

RenKSeq: Développement d'un outil innovant de criblage de gènes à haut débit pour identifier rapidement de nouveaux gènes de résistance à la septoriose

Cyrille Saintenac (Présentateur) / Olivier Robert, Aurélie
Evrard (porteurs du projet)

La septoriose (Septoria tritici blotch, STB)



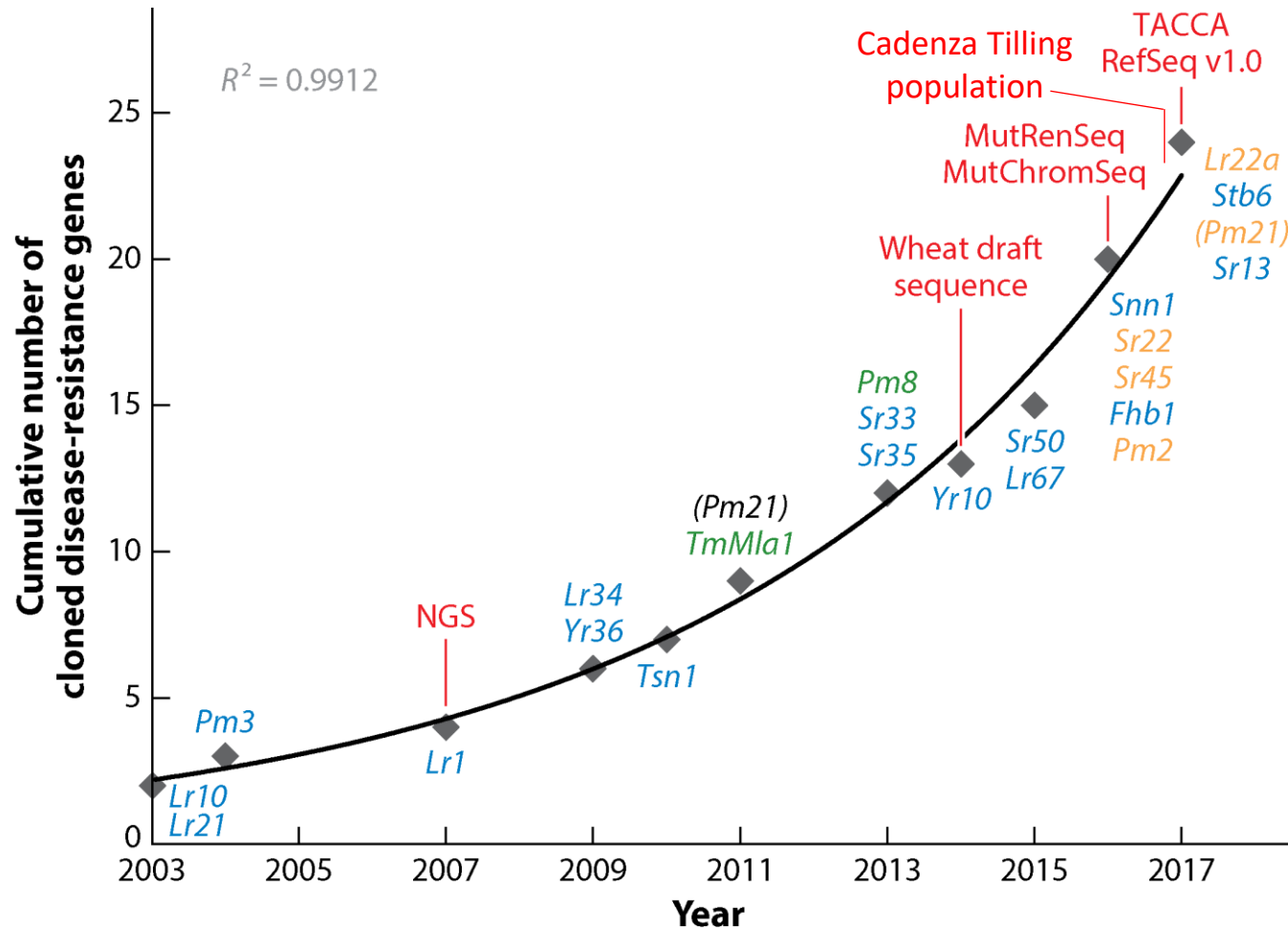
Causée par le champignon *Zymoseptoria tritici*
Perte de rendement moyenne de 1,5 t/hectare/an
Résistance qualitative et quantitative

Objectif du projet RenKSeq

- Mise au point d'une stratégie d'identification de gènes de résistance aux septorioses
- Identification de nouveaux gènes de résistance aux septorioses
- Identification de marqueurs diagnostiques pour ces nouveaux gènes



Identification de gènes de résistance chez le blé

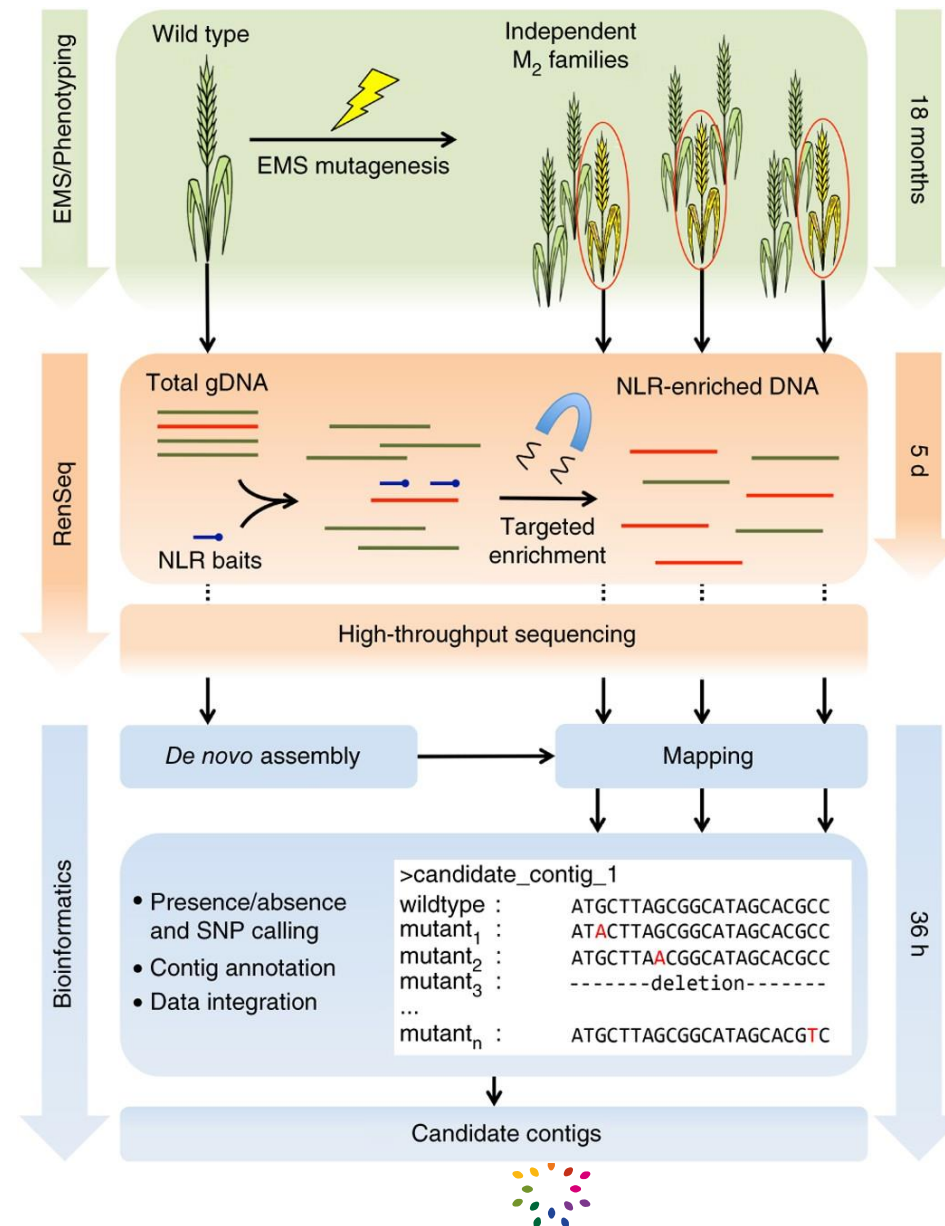


47 gènes de résistance identifiés chez le blé en 2021 (Hafeez et al. 2021)

- 30 NBS-LRR
- 3 tandem kinase
- 2 Wall associated kinase
- 2 Ankyrin transmembrane domain protein
- 1 MCTP-kinase
- 1 transmembrane protein
- 1 cysteine riche receptor like kinase
- 1 Protein kinase major sperm protein
- 1 Serine/threonine protein kinase-NLR
- 1 ABC transporter
- 1 Kinase START gene
- 1 Hexose transporter
- 1 Pore-forming toxin-like
- 1 Glutathione S-transferase



La stratégie MutRenSeq

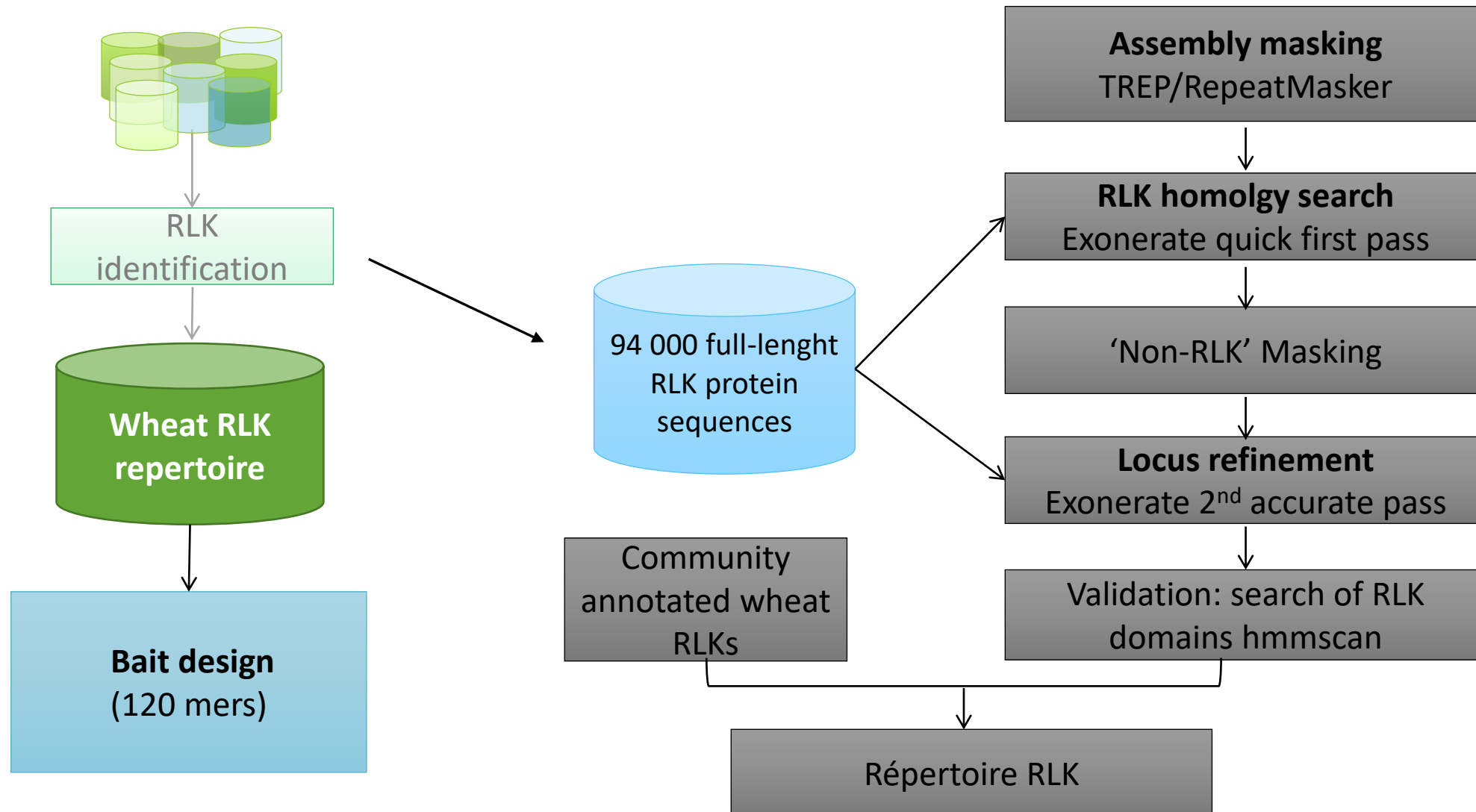


Structuration du projet RenKSeq

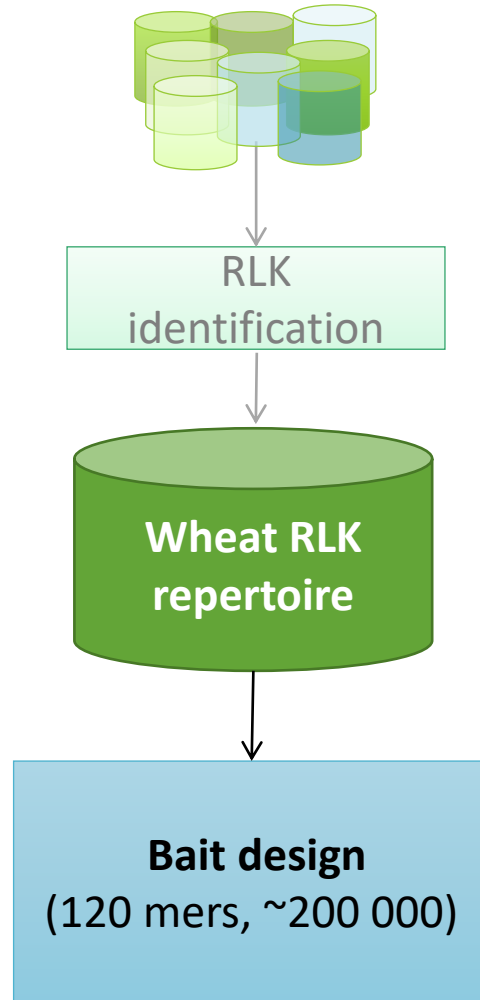
- Développement de l'outil de capture des gènes RLK
- Création et phénotypage des populations de tilling
- Identification des mutations chez les individus sensibles et identification de gènes candidats



Développement de l'outil de capture RLK



Développement de l'outil de capture RLK

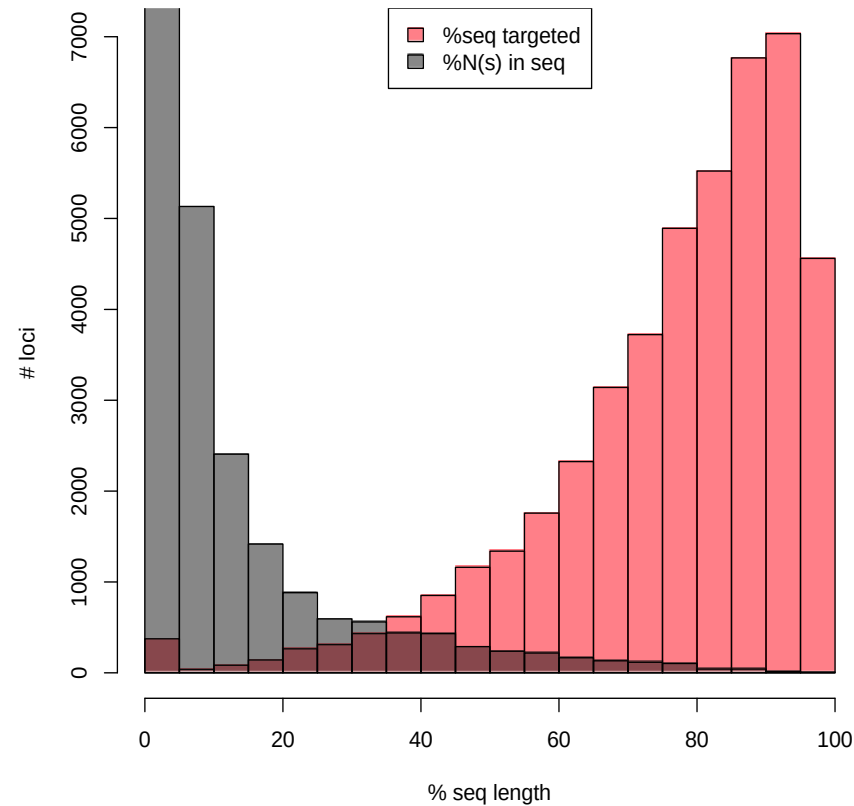


Assembly	Assembly size (pb)	RLK loci (pb)	RLK Loci
Chinese Spring IWGSC	14 347 606 634	23 254 210	6 445
Chinese Spring Earlham Institute	13 467 630 192	23 714 007	4 862
Zavitan	10 509 868 245	20 469 051	2 584
Cadenza	13 399 781 746	22 244 268	5 362
Claire	14 616 451 647	21 707 537	5 357
Kronos	10 540 467 196	14 940 058	3 706
Paragon	15 318 048 945	22 432 660	5 431
Robigus	14 791 409 785	21 874 636	5 281
Svevo	6 803 298 213	8 350 510	2 444
TGAC_WGS_durum_v1	3 386 481 085	458 483	426
TGAC_WGS_monococcum_v1	1 322 112 030	574 717	417
TGAC_WGS_speltoides_v1	1 907 878 214	552 288	426
TGAC_WGS_strongfield_v1	3 384 841 931	361 995	387
TGAC_WGS_tauschii_v1	1 200 221 237	665 015	441
TGAC_WGS_urartu_v1	1 657 029 501	686 599	445
TSL_WGS_sharonensis_v1	1 730 899 803	611 984	445
Bibliography sequences		2 286 202	831
Total	128 Gb	185 Mb	45 290



Développement de l'outil de capture RLK

Couverture par les séquences appâts des séquences RLK



Moyenne:

79.5%

Median:

83%

Max:

100%

1447 en dessous de 60%*

En moyenne >82% Ns



Développement de l'outil de capture RLK

	Number of read pairs	% reads mapped on CS IWGSC assembly	Pairs properly mapped on RLKome	% pairs mapped on RLKome	Max Depth on RLKome (X)
Chinese spring	3 445 819	84,84%	1 308 929	37,99	3 262
Pocho	3 436 686	79,20%	1 290 079	37,54	3 063
PI41025	4 015 234	74,96%	1 548 081	38,56	2 559
BG301	4 385 093	76,91%	1 708 645	38,96	1 931
W7984	2 354 737	78,80%	861 155	36,57	1 025
total pairs	17 637 569		6 716 889		
total bases	10 582 541 400				

Plus de 35% des lectures s'alignent sur le répertoire RLK



Développement de l'outil de capture RLK

Assembly	Size	n	L50	N50	Contigs with >60 % coverage with baits
Chinese spring	25 Mb	12907	2616	3148	7858
Pocho	30 Mb	15621	2971	3210	8577
PI41025	24 Mb	12698	2218	3339	5612
BG301	31 Mb	15637	2938	3345	8254
W7984	31 Mb	15125	2948	3276	8693

- **Assemblages assez similaires en terme de taille**
- **Taille des assemblages supérieure au nombre de RLK prédits par génome (de 6 à 10 K en fonction des génomes)**



Populations de tilling

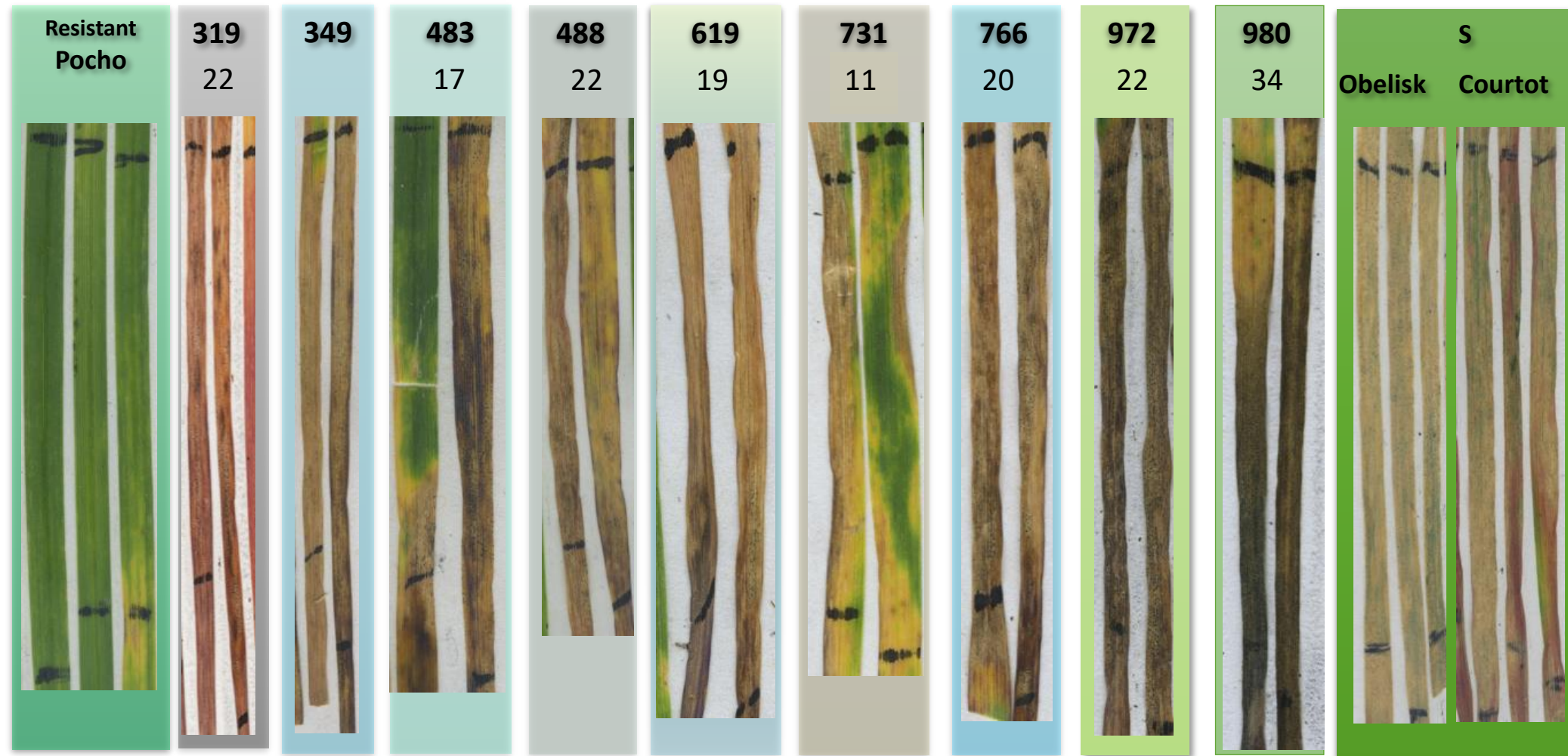
Accessions	Résistance	Taille de la population	Nombre de familles sensibles	Phénotypage
Pocho	Large spectre	911 M ₂	9	Plantule
BG301	<i>Snn2</i>	478 M ₂	7	Plantule
M6	<i>Stb8</i>	513 M ₂	0	Adulte
PI41025	Non connu	803 M ₂	0	Plantule
Cadenza	<i>Stb6</i>	1200 M ₅	7	Plantule



Production de la population Pocho



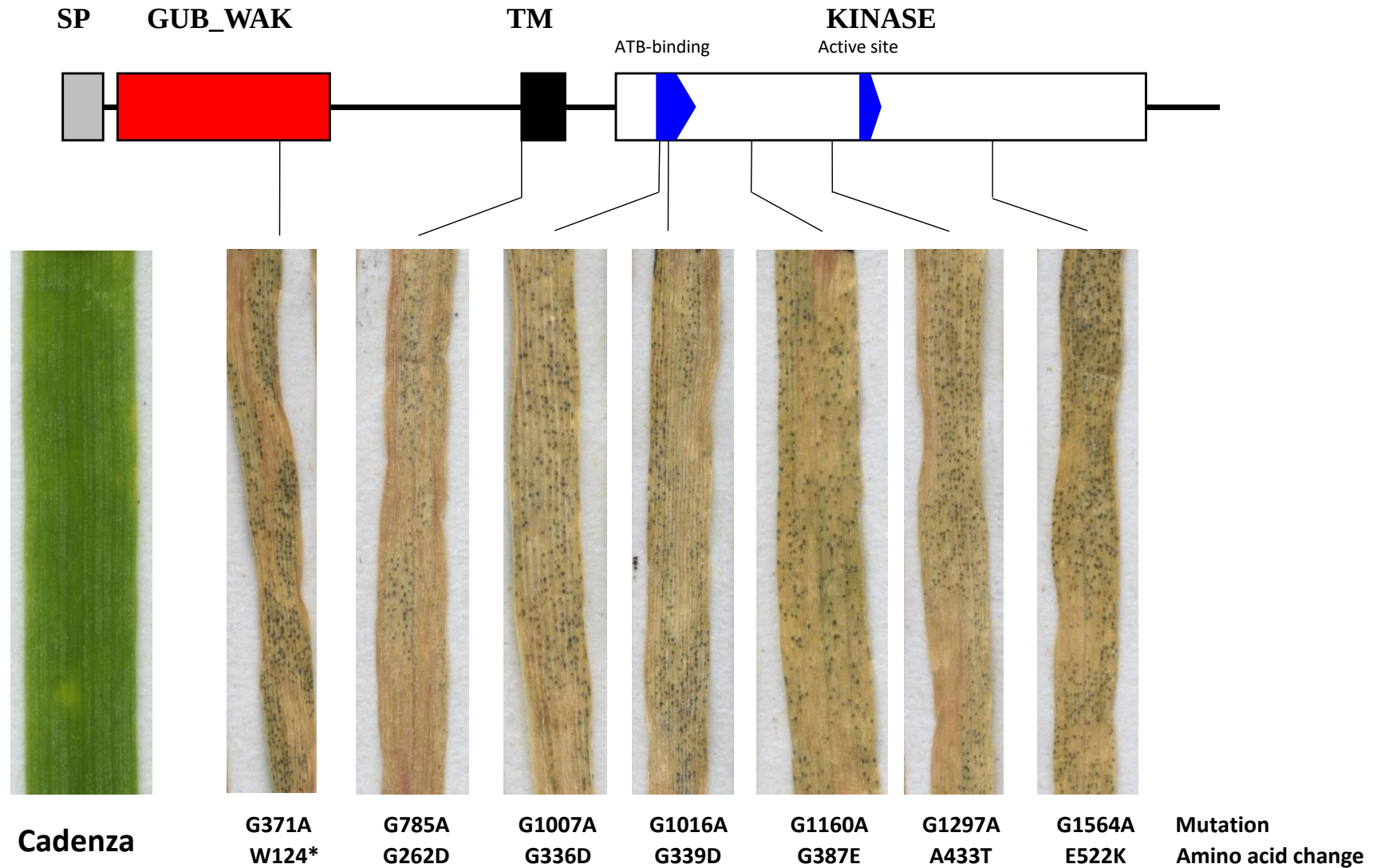
Phénotypage de la population Pocho (~10 000 plantes)



Phénotypage Champ



Re-Identification du gène *Stb6*



Re-Identification du gène *Stb6*

Mutant hunter pipeline ! (recherche de contigs portant une mutation chez l'ensemble des plantes sensibles identifiés)



1 contig !

Contigs	Length (kb)	Mutations compared to Cad	Chromosome localization	Number of predicted genes	Genes annotation
jcf7180002252066	16	9	3A	1	Stb6



Analyse des individus sensibles

Accessions	Résistance	Taille de la population	Nombre de familles sensibles	Phénotypage	Gènes candidat
Pocho	Large spectre	911 M ₂	9	Plantule	Plusieurs RLK avec au moins 1 mutation
BG301	<i>Snn2</i>	478 M ₂	7	Plantule	Non
M6	<i>Stb8</i>	513 M ₂	0	Adulte	-
PI41025	Non connu	803 M ₂	0	Plantule	-
Cadenza	<i>Stb6</i>	1200 M ₅	7	Plantule	Oui



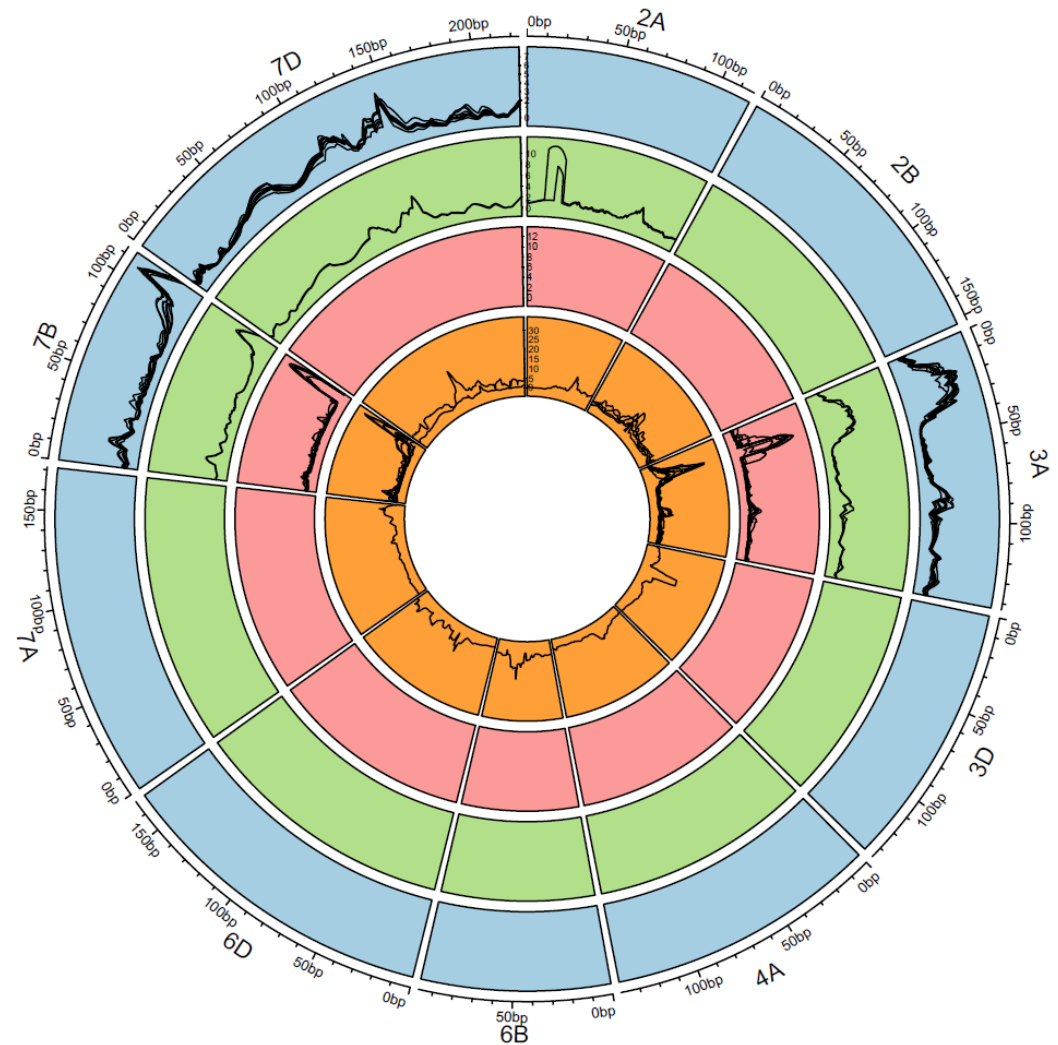
Génétique de la résistance chez l'accension Pocho

Population bi-parentale Pocho x Obelisk

Phénotypage au stade plantule avec trois souches de *Z. tritici*

Génotypage avec la puce 35K

2 QTL majeurs identifiés (3A et 7B)



Conclusion

- Mise en place d'un pipeline pour l'étude de la diversité des gènes RLK chez le blé
- Mise en place d'un pipeline pour l'identification de gènes majeurs Stb
- Identification de familles sensibles au sein des populations Pocho, BG301 et Cadenza
- Identification de QTL de résistance chez la variété Pocho montrant un large spectre de résistance vis-à-vis de la septoriose



Remerciements



Olivier Robert
Aurélie Evrard
Ellen Goudemand Dugué



Gert Kema
Lamia Aouini
Els Verstappen



Florence Cambon
Olivier Soudiere
Andrea Garavito
David Lopez



Delphine Hourcade



Burkhard Steuernagel
Brande Wulff



Justin Faris



