



From genotype to phenotype, a worldwide comparison of Globodera species

B. Mimee, M. Sabeh, P.-Y. Véronneau, V. Blok and É. Grenier

ONTA Annual Meeting 2018 August 19 – 23 AREQUIPA, PERU



Agriculture and
Agri-Food Canada

Agriculture et
Agroalimentaire Canada

Canada

Objectives/*objetivos*



Risk Assessment and Eradication of *Globodera* spp. in U.S. Production of Potato

La evaluación de los riesgos y la erradicación de Globodera spp. en la producción de papa

1. **Genomic approaches to risk assessment of Globodera**

Los enfoques genómicos para la evaluación de los riesgos de Globodera

2. Enhance potato breeding for resistance to Globodera

Mejorar las variedades de papa resistentes a Globodera

3. Extension and Outreach

Extensión y difusión

4. Education

Educación

Objectives/*objetivos*



Develop genetic markers associated with virulence /
Desarrollar marcadores genéticos asociados con la virulencia

Understand the molecular bases underlying virulence /
Comprender las bases moleculares subyacentes a la virulencia

Globodera populations/*población*

<i>species/especies</i>	#	
<i>G. rostochiensis</i>	42	from/ <i>de</i> 13 countries/ <i>países</i>
<i>G. pallida</i>	89	from/ <i>de</i> 14 countries/ <i>países</i>
<i>G. mexicana</i>	2	from/ <i>de</i> 1 country/ <i>país</i>
<i>G. tabacum</i>	2	from/ <i>de</i> 2 countries/ <i>países</i>

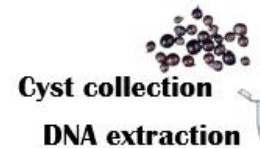


Genotyping by sequencing

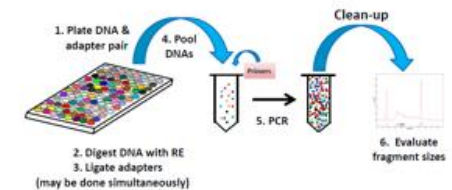
Genotipado por secuenciación

- Genome wide – digested with RE
- Overcome the limitations of single gene
- Much cheaper than WGS
- Easier than μ sat
- Identification of thousands of single nucleotide polymorphisms (SNP)

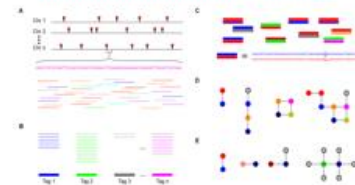
- *Genoma-Ancho / digerido con enzima de restricción*
- *Superar las limitaciones de un solo gen*
- *más barato que WGS*
- *más fácil que el microsatélites*
- *identificación de miles de polimorfismos de nucleótido único*



Library preparation (RE)



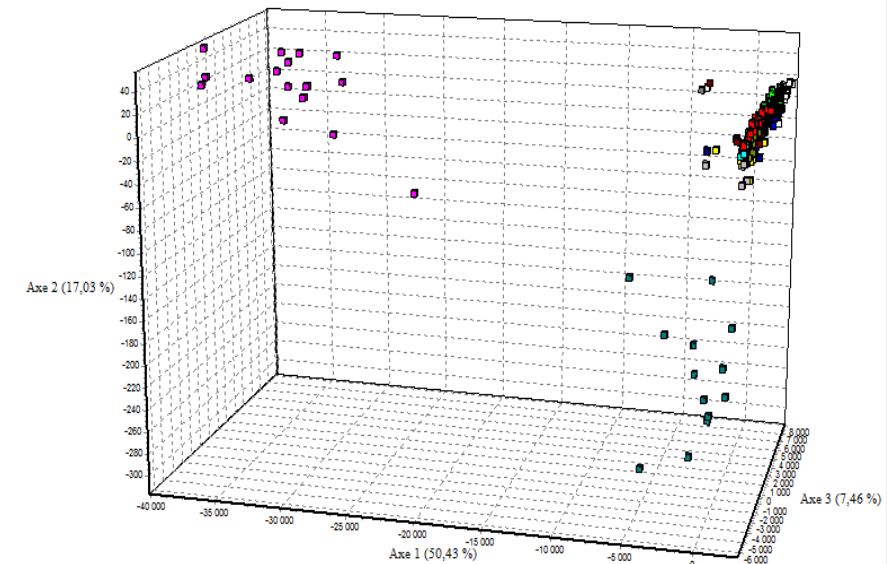
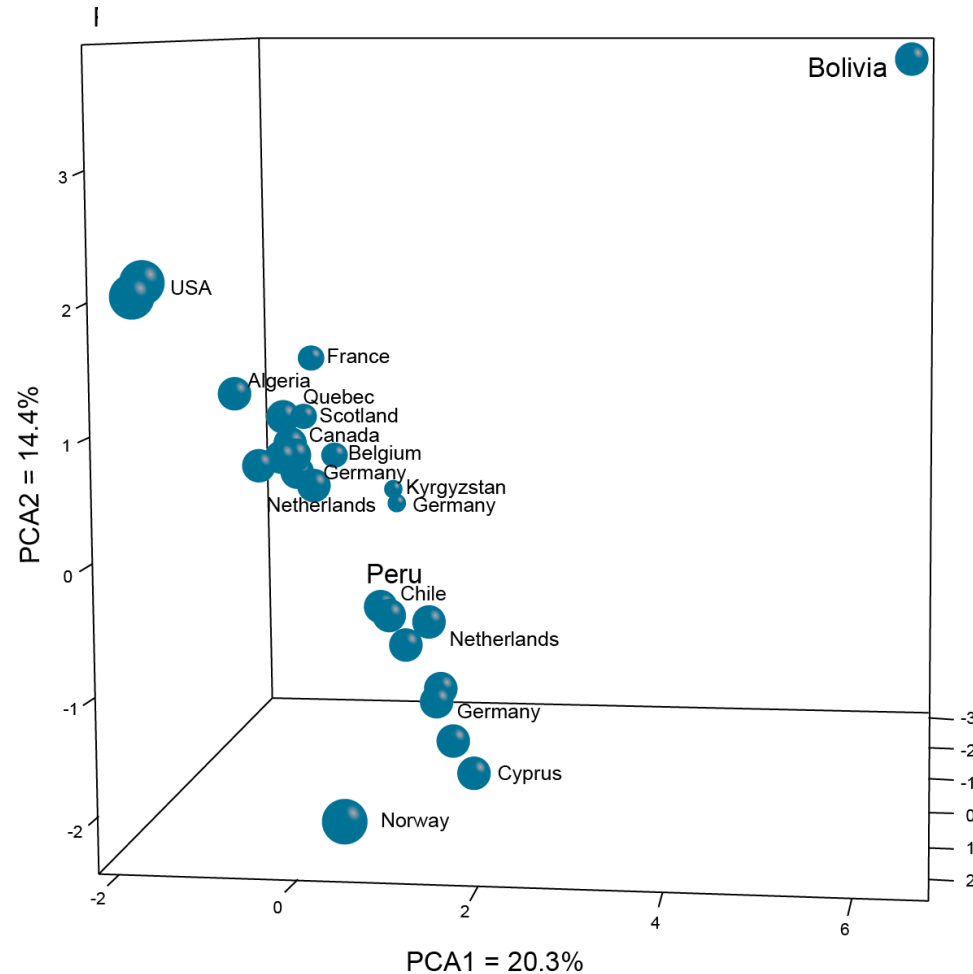
Bioinformatics (SNPs)



Sequencing (pool-seq)



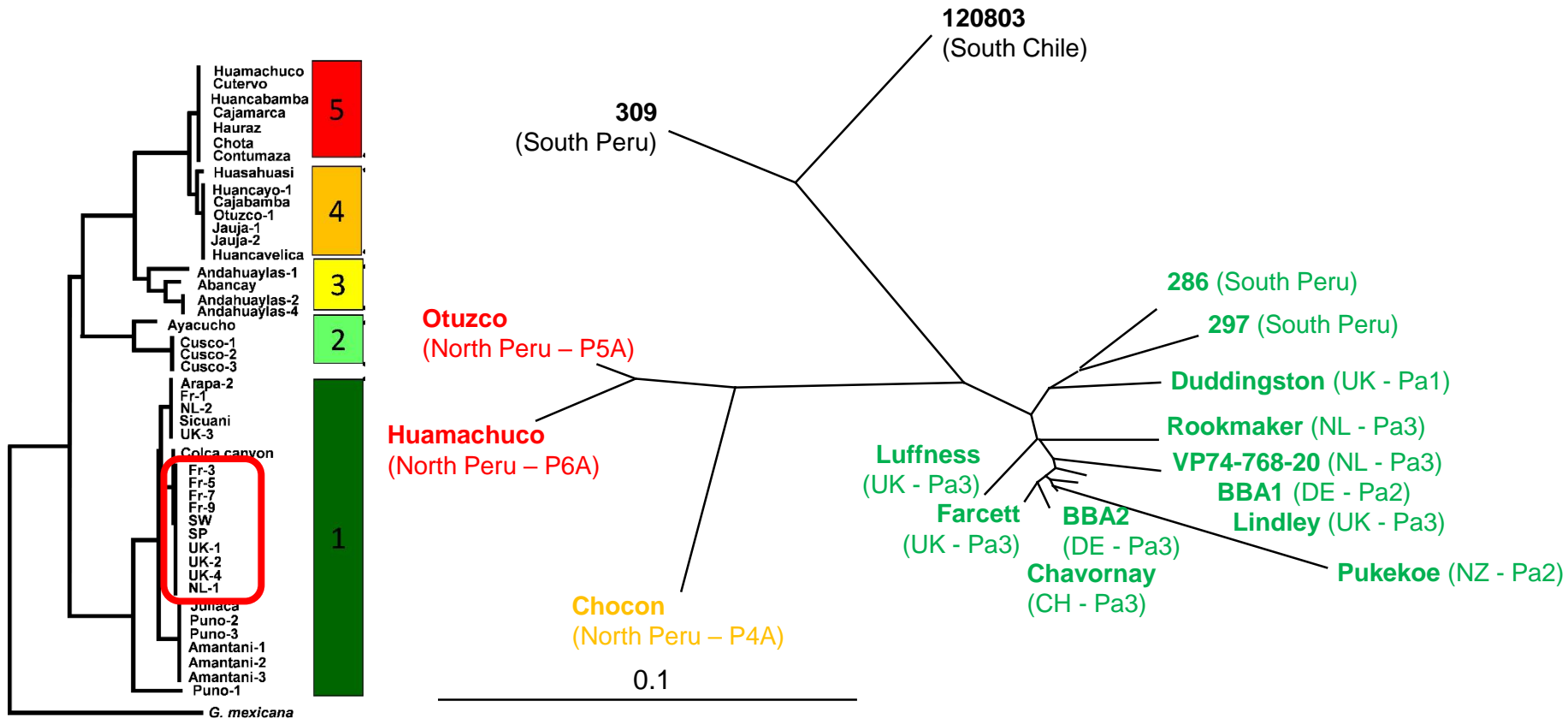
G. rostochiensis genetic diversity / *diversidad genetica*



12 μ sat
Boucher et al., 2013

GBS
Mimee et al., *in prep.*

G. pallida genetic diversity / *diversidad genetica*



cytb gene
Picard et al., 2007

GBS
Grenier et al., *in prep.*

genetic diversity / *diversidad genetica*

Confirm previous results:

- center of origin of PCN seems to be Bolivia
- populations imported into Europe and from there to the U.S. originate from southern Peru

Identified SNPs distributed across the genome linked with origin or virulence

Confirmar resultados anteriores:

- *centro de origen del PCN parece ser Bolivia*
- *las poblaciones importadas en Europa y de allí a los Estados Unidos se originan en el sur del Perú*

Identificados SNP distribuidos a través del genoma vinculados con el origen o la virulencia

G. pallida

SNP associated with high risk genotype
SNP asociado con genotipo de alto riesgo

Locus	Europe/USA	Chile	N-Peru
TP11886	●	●	●
TP2853	●	●	●
TP4049	●	●	●
TP5649	●	●	●
TP59134	●	●	●
TP59643	●	●	●
TP79680	●	●	●
TP97003	●	●	●
TP36915	●	●	●
TP13441	●	●	●
TP59536	●	●	●
TP71519	●	●	●
TP100807	●	●	●

● Reference allele
● Alternative allele

Will be used when a new introduction is suspected to rapidly asses the risk

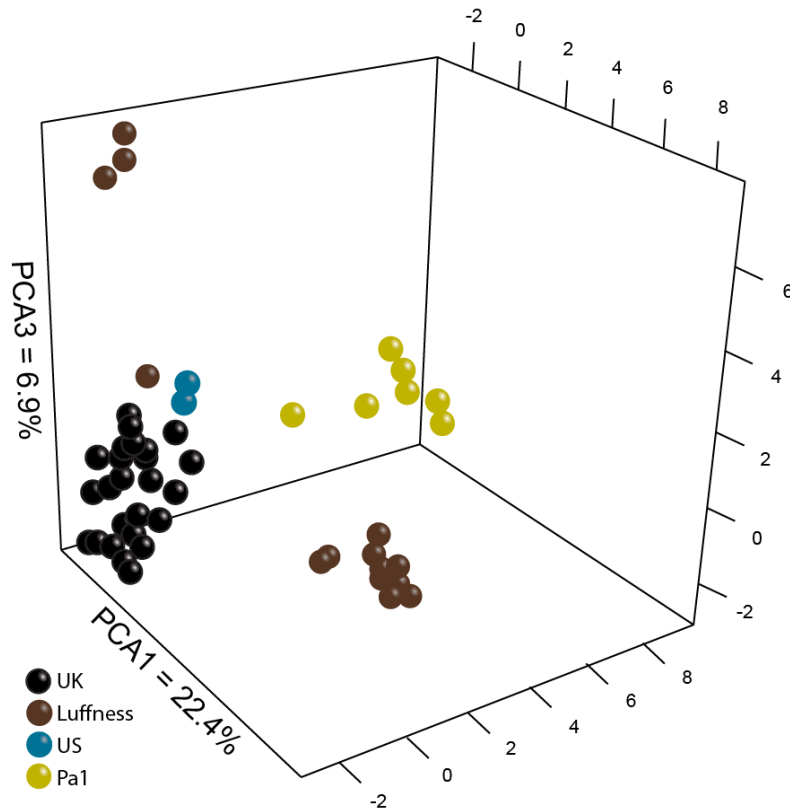
Se usará cuando se sospeche una nueva introducción para evaluar rápidamente el riesgo

G. pallida

UK + US pop

SNP associated with pathotypes

























SNP asociado con patotipos





- Pa1 clearly different
- No genotypic evidence to differentiate Pa2 and Pa3
- US pop similar to UK
- *Pa1 claramente diferente*
- *No hay evidencia genotípica para diferenciar Pa2 y Pa3*
- *USA población similar a la población del Reino Unido*

G. pallida

SNP associated with pathotypes *SNP asociado con patotipos*

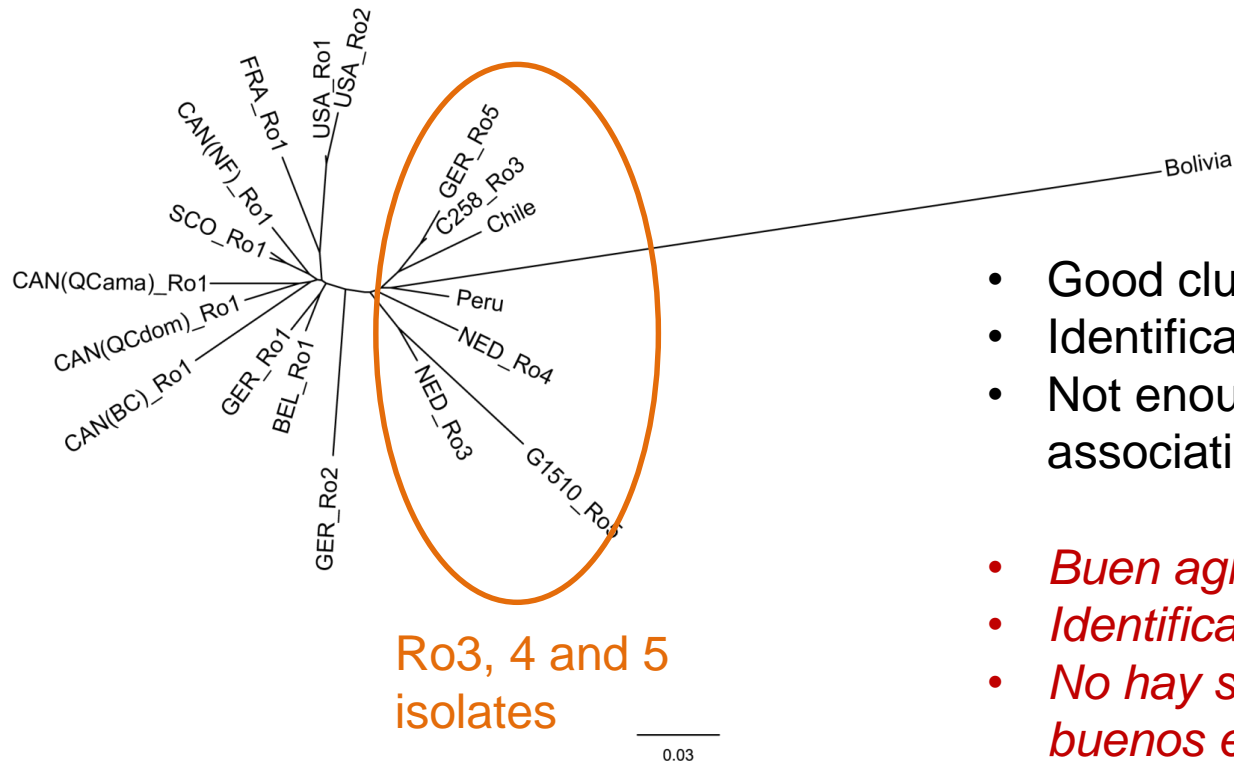
Locus	Pa2/3	Pa1	localization
TP56092			exon
TP1650			intron
TP66336			intergenic
TP48747			intron
TP34561			Exon
TP67227			intergenic
TP19211			intergenic
TP14287			exon
TP21792			exon
TP95429			exon
TP8867			exon
TP45106			exon

 Reference allele
 Alternative allele

- SNPs to differentiate Pa1 from Pa2/3
- Many in genes or associated with candidate genes
- Starting point to explore genetic basis of Pa2/3 virulence on H2
- *SNPs para diferenciar Pa1 de Pa2/3*
- *Muchos en genes o asociados con genes candidatos*
- *Punto de partida para explorar la base genética de la virulencia de Pa2 / 3 en H2*

G. rostochiensis

SNP associated with pathotypes
SNP asociado con patotipos



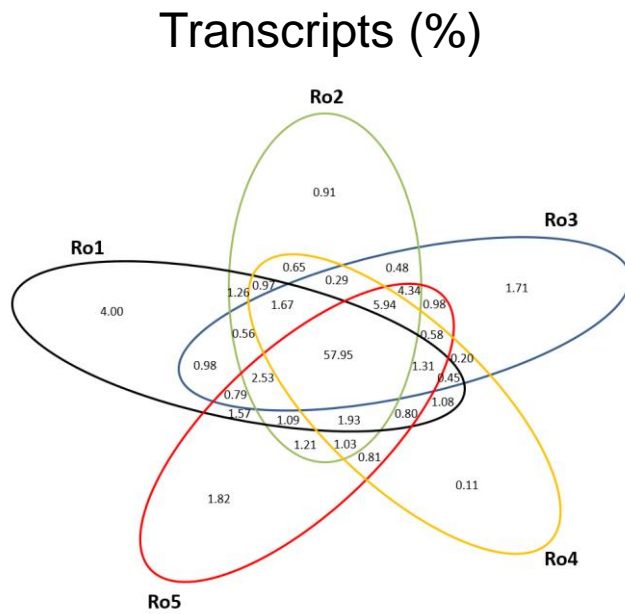
- Good clustering of Ro3, 4 and 5
 - Identification of unique SNPs but...
 - Not enough populations for good associations studies using GBS
-
- *Buen agrupamiento de Ro3, 4 y 5*
 - *Identificación de SNP únicos pero ...*
 - *No hay suficientes poblaciones para buenos estudios de asociaciones usando GBS*

G. rostochiensis RNA-seq

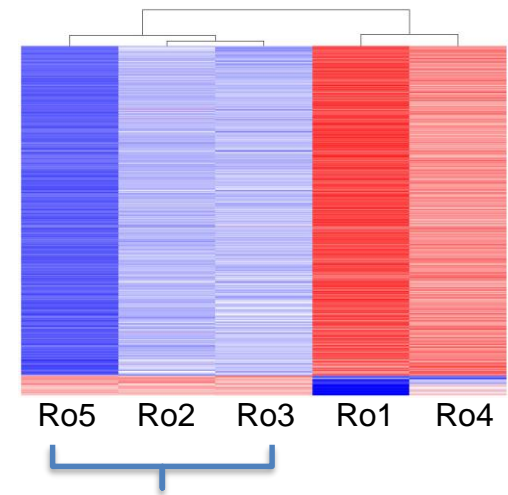
preliminary
preliminar

Comparison of the transcriptomes of the 5 pathotypes by RNA-Seq following exposure to potato root diffusate

Comparación de los transcriptomes de los 5 patotipos por RNA-Seq después de la exposición a la raíz de patata diffusate



DEGs on H1 / *genes diferencialmente expresados*



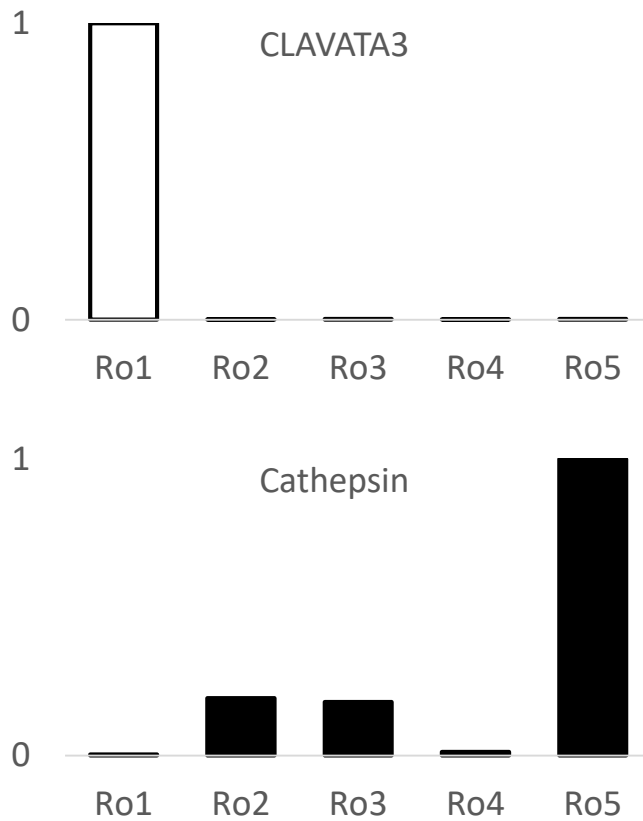
Virulent on H1

Virulento en H1

G. rostochiensis RNA-seq

preliminary
preliminar

Relative expression / *Expresión relativa*



Examples of effector DEGs

*Ejemplos de efector genes
diferencialmente expresados*

Globodera spp. vs pathogenicity

Species parasitizing Solanaceae plants /

Especies que parasitan las plantas de Solanaceae

All parasitic on tomato / *Todos los parásitos en el tomate*

G. tabacum

G. virginiae

G. solanacearum

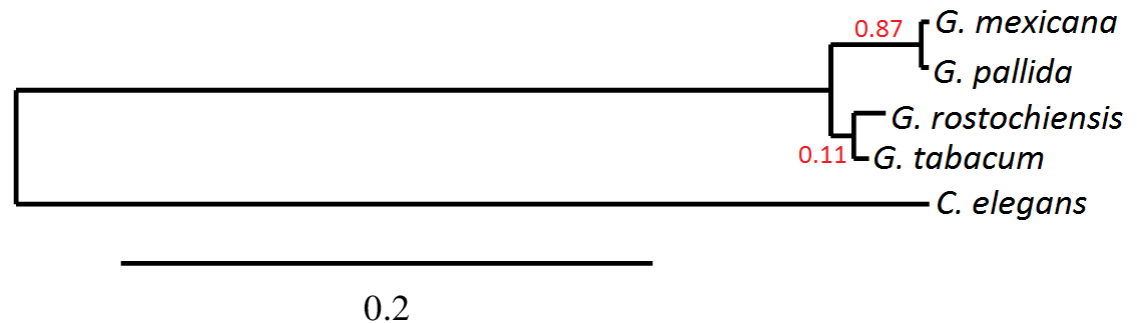
G. mexicana

G. leptonepia

G. ellingtonae

G. rostochiensis

G. pallida



Globodera spp. vs pathogenicity

- Good hatching for all pop. after exposure to potato root diffusate
- They all enter the root
- *G. mexicana* and *G. tabacum* don't establish a feeding site
- No HR

<i>G. mexicana</i>	x2 pop.
<i>G. pallida</i>	x2 pop.
<i>G. rostochiensis</i>	x2 pop.
<i>G. tabacum</i>	x2 pop.

- Buena eclosión para todas las poblaciones después de la exposición a la raíz de papa difusa
- Todos ellos ingresan a la raíz
- *G. mexicana* y *G. tabacum* no establecen un sitio de alimentación
- No reacción de hipersensibilidad

→ Gene expression by RNA-Seq /
Expresión génica por RNA-Seq

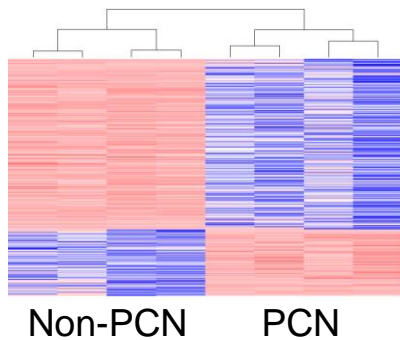
Globodera spp. vs pathogenicity

545 differentially expressed genes including effectors /

545 genes expresados diferencialmente incluyendo efectores

10 non-synonymous variants in effectors genes between PCN and non-PCN /

10 variantes no sinónimas en genes de efectores



7 transcripts unique to PCN species – most unknown!

7 transcripciones únicas para especies PCN -más desconocido!

Gene description	SeqID	Pos ¹	Ref ²	<i>G. mexicana</i>	<i>G. tabacum</i>
Chorismate mutase	GROS_g02441.t1	50	His	Pro	Pro
		66	Glu	Lys	Lys
Skp1	GROS_g04817.t1	118	GluGlu	LysLys	LysLys
		84	Ala	Val	Val
Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase	GROS_g05177.t1	810	GlyLeu	AlaLeu	GluMet
Pectate lyase 1	GROS_g07968.t1	212	Gly	Lys	Lys
PLP synthase	GROS_g08956.t1	280	Ala	Ser	Ser
Glutathione S-transferase	GROS_g10872.t1	64	Pro	Gln	Leu
		1773	MetTrpLysPro	MetTrpLysSer	Ser
β-1,4-endoglucanase	GROS_g11200.t1	386	Ile	Lys	Lys
Putative gland protein G19B10	GROS_g13121.t1	100	ArgLeu	HisLeu	SerSer
RBP-1	GROS_g14157.t1	90	Gly	Cys	Arg
RBP-1	GROS_g14180.t1	222	GluPhe	LysSer	LysPhe

¹ Position (Pgg) refers to localisation in amino acid chain.

² Amino acid present in the reference

SeqID	Gene Description	Entry number (Organism)
GROS_g09749.t1	Unknown	A0A183CCS7 (<i>Globodera pallida</i>)
GROS_g10809.t1	Unknown	A0A175SMH2 (<i>Bursaphelenchus xylophilus</i>)
GROS_g11284.t1	Polyubiquitin-B-like	A0A183CCZ8 (<i>Globodera pallida</i>)
GROS_g12023.t1	Unknown	A0A183C0B5 (<i>Globodera pallida</i>)
GROS_g13375.t1	Unknown	A0A183C870 (<i>Globodera pallida</i>)
GROS_g13474.t1	Unknown	A0A183BU61 (<i>Globodera pallida</i>)
GROS_g13669.t1	Unknown	A0A0K6FY64 (<i>Rhizoctonia solani</i>)

Current and future work

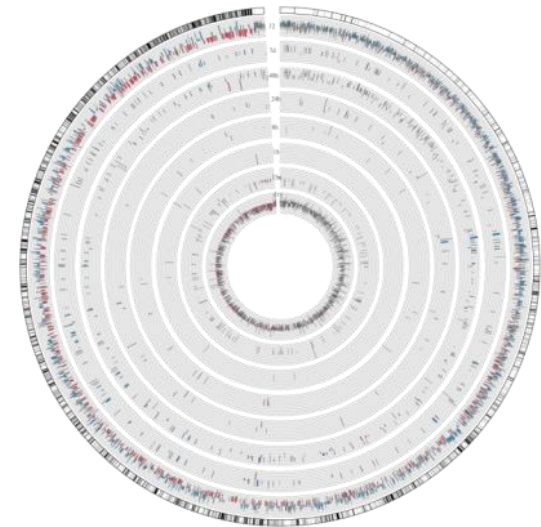
Trabajo actual y futuro

Validation of gene of interest in more populations

Validación de genes de interés en más poblaciones

Genetic transformation of *Globodera*?

*¿Transformación genética de *Globodera*?*



chrtranscriptome



Agriculture et
Agroalimentaire Canada

Agriculture and
Agri-Food Canada

Canada



This project is funded by
USDA National Institute of Food and Agriculture
competitive grant no. 2015-69004-23634



GLOBAL

Globodera Alliance