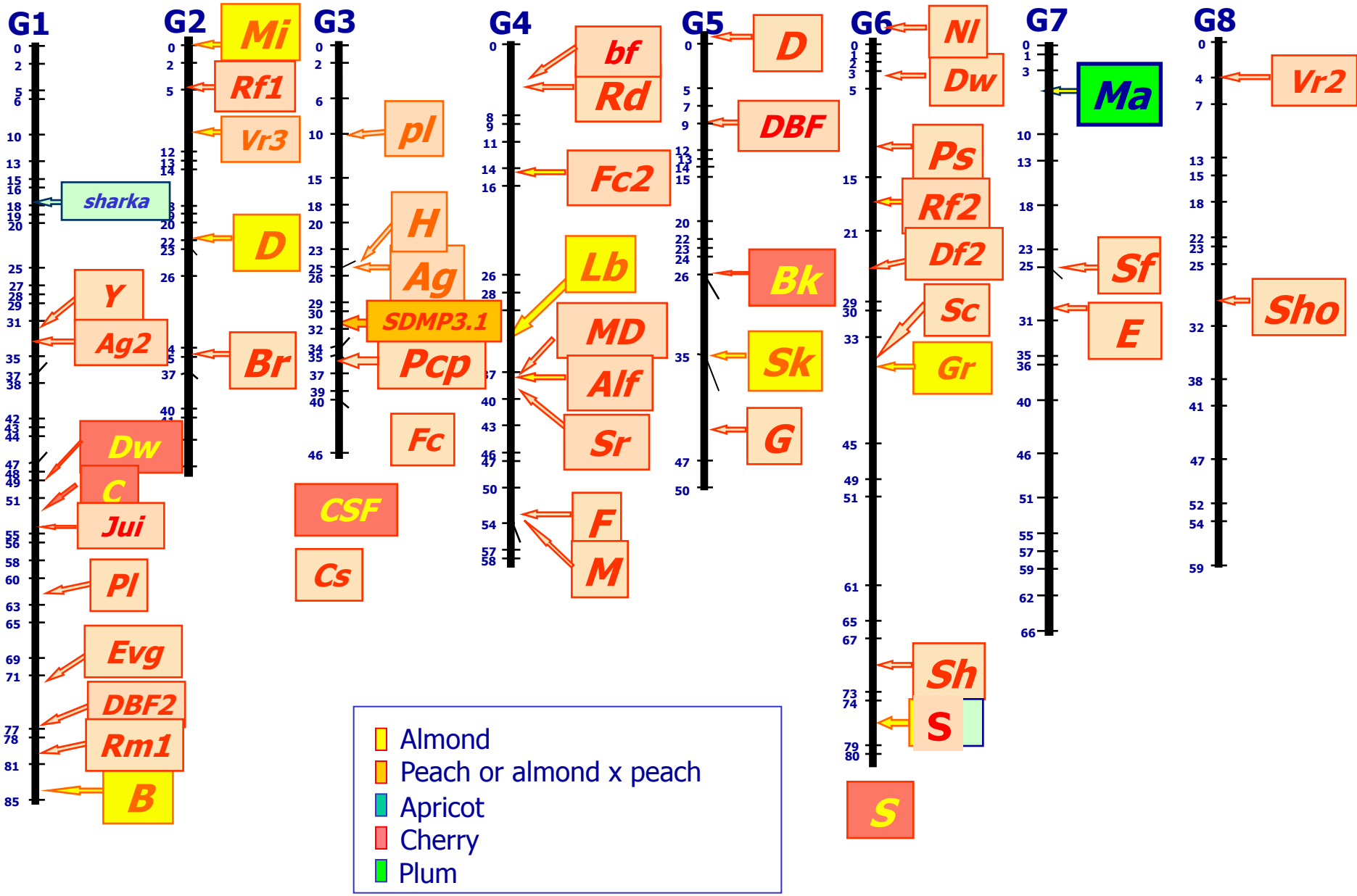
378 bins

IRTA
RECERCA | I | TECNOLOGIA AGROALIMENTÀRIES

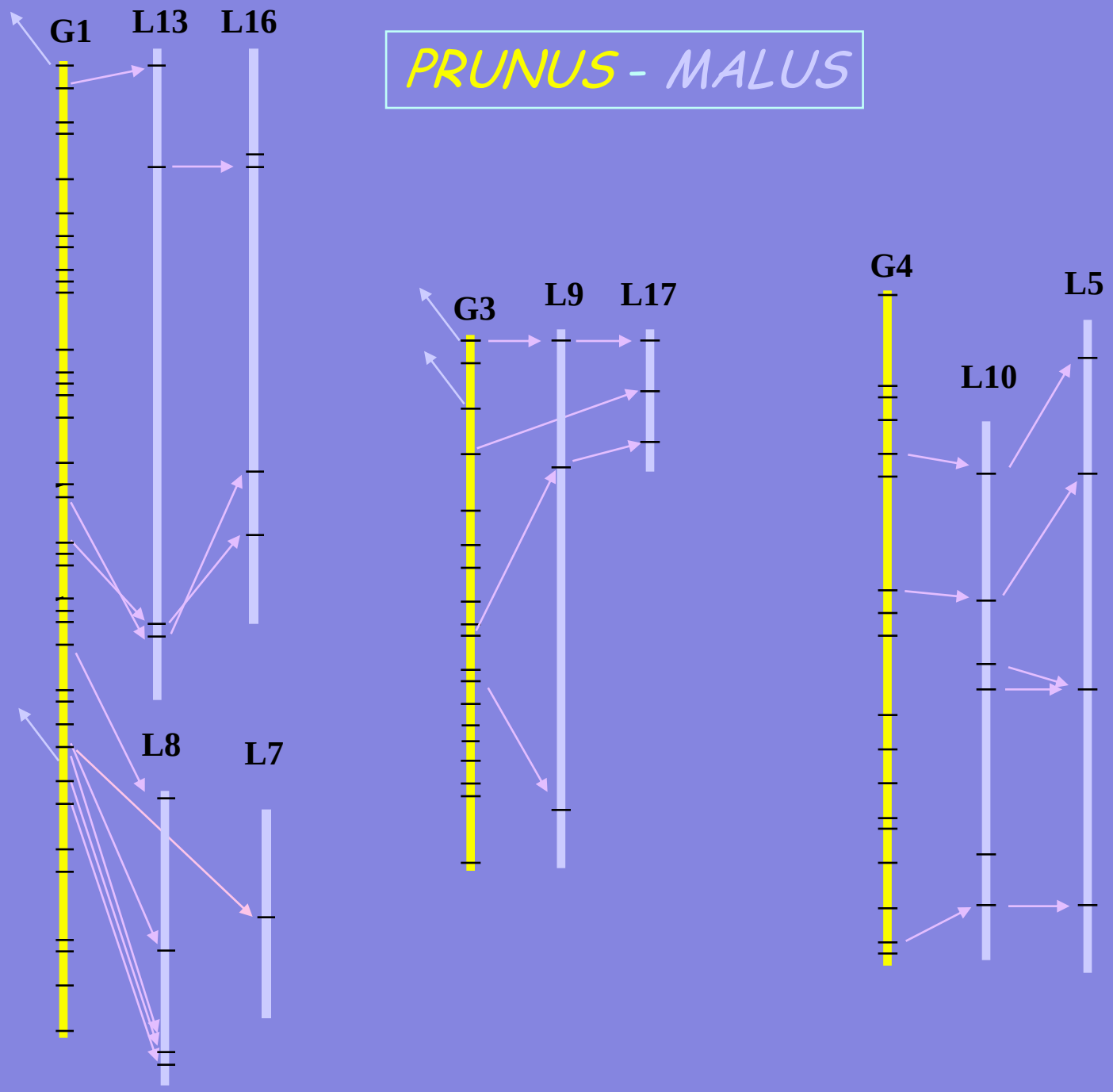
Comparaison du groupe de liaison 1 entre amandier, pêcher et abricotier



Position de 53 gènes majeurs sur la carte de reference de *Prunus*



PRUNUS - MALUS



COMPARAISON DES GENOMES DES ROSACÉES

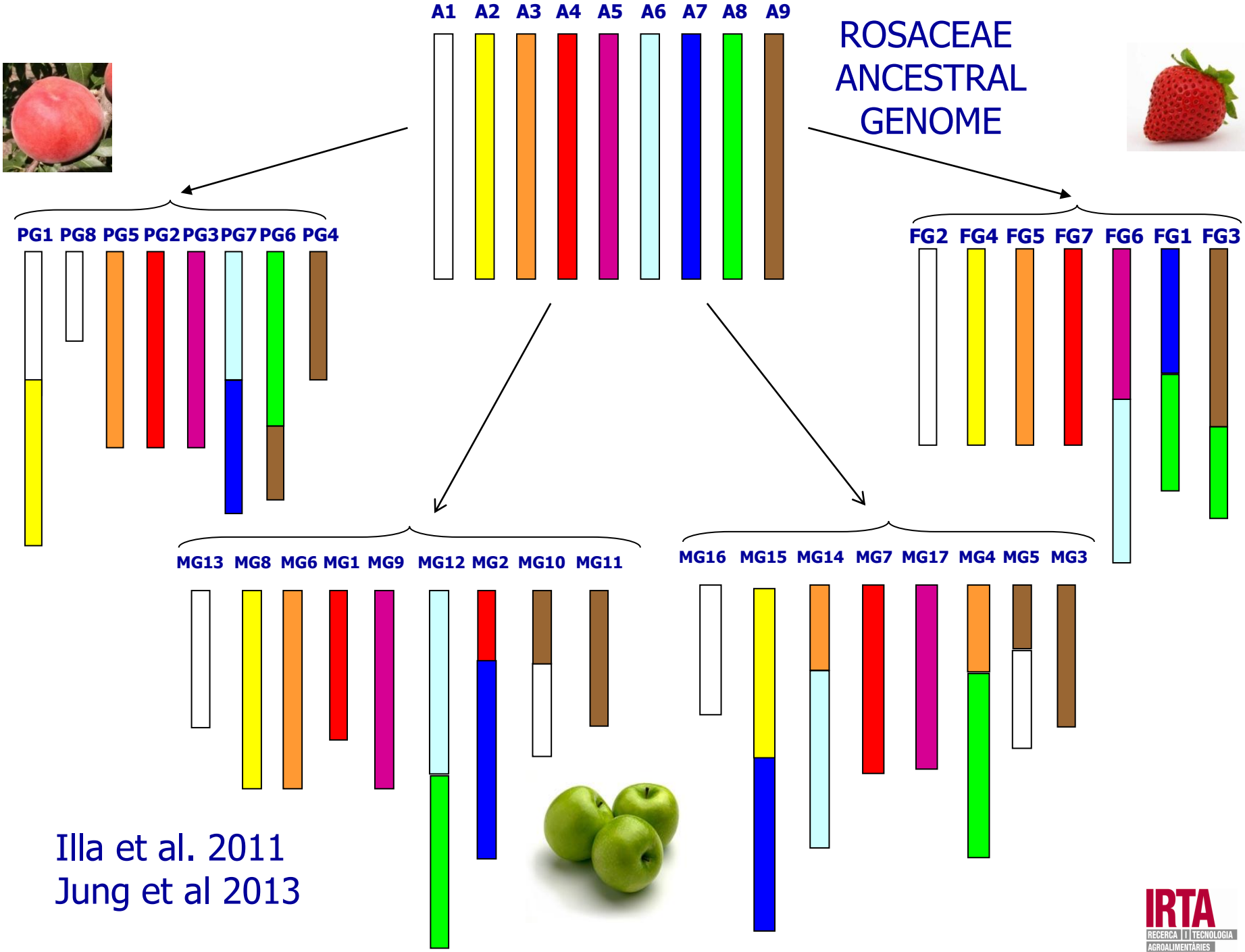
Allotetraploïde
2n=4x=34

diploïde
2n=2x=16

diploïde
2n=2x=14

IRTA
RECERCA I TECNOLOGIA AGROALIMENTÀRIES

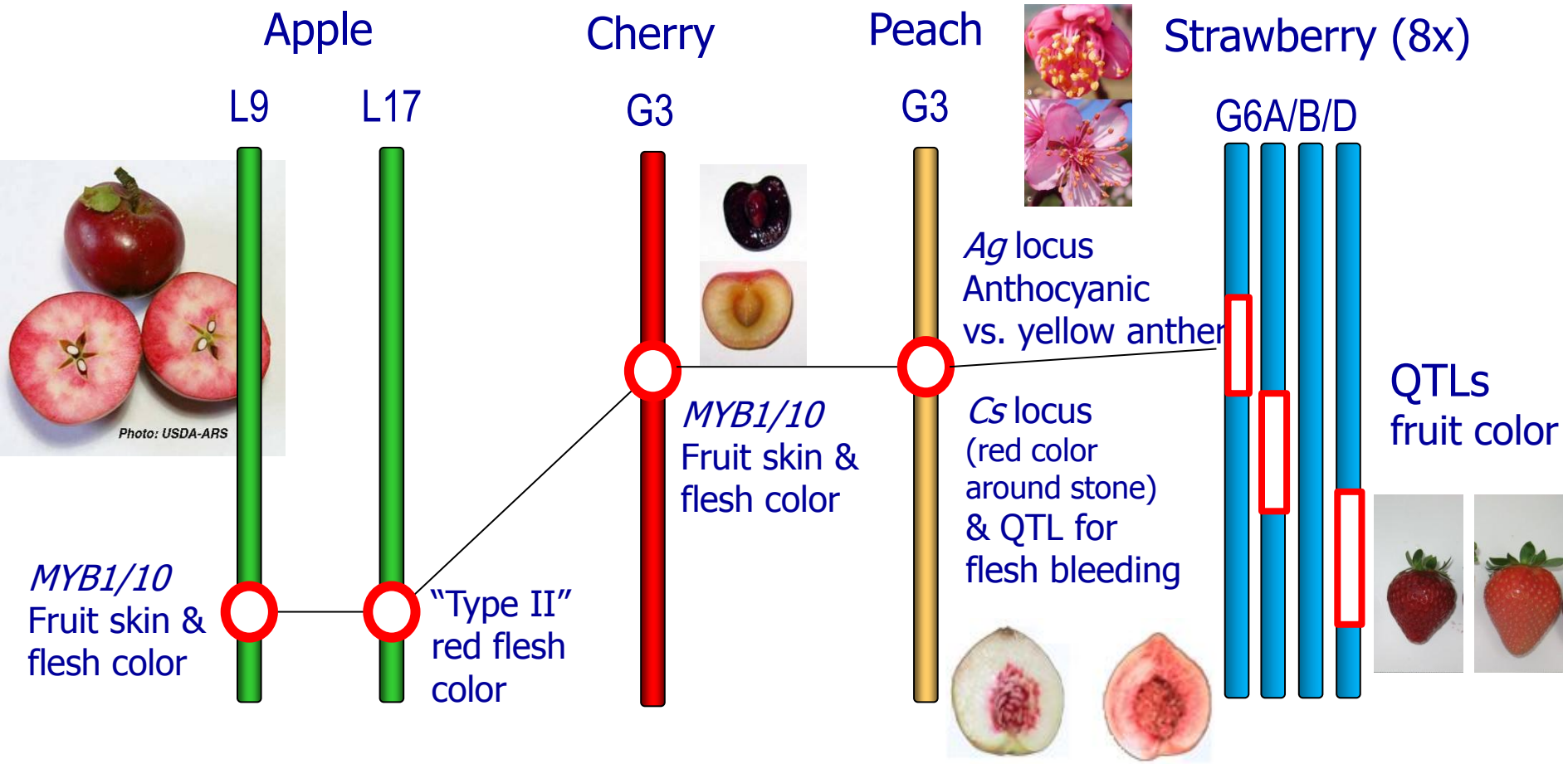
ROSACEAE ANCESTRAL GENOME



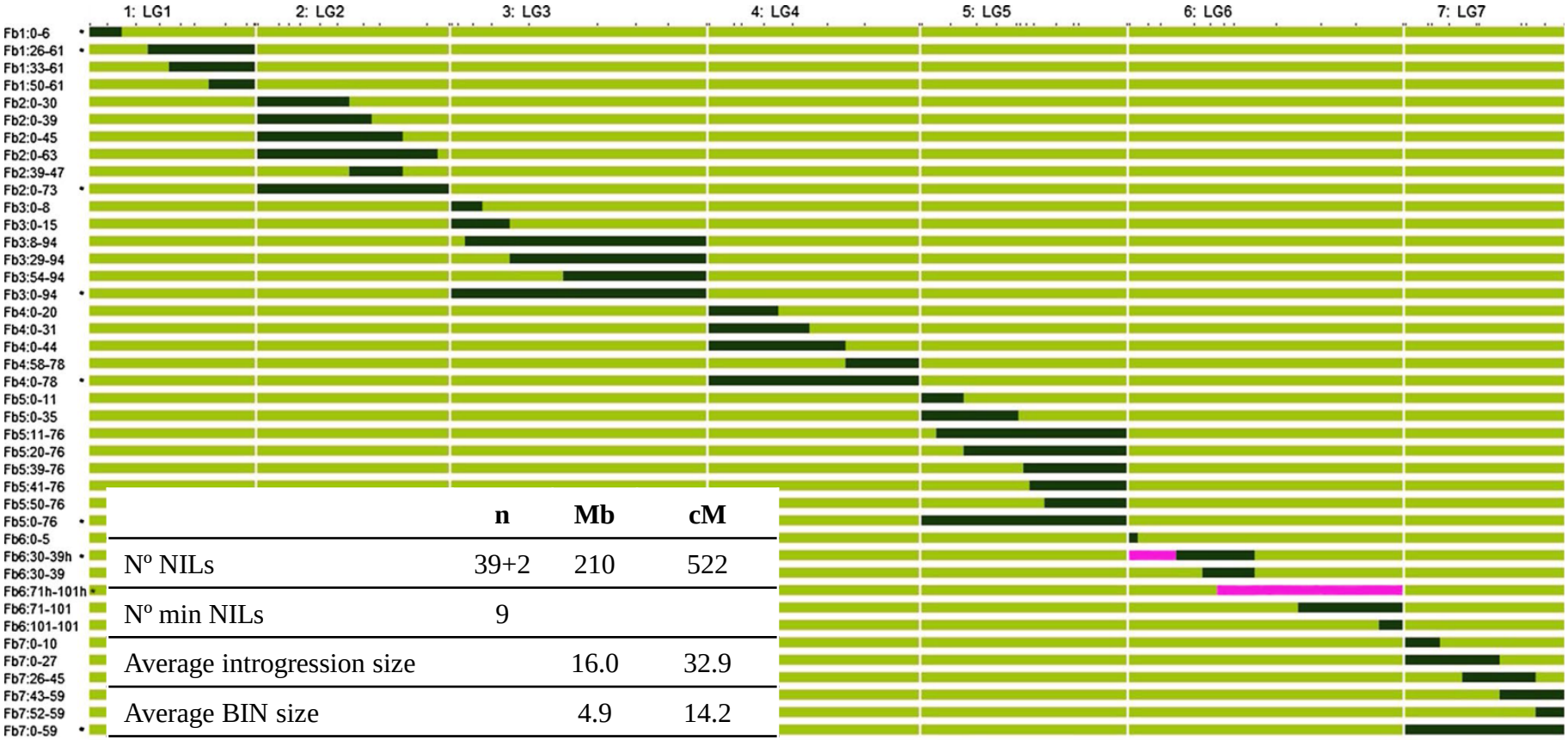
Illa et al. 2011
Jung et al 2013

IRTA
RECERCA I TECNOLOGIA AGROALIMENTÀRIES

Génomique comparative



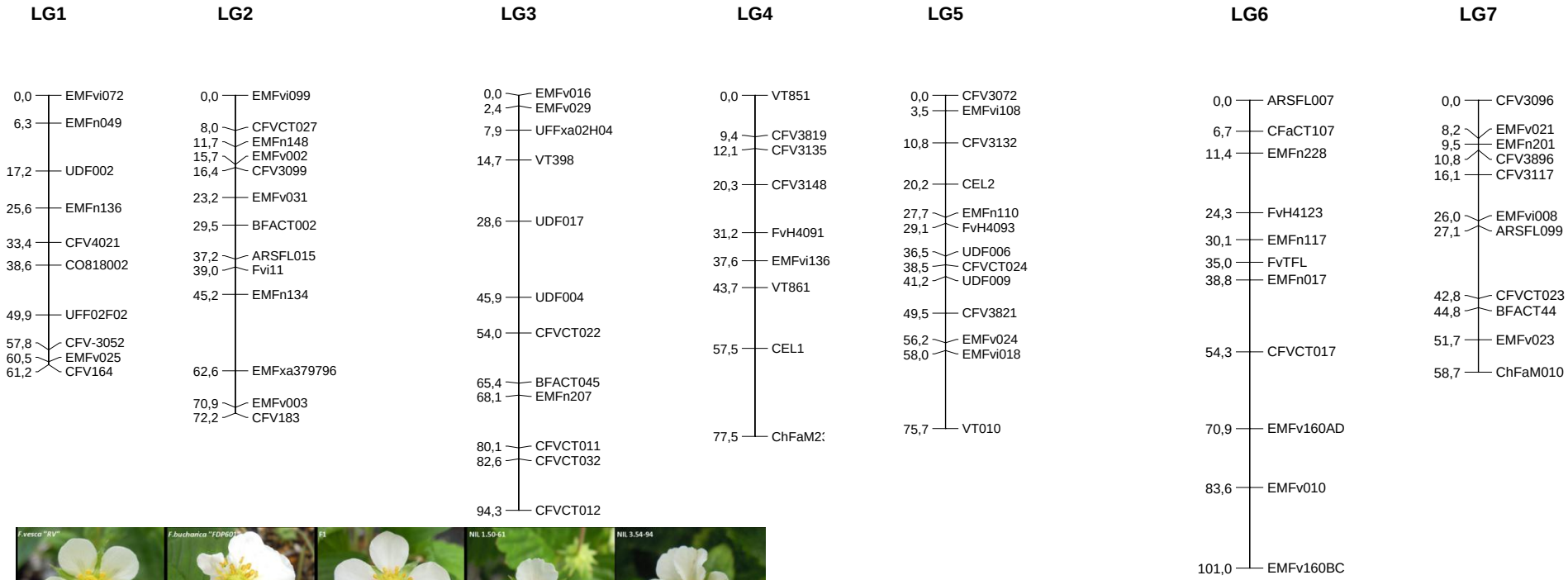
Collection de lignées quasi-isogéniques (NIL) de *Fragaria vesca* (*F. bucharica)*

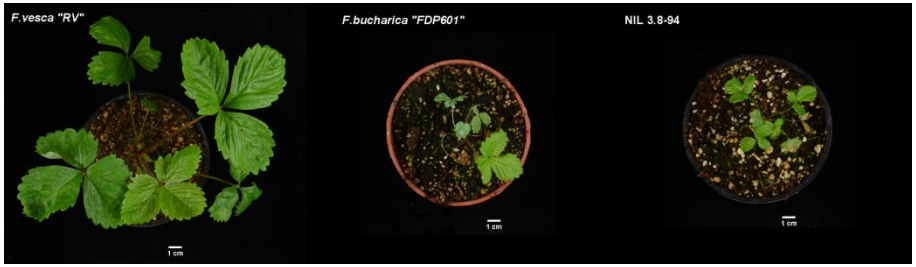


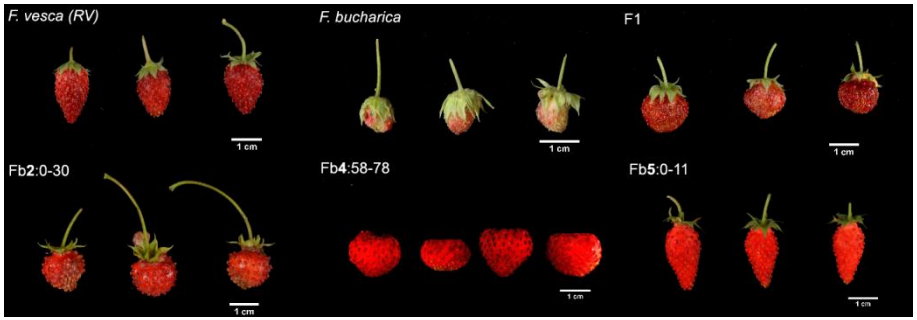
	n	Mb	cM
Nº NILs	39+2	210	522
Nº min NILs	9		
Average introgression size		16.0	32.9
Average BIN size		4.9	14.2
Smallest introgression		1.0	3.2
Smallest BIN		0.2	3.2

Urrutia et al. 2015

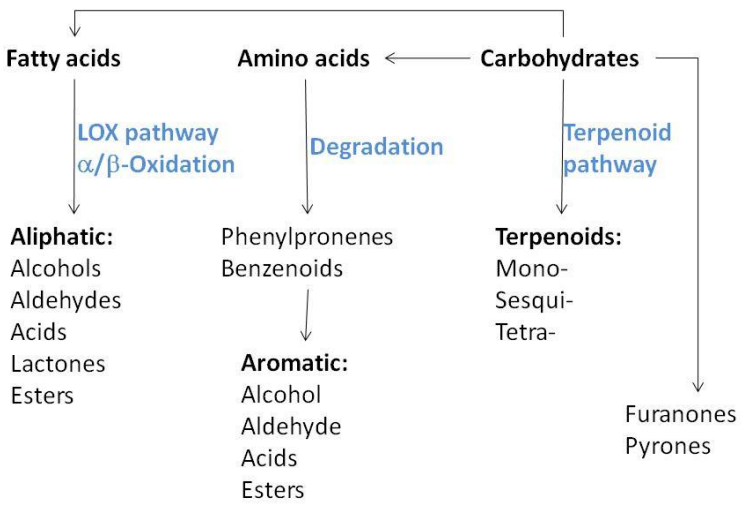
Charactères agronomiques

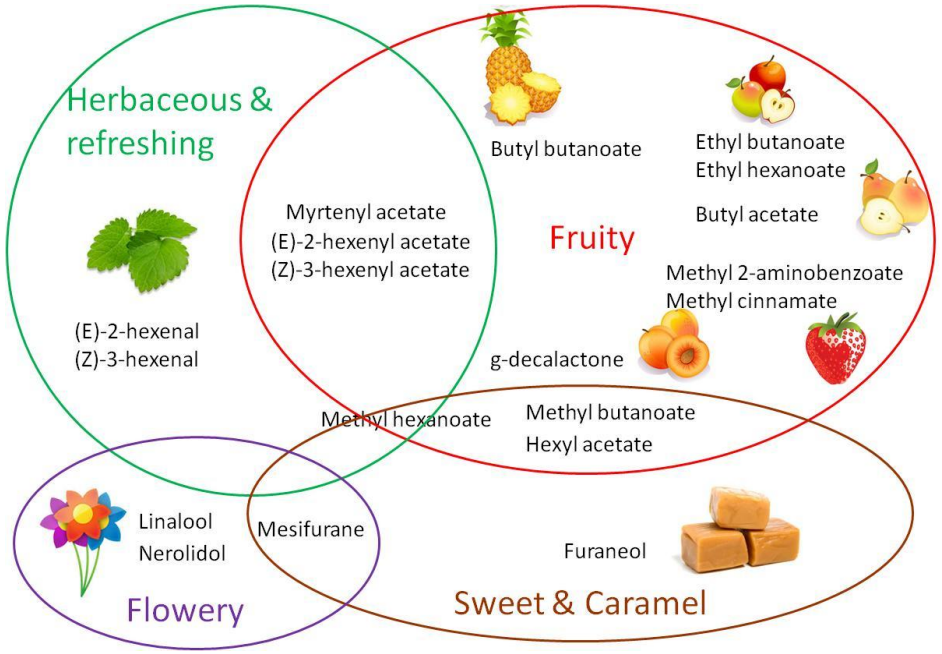






Les arômes de la fraise





(Data from Schieberle & Hoffmann 1997, Ulrich *et al.* 1997, 2007)

UNE FORTE RÉLATION AVEC LES AMÉLIORATEURS

Semences horticoles

Berries, fruit, asperge

Fruits, berries

UN SERVICE D'ANALISE GÉNÉTIQUE DEPUIS 1999

crag CENTRE FOR RESEARCH IN AGRICULTURAL GENOMICS

CSIC IRTA UAB

HOME | ABOUT US | RESEARCH | CORE FACILITIES | TRAINING | STAFF | EVENTS | NEWS | JOBS

CORE FACILITIES

- Genomics and NGS
- Capillary Sequencing
- Genotyping
- Metabolomics and Proteomics
- Confocal Microscopy
- Plant Growth Facilities
- Detection of GMOs
- Bioinformatics Core Unit

GENOTYPING

APPLICATIONS PLANT GENOTYPING

1. Cultivar Identification
- Germplasm characterization
- Genetic variability studies
- Pedigree and quality control

2. Hybrid Purity Testing
- Purity test of hybrid seed production
- New hybrid and pedigree control

3. Major Gene Detection
- Genetic map construction
- QTL analysis
- Association genetics

4. Marker-Assisted Selection (MAS)
- In a wide range of species: resistance genes
- Prunus: acidity, round/flat fruit shape (paraguayo or chato), fruit flesh colour and texture, peach/nectarine, flowering time and maturity date, auto-compatibility and male sterility

5. Special Breeding Applications
- Whole genome selection (e.g. introduction of exotic alleles)
- Variety re-synthesis (genetic reassembly of a specific variety that permits to vary certain traits of interest without losing the overall characteristics of that variety)

GESLIVE

tel. +34 935636600 Ext. 3343

Service Manager Plant Genotyping

Werner Howad

Contact

werner.howad@cragenomica.es
tel. +34 935636600 Ext. 3305

Service Members

Esteve Collell

Recherche actuelle et future

- CHERCHE ET **INTROGRESSION** DE GÈNES DE MATÉRIAUX ÉXOTIQUES
- METHODES BASÉES SUR LA **SÉLECTION DU GÉNOME COMPLET**
- CHARACTERIZATION ET USAGE DE LA **RECOMBINAISON**

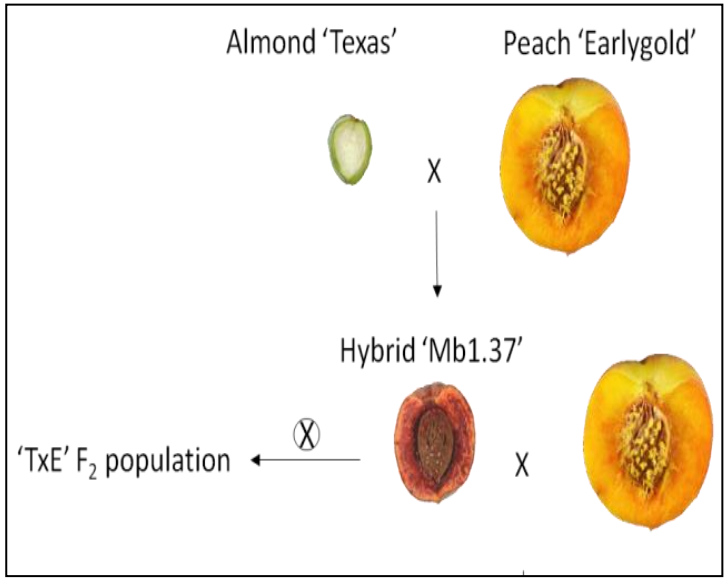
INTROGRESSION

L'Amandier comme donneur de gènes pour le pêcher

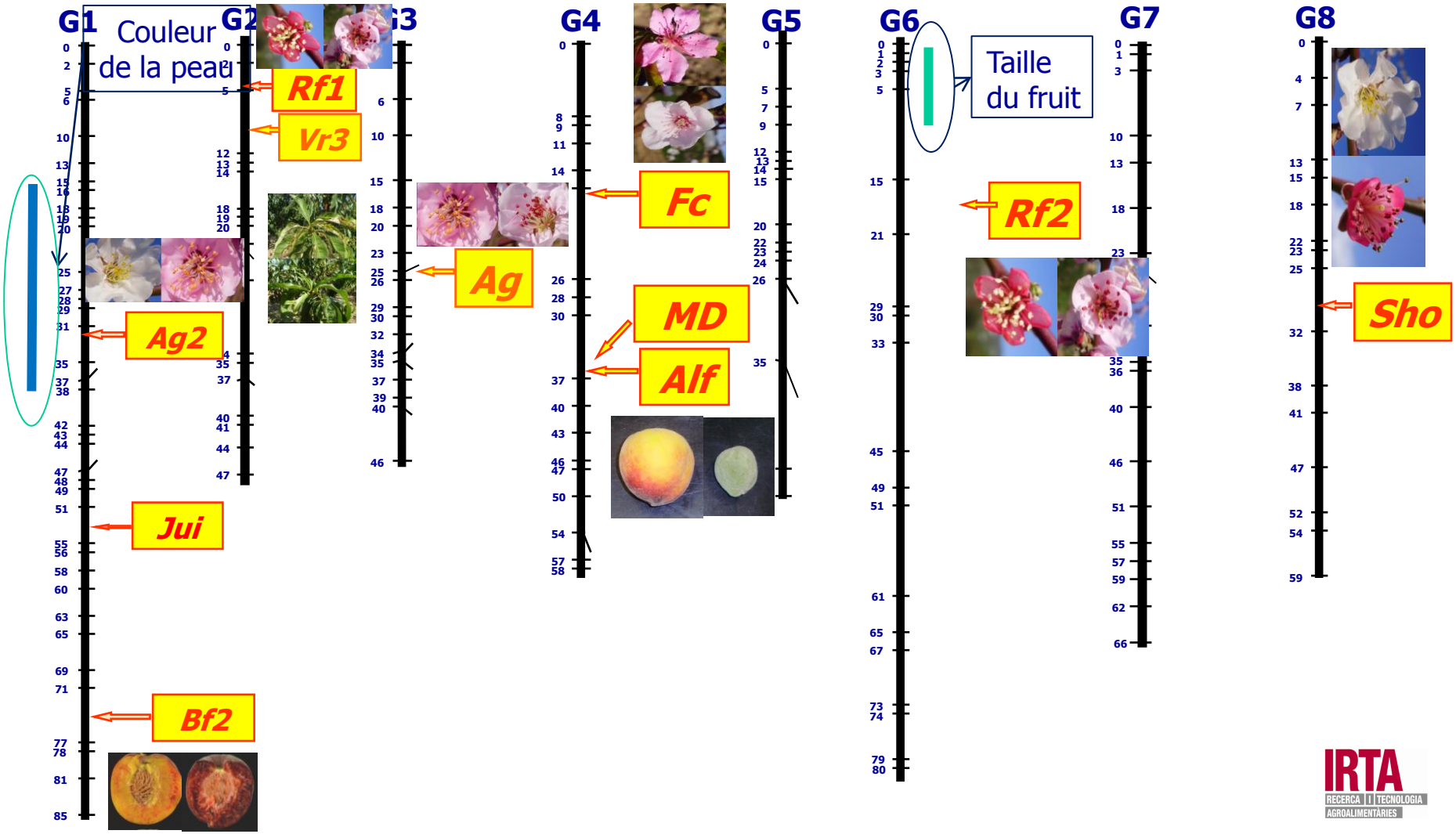
Mol Breeding (2016) 36:16
DOI 10.1007/s11032-016-0441-7

Exploring almond genetic variability useful for peach improvement: mapping major genes and QTLs in two interspecific almond × peach populations

J. M. Donoso · R. Picañol · O. Serra · W. Howad · S. Alegre · P. Arús · I. Eduardo

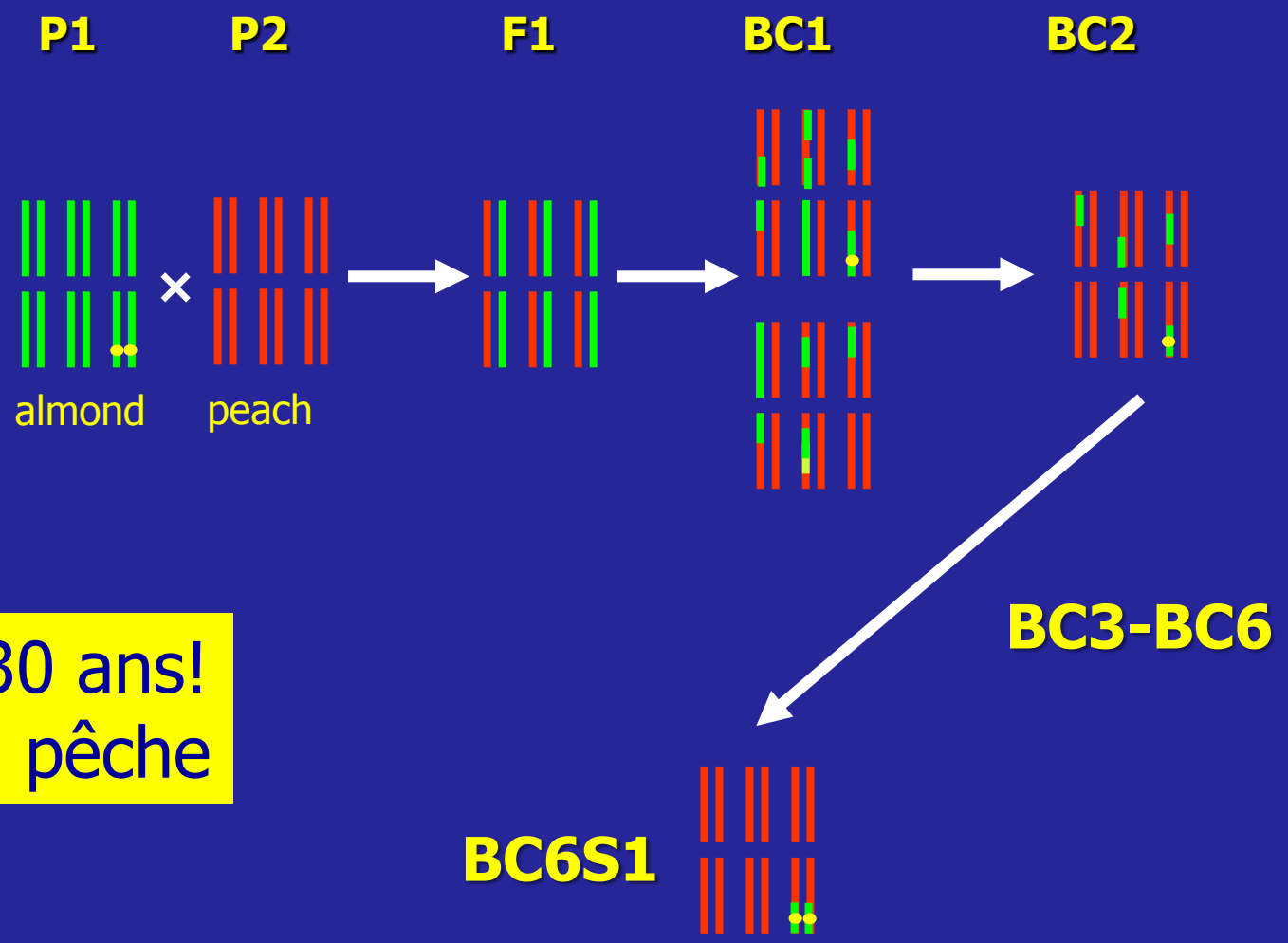


AMANDER x PÊCHER:
1. Plusieurs gènes/QTLs majeurs
2. Gènes "nouveaux"



IRTA
RECERCA | TECNOLOGIA AGROALIMENTÀRIES

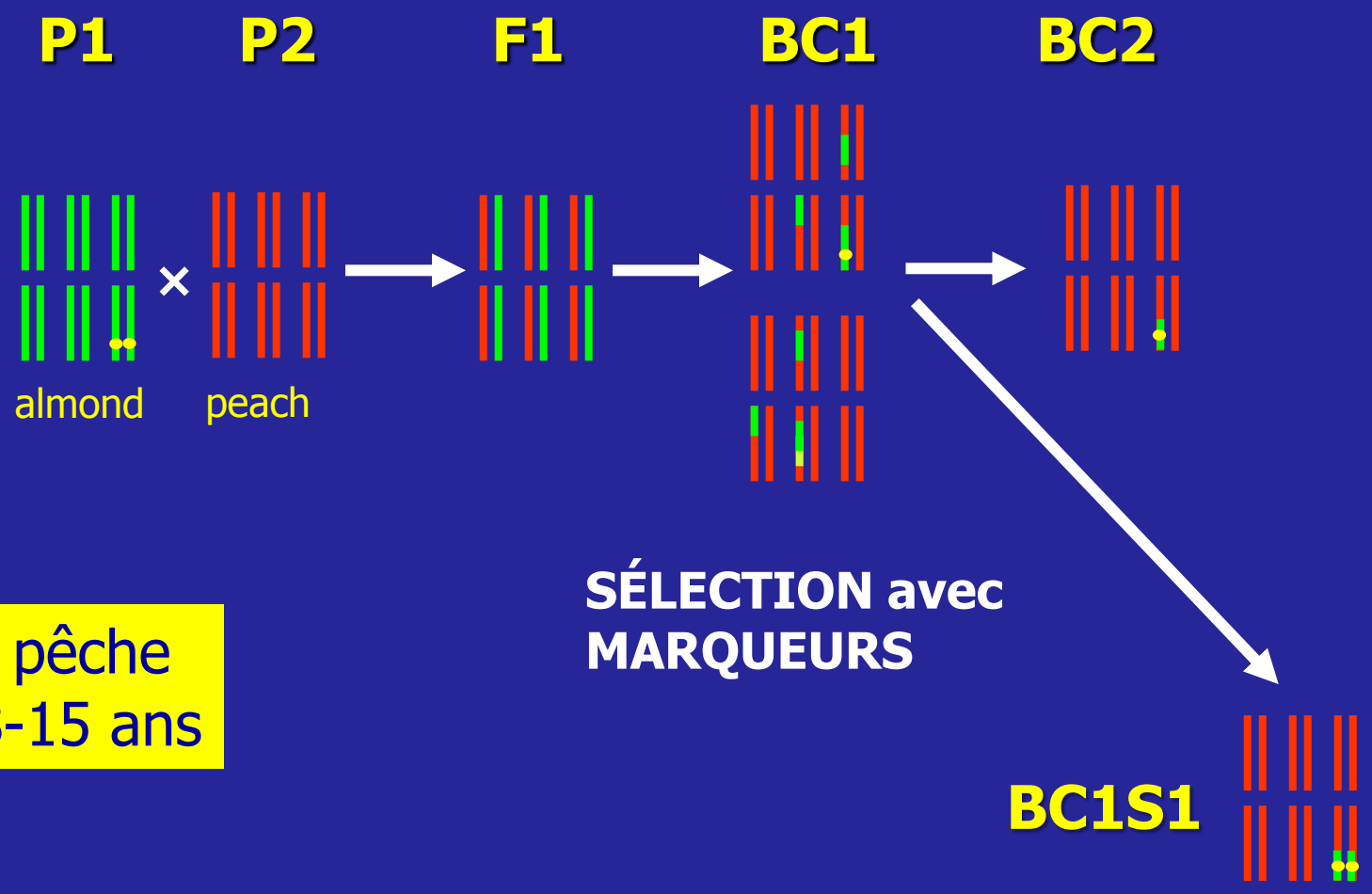
RÉTROCROISEMENT



≥30 ans!
en pêche

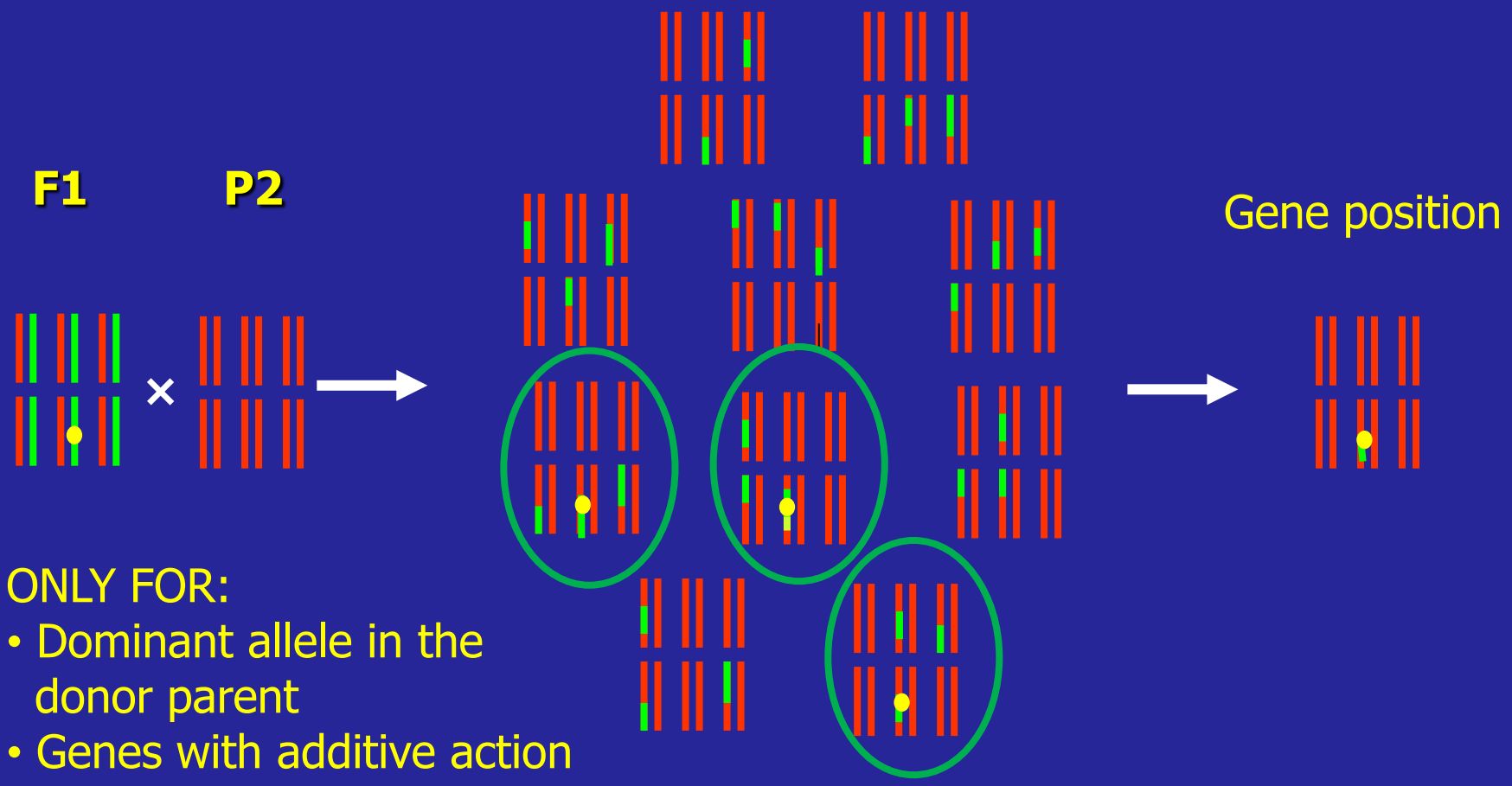
IRTA
RECERCA I TECNOLOGIA AGROALIMENTÀRIES

RÉTROCROISEMENT ET SÉLECTION AVEC MARQUEURS



En pêche
≥8-15 ans

PHASE 2: Phénotypage de lignées selectionnées pour trouver les positions de gènes/QTLs majeurs



ONLY FOR:

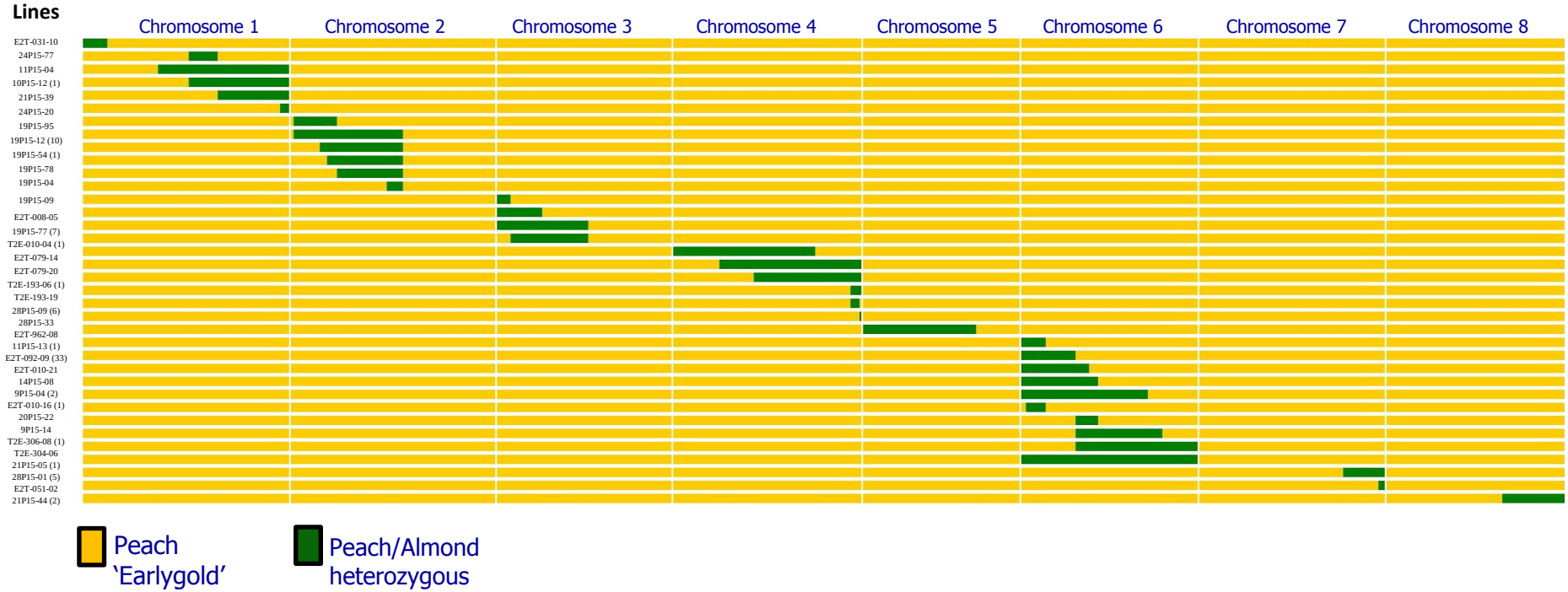
- Dominant allele in the donor parent
- Genes with additive action

Proof of concept with 18 lines and 8 major genes

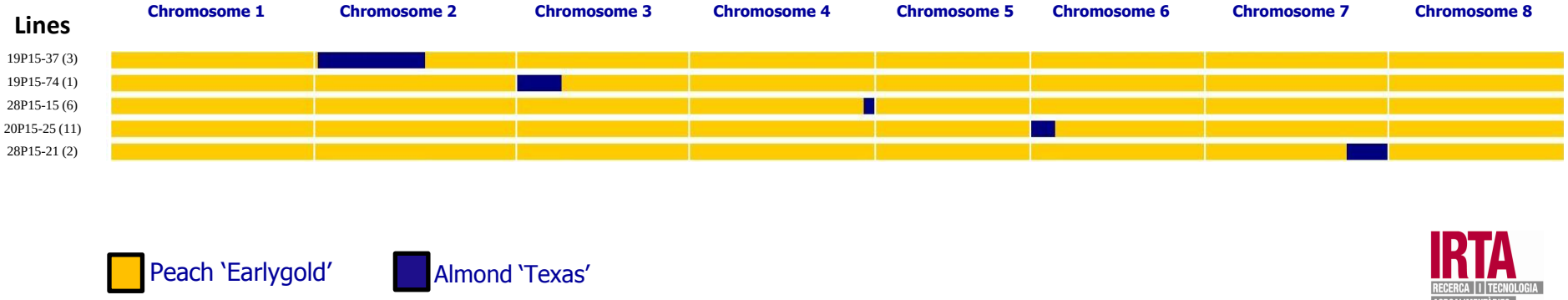
IRTA RECERCA I TECNOLOGIA AGROALIMENTÀRIES

COLLECTION de LIGNÉES d'INTROGRESSION PÊCHER-AMANDIER

HÉTÉROZYGOTES



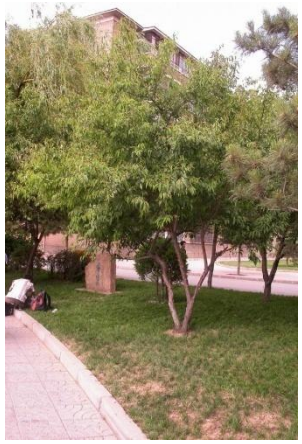
HOMOZYGOTES



IRTA
RECERCA | I | TECNOLOGIA AGROALIMENTÀRIES

Prunus espèces compatibles avec la pêche

Prunus mira



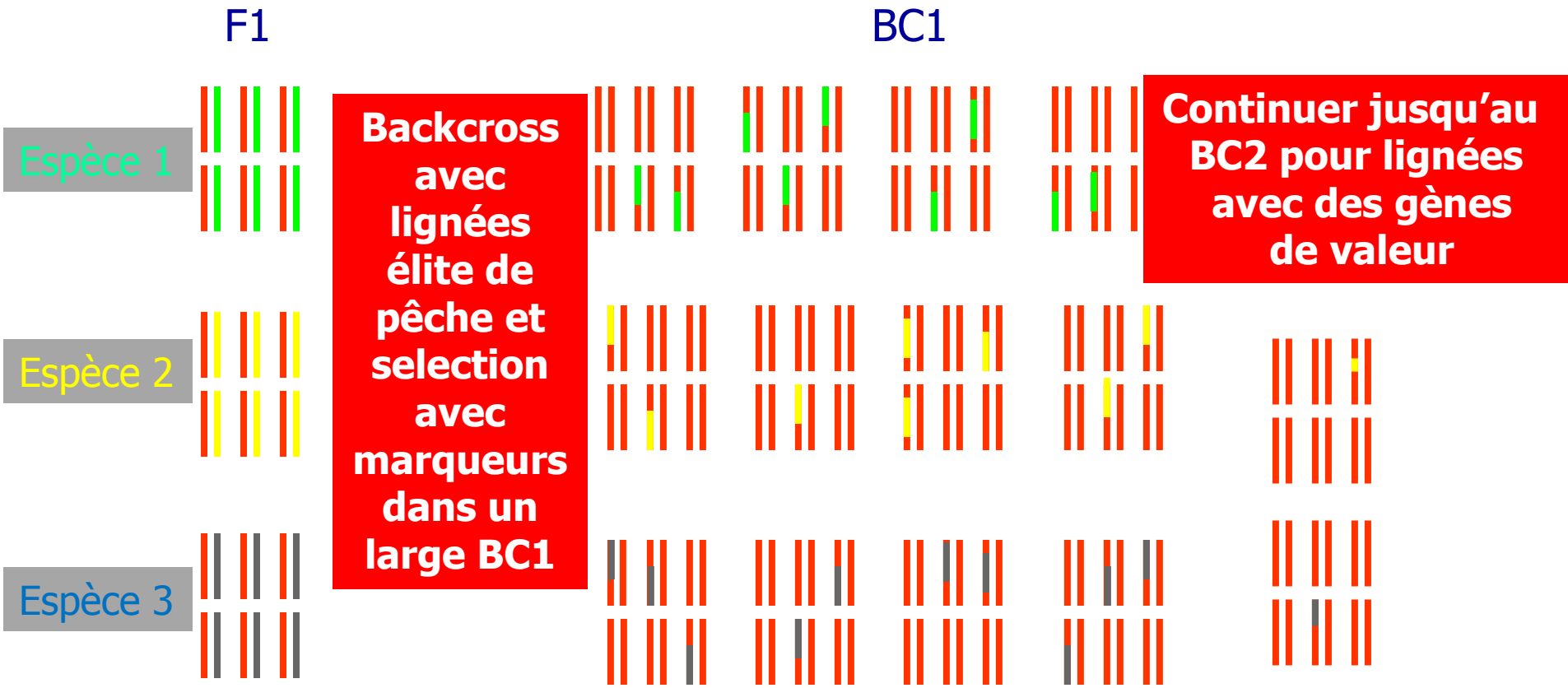
P. davidiana

P. cerasifera

P. salicina

P. dulcis

UNE STRATÉGIE POUR ENRICHIR LA PÊCHE AVEC DES GÈNES D'AUTRES ESPÈCES



Phenotypage et cartographie de gènes d'interêt

De l'amande a la pêche, et vice-versa!

Introgression de gènes d'amandier un par un

+ *Jui* + *Alf* =

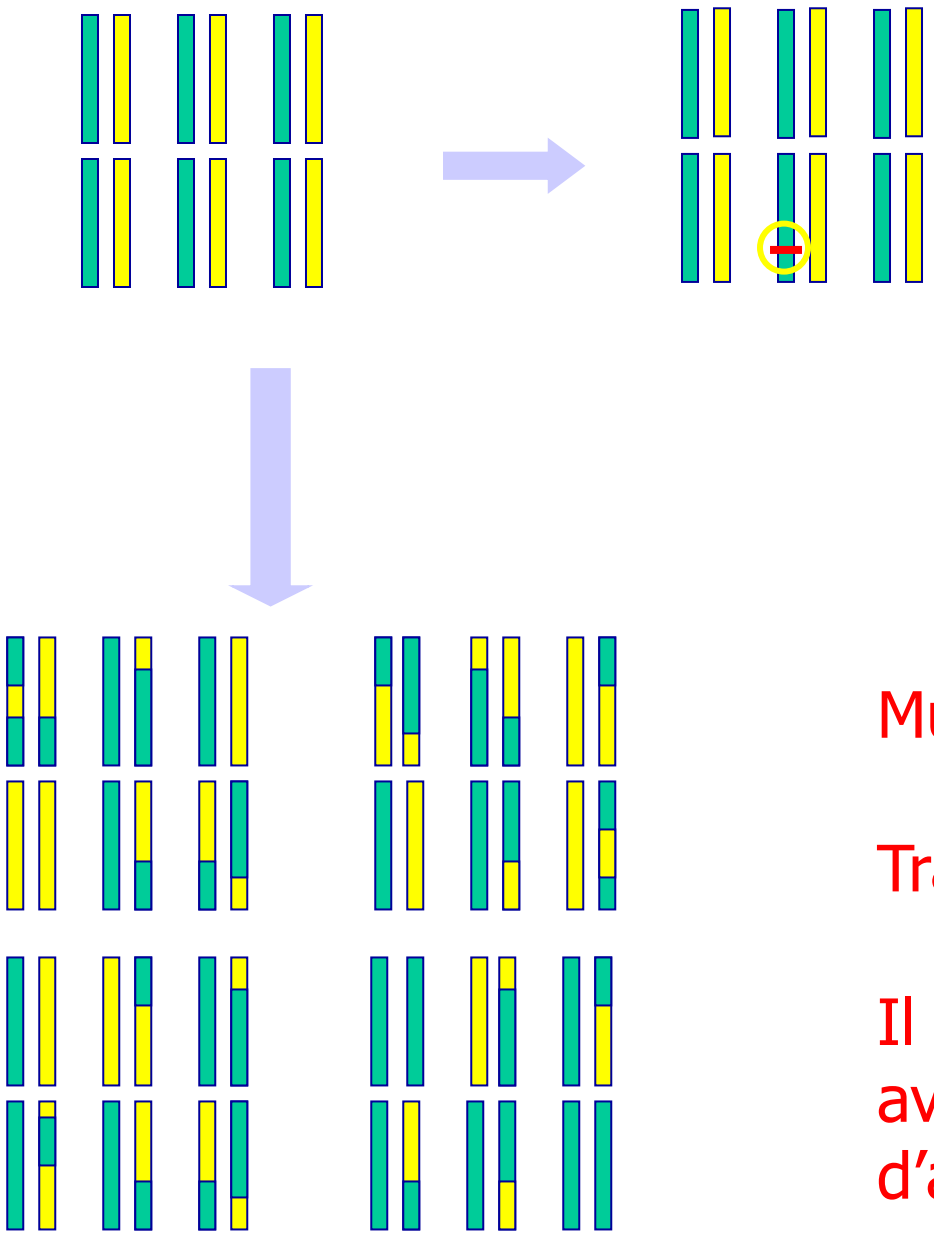
?

De l’amande a la pêche, et vice-versa!

+ *Jui* + *Alf* =

!

SÉLECTION DU GÉNOME ENTIER: RESYNTHESIS



Un range de variétés légèrement different à une varieté d'haute performance (date de maturation, charactères du fruit, post harvest, etc.)

Nouveaux charactères (résistance aux maladies etc.) d'autres sources

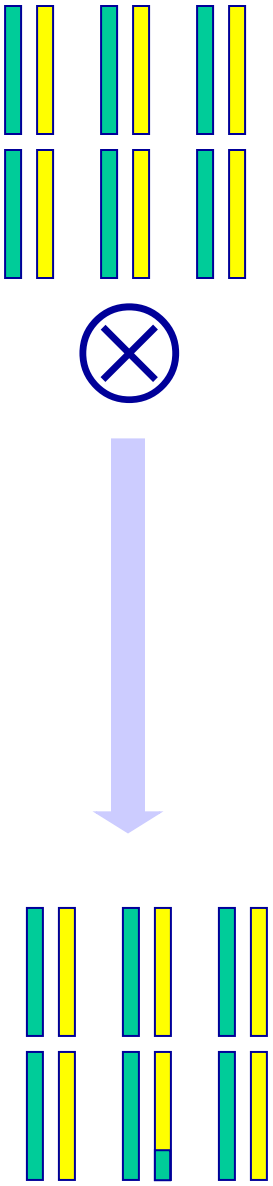
Mutation somatique

Transformation/édition génique

Il est consideré impossible avec technologie conventionnelle d'amélioration

IRTA
RECERCA | I | TECNOLOGIA AGROALIMENTÀRIES

RESYNTHESIS A

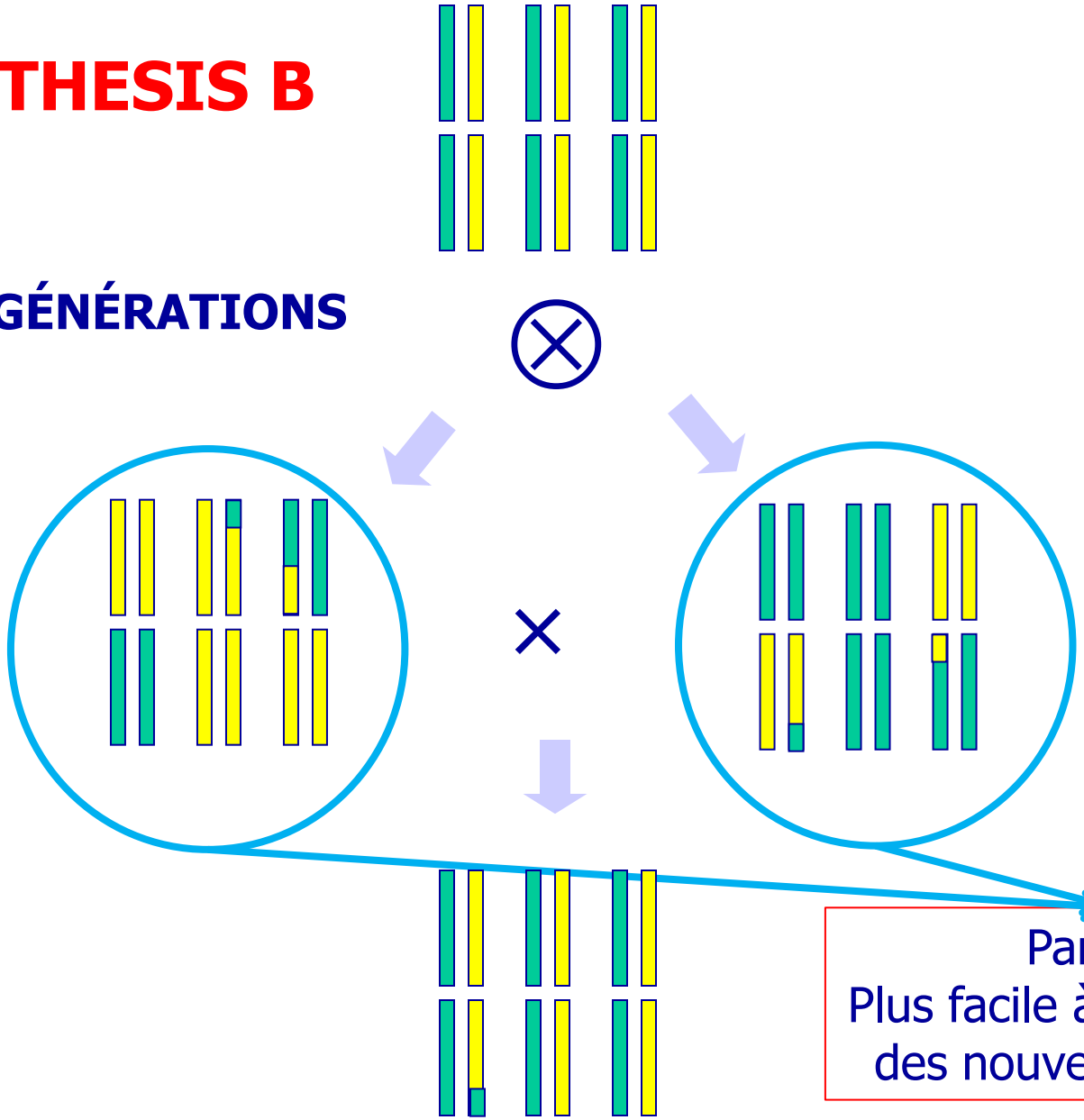


UNE GÉNÉRATION

IRTA
RECERCA | I | TECNOLOGIA AGROALIMENTÀRIES

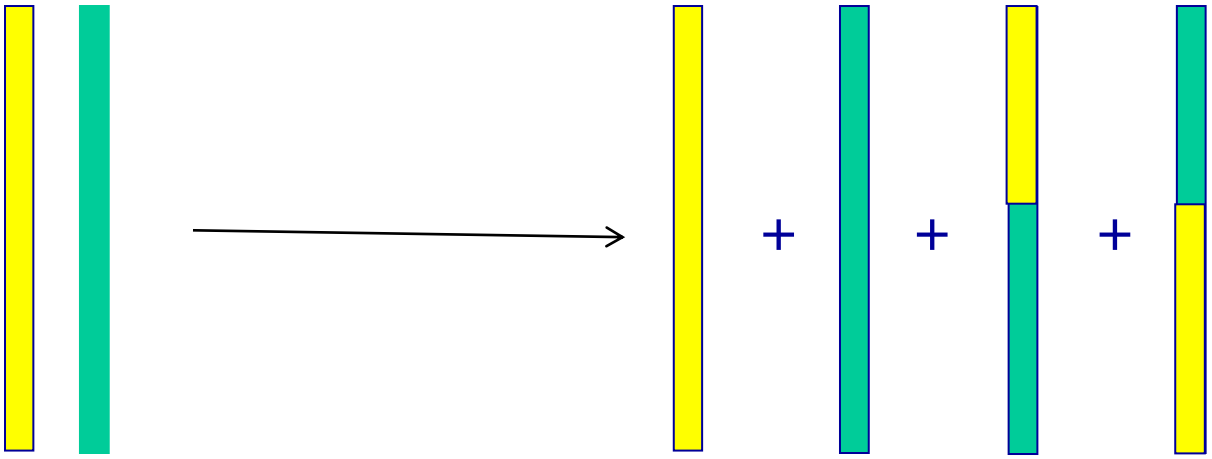
RESYNTHESIS B

2-3 GÉNÉRATIONS



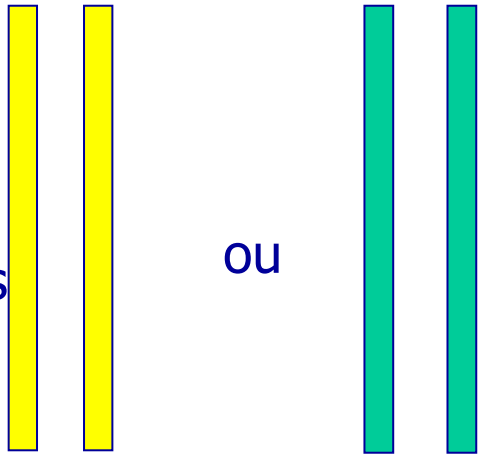
Parents:
Plus facile à introgresser
des nouveaux génes !!

IRTA
RECERCA | I | TECNOLOGIA
AGROALIMENTÀRIES



Aprox.
¼ de chaque
gamète

La probabilité
De trouver descendants



ou

est 1/8 assumant
qu'il y a un seul crossover

Frequence des individus cherchés dans une F2 de pêche (*x=8*) assumant 50% homozygosite due à ibd

	crossovers/chromosome		
	1.0	1.2	1.5
Probabilité de trouver un individu hétérozygote identique au cultivar	3.9×10^{-5}	1.3×10^{-5}	2.1×10^{-6}
Probabilité de trouver un individu hétérozygote identique au cultivar pour six ou plus chromosomes	8.0×10^{-3}	3.8×10^{-3}	1.1×10^{-3}
Probabilité de trouver un individu hétérozygote identique au cultivar pour cinc ou plus chromosomes	4.5×10^{-2}	2.5×10^{-2}	9.4×10^{-3}

IRTA
RECERCA | TECNOLOGIA AGROALIMENTÀRIES

HOW TO INCORPORATE EXOTIC VARIABILITY AND IN A HIGH VALUE CULTIVAR

VORIs (VARIETIES OBTAINED by RESYNTHESIS and INTROGRESSION)

a) To introgress a new gene from an exotic source with Marker-Assisted Introgression (MAI),

and

b) To resynthesize the same variety

IRTA
RECERCA | I | TECNOLOGIA AGROALIMENTÀRIES

ÉTUDES SUR LA RÉCOMBINAISON INTER ET INTRASPECIFIQUE

INTERSPÉCIFIQUE

Hybrid 'Mb1.37'

X

Peach 'Earlygold'

INTRASPÉCIFIQUE

E1 T

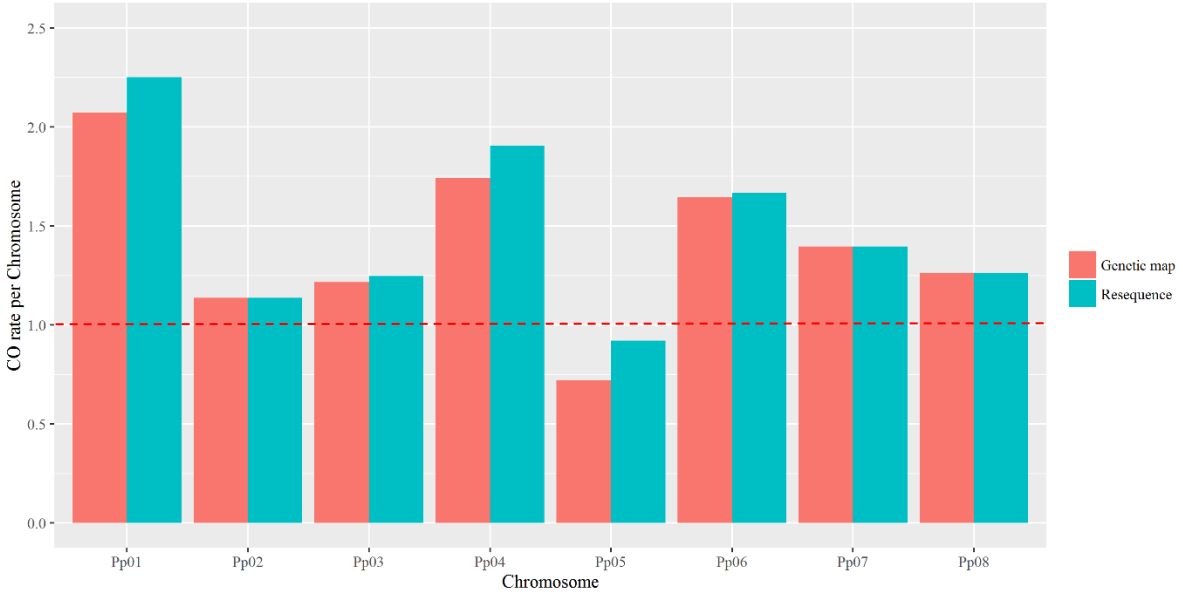
E1 E2

'T1E' BC_1 population

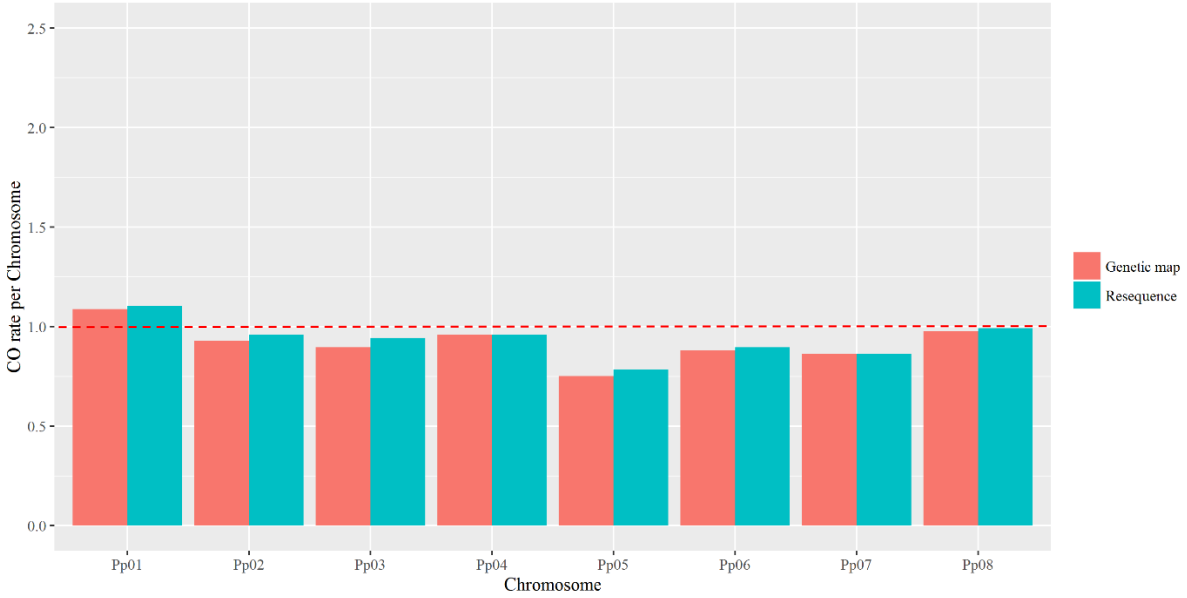
128 PLANTES RÉSEQUENCÉES
PROFONDEUR MOYENNE: 42X

NOMBRE MOYEN DE CROSS-OVERS PAR CHROMOSOME

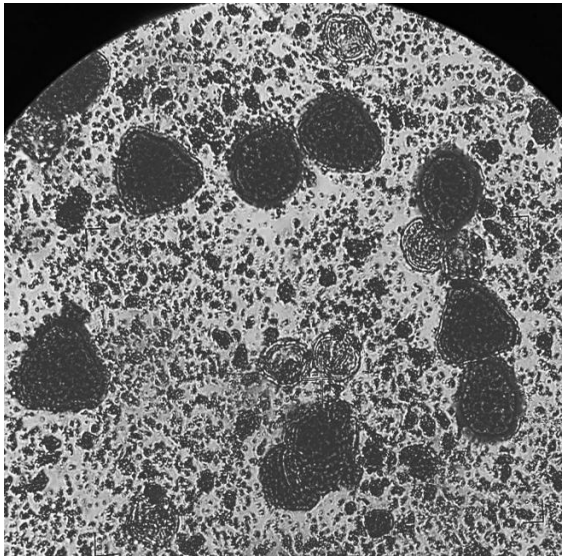
La recombinaison diminue du 54% dans l'hybride interspécifique



Sept des huit chromosomes ont moins d'une récombinaison par chromosome en moyenne

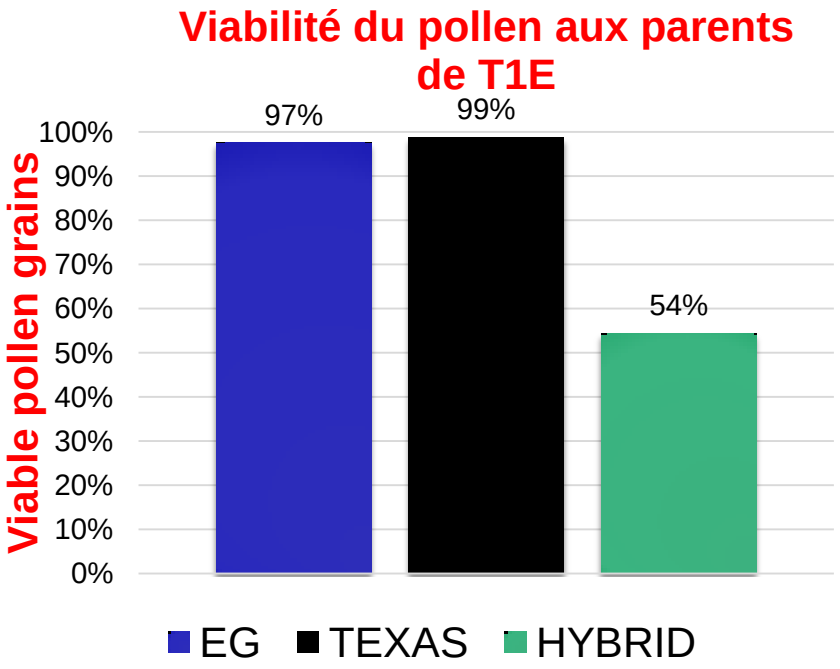


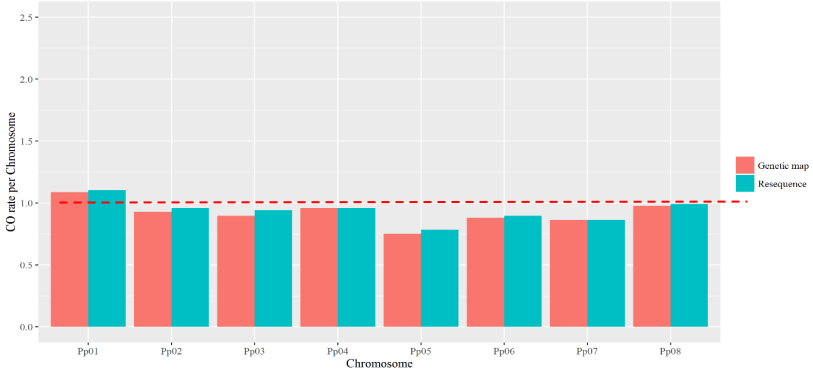
La viabilité du pollen est associée au taux de recombinaison?



Mb 1.37

Test de viabilité du pollen



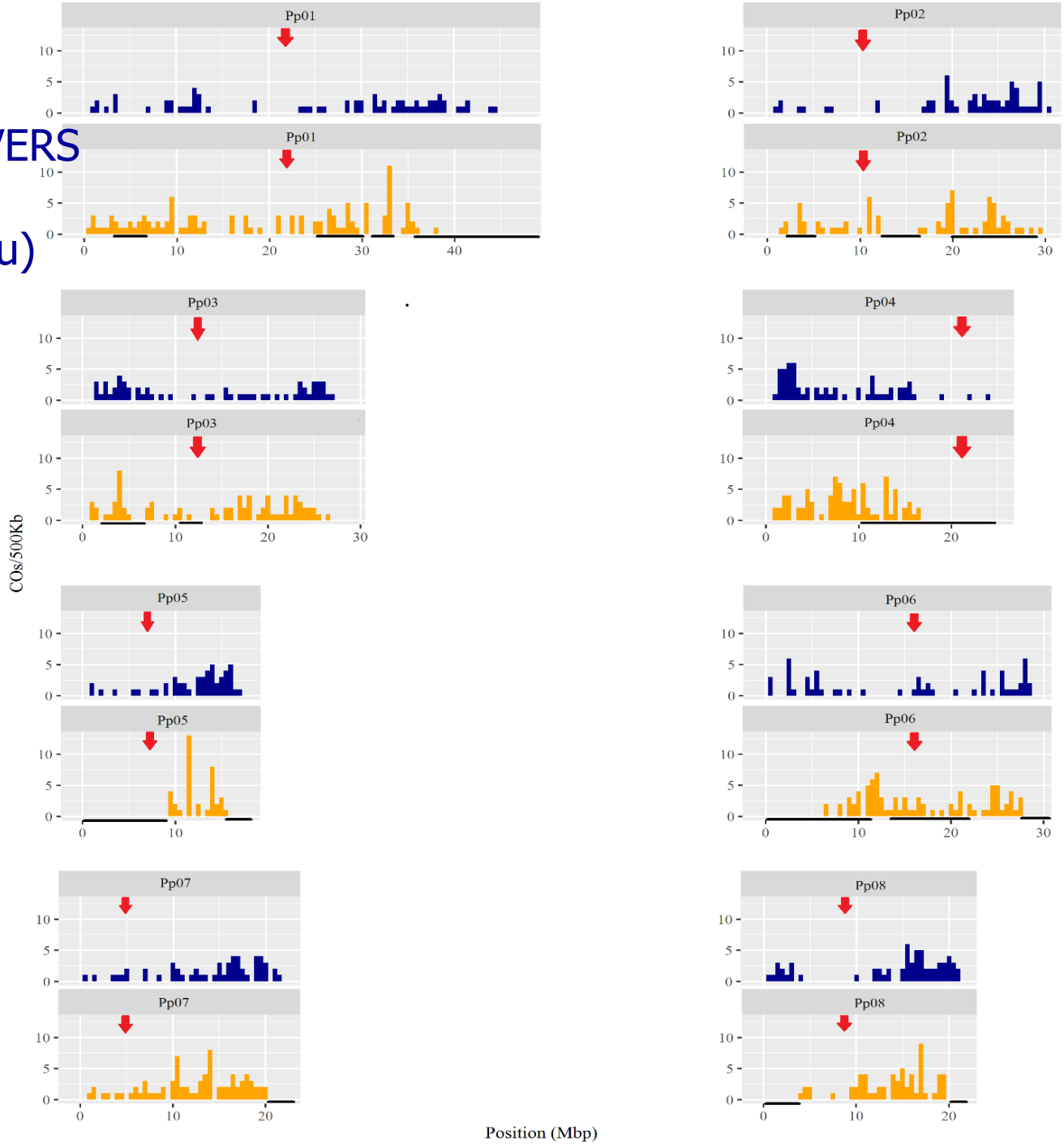


- Les graines de pollen inviables peuvent être causées par la migration inégale des chromosomes

DISTRIBUTION DU NOMBRE DE CROSS-OVERS INTRA (orange) et INTERSPÉCIFIQUE (bleu)

Faible taux de recombinaison autour de la région centromèrique

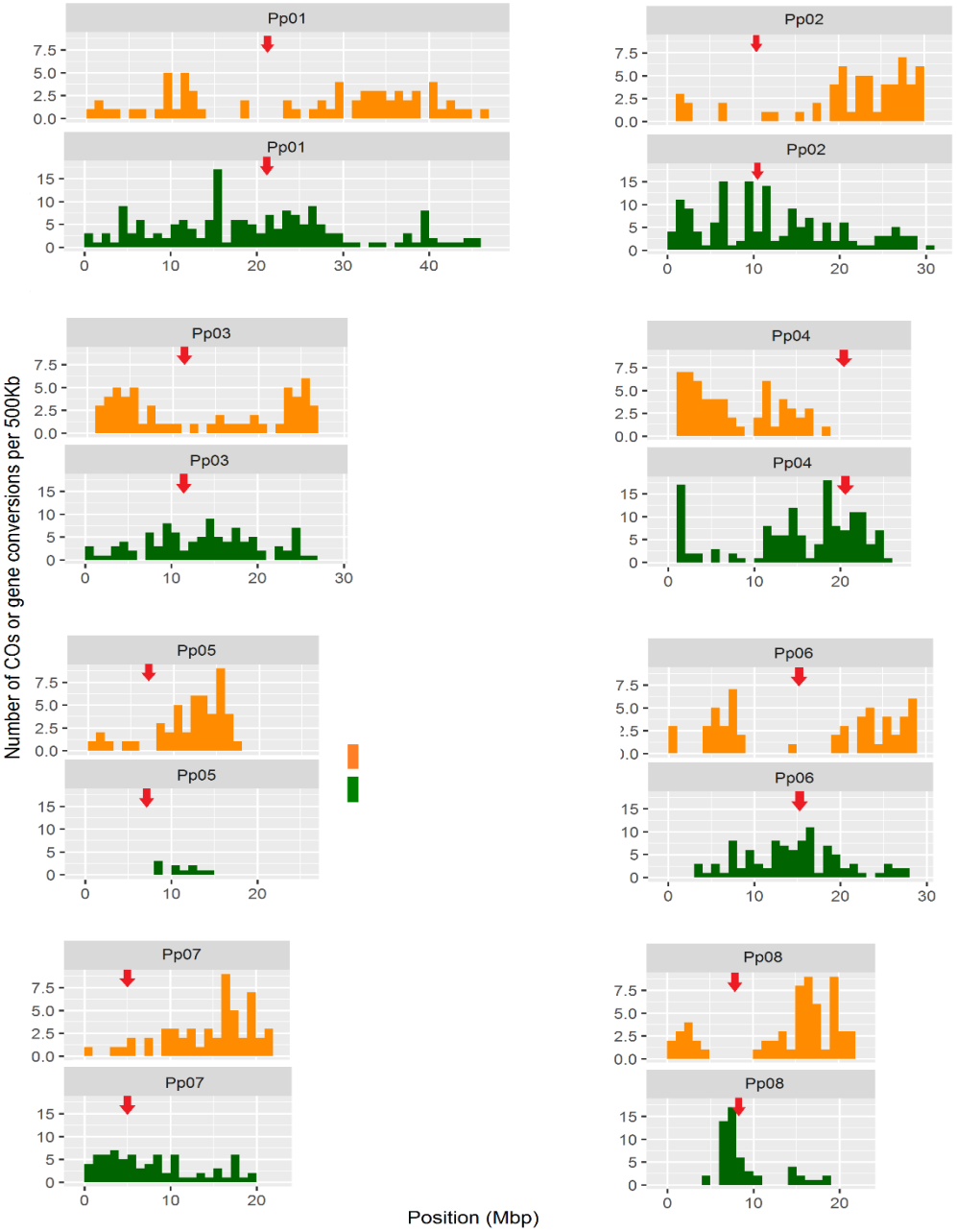
La distribution des recombinations est semblable aux niveaux intra- et interspécifiques



CONVERSIONS GÉNIQUES

Un numbre élevé de conversions géniques : 5/chromosome et meiosis

La distribution des conversions génétiques differente de celle des crossovers



INRA (Bordeaux, Avignon, Angers, Orléans, Montpellier Sophia Antipolis) (France)
FEM, U. Bologna, U. Milan
CRA-Roma (Italie)
Agroscope (Suisse)
Julius Kuhn Institut (Allemagn
Plant and Food Research (NZ)
Washington State U., Clemson U.
Michigan State U.
U. California, Davis (USA)
Adelaide U. (Australie)
Zhejiang U., Nanjing AAS, Shanghai AAS, Zhengzhou CAAS (Chine)
U. Andrés Bello, INIA (Chili)
CITA Aragón, CEBAS-CSIC, IVIA (Espagne)

Merci!

María José Aranzana
Werner Howad
Iban Eduardo
Amparo Monfort
Octávio Serra
José Manuel Donoso
Roger Picañol
Xiongwei Li
Diego Micheletti
Kostas Alexiou

IRTA RECERCA I TECNOLOGIA AGROALIMENTÀRIES

crag CENTRE DE RECERCA EN AGRIGENÒMICA CSIC IRTA UAB