AGROSAVIA

Corporación colombiana de investigación agropecuaria

Flujo de trabajo bioinformático para estudios de asociación de genoma completo en plantas de papa tetraploide

Luis Garreta, Paula Helena Reyes-Herrera, Ivania Cerón-Souza

Corporación colombiana de investigación agropecuaria, AGROSAVIA

5 de Noviembre del 2019

GOBIERNO DE COLOMBIA MINAGRICULTURA

Contenido

AGROSAVIA
Corporación colombiana de investigación agropecuaria

Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria

Agrosavia (antes Corpoica) es una entidad pública con régimen privado, encargada de generar conocimiento científico y soluciones tecnológicas a través de actividades de investigación, innovación, transferencia de tecnología y formación de investigadores, en beneficio del sector agropecuario colombiano.

Misión

Contribuir al cambio técnico para mejorar la productividad y competitividad del sector agropecuario colombiano.

Bancos de Germoplasma para alimentación y agricultura

AGROSAVIA
Corporación colombiana de investigación agropecuaria

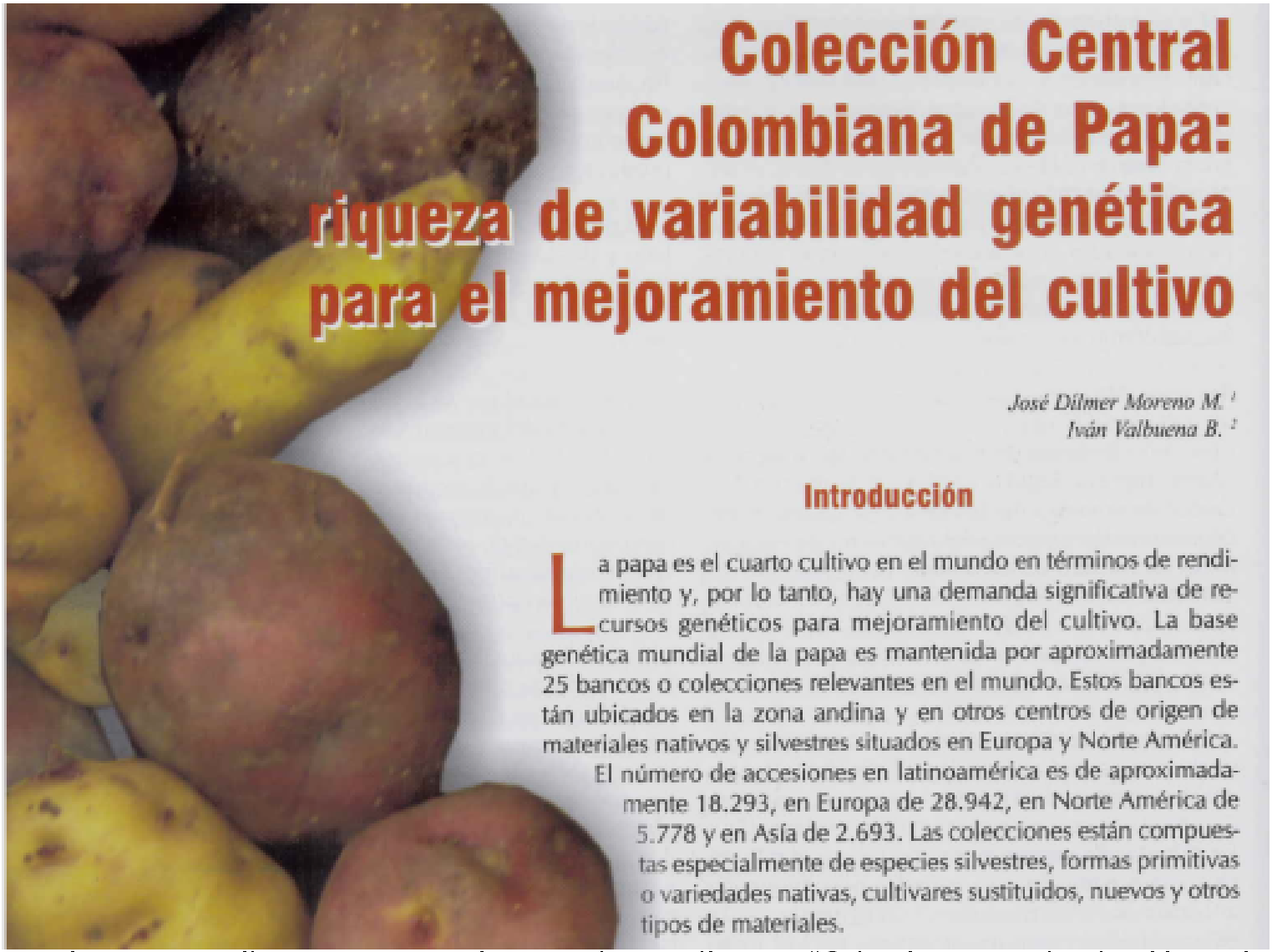
Bancos de Germoplasma: Repositorios destinados a la conservación de la diversidad genética de diferentes especies de interés agropecuario y de importancia económica para el país **(Patrimonio nacional)**.

AGROSAVIA desde el año 1994, tiene a cargo el Sistema de Bancos de Germoplasma de la Nación Colombiana, el cual engloba tres subsistemas:

- Vegetal,
- Animal y
- Microorganismos.

Banco de Germoplasma de Papa

AGROSAVIA
Corporación colombiana de investigación agropecuaria



Colección Central Colombiana de Papa: riqueza de variabilidad genética para el mejoramiento del cultivo

José Dilmer Moreno M. [1]
Iván Valbuena B. [2]

Introducción

La papa es el cuarto cultivo en el mundo en términos de rendimiento y, por lo tanto, hay una demanda significativa de recursos genéticos para mejoramiento del cultivo. La base genética mundial de la papa es mantenida por aproximadamente 25 bancos o colecciones relevantes en el mundo. Estos bancos están ubicados en la zona andina y en otros centros de origen de materiales nativos y silvestres situados en Europa y Norte América.

El número de accesiones en latinoamérica es de aproximadamente 18.293, en Europa de 28.942, en Norte América de 5.778 y en Asía de 2.693. Las colecciones están compuestas especialmente de especies silvestres, formas primitivas o variedades nativas, cultivares sustituidos, nuevos y otros tipos de materiales.

Mendoza, José Dilmer Moreno and B. RaúllvánValbuena. "Colección central colombiana de papa :riqueza de variabilidad genética para el mejoramiento del cultivo." (2006).

Propuesta de Trabajo del Postdoctorado

AGROSAVIA
Corporación colombiana de investigación agropecuaria

Objetivo general:

Identificar una estrategia óptima para asociar SNPs y características de interés agronómico en papas nativas diploides y tetraploides utilizando algoritmos de selección genómica (SG) y GWAS (Genome-Wide Assisted Selection).

Resultados preliminares:

- Pipeline para GWAS en tetraploides
  - Orientado al diseño e implementación del Pipeline
  - Resultados previos, sin análisis

GWAS: Estudios de Asociación de Genoma Completo

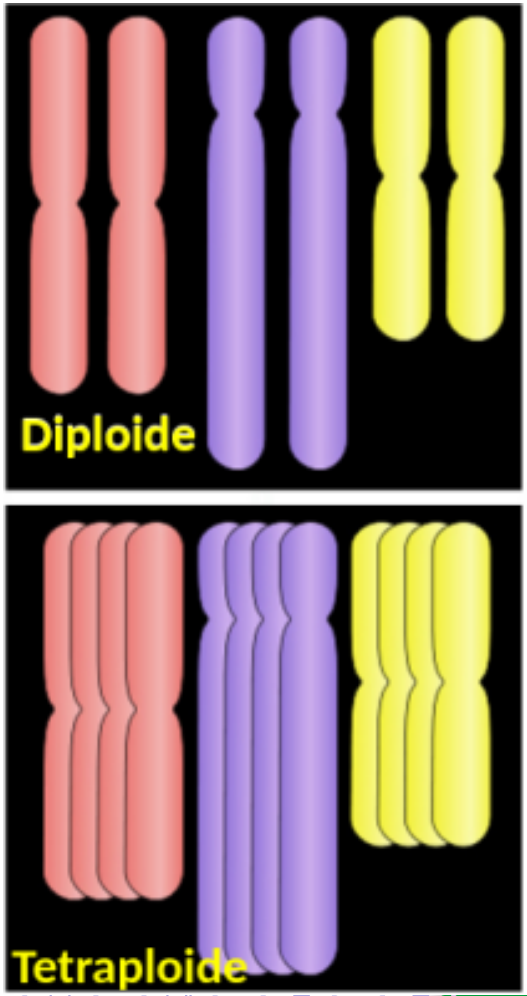
AGROSAVIA
Corporación colombiana de investigación agropecuaria

Los GWAS implican la búsqueda de marcadores (SNPs) a través del genoma (genotipo) de varios individuos (humanos, plantas, animales) para encontrar variaciones genéticas asociadas con un rasgo (fenotipo, enfermedad) particular.

Estudios de Asociación de Genoma Completo en papas

AGROSAVIA
Corporación colombiana de investigación agropecuaria

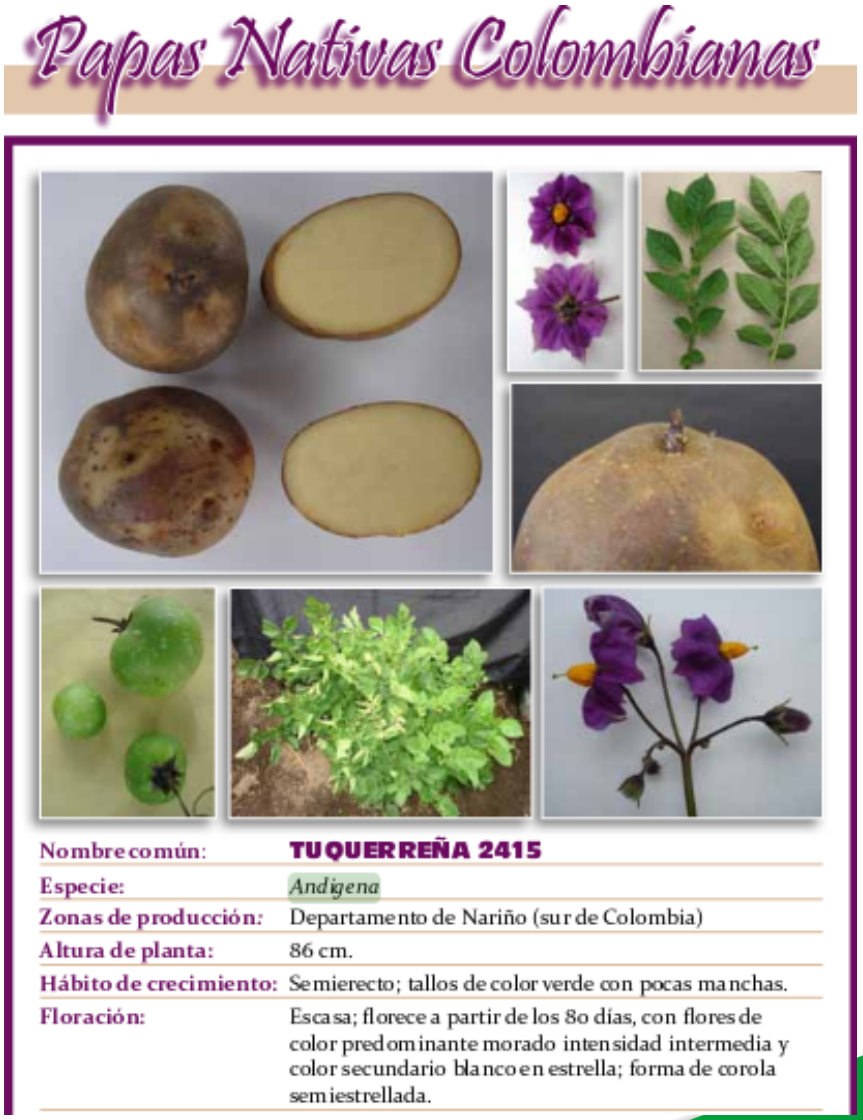
- La papa es una de las plantas de cultivo más importantes: 4o en el mundo.
- La papa viene en dos formas: ***diploide y tetraploide.***



Estudios de Asociación de Genoma Completo en papas

AGROSAVIA
Corporación colombiana de investigación agropecuaria

- La principal especie cultivada en todo el mundo es ***Solanum tuberosum*** (un tetraploide con 48 cromosomas)
- Una de las mayores subespecies es la ***Andigena*** con distintas variedades en Colombia:
  - Ratona morada
  - Amarilla
  - Roja
  - Tuquerreña



Papas Nativas Colombianas, Catálogo de 60 Variedades, J. Moreno, M. Cerón, Raúl Valbuena, Corpoica 2009.

AGROSAVIA
Corporación colombiana de investigación agropecuaria

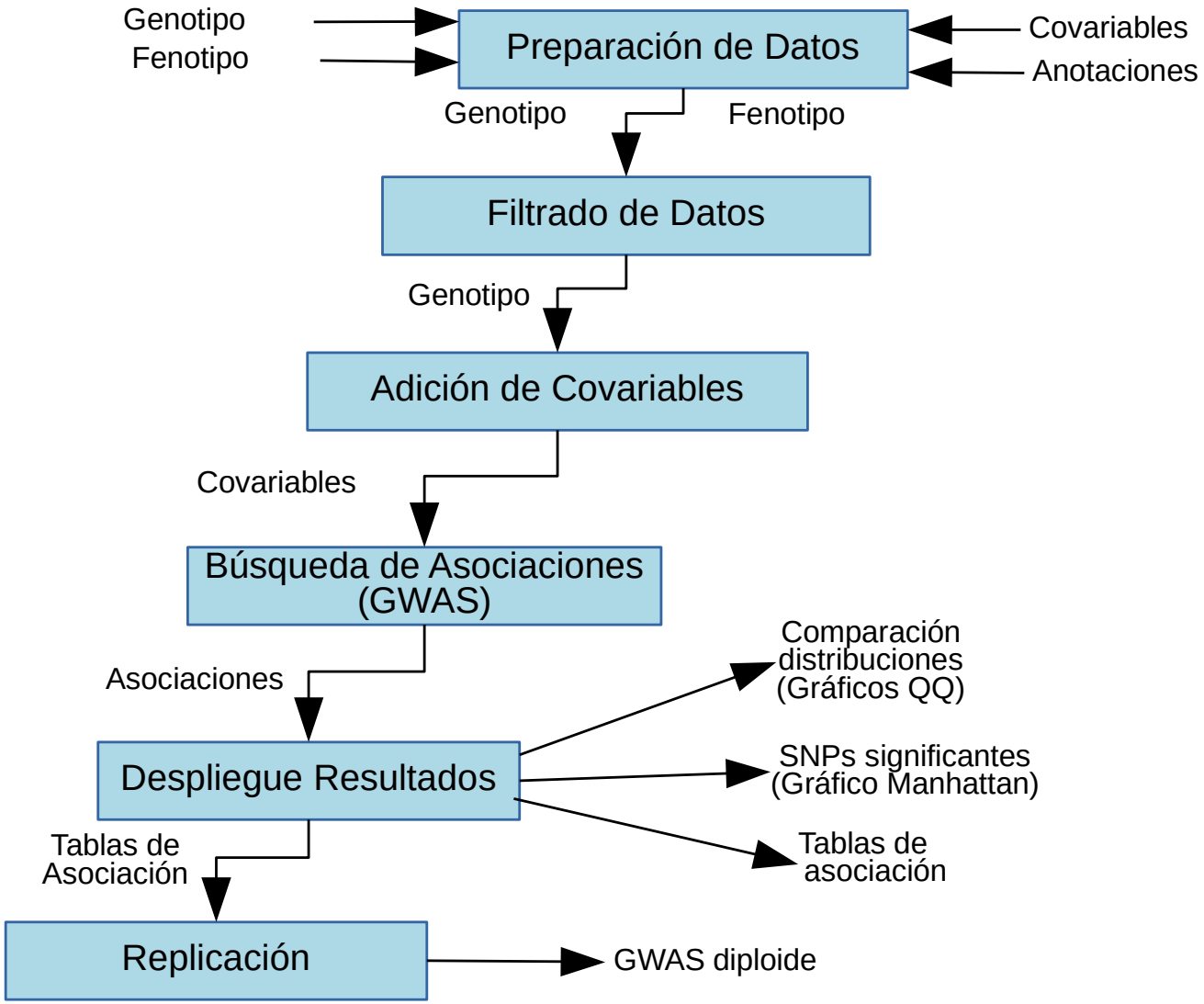
- Los GWAS son ampliamente usados en especies diploides y varios paquetes de software se han desarrollado basados en varios modelos estadísticos.

- Sin embargo, software GWAS para poliploides es muy escaso, y los que existen son librerías para usarlas dentro de un lenguaje de programación.

Nombre	Especie	Tipo
PLINK	Diplo	Programa
TASSEL	Diplo	Programa
GAPIT	Diplo	Programa
FaST-LMM	Diplo	Programa
GWASpoly	Poly	Librería de R
....		

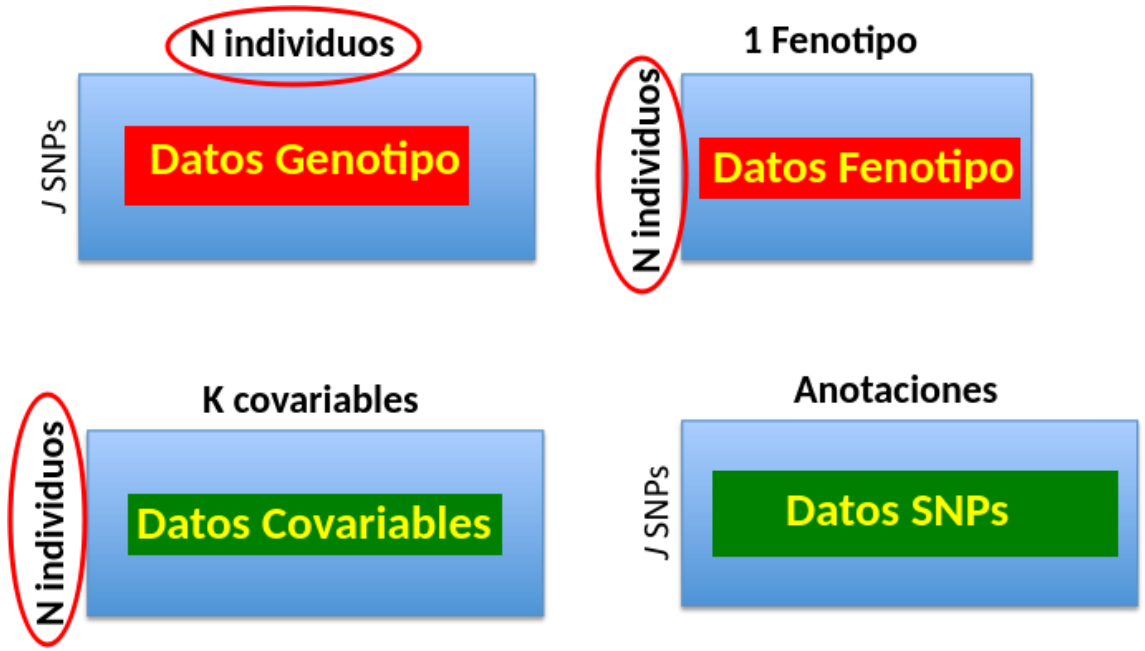
Yan et al, 2019. Effects of input data quantity on genome-wide association studies (GWAS). Int. J. Data Mining and Bioinformatics, Vol. 22, No. 1, 2019

Flujo de Trabajo o Pipeline para GWAS en Tetraploides (Caso Papa)



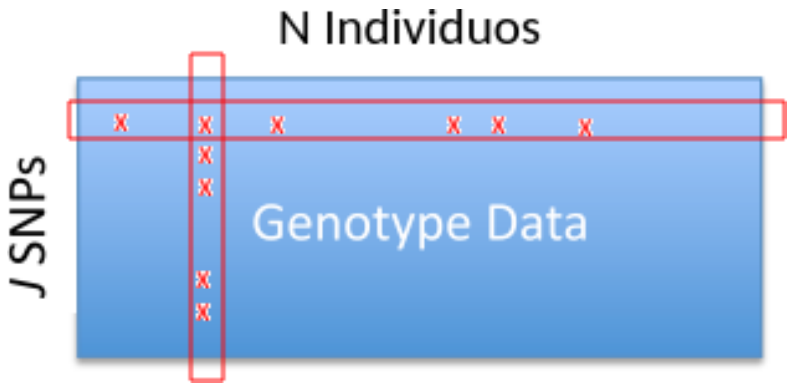
Proceso 1: Preparación de Datos

- 4 Archivos de entrada:
  - 2 obligatorios
  - 2 opcionales
- Archivos de diferentes fuentes
- Individuos no coinciden o no están

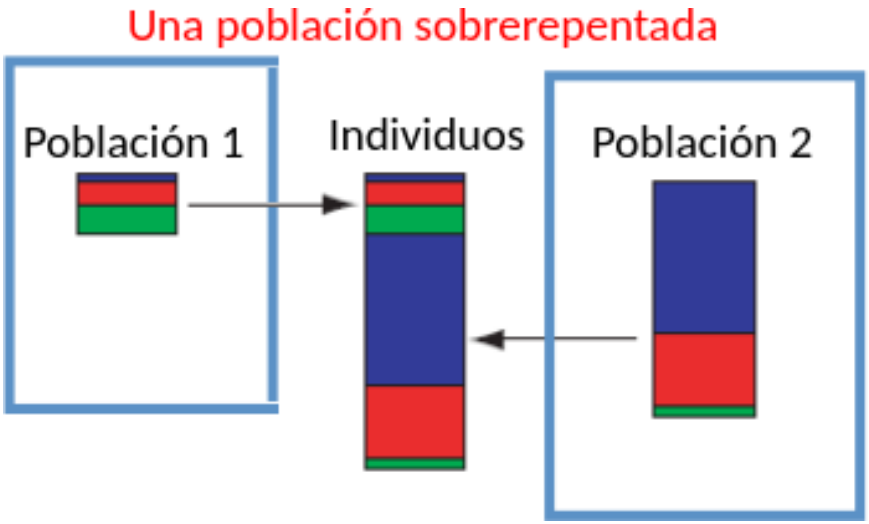


Proceso 2: Filtrado de Datos

- Filtrado por genotipos perdidos (invalidos)
  - Muchos SNPs inválidos
  - Muchos individuos inválidos
- Filtrado por frecuencia del alelo menor (<0.05)



Proceso 3: Adición de Covariables



- Evitar Falsos Positivos
- Cuatro tipos de GWAS:
  - ***Naive:*** Sin covariables
  - ***Kinship:*** Adición de parentesco
  - ***Structure:*** Estructura poblacional
  - *Kinship+Structure*:
  - PCs:

AGROSAVIA
Corporación colombiana de investigación agropecuaria

- Implementado sobre la librería de R ***GWASpoly***[1]
  - Asociaciones basadas en *Q+K Linear Mixed Model*[1]:

$$y = ZQv + Zu + ZS\tau + \varepsilon$$

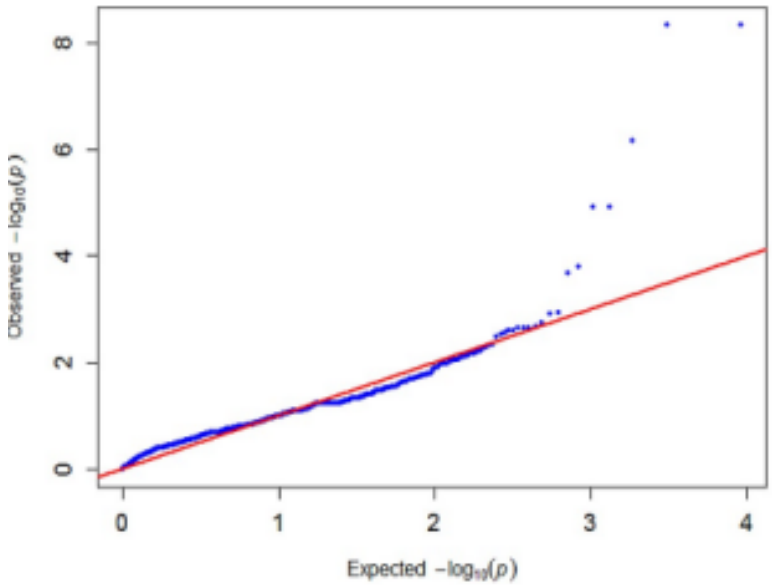
  - Que tiene en cuenta:
    - ★ La estructura poblacional (Q) y el parentesco (K)
    - ★ Y es adecuado para fenotipos cuantitativos (e.g. grosor tallo).
  - Donde:
    - ★ y: vector de fenotipos observados
    - ★ v: vector de efectos poblacionales
    - ★ u: efecto poligenico aleatorio (K matriz de parentescos)
    - ★ τ: efectos de los SNPs
    - ★ ε: efectos residuales aleatorios
    - ★ S: Depende del modelo genético que se asuma: General, aditivo, simplex-dominante, duplex-dominante

[1] *Rosyare et al. Software for Genome-Wide Association Studies in Autopolyploids and Its Application to Potato, The Plant Genome, 2016.*

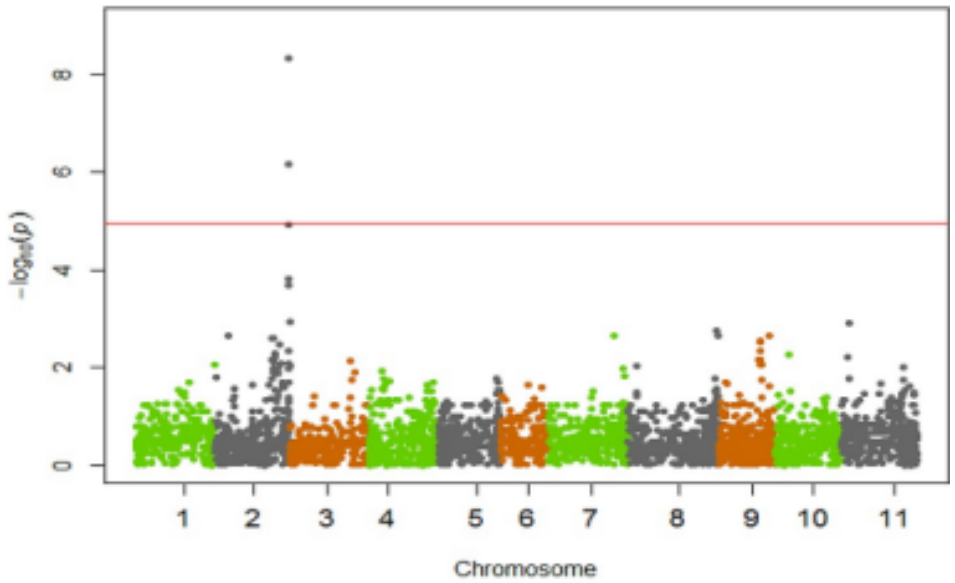
Proceso 5: Despliegue de Resultados (Plots)

AGROSAVIA
Corporación colombiana de investigación agropecuaria

QQ-Plots



Manhattan Plots



AGROSAVIA
Corporación colombiana de investigación agropecuaria

Tablas de Asociación

Ploidy	Type	GC	Model	Score	Threshold	Effect	Marker	Chr	Position	Ref	Alt	Annotation	Arabidopsis
4	Kinship+Structure	1.10	1-dom-ref	5.14	4.44	0.57	snp_c2_40748	12	12654160	0	1	entatricopeptide repeat-containing prote	AT2G37230.1
4	Kinship+Structure	1.10	1-dom-ref	4.79	4.44	0.64	snp_c1_7325	2	42764457	0	1	POM30	AT5G67500.1
4	Kinship+Structure	1.01	1-dom-alt	6.35	4.35	-0.78	snp_c1_3484	4	71945107	0	1	Cinnamoyl-CoA reductase	AT2G33590.1
4	Kinship+Structure	1.01	1-dom-alt	5.55	4.35	-0.69	snp_c2_10568	4	71954528	0	1	roxy-3-methylglutaryl coenzyme A redu	AT1G76490.1
4	Kinship+Structure	1.01	1-dom-alt	5.35	4.35	-0.59	snp_c2_36664	1	535454	0	1	Adagio protein 3	AT1G68050.1
4	Kinship+Structure	1.01	1-dom-alt	4.98	4.35	-0.59	snp_c2_4875	1	83177518	0	1	Conserved gene of unknown function	AT5G65810.1
4	Kinship+Structure	0.80	2-dom-ref	9.1	4.48	-0.76	snp_c2_2998	9	58689196	0	1	Gene of unknown function	No_Hit
4	Kinship+Structure	0.80	2-dom-ref	4.84	4.48	0.55	snp_c1_10855	7	9998099	0	1	DNA repair protein RAD51 homolog	AT5G20850.1
4	Kinship+Structure	0.80	2-dom-ref	4.65	4.48	-0.44	snp_c2_24064	6	54713088	0	1	Bell-like homeodomain protein 2	No_Hit
4	Kinship+Structure	0.80	2-dom-ref	4.61	4.48	0.42	snp_c1_11907	9	51386555	0	1	ATP binding protein	AT5G35960.1
4	Kinship+Structure	0.71	2-dom-alt	6.58	4.44	0.72	snp_c2_32854	5	1E+07	0	1	Signal transducer	AT1G67900.1
4	Kinship+Structure	0.71	2-dom-alt	4.91	4.44	-0.55	snp_c1_15787	11	6943511	0	1	Pectinesterase 51	AT5G09760.1
4	Kinship+Structure	0.71	2-dom-alt	4.55	4.44	-0.45	snp_c1_6992	6	53677174	0	1	Conserved gene of unknown function	AT1G08760.1
4	Kinship+Structure	0.47	general	12.35	4.72	NA	snp_c1_11246	11	4745919	0	1	Seed maturation protein PM36	AT3G16990.1
4	Kinship+Structure	0.47	general	11.41	4.72	NA	snp_c2_15929	7	43192596	0	1	Conserved gene of unknown function	AT2G04280.1
4	Kinship+Structure	0.47	general	9.64	4.72	NA	snp_c2_49245	8	35651378	0	1	UDP-sulfoquinovose synthase	AT4G33030.1
4	Kinship+Structure	0.47	general	9.64	4.72	NA	snp_c2_41463	8	35922019	0	1	Conserved gene of unknown function	AT2G26110.1
4	Kinship+Structure	0.47	general	9.27	4.72	NA	snp_c1_5895	2	48564909	0	1	Acetyl-CoA synthetase	AT5G36880.2
4	Kinship+Structure	0.47	general	9.18	4.72	NA	snp_c1_12386	2	37411847	0	1	Zinc finger protein	AT1G30970.1
4	Kinship+Structure	0.47	general	8.51	4.72	NA	snp_c1_821	8	37494529	0	1	Conserved gene of unknown function	AT4G32820.1
4	Kinship+Structure	0.47	general	7.91	4.72	NA	snp_c2_2998	9	58689196	0	1	Gene of unknown function	No_Hit
4	Kinship+Structure	0.47	general	6.37	4.72	NA	snp_c2_12601	7	53106007	0	1	3-hydroxybutyryl-CoA dehydrogenase	AT3G15290.1
4	Kinship+Structure	0.47	general	5.75	4.72	NA	snp_c2_32854	5	1E+07	0	1	Signal transducer	AT1G67900.1
4	Kinship+Structure	0.47	general	5.57	4.72	NA	snp_c2_12404	7	52544646	0	1	Conserved gene of unknown function	AT1G78810.1
4	Kinship+Structure	0.47	general	5.1	4.72	NA	snp_c1_6869	3	41992129	0	1	CDPK	AT1G12580.1
4	Kinship+Structure	0.47	general	4.75	4.72	NA	snp_c2_3512	5	51477749	0	1	Conserved gene of unknown function	AT3G04350.1

Proceso 6: Replicación

- El estudio se puede ser replicar independientemente?
  - Individuos no incluidos en el estudio
  - Software distinto
- El pipeline realiza la replicación mediante la transformación del genotipo tetraploide a diploide

Genotipo	
Tetra	**Diplo**
AAAA	AA
AAAB	AB
AABB	
ABBB	
BBBB	BB

- Nueva ejecución del estudio pero ahora para diploides
  - Librería GWASpoly (Interno)
  - *Software PLINK (Externo)*

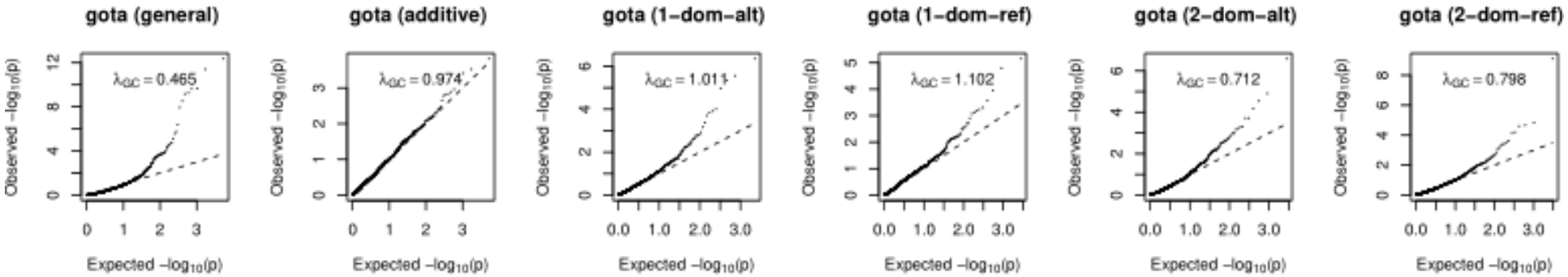
Resultados preliminares GWAS sobre papa tetraploide: Datos

AGROSAVIA
Corporación colombiana de investigación agropecuaria

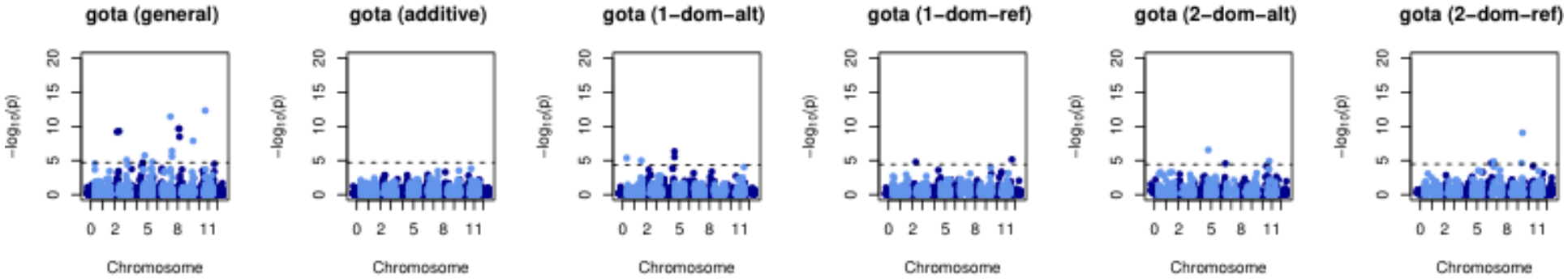
- Datos involucrados en el estudio:
  - Datos de 605 muestras o accesiones de papa del grupo Andigena del CCC de Agrosavia
  - Datos del genotipo de 4700 SNPs (Agrosavia)
  - Valores del fenotipo de resistencia a gota (LateBlight) de las 605 muestras (Agrosavia)
  - Datos de estructura poblacional del trabajo de Berdugo et al 2017[1].
  - Annotaciones de 8300 SNPs de un 8K SNPArray tomados de la iniciativa SOLCAPs (http://solcap.msu.edu/potato_infinium.shtml).

[1]. Berdugo-Cely J, Valbuena RI, Sánchez-Betancourt E, Barrero LS, Yockteng R. Genetic diversity and association mapping in the Colombian Central Collection of Solanum tuberosum L. Andigenum group using SNPs markers. Li X-Q, ed. PLoS One. 2017;12(3):e0173039. doi:10.1371/journal.pone.0173039

Resultados preliminares GWAS sobre papa tetraploide: Plots



GWAS 4−ploidy with Kinship+Structure for gota trait



Resultados preliminares GWAS sobre papa tetraploide: Tabla de Asociaciones

AGROSAVIA
Corporación colombiana de investigación agropecuaria

Ploidy	Type			GC		Model	SNPs	Score	Threshold	Chrom	Position
4	Kinship+Structure	1.011	1-dom-alt	6.35	4.35	-0.78	snp_c1_3484	4	71945107	Cinnamoyl-CoA reductase	AT2G33590.1
4	Kinship+Structure	1.011	1-dom-alt	5.55	4.35	-0.69	snp_c2_10568	4	71954528	3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzym	AT1G76490.1
4	Kinship+Structure	1.011	1-dom-alt	5.35	4.35	-0.59	snp_c2_36664	1	535454	Adagio protein 3	AT1G68050.1
4	Kinship+Structure	1.011	1-dom-alt	4.98	4.35	-0.59	snp_c2_4875	1	83177518	Conserved gene of unknown functior	AT5G65810.1
4	Kinship+Structure	1.102	1-dom-ref	5.14	4.44	0.57	snp_c2_40748	12	12654160	Pentatricopeptide repeat-containing p	AT2G37230.1
4	Kinship+Structure	1.102	1-dom-ref	4.79	4.44	0.64	snp_c1_7325	2	42764457	POM30	AT5G67500.1
4	Kinship+Structure	0.798	2-dom-ref	9.1	4.48	-0.76	snp_c2_2998	9	58689196	Gene of unknown function	No_Hit
4	Kinship+Structure	0.798	2-dom-ref	4.84	4.48	0.55	snp_c1_10855	7	9998099	DNA repair protein RAD51 homolog	AT5G20850.1
4	Kinship+Structure	0.798	2-dom-ref	4.65	4.48	-0.44	snp_c2_24064	6	54713088	Bell-like homeodomain protein 2	No_Hit
4	Kinship+Structure	0.798	2-dom-ref	4.61	4.48	0.42	snp_c1_11907	9	51386555	ATP binding protein	AT5G35960.1
4	Kinship+Structure	0.712	2-dom-alt	6.58	4.44	0.72	snp_c2_32854	5	10418984	Signal transducer	AT1G67900.1
4	Kinship+Structure	0.712	2-dom-alt	4.91	4.44	-0.55	snp_c1_15787	11	6943511	Pectinesterase 51	AT5G09760.1
4	Kinship+Structure	0.712	2-dom-alt	4.55	4.44	-0.45	snp_c1_6992	6	53677174	Conserved gene of unknown functior	AT1G08760.1
2	Kinship+Structure	0.683	1-dom-alt	6.8	4.42	-0.9	snp_c1_3484	4	71945107	Cinnamoyl-CoA reductase	AT2G33590.1
2	Kinship+Structure	0.683	1-dom-alt	5.72	4.42	-0.76	snp_c2_10568	4	71954528	3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzym	AT1G76490.1
2	Kinship+Structure	0.683	1-dom-alt	4.93	4.42	-0.63	snp_c2_4875	1	83177518	Conserved gene of unknown functior	AT5G65810.1
2	Kinship+Structure	0.683	1-dom-alt	4.61	4.42	-0.56	snp_c2_36664	1	535454	Adagio protein 3	AT1G68050.1
2	Kinship+Structure	0.683	1-dom-alt	4.48	4.42	-0.52	snp_c2_49495	2	37017928	Protease C56	AT3G02720.1
2	Kinship+Structure	0.666	1-dom-ref	5.31	4.53	0.6	snp_c2_40748	12	12654160	Pentatricopeptide repeat-containing p	AT2G37230.1
2	Kinship+Structure	0.635	additive	5.14	4.79	-0.47	snp_c2_12601	7	53106007	3-hydroxybutyryl-CoA dehydrogenas	AT3G15290.1
2	Kinship+Structure	0.635	additive	4.79	4.79	0.54	snp_c2_49245	8	35651378	UDP-sulfoquinovose synthase	AT4G33030.1

Detalles Implementación

AGROSAVIA
Corporación colombiana de investigación agropecuaria

- Lenguaje R
- Librería de R GWASpoly
- Interacción modo línea de comandos
- Software Plink

Gracias!