

Selezione assistita per il breeding del pioppo per produzioni di qualità

Chiara Biselli

**ATTUALITÀ IN PIOPPICOLTURA:
TERRITORIO E MIGLIORAMENTO GENETICO
4 Luglio 2024
CREA-FL, Casale Monferrato**

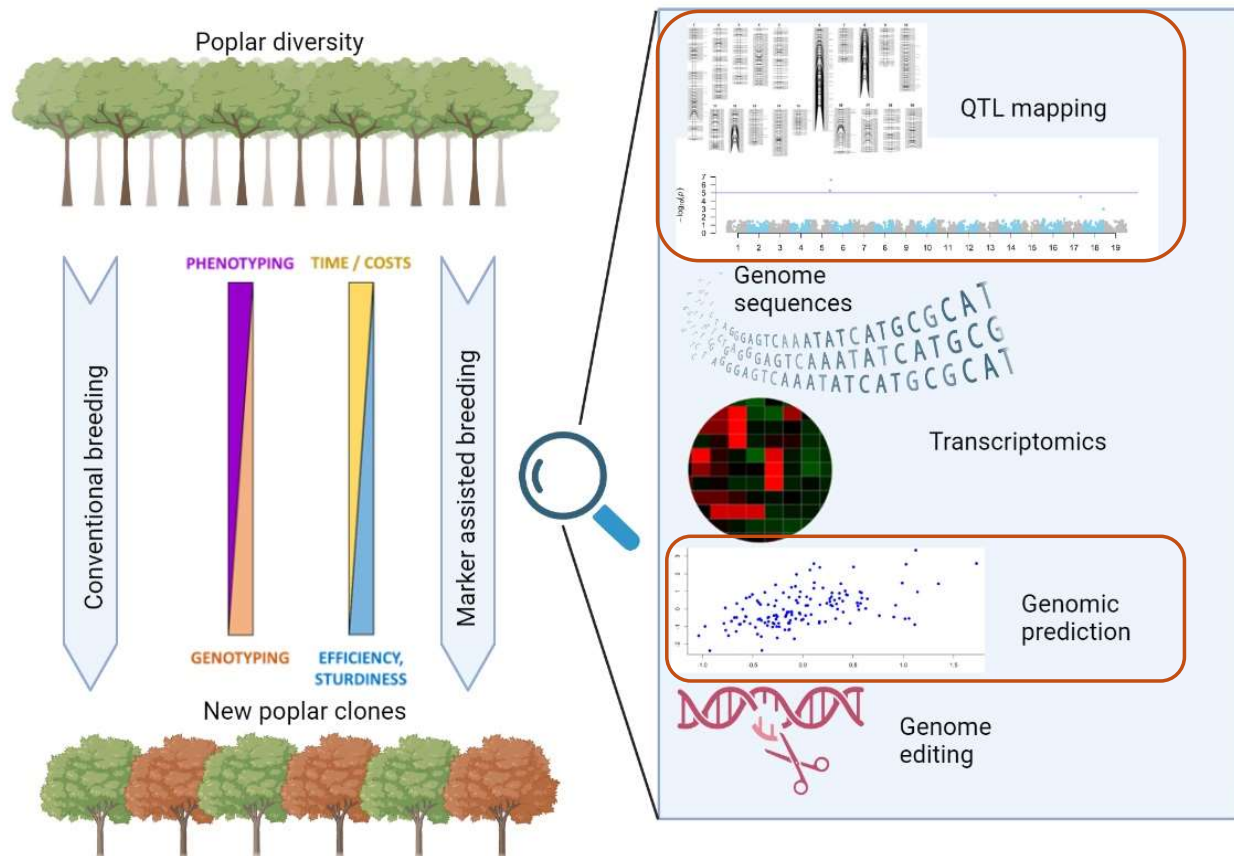


Breeding classico vs Molecular breeding

Selezione fenotipica tradizionale

Anni 1-2	Selezione per risposta a ruggine in semenzaio
Anni 3-4	Selezione per risposta a ruggine e Marsonnina e portamento
Anno 5	Costituzione ramet
Anni 7-8	Selezione per risposta a ruggine e Marsonnina, crescita, portamento (nurseries). Costituzione delle piantagioni di prima selezione
Anni 9-10	Selezione per risposta a WPA in condizioni controllate
Anno 12	Costituzione di piantagioni di seconda selezione
Anno 13	Valutazione del sesso in piantagione (prima selezione)
Anno 15	Valutazione della qualità del legno (prima selezione)
Anno 17	Valutazione della qualità del legno (seconda selezione)
Anno 18	Selezione finale e costituzione di cloni commerciali

Selezione basata su marcatori molecolari



Biselli et al., 2022 <https://doi.org/10.3390/plants11152032>

Un **Marcatore Molecolare** è un locus genomico rilevabile con sonde o primer specifici, che contraddistingue quel tratto cromosomico. La presenza del **Marcatore Molecolare** si basa sulla rilevanza di polimorfismi nel DNA di un individuo o tra individui.



Fingerprinting – identificazione varietale

discriminazione clonale mediante microsatelliti (SSR)

Forward primer

Forward primer

Forward primer

...GCTCCAGGCCTTAAGACTTCTTCTTCTTTCTTCTTCTTCGCACTTTAAACGATACGG...
...CGAGGTCCGAATTCTGAAGAAGAAAGAAAGAAAGAAAGCGTGAAATTGCTATGCC...
Reverse primer

Sequenziamento del genoma del pioppo



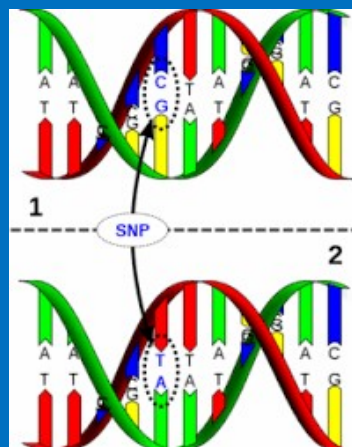
Tuskan et al., 2006 doi:10.3390/plants11152032

Sequenziamento del genoma del pioppo



Tuskan et al., 2006 doi:10.3390/plants11152032

SNP (Single Nucleotide Polymorphism)

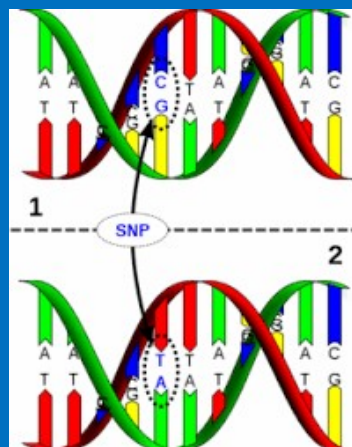


Sequenziamento del genoma del pioppo



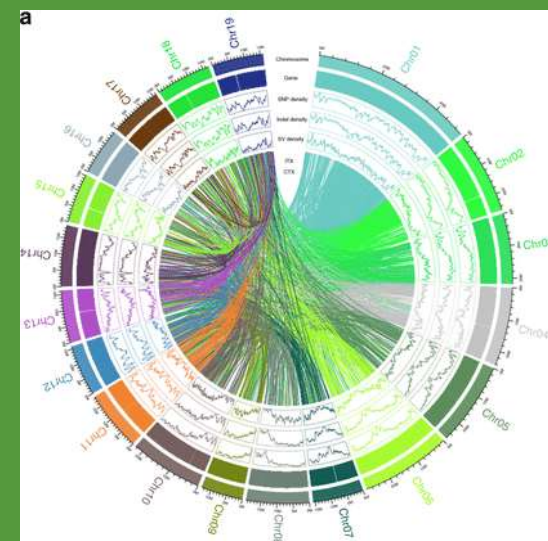
Tuskan et al., 2006 doi:10.3390/plants11152032

SNP (Single Nucleotide Polymorphism)



Vantaggi:

- ✓ Numerosi
- ✓ Distribuiti su tutto il genoma
- ✓ Mutazioni funzionali
- ✓ Facili da da analizzare
- ✓ Basso costo





Poster online

Development of a new tool (4TREE) for adapted genome selection in European tree species

Authors

R. Guilbaud¹, C. Biselli², J. Buiteveld³, L. Cattivelli⁴, P. Copin⁵, A. Dowkiw⁶, D. Esselink⁷, A. Fricano⁸, V. Guerin⁹, V. Jorge⁵, L.J. Kelly^{4,7}, L. Kodde⁵, C.L. Metheringham^{6,7}, S. Pinosio⁸, O. Rogier⁹, V. Segura⁵, I. Spanu⁶, R.J.A. Buggs^{6,7}, S.C. González-Martínez², G. Nervo², M.J.M. Smulders³, L. Sanchez Rodríguez², G.G. Vendramin⁸, P. Faivre Rampant^{1*}

* Corresponding author: Patricia.Faivre-Rampant@inrae.fr

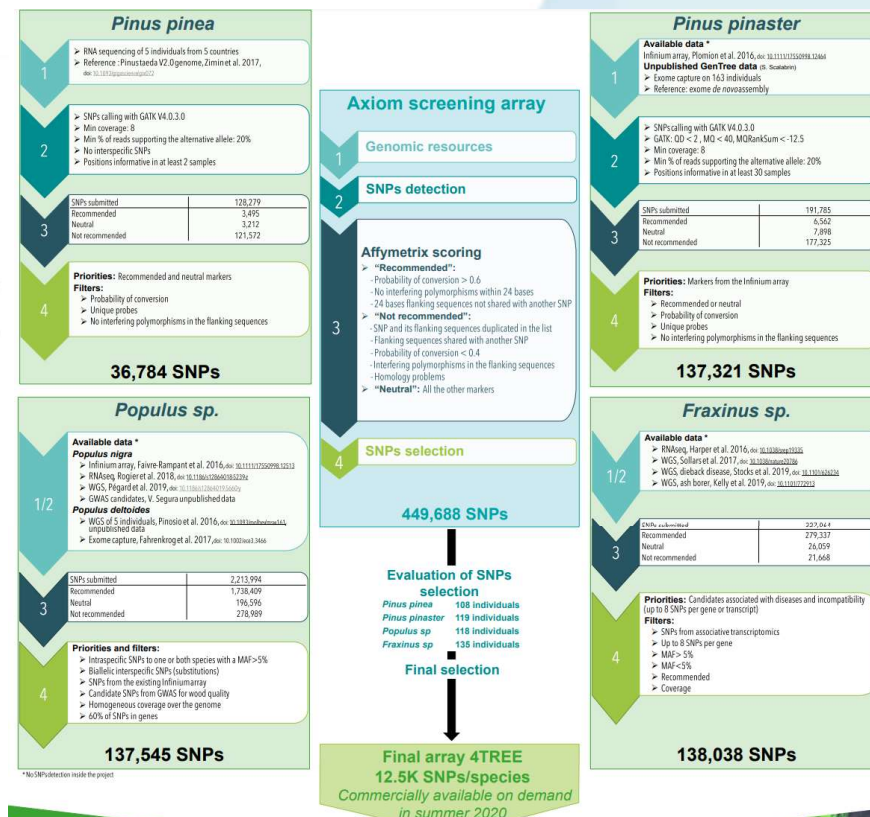
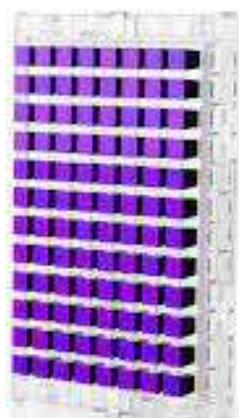
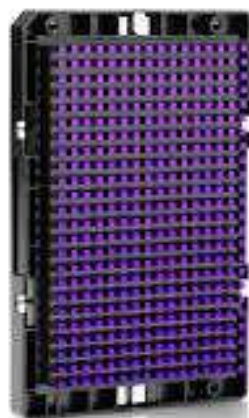
Objective of the 4TREE array: To create a useful, affordable, high-throughput, robust (cross platform utilization), user-friendly and largely reusable genotyping tool for *Populus sp.*, *Fraxinus sp.*, *Pinus pinaster* and *Pinus pinea*, fostering collaboration between breeding programs across Europe.

Uses: Genome wide association studies, genomic predictions, monitoring and characterizing novel sources of variation.

This array will be used in B4EST for genotyping trees for multi-trait genotype-phenotype and genotype-environment association analyses to pinpoint genome regions related to the performance and adaptation in breeding.

The development of this **Axiom array** is a two step process: one step is the design of a **screening array** (450K SNPs, 480 individuals) to identify robust SNPs for the construction of one **final array** (12.5K SNPs/species) in a second step. This poster presents the screening array.

**13.409 SNP
distribuiti sul
genoma del
pioppo**



L'afide lanigero del pioppo – Woolly poplar aphid (WPA)

L'afide lanigero del pioppo (in inglese woolly poplar aphid – wpa), *Phloeomyzus passerinii*, colonizza le piante adulte a partire da lesioni nella corteccia, di solito a livello dell'inserzione dei rami più bassi a 5-6 metri di altezza.

Per nutrirsi, l'afide inietta una saliva tossica che causa la suberizzazione della corteccia e, nei casi più gravi, la rottura e la necrosi di quest'ultima. Il risultato finale è rappresentato dall'interruzione della circolazione di acqua e nutrimenti.

L'attacco di wpa ha un forte impatto sulla resa e la qualità del legno e può causare una perdita di produzione fino al 12%.

Le situazioni più gravi si verificano in Europa e negli Stati Uniti, dove la maggior parte dei cloni coltivati è suscettibile.



RESEARCH ARTICLE

QTLs for Woolly Poplar Aphid (*Phloeomyzus passerinii* L.) Resistance Detected in an Inter-Specific *Populus deltoides* x *P. nigra* Mapping Population

Giorgia Carletti¹, Andrea Carra^{1*}, Gianni Allegro¹, Lorenzo Vietto¹, Francesca Desiderio², Paolo Bagnaresi², Alberto Gianinetti², Luigi Cattivelli², Giampiero Valè^{2,3}, Giuseppe Nervo^{1*}

1 Council for Agricultural Research and Economics (CREA)-Research Unit for Intensive Wood Production, Casale Monferrato (AL), Italy, **2** Council for Agricultural Research and Economics (CREA)-Genomics Research Centre, Fiorenzuola d'Arda (PC), Italy, **3** Council for Agricultural Research and Economics (CREA)-Rice Research Unit, Vercelli, Italy

* Current address: National Research Council of Italy (CNR), Institute for Sustainable Plant Protection, Torino, Italy

* giuseppe.nervo@crea.gov.it

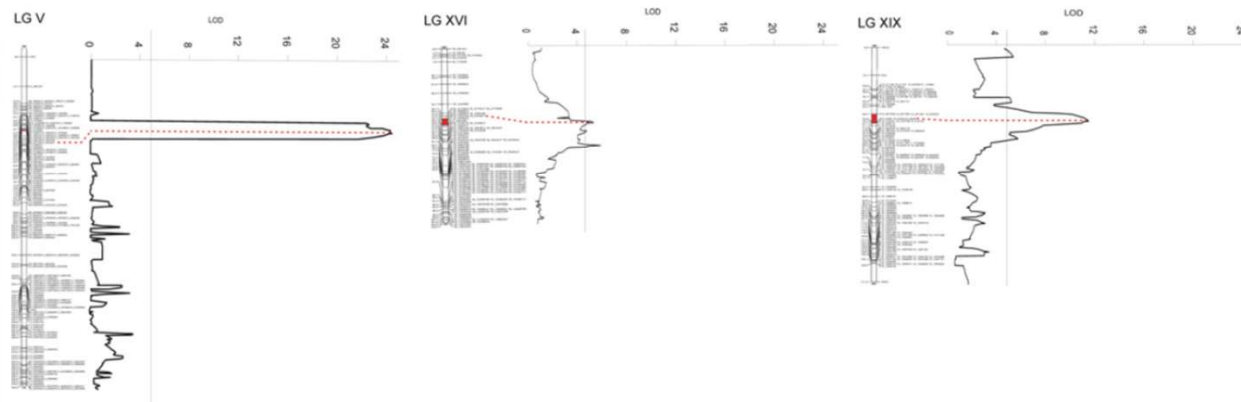


Fig 3. Chromosomal regions carrying the wpa resistance QTLs. The map position, the peak markers of each QTL and the LOD score are plotted. The horizontal line at 4.59 LOD value represents the LOD threshold determining the statistical significance of QTLs in the *P. deltoides* map.

doi:10.1371/journal.pone.0152569.g003

Sviluppo di nuovi tool molecolari per migliorare la resistenza a WPA – Identificazione di marcatori molecolari associati alla resistenza a WPA

- ✓ Identificazione di nuovi loci per la resistenza a WPA
- ✓ Genomic selection per nuovi cloni resistenti

2 popolazioni segreganti F₁:

- DxN – D066 (*P. deltoides* resistente) x N074 (*P. nigra* suscettibile), 179 individui
- NxN – N355 (*P. nigra* resistente) x N385 (*P. nigra* suscettibile), 265 individui

Collezione:

265 *P. nigra*
179 *P. deltoides*
In totale 444 cloni

Fenotipizzazione
per la risposta a
wpa



High-throughput
genotyping – 4TREE array -



Identificazione di marcatori molecolari associati alla resistenza a WPA

- ✓ Identificazione di nuovi loci per la resistenza a wpa

Linkage mapping

Uso di popolazioni F_1 da incrocio di due parentali segreganti per il carattere



Costruzione di mappe genetiche ad alta densità



Individuazione di
Quantitative Trait Loci (QTL)

Genome Wide Association Scan (GWAS)

Uso di collezioni di germoplasma



High-throughput genotyping



Individuazione di
Marker Trait Association (MTA)

Identificazione di nuovi loci per la resistenza a wpa – Primo approccio: Linkage mapping

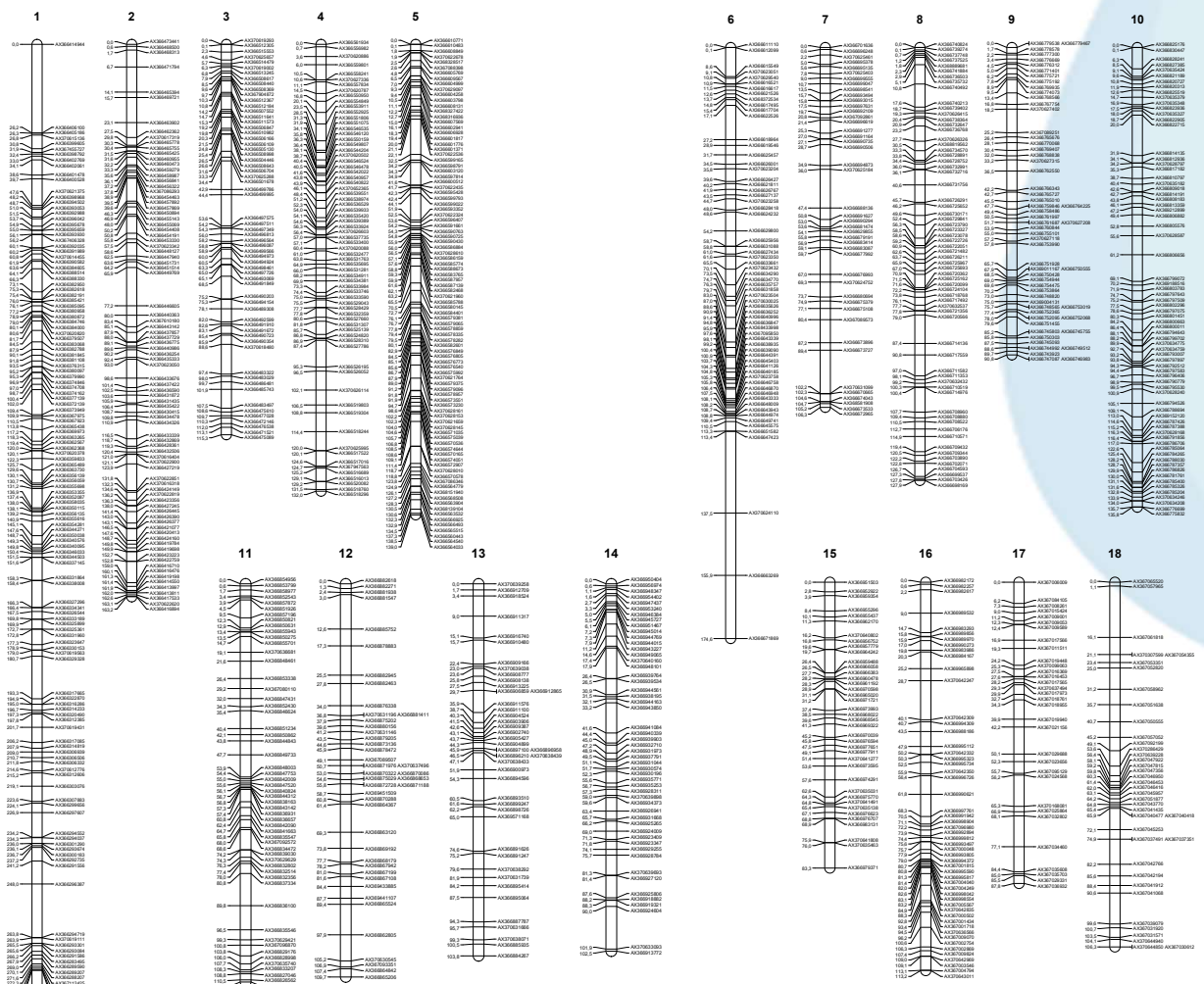
D066

resistente

SNP tot. 1,135

Lunghezza totale 2,378.10 cM

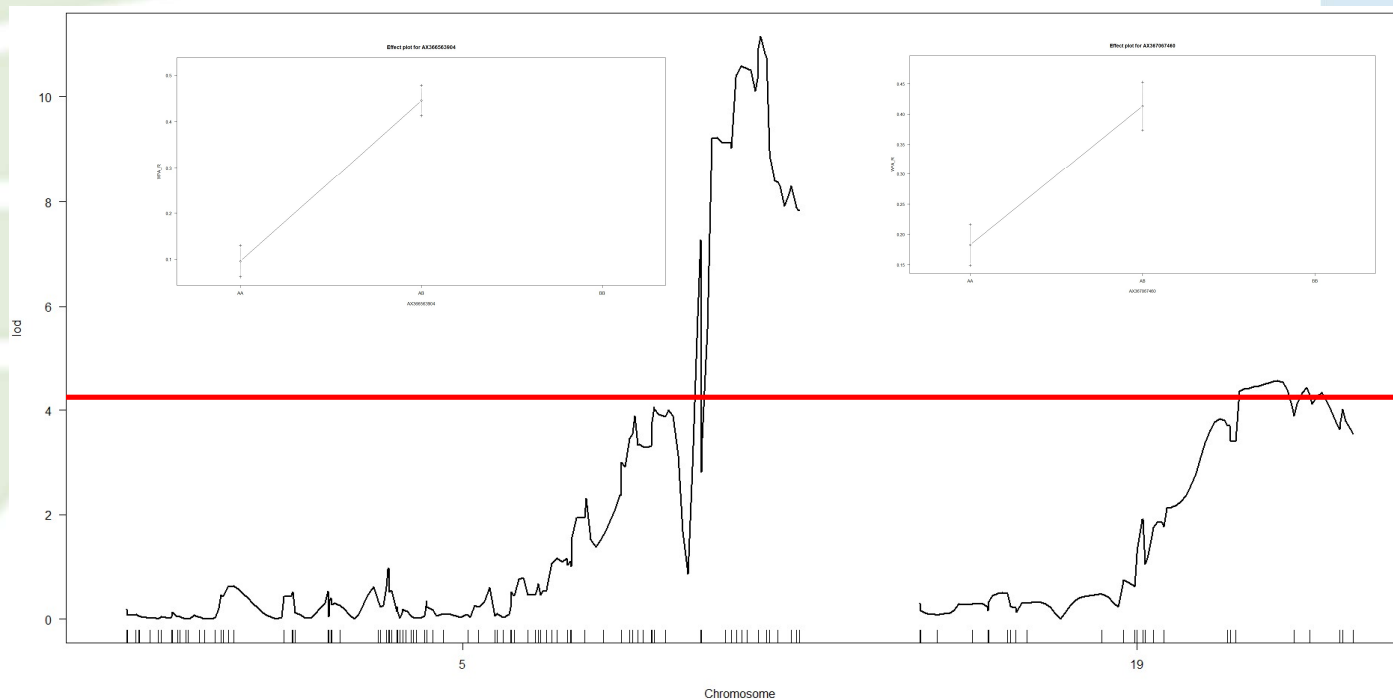
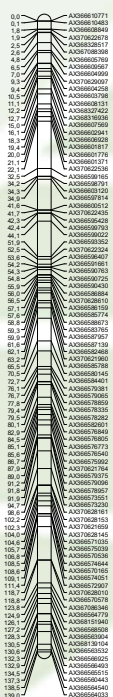
Densità media 2.20 cM/SNP



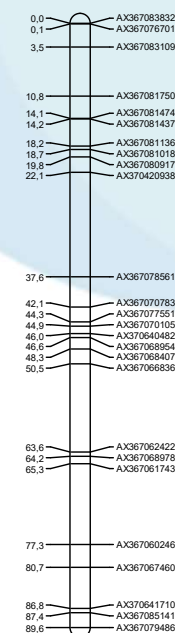
QTL mapping – D066

QTL	Cromosom a	LOD	P value	Marcatore di picco	Posizione (cM)	Posizione (bp)	Intervallo di confidenza	Posizione (cM)	Posizione (bp)	Variabilità fenotipica (%)
Wpa_5	5	11.148	1.71e-10	AX366563532	131	2637497	AX366570578 - AX366566493	120 - 132.87	3685926 - 1997549	23.01
Wpa_19	19	4.566	0.000458	AX367060246	74	842486	AX367062422 - AX367085141	62 – 88	2927176 - sc_20	8.55

5

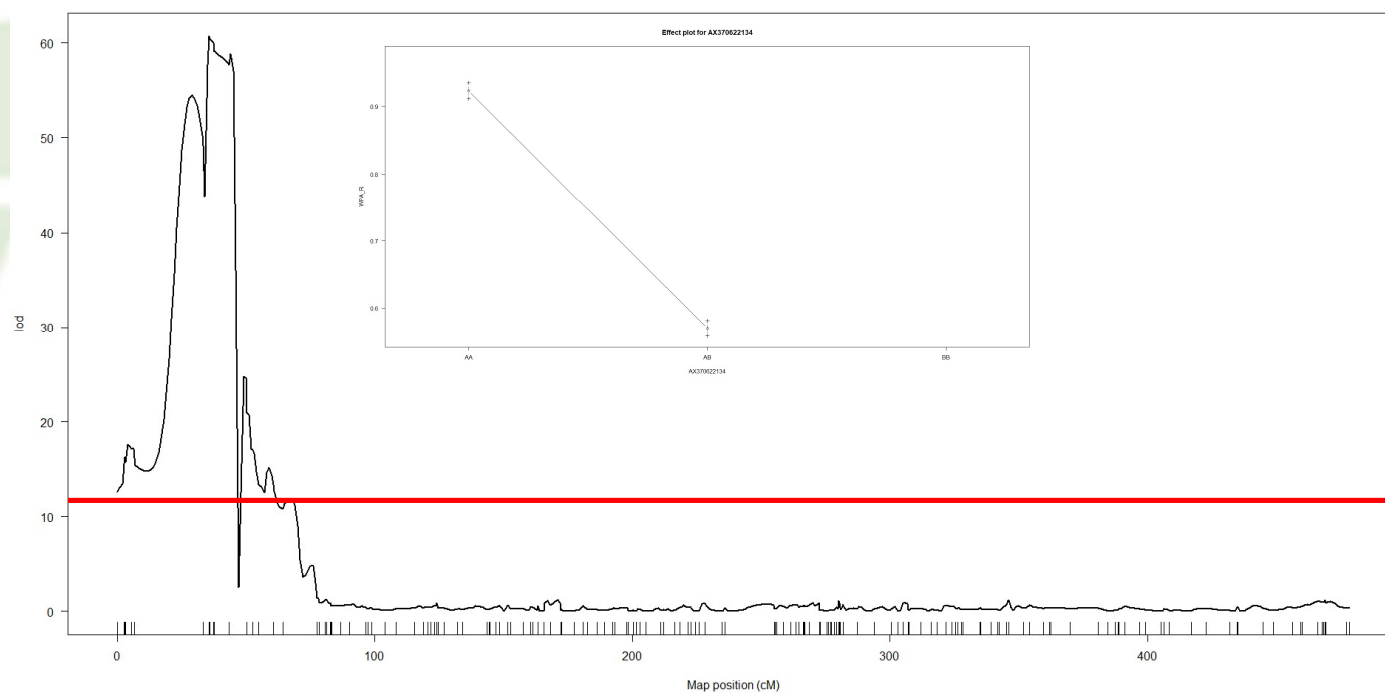


19



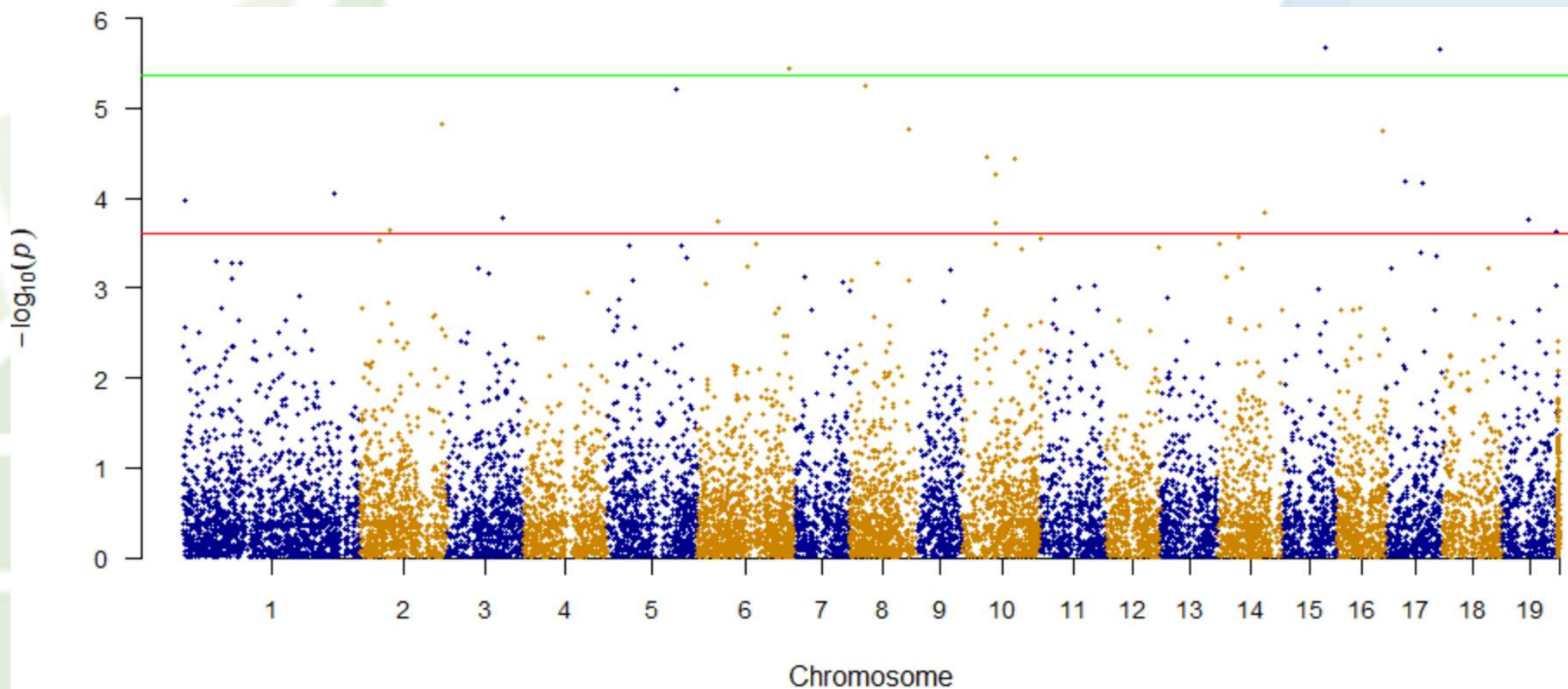
QTL mapping – N355

QTL	Cromosoma	LOD	P value	Marcatore di picco	Posizione (cM)	Posizione (bp)	Intervallo di confidenza	Posizione (cM)	Posizione (bp)	Variabilità fenotipica (%)
Wpa_1	1	60.697	0	AX370622134	35.7	46757382	AX370622134 - AX370607500	35 – 45	46757382 - 44435443	61.41



Geni candidati

QTL	Cromosoma	ID	Start (bp)	End (bp)	Descrizione
Wpa-5	5	POPTR_0005s03500	2354346	2354774	TIR domain-containing protein
Wpa-5	5	POPTR_0005s03510	2358594	2361077	TIR domain-containing protein
Wpa-5	5	POPTR_0005s03640	2424114	2429921	Lipossigenasi
Wpa-5	5	POPTR_0005s03680	2454449	2457529	Lipossigenasi
Wpa-19	19	POPTR_0019s01150	872798	877007	Receptor-like serine/threonine-protein kinase
Wpa-19	19	POPTR_0019s01170	896476	900729	Receptor-like serine/threonine-protein kinase
Wpa-1	1	POPTR_0001s44080	44532571	44535382	Terpene Sintetasi
Wpa-1	1	POPTR_0001s43990.1	44434663	44436979	GH3 family protein

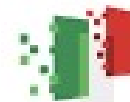




Finanziato
dall'Unione europea
NextGenerationEU



Ministero
dell'Università
e della Ricerca



Italiadomani
PIANO NAZIONALE
DI RIPRESA E RESILIENZA



agritech
National Center for
techno-agriculture

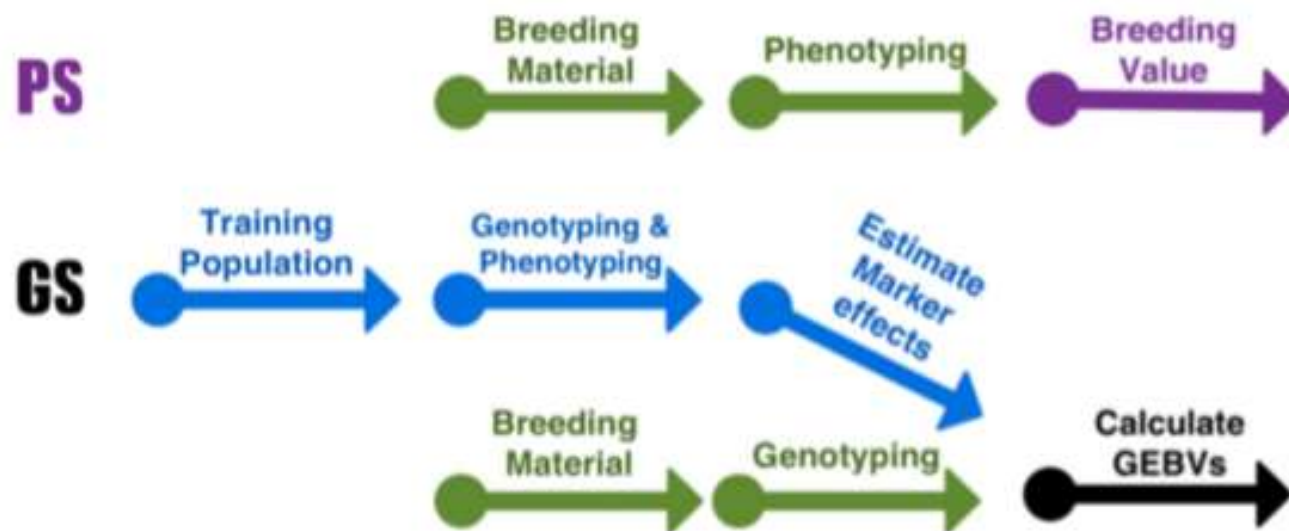


Fluidgm

Aumentare il numero
di marcatori

Analisi di espressione
genica in risposta
all'attacco di WPA

Selection



Akdemir and Sánchez, 2016

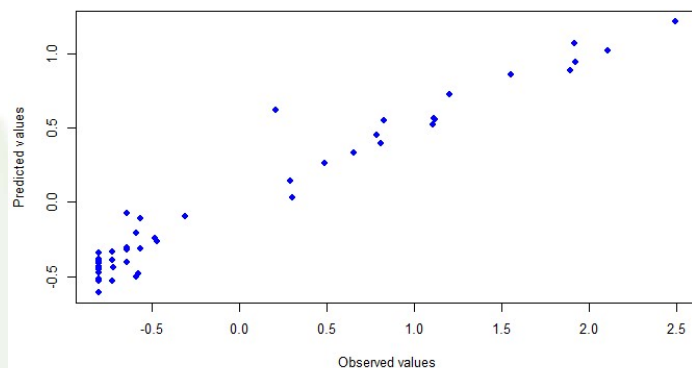
Selezione fenotipica

- Basata sull'esperienza dei selezionatori
- Prove in campo
- Effetti additive, dominanti ed epistatici

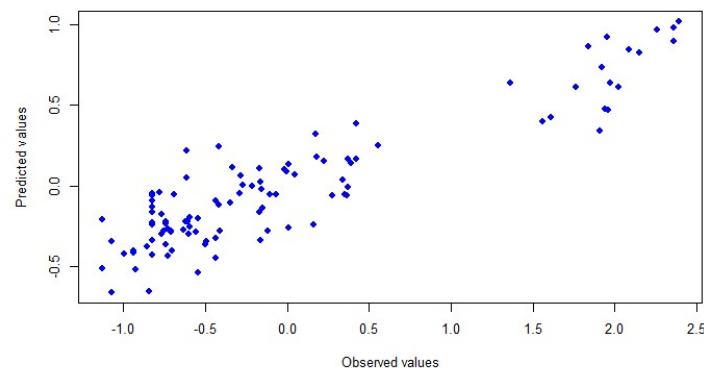
Genomic selection

- Basata su marcatori molecolari e modelli statistici
- Richiede una training population per costruire i modelli
- Richiede competenze di statistica approfondite
- Effetti additive

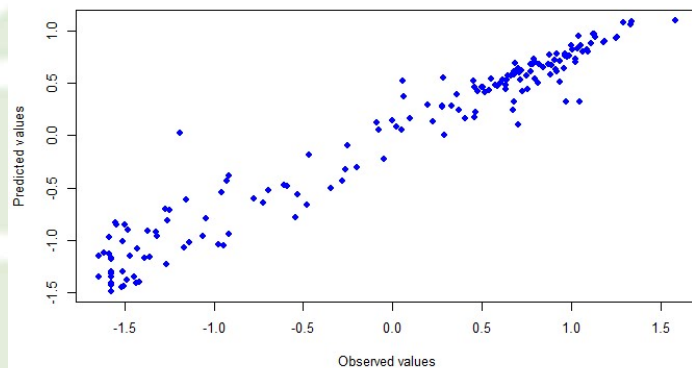
P.deltoides collection



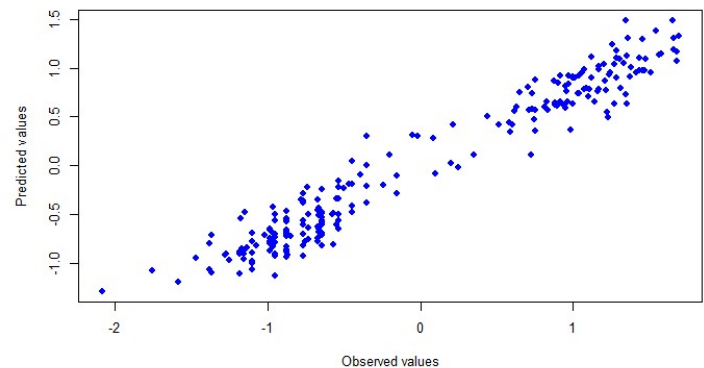
DxN segregating family



P.nigra collection



NxN segregating family



Popolazione	Accuratezza dei modelli GcP
DxN	0.64
NxN	0.70
<i>P. deltoides</i>	0.54
<i>P. nigra</i>	0.86

La Cross-validation ha mostrato un'alta capacità di predizione dei modelli statistici applicati

- ✓ Dipendenza dal numero di marcatori
- ✓ Dipendenza dal tipo di genotipo utilizzato per lo sviluppo dei marcatori molecolari per la selezione
- ✓ Necessità di fenotipizzazioni per la validazione
- ✓ Costi per l'high-throughput genotyping (~ 40 € a campione – 500 € a campione per sequenziamento del genoma)

Dr Agostino Fricano

Dr Lorenzo Vietto

Sig Franco Picco

Dr Laura Rosso

Dr Giorgia Carletti

Dr Filippo Maria Valentini

Dr Luigi Cattivelli

Dr Giuseppe Nervo

Prof Piermaria Corona

Dr Veronique Jorge



**GRAZIE PER
L'ATTENZIONE!**