

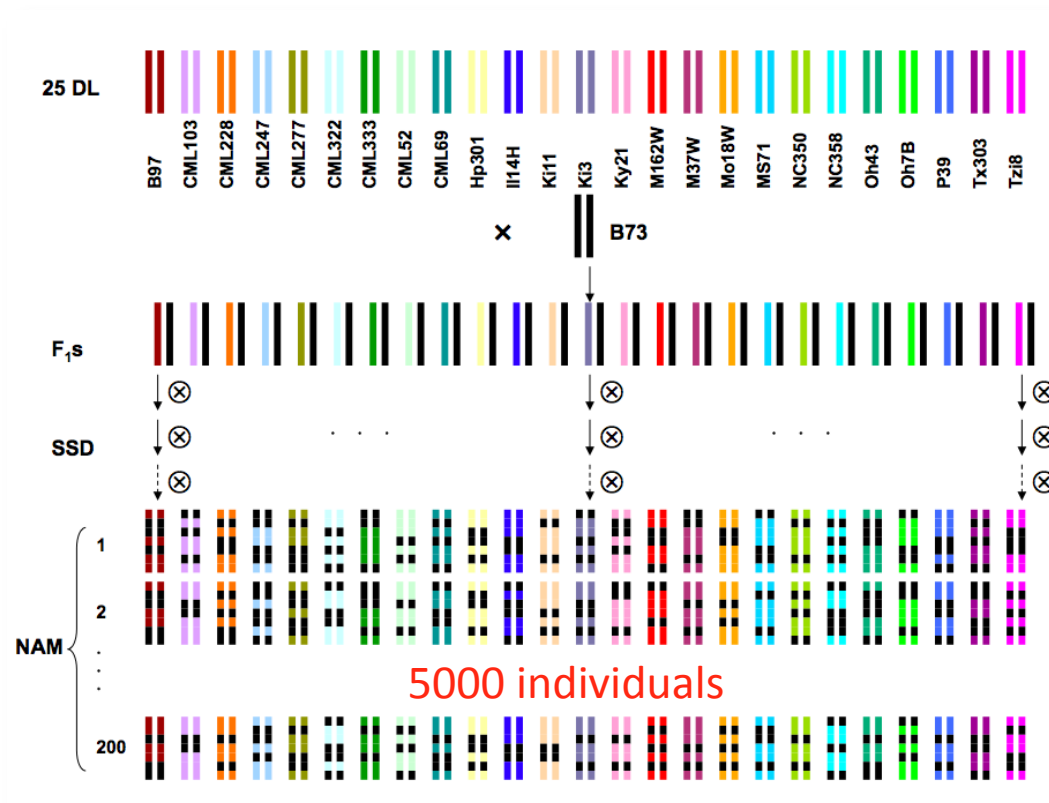
Generation Challenge Programme Research Initiative II :

Amélioration de la productivité et de la qualité du grain de sorgho dans les régions soudano-sahéliennes.

# Génotypage par séquençage d'une grande population (BCNAM) de sorgho.



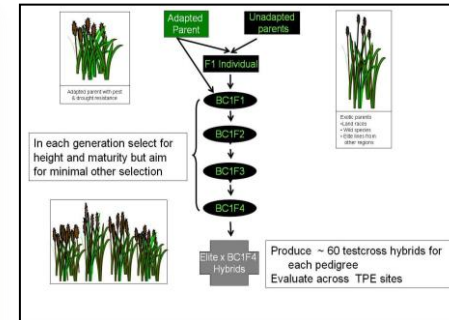
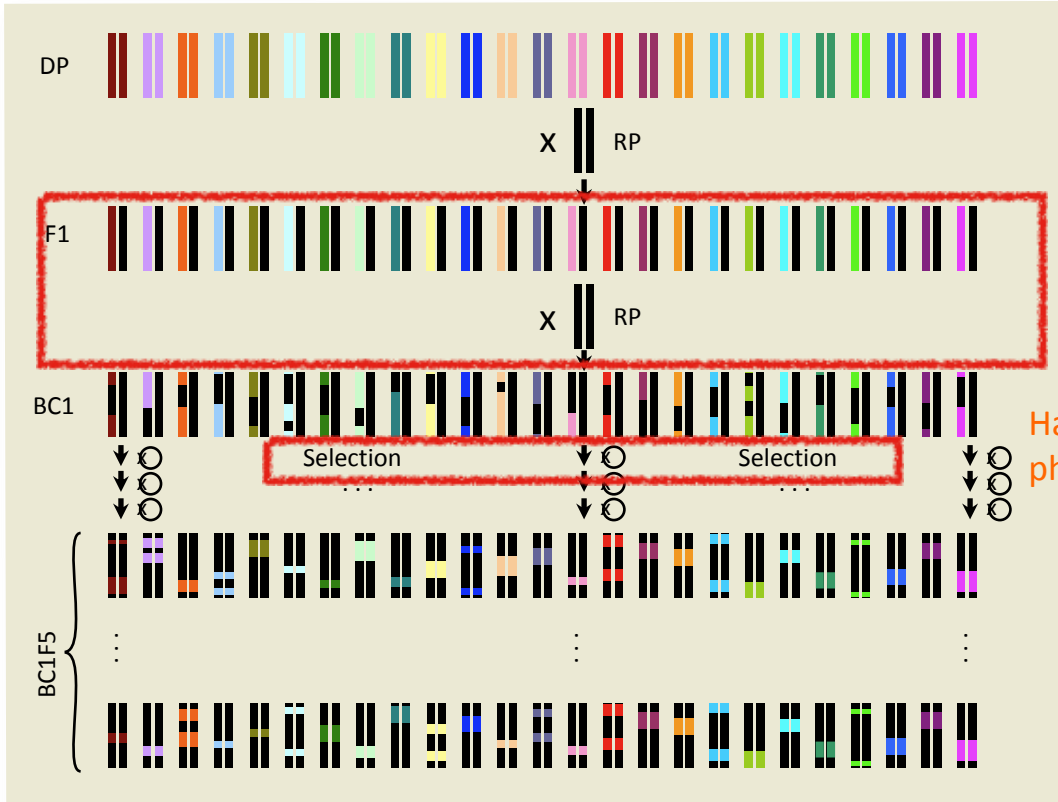
# Le design Nested Association Mapping du maïs



Yu et al., 2008. Genetics 178: 539–55

- Diversité allélique : large éventail de parents différents
- Équilibré : pas d'effet de structure
- Haute résolution : grand nombre d'individus

# Le design du BC Nested Association Mapping du sorgho



Hauteur des plantes  
photopériodisme

## Exploring and Exploiting Genetic Variation from Unadapted Sorghum Germplasm in a Breeding Program

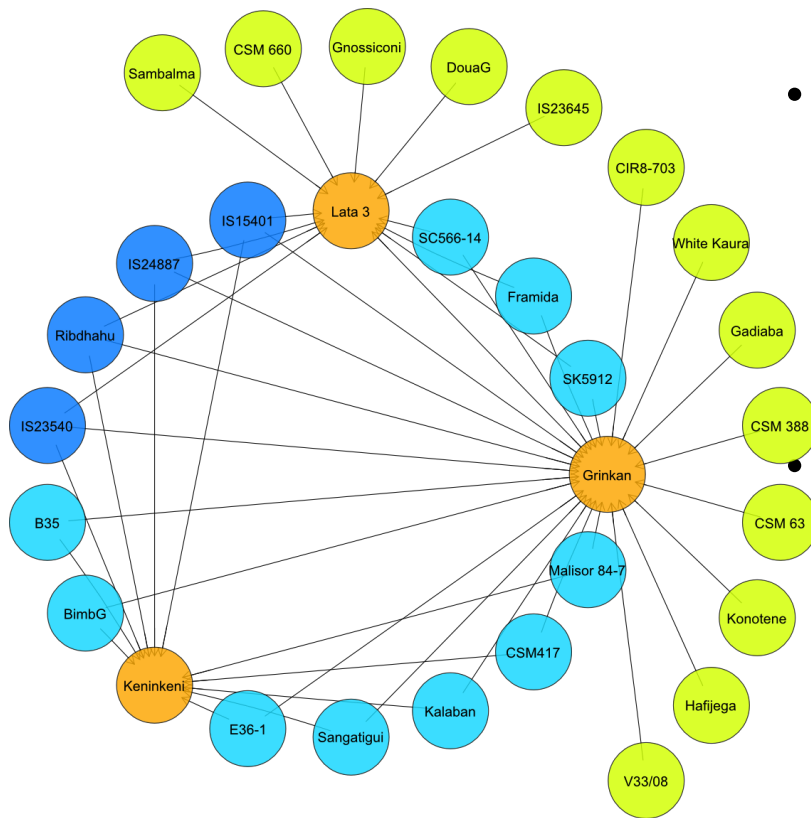
D. R. Jordan,\* E. S. Mace, A. W. Cruickshank, C. H. Hunt, and R. G. Henzell

**Supermodels: sorghum and maize provide mutual insight into the genetics of flowering time**

E. S. Mace · C. H. Hunt · D. R. Jordan

- Multiallelique
- Equilibré
- Haute résolution
- Adapté
- Matériel amélioré

# Schéma de croisement BCNAM



- **3 parents récurrents (*Grinkan, Keninkeni et lata*)**
  - Idéotypes locaux (adaptés à la zone)
  - Élites (meilleurs des programmes de recherche/qualité du grain)
- **30 parents donneurs (*20 maliens, 10 reste Afrique*)**
  - Diversité génétique de la zone Soudano-Sahélienne
  - Caractères d'intérêt agronomique

**Matériel expérimental avec une grande diversité dans un fond génétique élite  
47 populations → plus de 5000 familles en BC1F4**

# Phenotypage Mali 2013

Kolombada,  
(22.08.2013)



- Rendement
- Qualité du grain
- Maturité
- Hauteur
- Nombre de feuilles vertes à maturité...



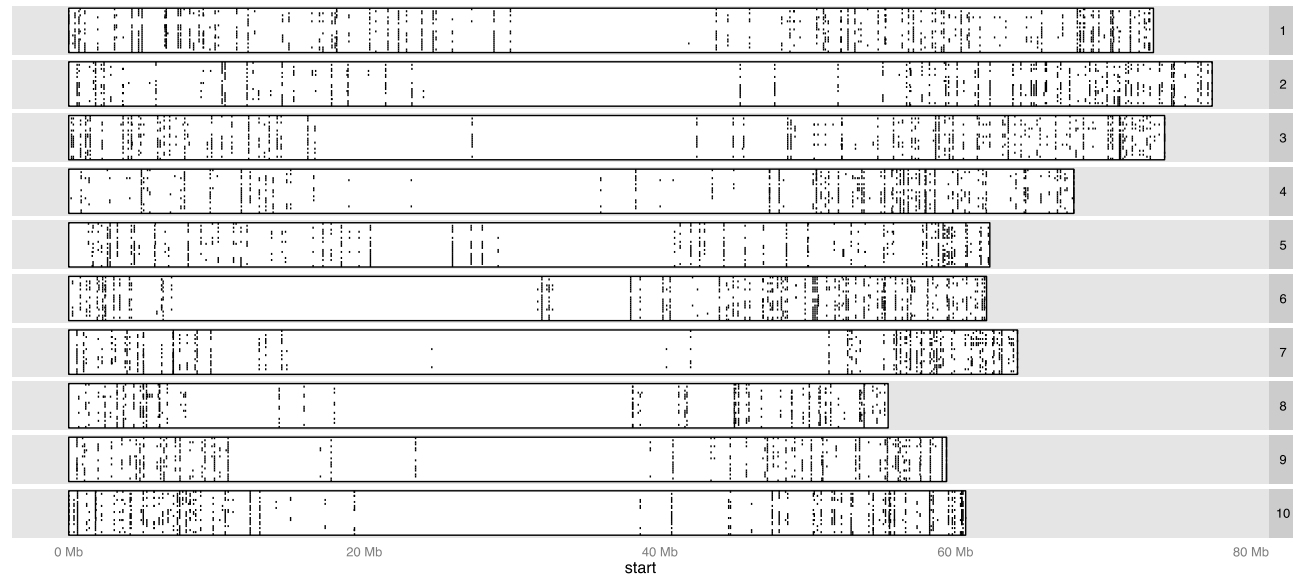
Samanko-LowP (14 .09.2013)



Samanko-HighP (14 .09.2013)

# Options de Génotypage

- Objectif : Densité de génotypage sur les descendants modérée (200 à 500 marqueurs répartis sur tout le génome)
- SNP Kaspar : 1400 marqueurs disponibles chez le sorgho (0.10 €/DP)



- Peut-on faire aussi bien ou mieux en GBS pour moins cher ?

# Echantillonnage...

4800 familles : Novembre 2013-Février 2014

Semis 30 graines

Objectif 20 plantes  
(représentativité de  
la famille)



... 3 semaines plus tard...





# ...Echantillonnage

3 racks:

- Principal → extraction
- 2 backups:
  - Un -80°C
  - Un Lyoph

Prélevement 20 disques en bulk (sandwich)

Sens remplissage  
 Vertical  
 Horizontal

Plaque courante 2

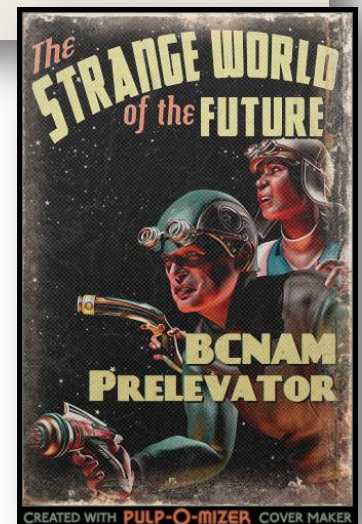
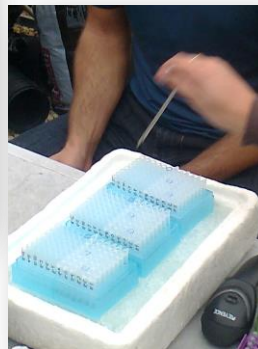
Puit courant B02

Echantillon :  dans **B02**

	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12
A	447	438	401	498	294	491	357	194	183	172	226	BC38-185
B	449	417	396	390	Blanc	313	101	108	182	204	203	BC38-181
C	450	430	387	261	380	332	105	127	184	181	202	201
D	451	463	384	375	502	465	100	189	185	169	235	Blanc
E	452	Blanc	383	389	473	472	102	190	135	200	197	216
F	453	419	407	471	337	388	104	187	192	196	BC39-01	BC38-188
G	454	428	415	271	347	490	123	188	160	179	221	234
H	460	492	346	298	263	283	103	191	215	218	222	BC38-189

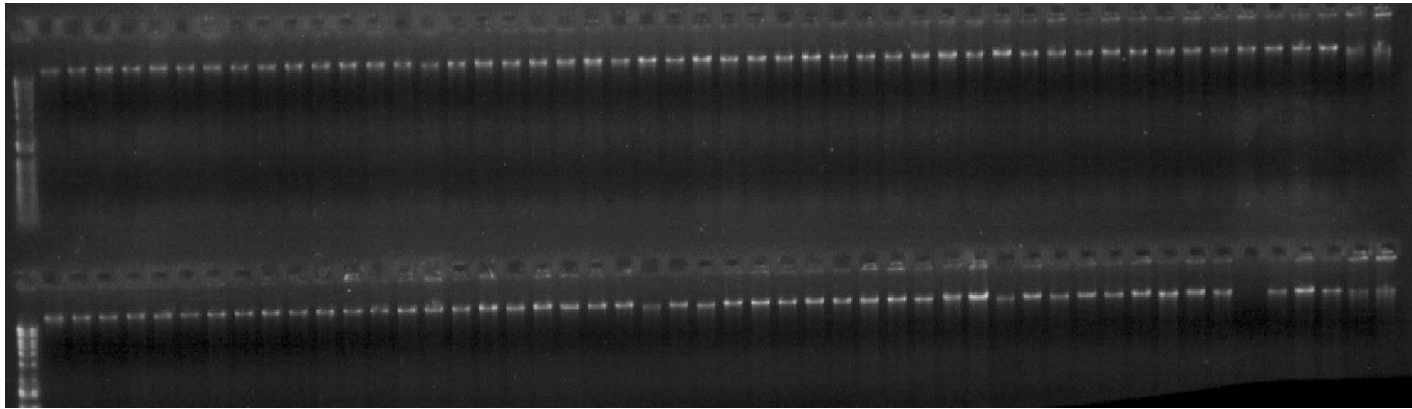
About

Editer Position



# Construction des banques

- Extraction Matab classique.
- Normalisation :

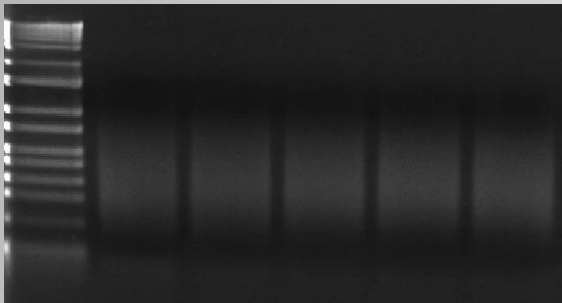


- ApeKI – 61plex pour les parents (6 x chacun dans 384)
- ApeKI – 384plex pour la descendance : 13 banques en cours

# Vérification des banques GBS



- Gel d'agarose

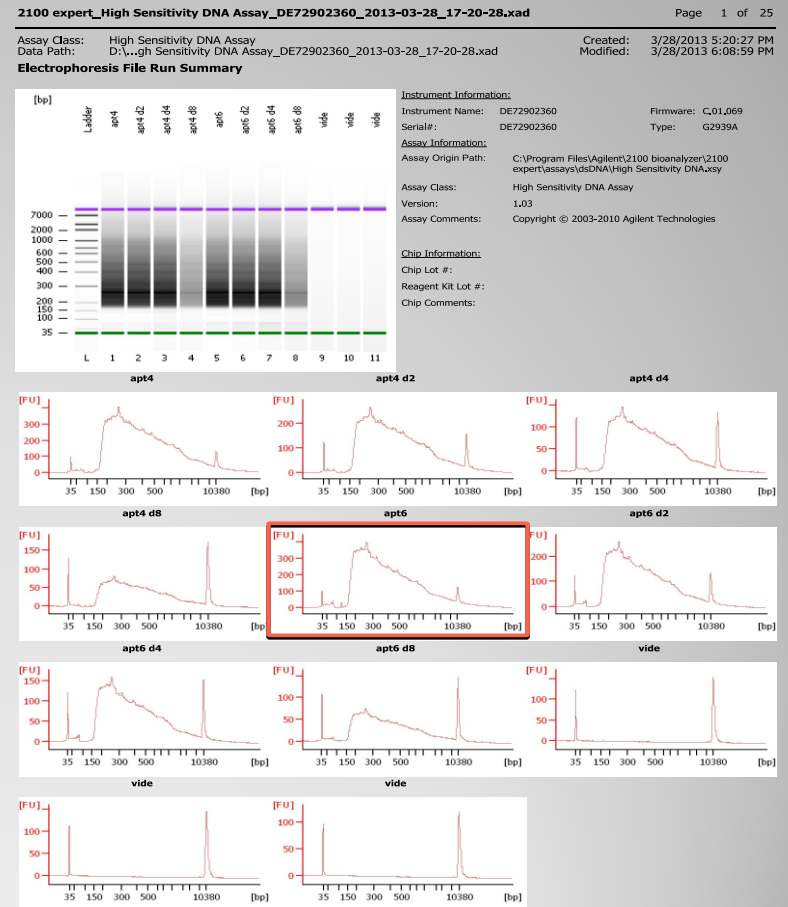


- Vérification quantitative: Dosage par qPCR avec le Kit de Kapa de la banque

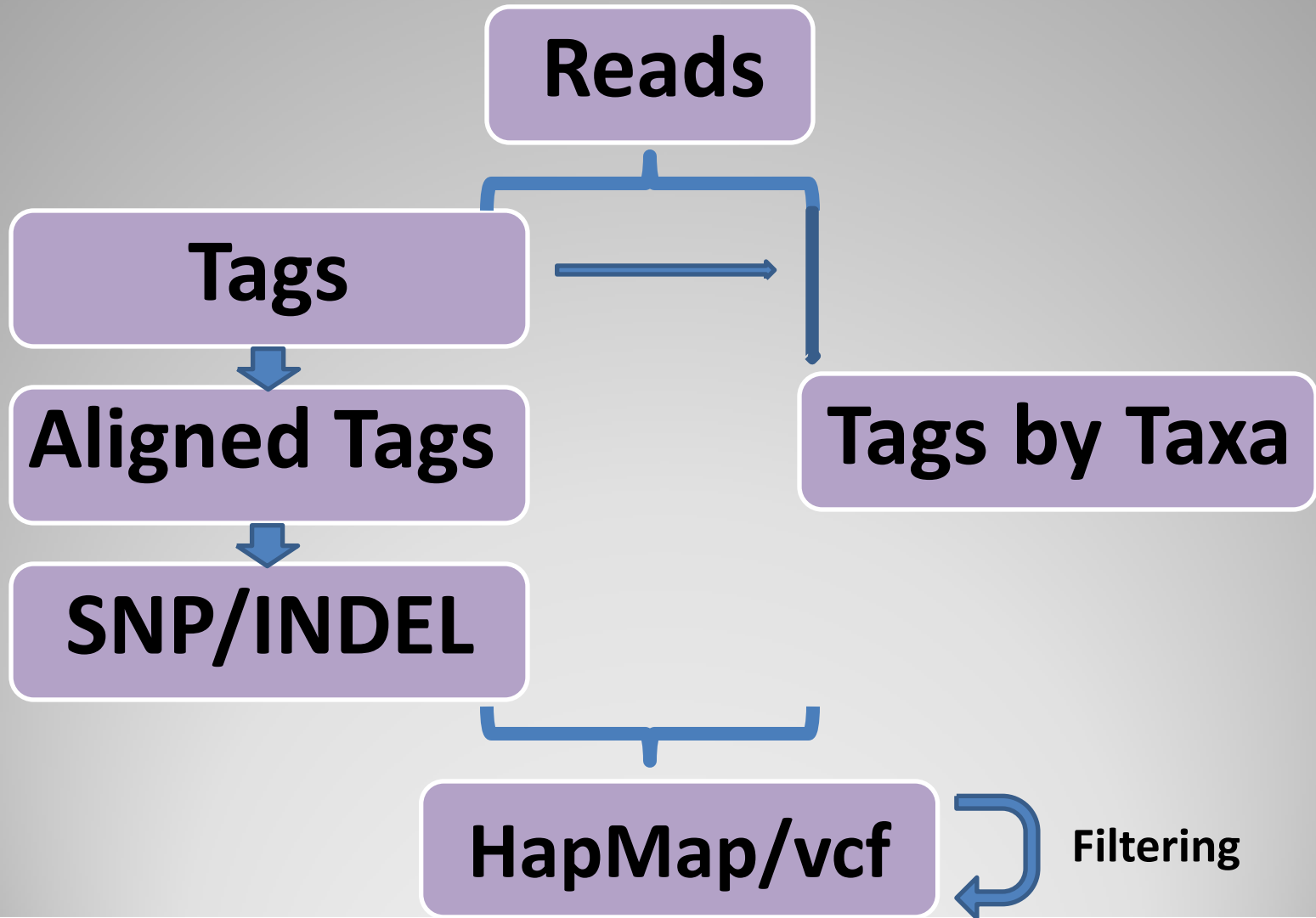


- Séquencage high seq2000

## - Bioanalyseur (Qualitatif)



# Schéma simplifié du Pipeline Tassel



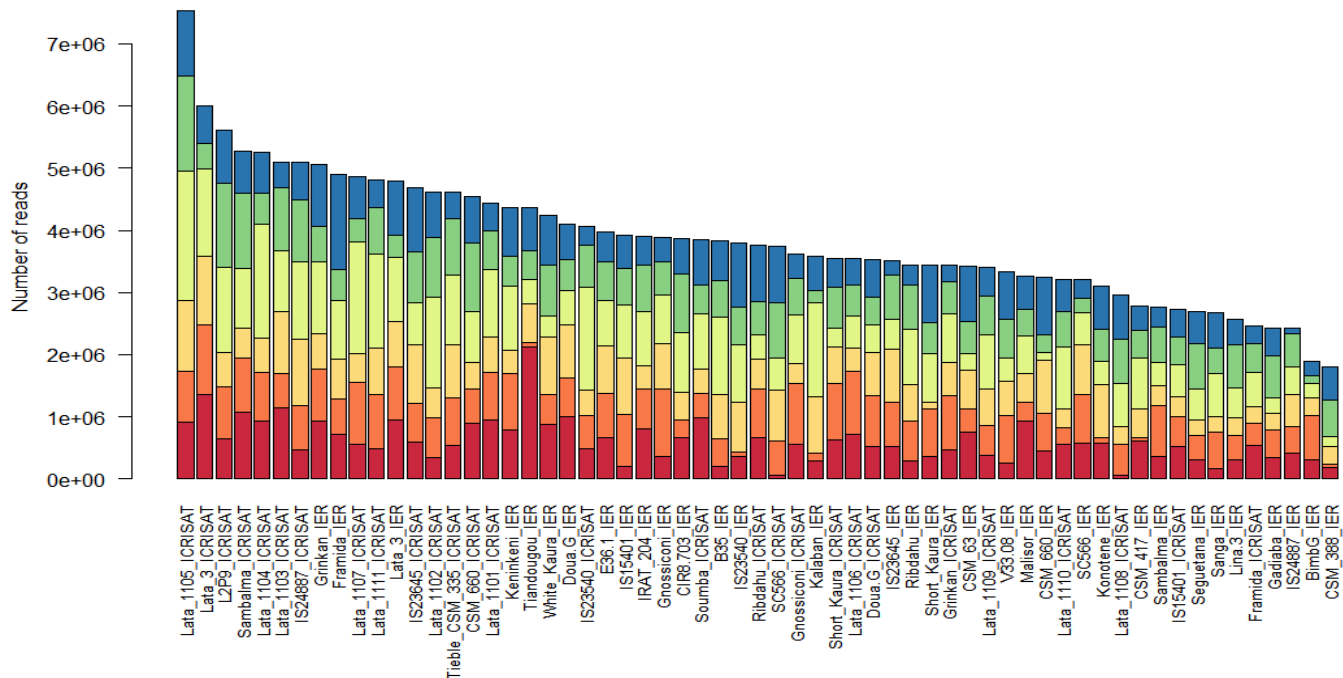
# Résultats obtenus : banque parents

213 802 104 reads en sortie de séquenceur

1 849 406 tags

19 740 224 reads en sortie de pipeline

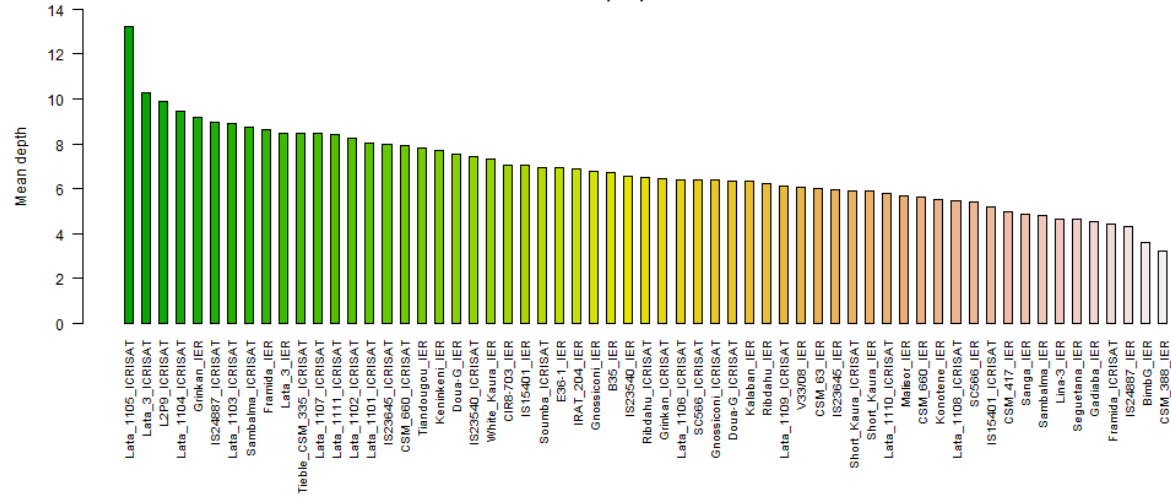
Number of reads per individual and per sample



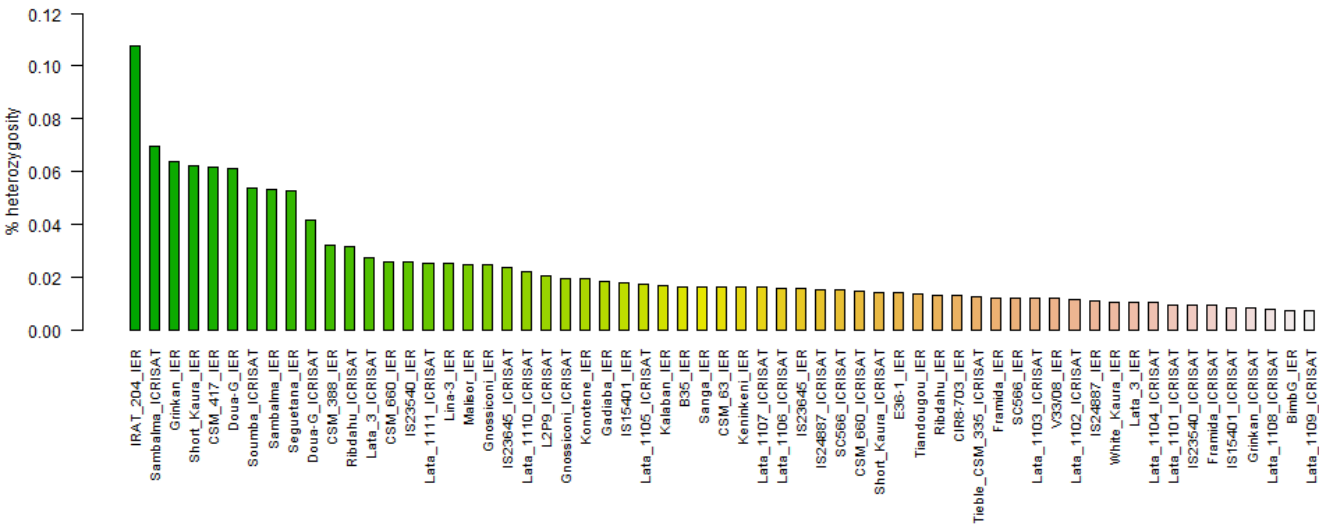
# Résultats obtenus : banque parents

Profondeur et hétérozygotie par individus

Mean depth per individual

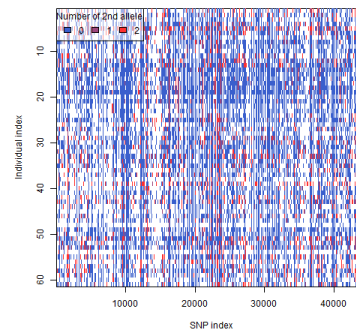
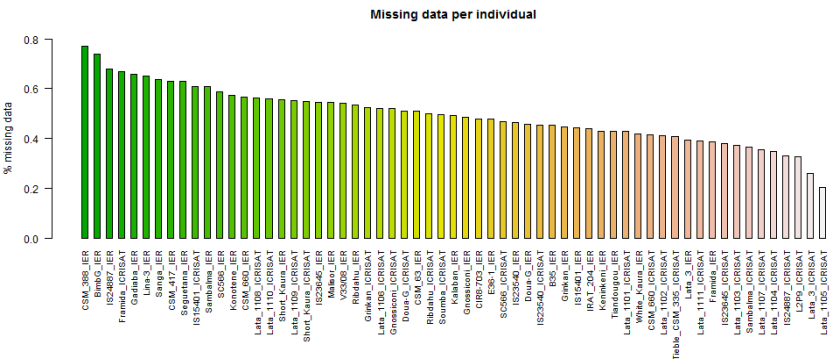


Heterozygosity per individual

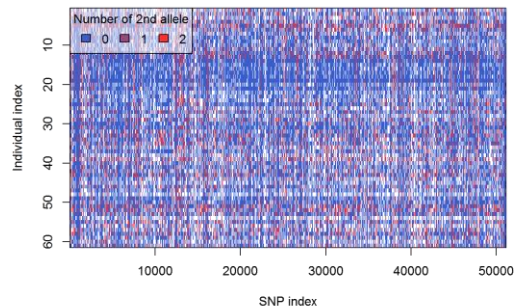
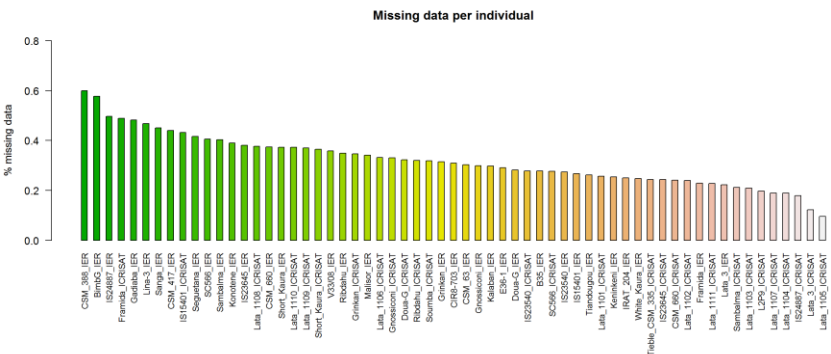


# Résultats obtenus : banque parents

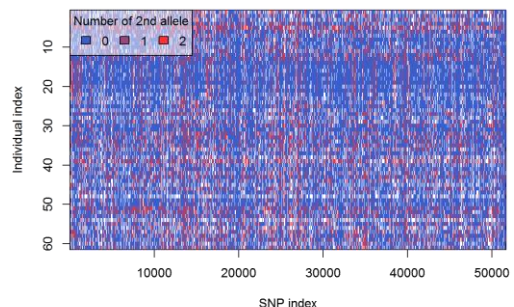
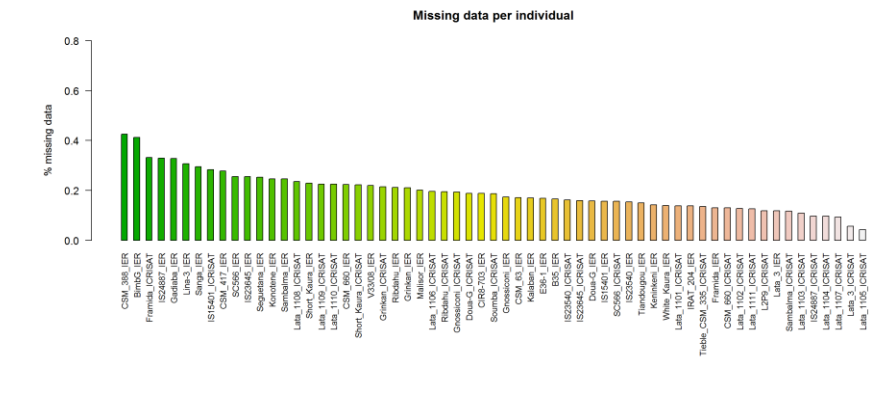
effet de la profondeur sur les données manquantes



5X



3X

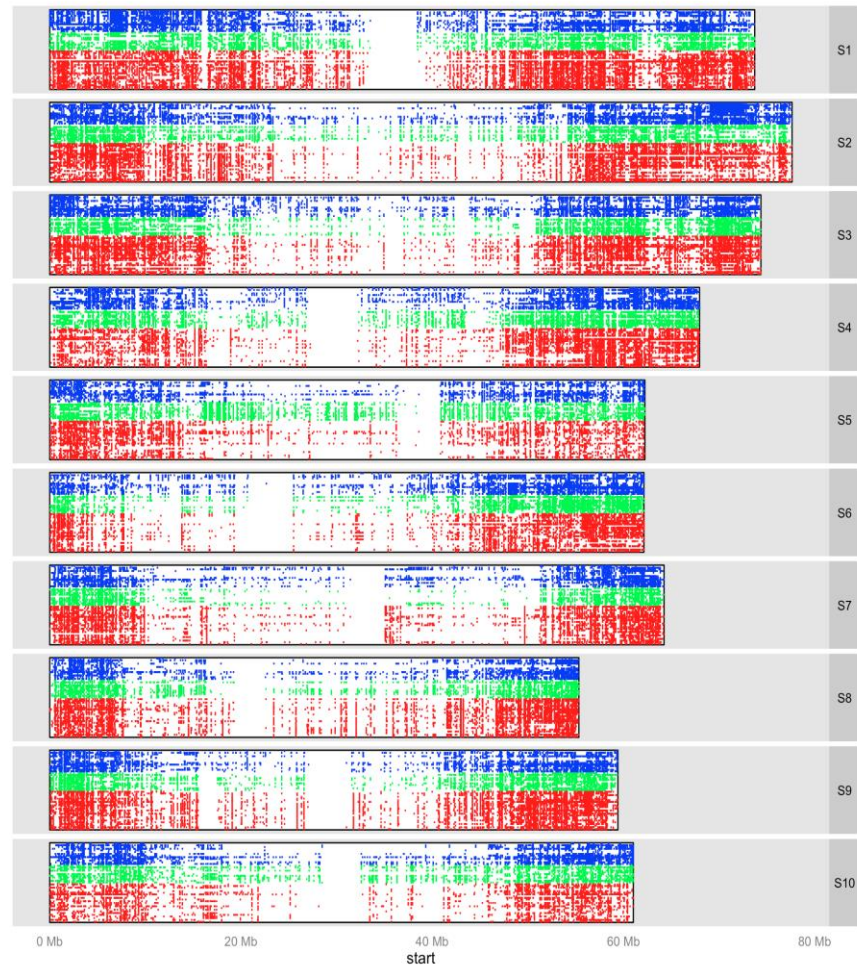


2X

# Résultats obtenus : banque parents

Répartition des marqueurs polymorphes :

Recurrent parent		Lata-3	Grinkan	Keninkeni
Donors		# BC1F4 families	# BC1F4 families	# BC1F4 families
Grinkan	Common	5197	--	--
Lata3	Common	--	5496	--
Keninkeni	Common	--	--	--
E36	Common	--	3439	4515
Framida	Common	3601	4497	--
IS15401	Common	3690	5527	4484
IS23540	Common	5642	3342	4582
IS23645	Common	10269	7453	--
SC566	Common	5366	4132	--
SK5912	Common	3923	4359	--
IS24887	Common	6241	3527	2709
White Kaura	Common	--	4904	--
Ribdahu	Common	5504	3879	4300
Tieble (CSM 335)	ICR. Spec.	--	--	--
Ngolofing (CSM660)	ICR. Spec.	2615	--	--
DouaG	ICR. Spec.	2556	--	--
Gnossiconi	ICR. Spec.	2496	--	--
L2P9	ICR. Spec.	--	--	--
Sambalma	ICR. Spec.	6302	--	--
Soumba(CIRAD 406)	ICR. Spec.	--	--	--
Tiandougou	IER Spec.	--	--	--
V33/08	IER Spec.	--	3735	--
Sanga	IER Spec.	--	3105	2461
Kalaban	IER Spec.	--	3172	4133
Malisor	IER Spec.	--	3291	4025
BimBG	IER Spec.	--	2894	2079
B35	IER Spec.	--	5712	5567
Konotene	IER Spec.	--	3922	--
CSM417	IER Spec.	--	3834	2449
CSM63	IER Spec.	--	4610	--
CSM388	IER Spec.	--	2348	--
Gadiaba	IER Spec.	--	3667	--
CIR8-703	IER Spec.	--	4785	--
Moyenne		4263	4158	3755







# Conclusion et perspectives

- Validation de la technique
- Bonne répartition et nombre de marqueurs
- Moindre coût....8 euros/ind ....pari gagné !!
  
- Production des données en cours sur les descendants en 384plex.
- Identifier les régions des génomes associées aux caractères de productivité et de qualité du grain
  
- GBS'thon mis en place avec l'équipe bioinfo

# Bilan de l'activité 2013-2014



## Activité GBS au sein du GPTR:

Projet	esp.	enzyme	plex	nb de lanes
Tolsel France Agrimer	riz	Apekl/PstI	96	8
Riz AM: Diversité Madagascar Arcad	riz	Apekl/PstI	96	16
Mime	riz	PstI	96	3
BFF	Sorgho	Apekl	96	3
BCNAM GCP	Sorgho	Apekl	384	5
Hévée-carto Pb260xRO38 Arcad sp5	Hévée	Apekl	96	3

Projet à venir sur Sorgho, Riz, Cacao, Vignes et Citrus

- **Coût d'une library GBS standard comprenant le séquençage\***: (\*À adapter selon l'espèce travaillée)

**En 96 plex, ~23 euros /individus**

**En 384 plex, ~8 euros /individus**

- **Séquençage sur HiSeq2000 en single read (90% des projets):**

**Plateforme Genotoul de l'INRA de Toulouse**

**MGX Montpellier**

- **Analyse des séquences sur le Cluster de Calcul Southgreen (Tassel, Stacks, GATK, Artik)**

# Remerciements

Jean François RAMI

Michel Vaksman

Caroline Calatayud

Ronan Rivalan

Baptiste Guitton

Pierre Mournet

...les jardiniers de l'UMR AGAP

Merci de votre attention !