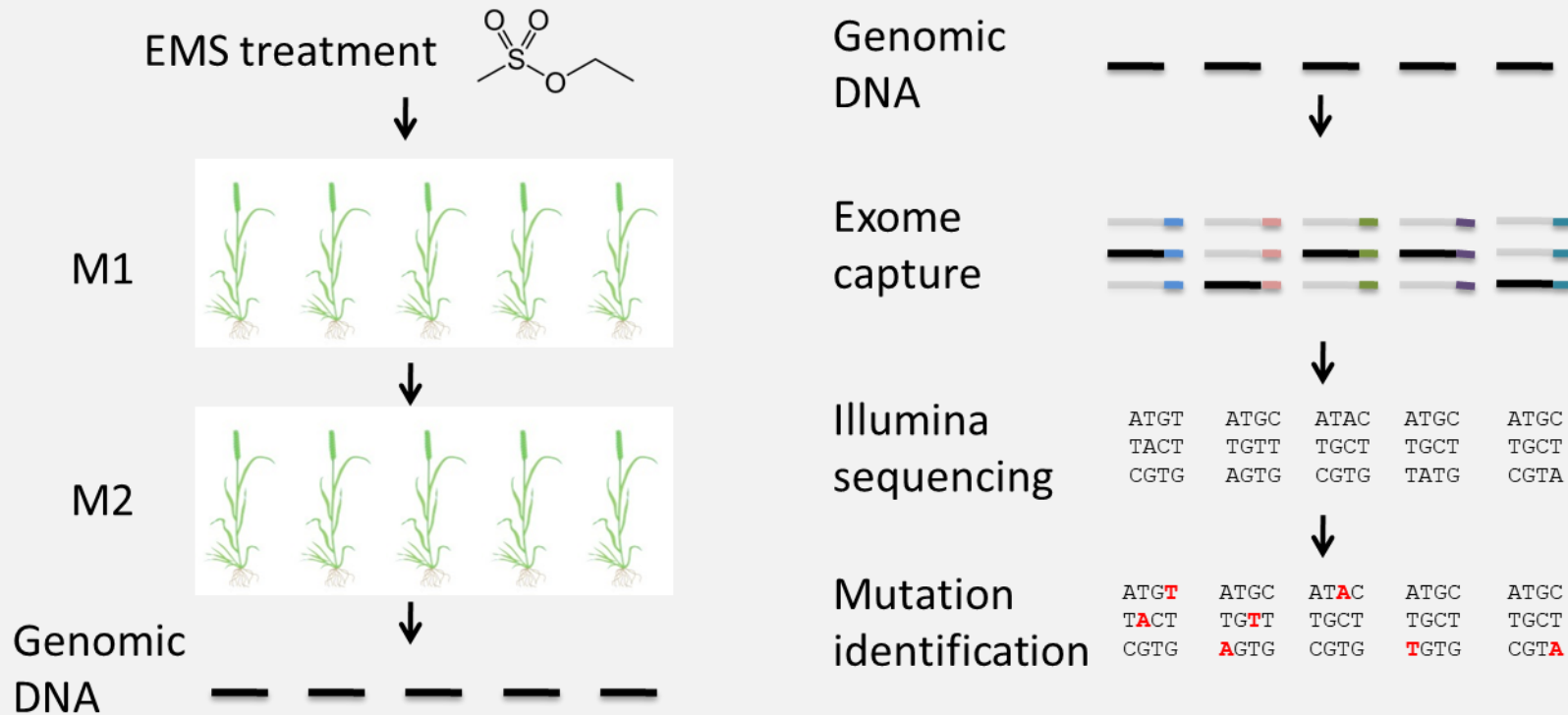


IDENTIFICATION DES GÈNES IMPLIQUÉS DANS LE POIDS DE MILLE GRAINS PAR UNE APPROCHE INNOVANTE (TILLING)

Valérie LAURENT

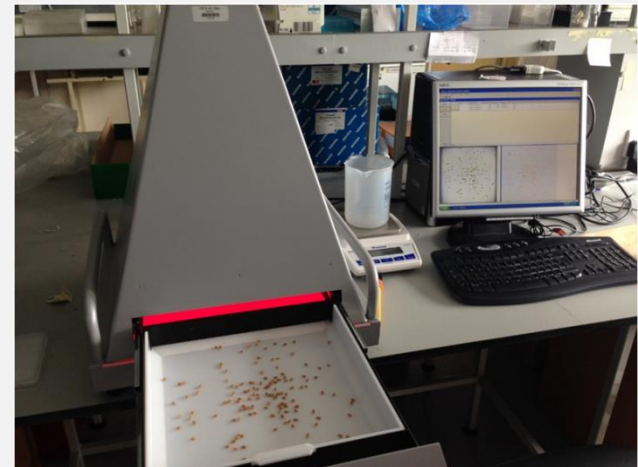
FLORIMOND DESPREZ (coordinateur), RAGT2N,
JOHN INNES CENTRE

LES POPULATIONS DE TILLING : CADENZA ET KRONOS



1535 mutants de Kronos et 1200 de Cadenza

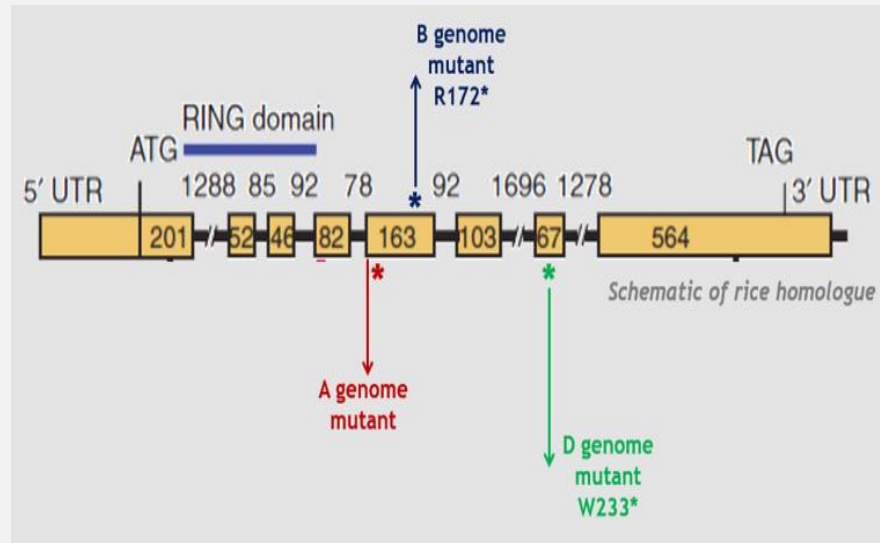
=> Phénotypage de 10 épis



GW2: UN GÈNE RÉGULATEUR DE LA TAILLE DU GRAIN

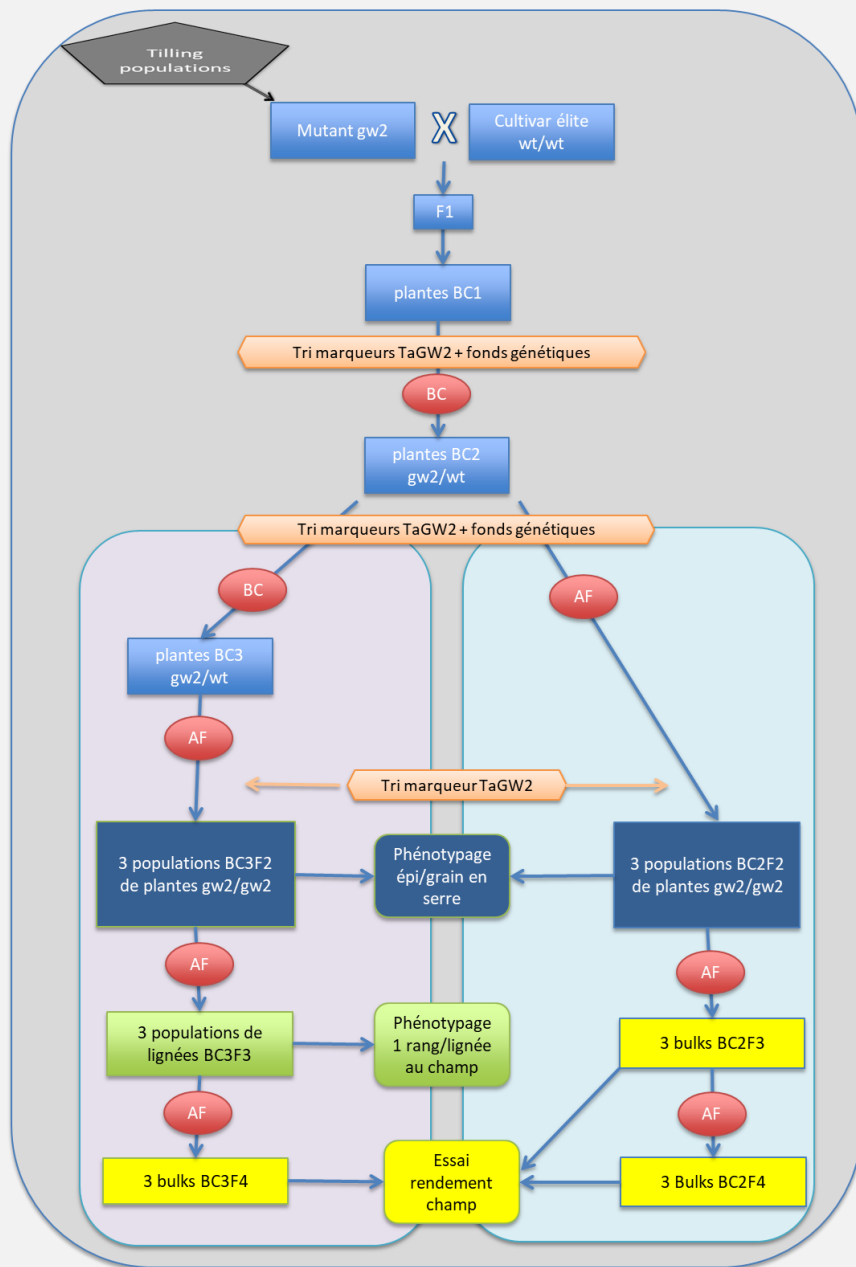
- Mis en évidence sur le riz
 - Song et al 2007 *Nature Genetics*
- RNAi in wheat of *TaGW2* results in decreased (or increased) grain size and weight in wheat
 - Bednarek et al 2012 *JXB*, Hong et al 2014 *FIGS*

LES MUTATIONS DES GÈNES *TaGW2*



- * *TaGW2-A1* : mutant Kronos G2373A
transition G>A au début de l'exon 5, au site d'épissage
introduit dans la lignée Paragon T4-2235
- * *TaGW2-B1*: mutant Kronos T4-0341
transition C>T à la position 2557 + codon stop
- * *TaGW2-D1*: mutant Cadenza 1441 :
mutation stop au 7ème exon

INSERTION DES MUTATIONS DANS DES RECEVEURS ELITES



Receveurs élités

Cellule (PMG : 3)

Oregrain (PMG : 4)

RGT_mondio (PMG : 6)

Rubisko

2 générations / an en serre

Marquage:

Marqueurs KASPar des mutations

Marqueurs SSR des chromosomes 6

Marqueurs *Vrn* et *Ppd*

Phénotypage

Marvin grain analyser

Nombre d'épillets par épi

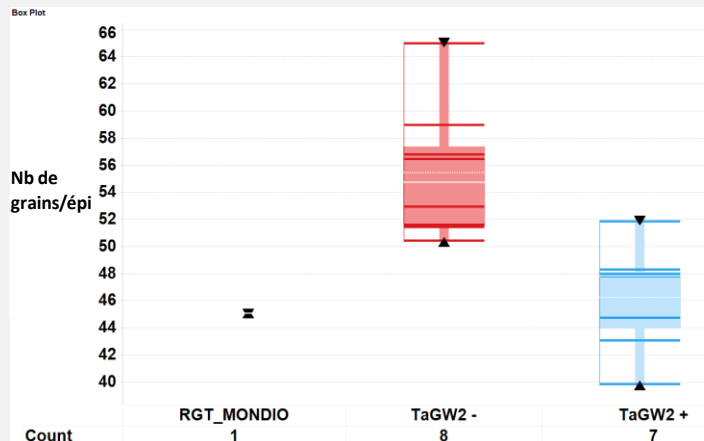
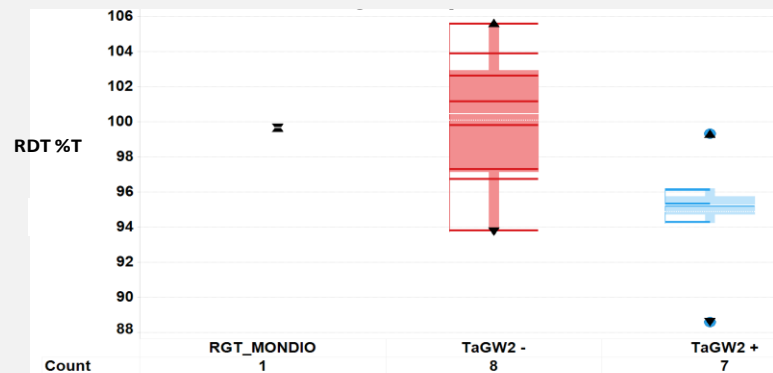
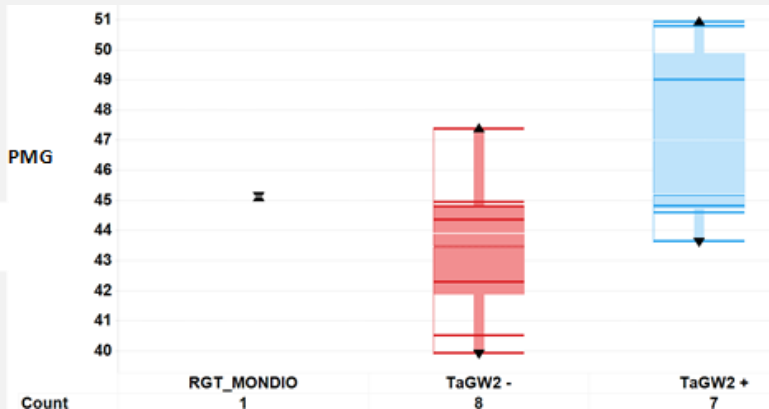
Nombre de grains par épi

Rendement

TaGW2A DANS ÉLITES À PARTIR DE PARAGON BC₅F₃

- En 2018 : BC2F3 dans RGT Mondio, Cellule et Oregrain

Y (numerical)	X (categorical)	p-value	FStat	S2Btwn	S2Wthn	dfBtwn	dfWthn	n
NB GRAINS/EPI	TaGW2	0.00173	15.44204251	318.72456	268.3206758	1	13	15
NB EPILLETES/EPI	TaGW2	0.34100	0.975701176	0.64421894	8.583413008	1	13	15
NB EPIS/M ²	TaGW2	0.47600	0.538179079	1680.17143	40585.42857	1	13	15
RDT %T	TaGW2	0.01620	7.620070694	102.080185	174.1509301	1	13	15
Hauteur	TaGW2	0.30200	1.155555556	7.61904762	85.71428571	1	13	15
EE	TaGW2	0.86700	0.029082774	0.0297619	13.30357143	1	13	15
SPW	TaGW2	0.87000	0.027922008	0.0447344	20.82755893	1	13	15
PMG Récolte	TaGW2	0.01130	6.457525295	42.0803571	42.36	2	13	16



=> Augmentation du pmg
=> Diminution du nombre de grains/ épi

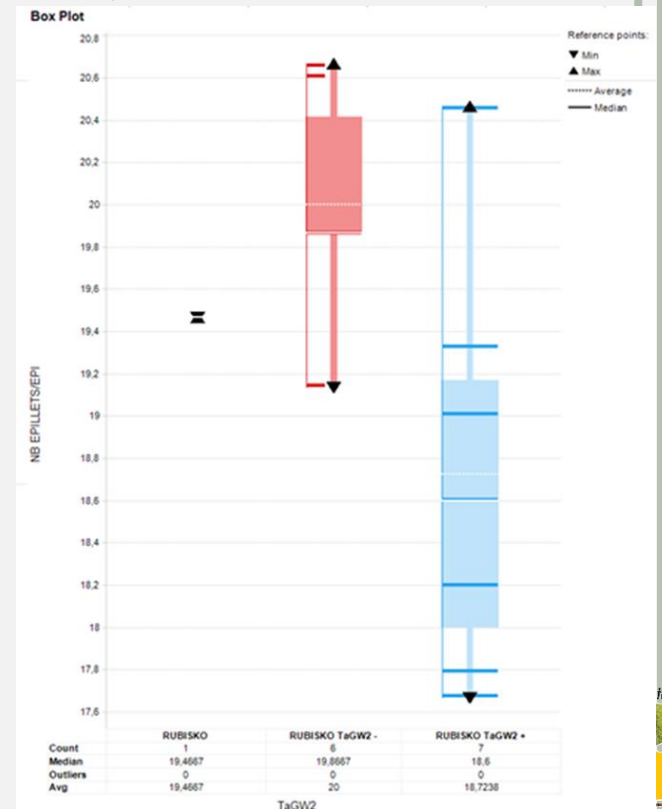


TaGW2A DANS ÉLITES À PARTIR DE PARAGON BC₅F₃

- En 2018 : BC3F3 dans RGT Mondio, Rubisko, Cellule et Oregrain

Y (numerical)	X (categorical)	p-value	FStat	S2Btwn	S2Wthn	dfBtwn	dfWthn	n
NB EPILLETS/EPI	TaGW2	0.01710	7.86958	5.26183	7.35492	1	11	13
NB GRAINS/EPI	TaGW2	0.41600	0.71452	20.96886	322.81302	1	11	13
PMG BQT	TaGW2	0.91400	0.01211	0.05021	45.60165	1	11	13

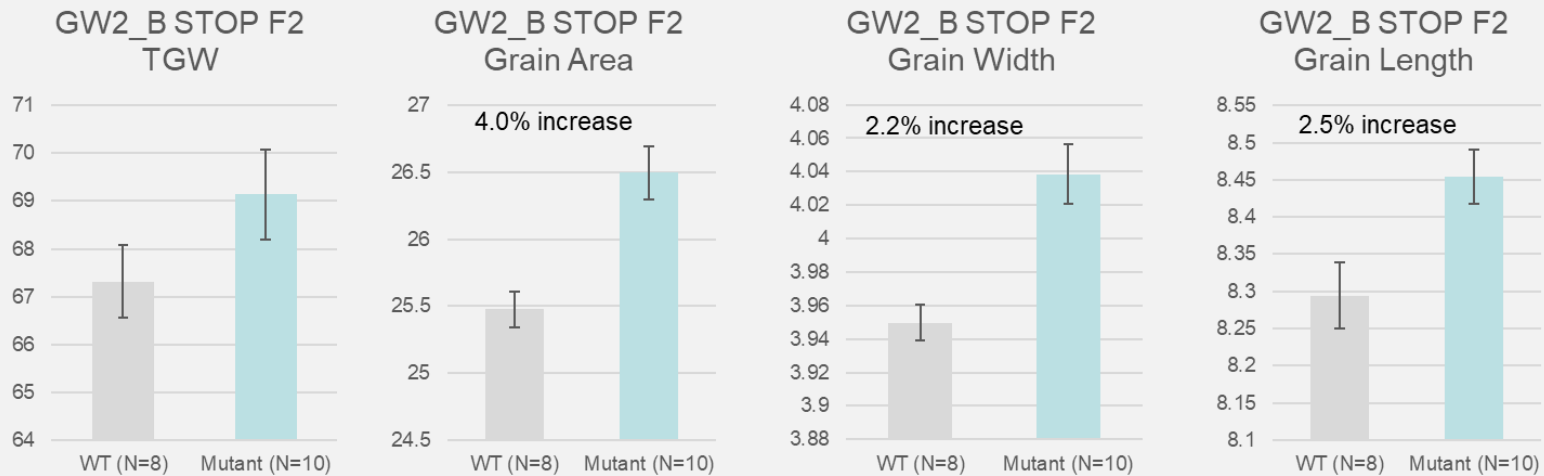
=> Diminution du nombre de grains/ épi confirmé



AUTRES CROISEMENTS RÉALISÉS DANS LES ÉLITES

- *TaGW2D* : BC2F3 dans Cellule et Oregrain
- *TaGW2A* x *TaGW2D* : F1 dans Cellule
- *TaGW2B*: BC2 dans Cellule
- F1 (*TaGW2A* x *TaGW2D*) x BC1 *TaGW2B* dans Cellule
 - 7 plantes triples mutées aAbBdD
 - 2 lignées isogéniques sauvages AABBD
- F2 triples mutées aAbBdD dans RGT-Mondio

PHÉNOTYPAGE DES MUTANTS *GW2B1* ET *GW2D1*



gw2D

ID		Seed/Spike	Yield/ Spike	TGW(g)	ØArea	ØWidth	ØLength	Spike Length	Viable Spikelets	Seeds/ Spikelet
Cadenza		49.09	2.06	41.99	18.23	3.42	6.72	9.89	18.09	2.7121
C1441_1-1	C1441	41	2.53	61.71	22.35	4.14	6.87	9.8	16	2.5625
C1441_1-2	C1441	39	2.45	62.82	22.34	4.05	6.98	9.4	18	2.1667



Effet de 19% sur le PMG

RECHERCHE AUTRES GÈNES/MUTATIONS IMPACTANT LE PMG

Gènes *DST* de régulation de l'expression de la cytokininine oxidase 2 (*OsCKX2*)
augmentent la production de grains chez le riz

DST-A : 24 mutations (1 codon stop T4-622) => Plante morte



DST-B : 30 mutations (pas de codon stop)

DST-D (pas d'amplification)

=> Abandon

Gènes *ARF* des facteurs de réponse à l'auxine
agissent sur la taille du grain chez *Arabidopsis*

Cadenza0148 (*ARF2.1_A*)

Cadenza1403 (*ARF2.1_B*)

Cadenza1274 (*ARF2.1_D*)

=> Stade atteint BC1

BC₂F₂: CUMUL 3 DES MUTATIONS DANS PARAGON

N	Genotype		Heading (days)	Height (cm)	TGW (g)	Area (mm ²)	Width (mm)	Length (mm)	Viable Spikelets	Seeds/Spike	Seed/Spikelet	Yield/Spike
2	AA_BB_DD	wild type	86	74	40.6	17.88	3.36	6.66	17.5	54.7	3.13	2.22
3	aa_BB_DD	single A	85.7	77	42	18.43	3.44	6.69	17.87	57	3.19	2.39
5	AA_bb_DD	single B	85.8	79.6	38.4	17.74	3.31	6.74	17.5	56.1	3.2	2.15
5	AA_BB_dd	single D	85.4	79.4	41.2	17.96	3.41	6.57	17.48	59.1	3.38	2.45
4	aa_bb_DD	double AB	85.8	74.3	40.2	18.64	3.45	6.7	17.55	58.2	3.31	2.36
4	aa_BB_dd	double AD	84.8	77.3	43.9	18.85	3.47	6.77	16.05	48.2	3	2.12
3	AA_bb_DD	double BD	84	82	47.9	19.84	3.52	7.03	17.4	57.7	3.32	2.77
4	aa_bb_dd	triple	86.5	72	48.5	20.87	3.66	7.12	16.2	48	2.96	2.34
2		wild type	86	74	40.6	17.9	3.36	6.66	17.5	54.7	3.13	2.22
13		single	85.6	78.9	40.3	18	3.38	6.66	17.58	57.5	3.27	2.32
11		double	84.9	77.5	43.7	19	3.48	6.81	16.96	54.4	3.2	2.38
4		triple	86.5	72	48.5	20.9	3.66	7.12	16.2	48	2.96	2.34
Overall ANOVA			P=0.28	P=0.11	P=0.005	P<0.001	P<0.001	P=0.005	P=0.06	P=0.08	P=0.2	P=0.94
GW2 mutant effect		single	-0.4	4.9	-1%	1%	0.50%	0.00%	0.1	2.8	4.40%	4.50%
		double	-1.1	3.5	8%	6%	2.90%	2.30%	-0.5	-0.3	-2.20%	3.00%
		triple	0.5	-2	12%	10%	5.50%	4.50%	-1.3	-6.8	-7.70%	-2.20%

=> Effet PMG et taille du grain

CUMUL 3 DES MUTATIONS : BC₁F₃ TRIPLE MUTÉS DANS PARAGON

N	Genotype	Heading (days)	Height (cm)	TGW (g)	Area (mm ²)	Width (mm)	Length (mm)	Viable Spikelets	SeedsSpike	Seed / Spikelet	Yield / Spike
12	wild type	84.42	74.75	42.55	18.51	3.4	6.78	17.46	56.47	3.24	2.4
14	triple	84.5	70.07	47.83	20.63	3.64	7.08	16.68	51.59	3.1	2.46
	<i>P</i> value	0.932	0.109	0.001	0	0	0.002	0.047	0.006	0.218	0.576
	GW2 triple effect	0.1	-4.7	12%	11%	7%	4%	-0.8	-4.9	-0.1	2.30%

⇒ Effet positif PMG, taille du grain

⇒ Diminution du nombre de grains par épi

CONCLUSIONS

- Des marqueurs KASPar des 3 gènes *TaGW2* ont été définis
- Les gènes *TaGW2* chez le blé impactent le PMG
- L'effet sur le rendement des mutations doit être confirmé
- L'évaluation des croisements dans les fonds élites sera poursuivie jusqu'en 2021
- Il reste des mutants ARF à pyramider et évaluer

CONTRIBUTEURS

○ John Innes centre

- Cristobal Uauy
- Jammes Simmonds

○ Florimond Desprez

- Valérie Laurent
- Clément Compagnon
- Pierre Devaux

○ RAGT2n

- Laure Duchalais
- Chris Burt

