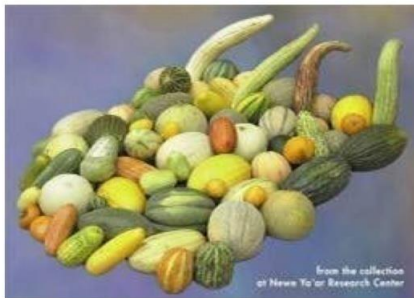


השבחה קלאסית ומודרנית של צמחים

אילן פארן, מנהל המחקר החקלאי





נושאי ההרצאה



- מהי השבחת צמחים
- הרחבת מקורות השונות הזמינה להשבחה
 - מיני בר
 - מוטנטים
 - צמחים טרנסגנים
- כלים גנומיים
- הרכבות

טיפוח - השבחת צמחים

Plant Breeding -Crop improvement

- תהליך היוצר זנים טובים יותר על ידי שינוי גנטי
- האומנות והמדע בשיפור גנטי של צמחים

הטיפול הוא אינטגרציה של מספר תחומים :

• **גנטיקה** - הבקרה הגנטית של תכונות איכותיות וכמותיות

- מקורות שונות גנטית- במין, במיני בר,

טרנסגנים

• **חקלאי** - ביולוגי ואגרוטכני

• **כלכלי** - ייצור ושיווק

• **חיזוי עתיד**

תהליך הטיפוח

- הגדרת יעדים
- יצירת שונות גנטית
- תהליך סלקציה ואתור גנוטיפ בעל יתרון
- בדיקה והפצה בהיקף ניסיוני
- הפצה מסחרית

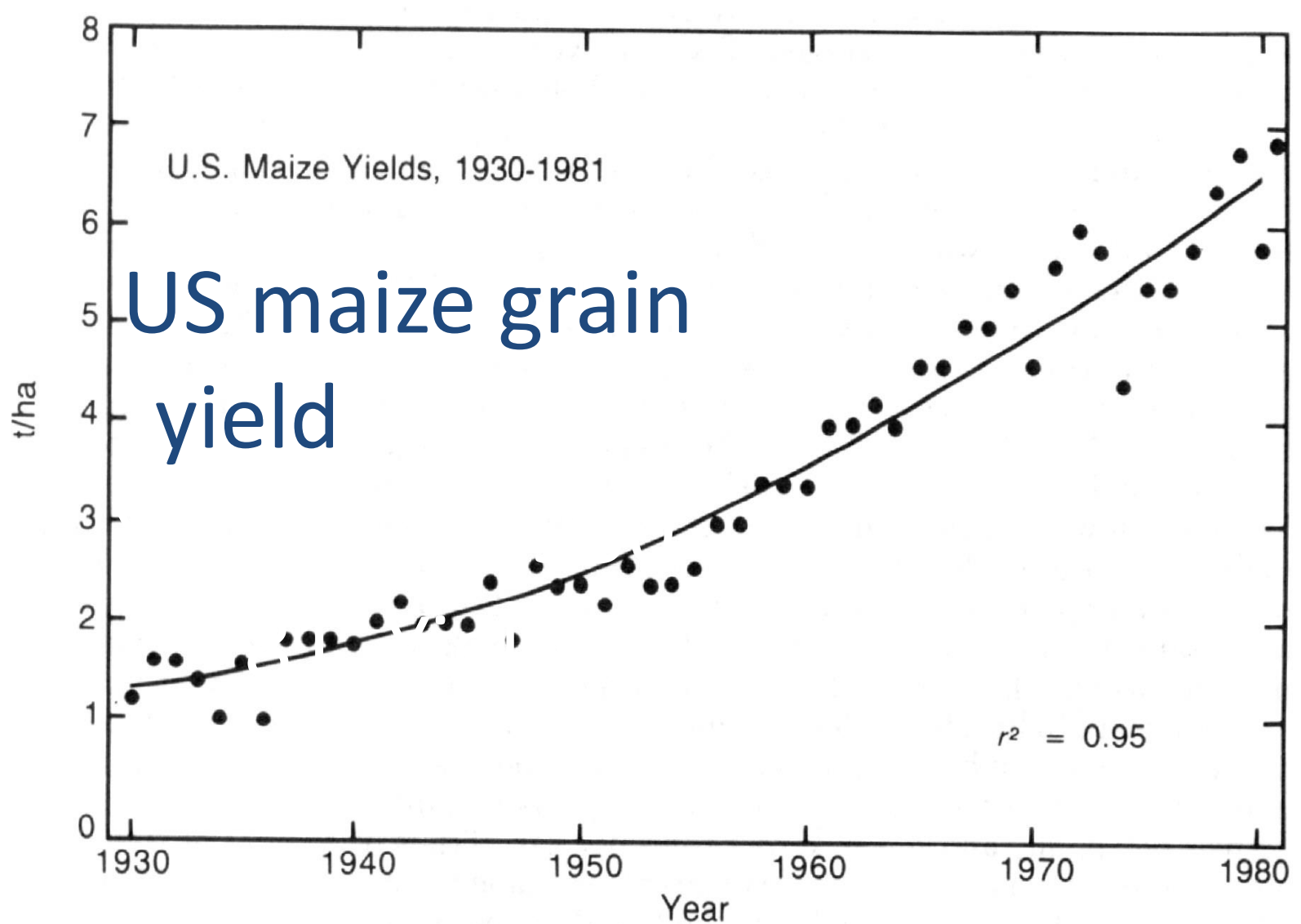


Fig. 2-1. U.S. maize grain yields from 1930 to 1981. Each point represents the mean yield for the indicated year. Regression calculated on the basis of 1930 to 1980 data using the second degree polynomial $Y = a + bX + cX^2$. r^2 = coefficient of determination. (Data obtained from various volumes of USDA's *Agricultural Statistics*, U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.)

תרומת ההשבחה ליבול תירס

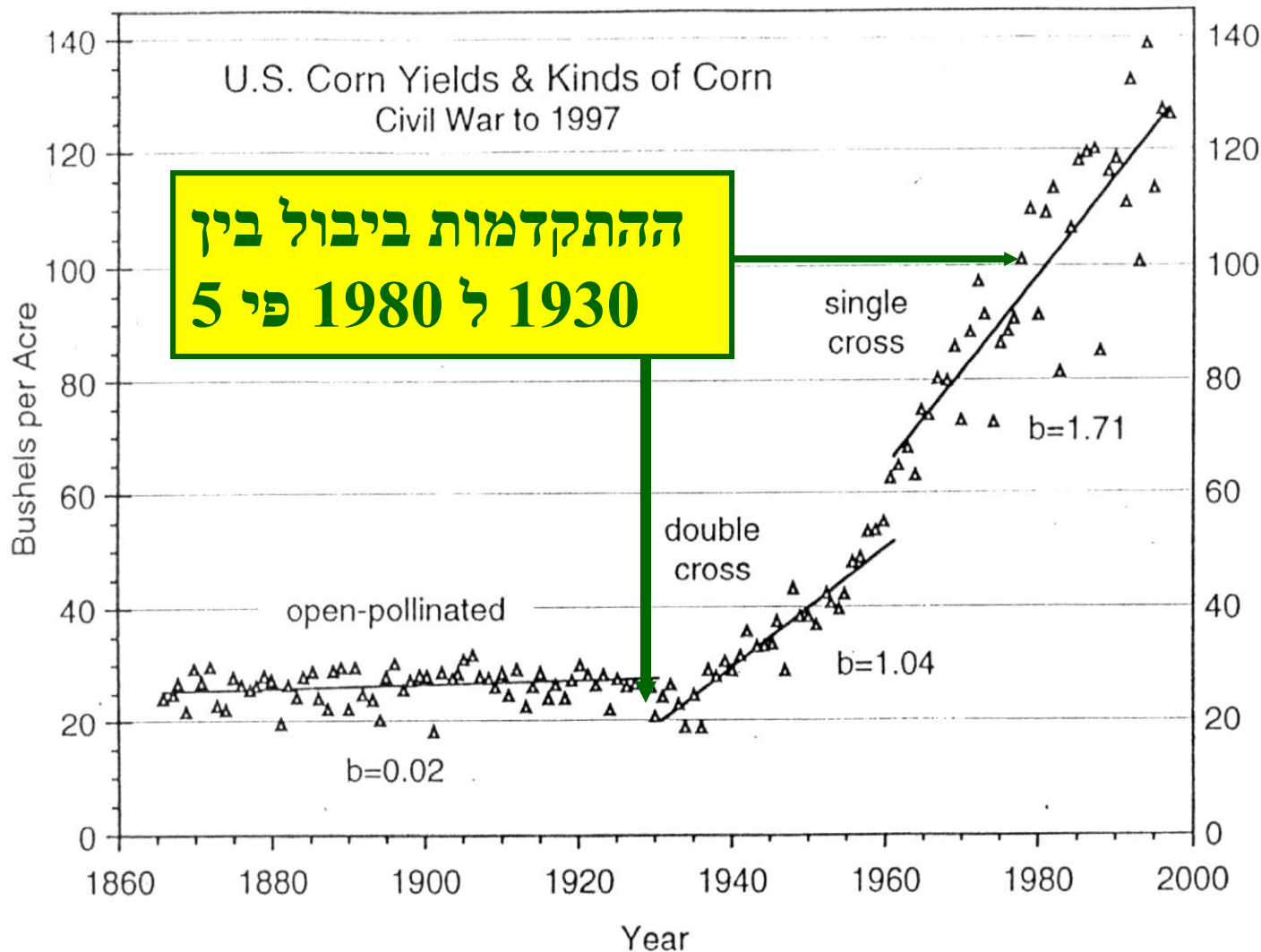


FIGURE 1.—Maize yield in bushels per acre in the United States. The periods dominated by open-pollinated, four-way crosses, and two-way crosses are indicated, along with regression coefficients (bushel/acre). Redrawn with permission from A. FORREST TROYER. Data compiled by the United States Department of Agriculture.

המהפכה הירוקה

עד 1960 לקח 10000 שנה ליצור מיליארד טון של גרעינים

בין השנים 1960-2000 לקח 40 שנה להגיע לשני מיליארד טון כתוצאה מיעול השבחת צמחים

העלאת יכול דגניים (אורז, תירס, חיטה):

- שינוי דגם צמיחה-צמח נמוך, הקטנת הסתעפות, חיזוק הגבעול גרמו להגדלת מספר הגרעינים באשכול, למניעת רביצה ולהגברת התגובה לדישון חנקני

- התאמה רחבה לתנאי סביבה

-תקופת גידול קצרה

-עמידות למחלות

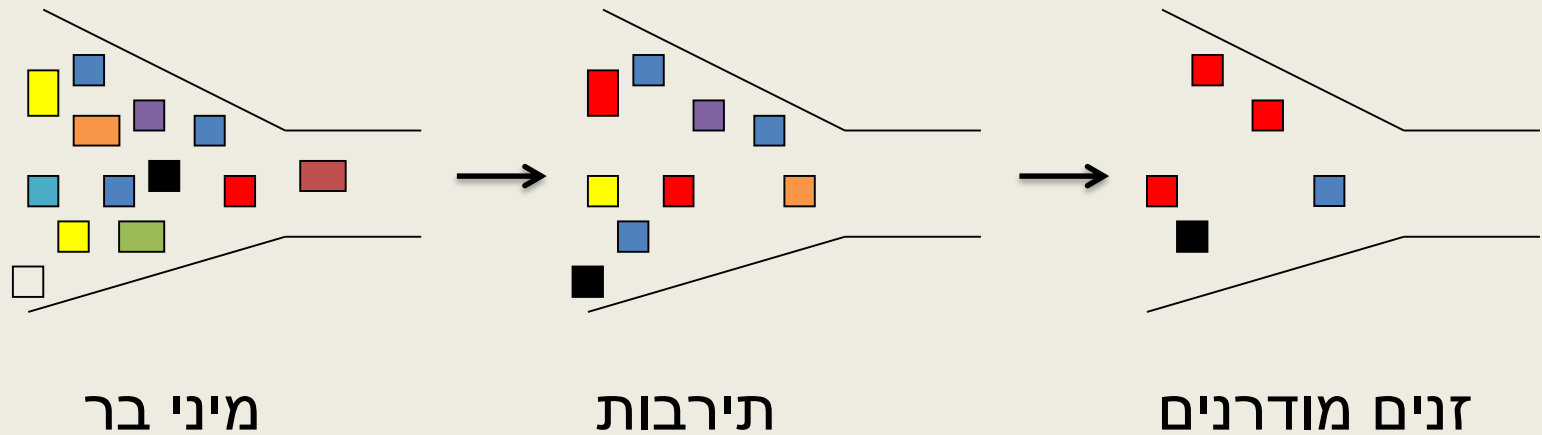
-עמידות לעקות סביבה

- שיפור איכות הגרעין

שונות גנטית-חומר הגלם להשבה

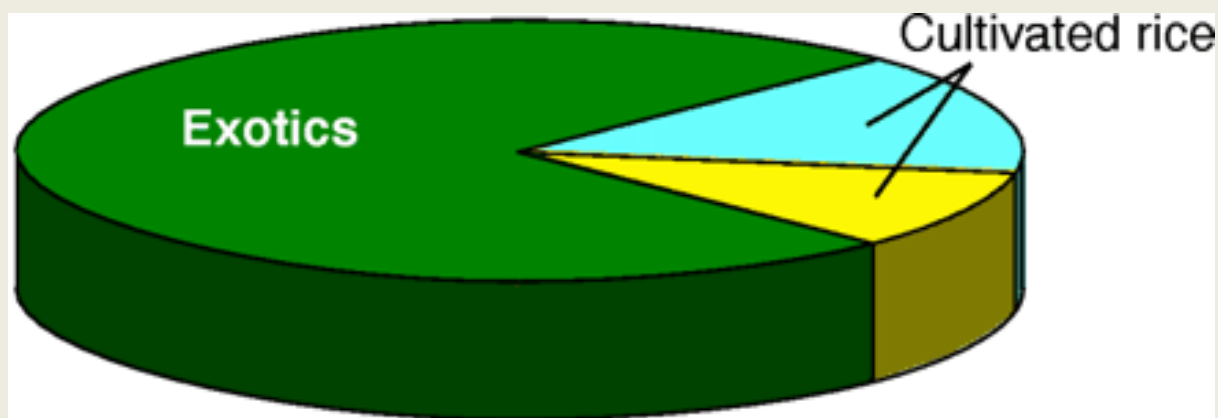


במהלך התירבות וההשבחה חלה הקטנה דרמטית של השונות הגנטית

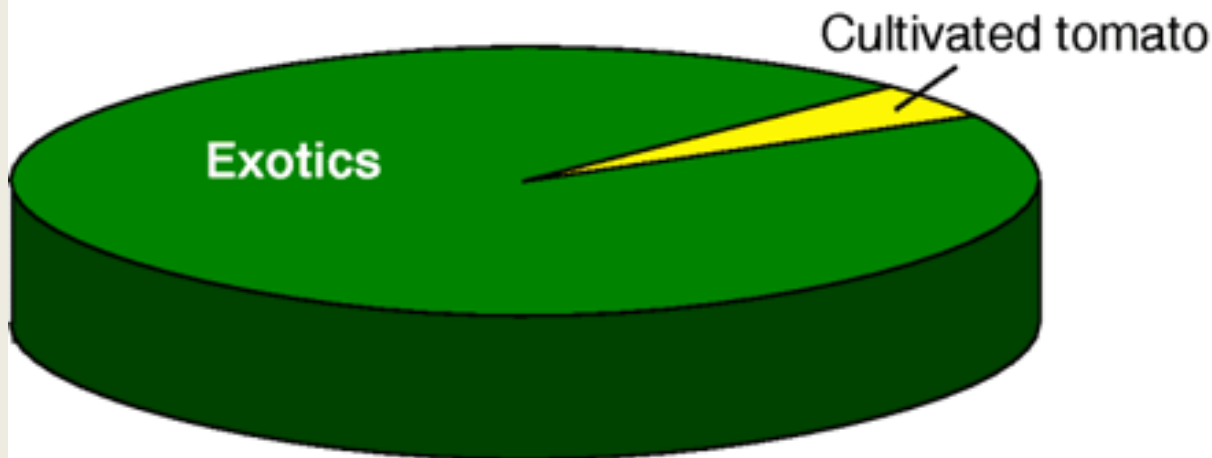


שעור השונות במיני תרבות של אורז ועגבניה

אורז

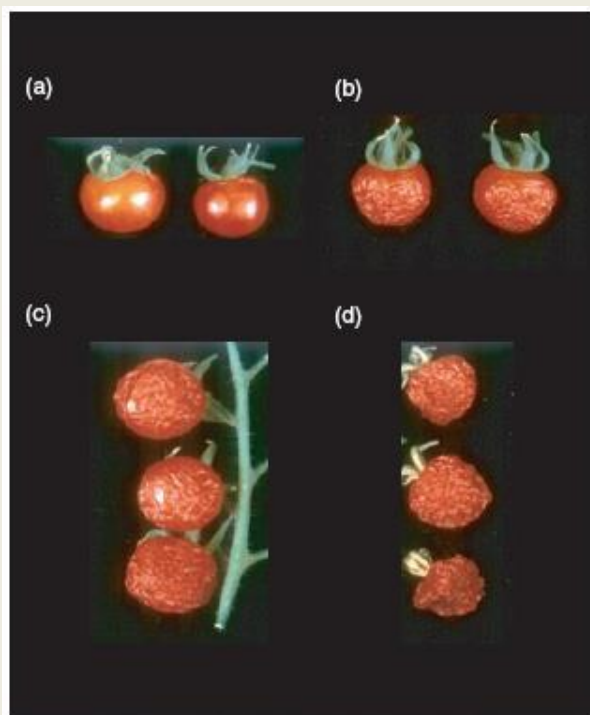


עגבניה

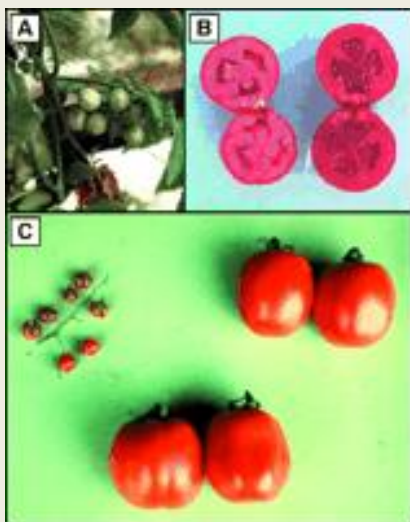


שמוש במיני בר של עגבניה לטיפוח

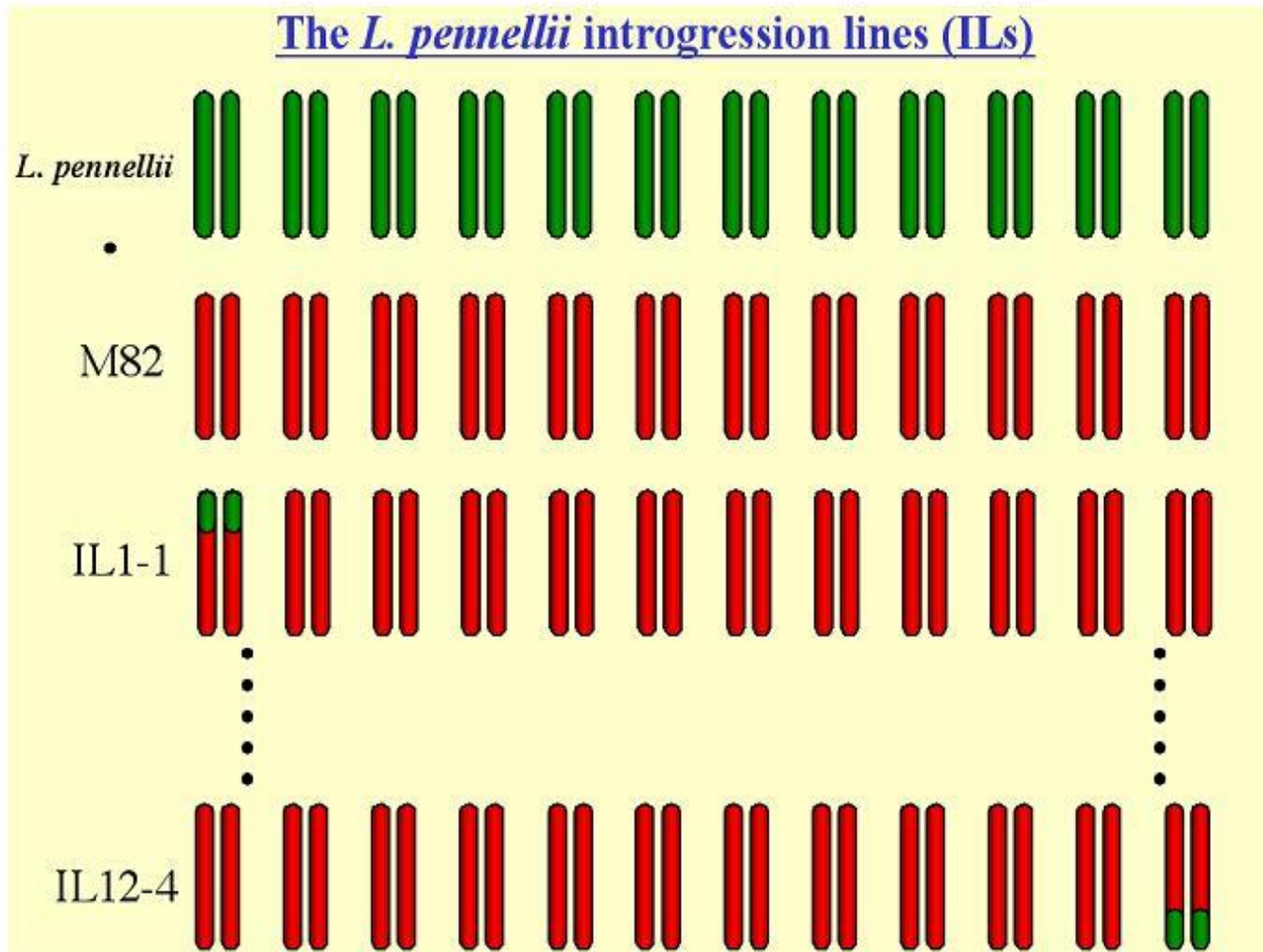
- עמידויות למחלות
- שיפור איכות-העלאת תכולת סוכרים
- מוצר חדש-עגבניות צימוקים
- העלאת יבול (קוי אינטרוגרסיה)
– זיהוי גנים מעלי יבול



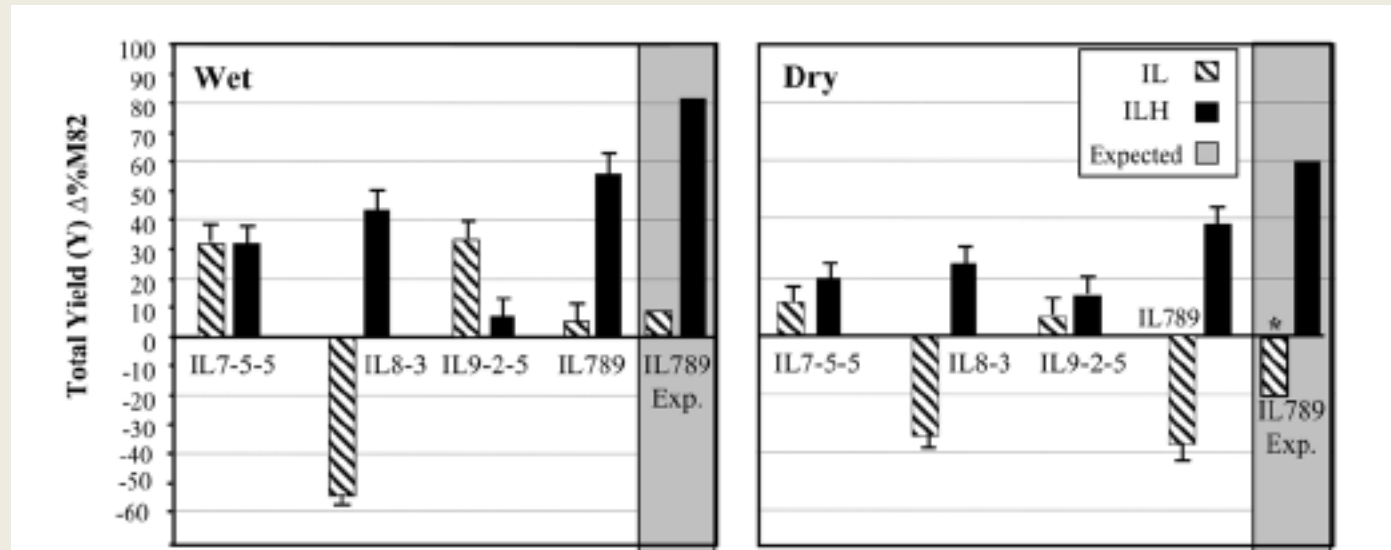
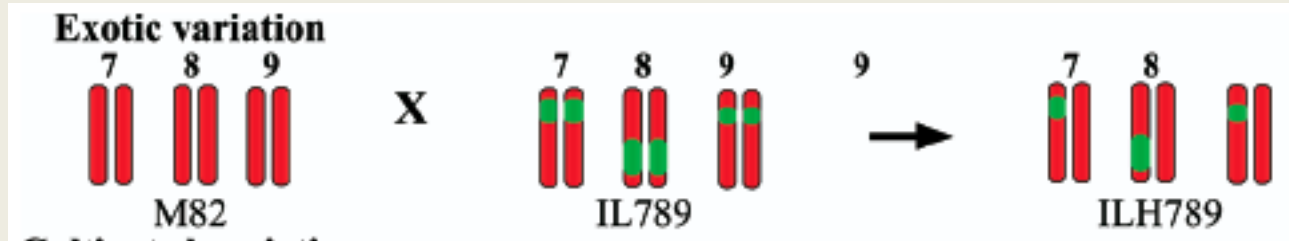
מיני בר של אורז ועגבניה הם בעלי יכול נמוך אך מכילים גנים להעלאת יכול



קוי אינטרוגרסיה מהבר של עגבניה



מחדרים ממין בר של עגבניה המעלים יכול



קוי אינטרוגרסיה מהבר- מהמעבדה

לשדה

Table 3. 2002 MIDSEASON PROCESSING TOMATO VARIETY TRIAL
Robertson Farms – Tracy, California

Replicated Yield Trial					
Replicated Variety	Yield (tons/acre)	Brix Yield (tons/acre)	°Brix (% Soluble Solids)	PTAB Color	pH
AB 5	60.9	3.239	5.33	23.00	4.37
AB 2	57.5	2.879	5.03	23.25	4.39
H 8892	57.0	2.536	4.45	23.75	4.38
HMX 830	52.0	2.515	4.83	24.50	4.45
Sun 6324	51.8	2.752	5.48	23.25	4.47
CXD 215	51.3	2.479	4.83	24.00	4.43
H-2601	50.7	2.403	4.78	23.20	4.45
Halley 3155	50.6	2.449	5.00	23.75	4.41
H-9665	49.3	2.341	4.75	23.75	4.34
CXD 221	47.1	2.526	5.60	23.25	4.38
H-2501	46.5	2.339	5.03	22.00	4.40
CTRI 10-56	44.7	2.140	4.80	22.25	4.41
PS 849	44.7	2.138	4.78	24.25	4.37
AP938	43.5	2.190	5.05	23.50	4.40
CXD 222	43.1	2.252	5.03	23.25	4.40
H-9780	42.5	2.176	5.13	23.00	4.35
H-9998	38.0	1.730	4.55	22.00	4.44
LSD @ 5%	8.9	0.43	0.30	1.20	0.06
C.V.	12.8%	12.5	4.5	3.6	1.0
Mean	48.8	2.417	4.97	23.31	4.40

תירבות הפלפל

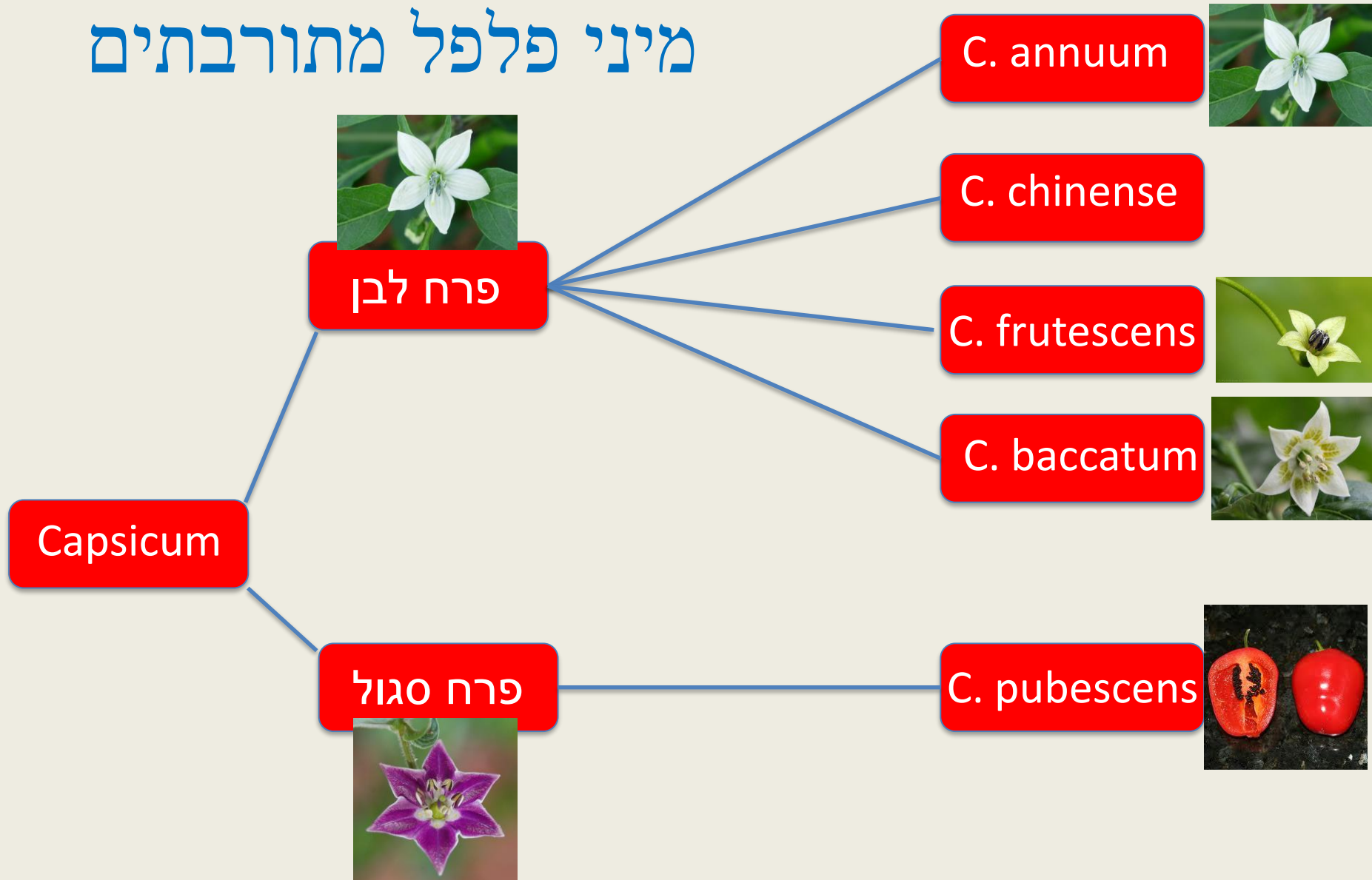
- הפלפל תורבת לפני כ 7000 שנה במרכז ודרום אמריקה
- התפשט לשאר העולם במאה ה16
- ידועים חמישה מיני פלפל שעברו תירבות אולם הפלפל המתוק קיים בעיקר במין אחד בלבד
C.annuum



גנטיקה של תירבות הפלפל

- פרי בר-רך, ניתק מהעוקץ, קטן, עגול, זקוף, חריף ומתאים להפצת זרעים על ידי ציפורים
- תכונות המבוקרות על ידי גן יחיד: ציפה רכה, ניתוק קל מהעוקץ, חריפות, זקיפות
- תכונות פוליגניות: גודל פרי, צורת פרי

מיני פלפל מתורבתים



רוב השונות המצויה במיני הפלפל אינה מנוצלת להשבחה

שמוש במיני בר בפלפל-עמידות ל TSWV

מקור עמידות
C. chinense

זן



► Pepper

TRIAL DATA – READ NOTE AT THE BOTTOM

Vargas

Very regular fruit with smooth lobes

- Size (WxL): 9X9
- Av. Weight (gr.):
- Maturity: Early
- Fruit Walls : Thick
- Plant Height & Habit: Medium - upright
- Resistances: ToMV, PMMoV P-1,2, PMMoV P-1,2,3, TSWV
[Resistances Legend](#)

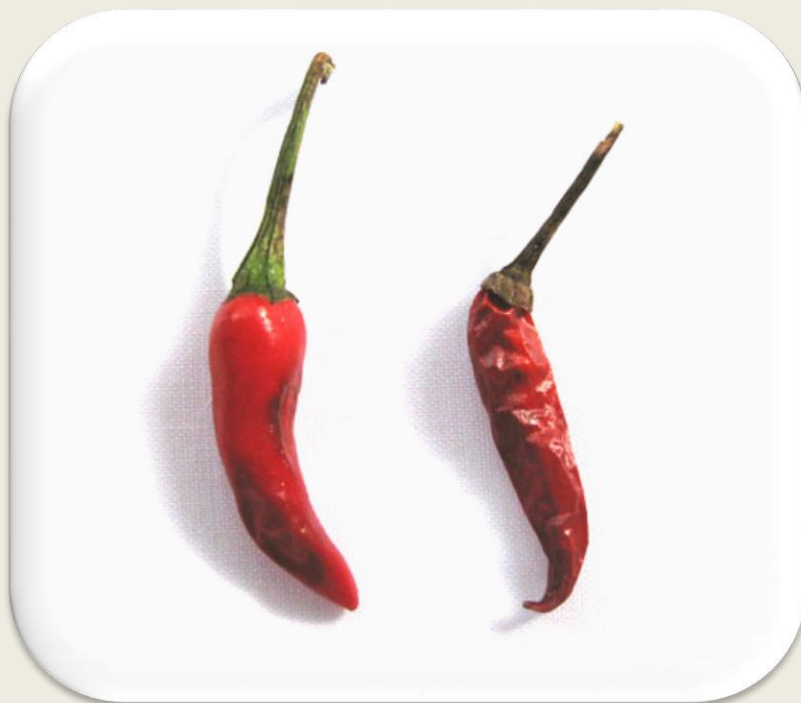
Seeds' Weight/Number Ratio

Approx. Weight of 1,000 Seeds	Approx. No. of Seeds/Gram.
6.5-9	110-150

האם ניתן לנצל את מיני הבר כמקורות שונות
להשבחת תכונות נוספות?

שמוש במיני בר בפלפל-שיפור איכות

חיי המדף של פרי הפלפל מושפעים מאבוד מים
לאחר הקטיף



שמוש במיני בר בפלפל- שיפור איכות

זיהוי גנים המבקרים קצב אבוד מים נמוך בפרי הקטוף
של מין הבר והעברתם למין התרבותי



C. annuum

1154-High water loss

X



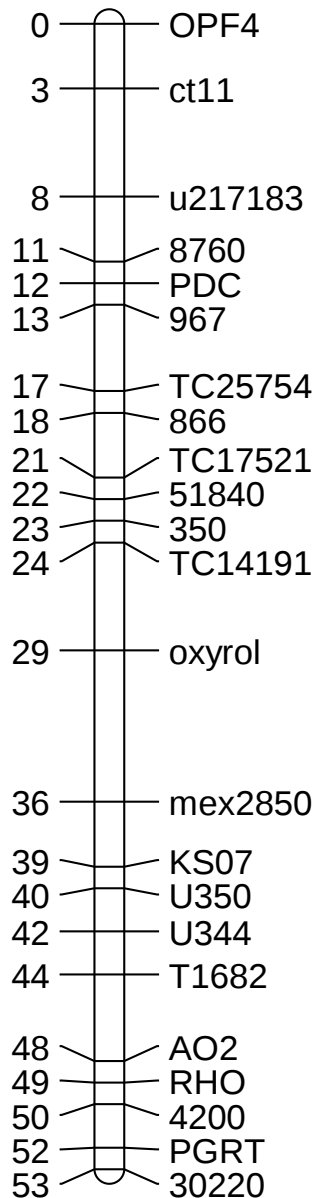
C. chinense

USDA162-Low water loss

מיפוי גנטי-זיהוי גנים ופיתוח סמנים לסלקציה

- מיפוי גנטי מאפשר זיהוי אזורים בגנום המכילים גנים המבקרים את התכונה
- ירידה דרמטית במחירי הריצוף של DNA מאפשרת פיתוח מפות גנטיות וזיהוי גנים ברזולוציה מאד גבוהה

כרומוזום 10



מיפוי אזור בגנום
המבקר קצב אבוד מים
לאחר הקטיף

השוואה בין קוים איזוגנים הנבדלים בקצב אבוד מים בפר

Trait	Low PWL-NILs Mean $\pm$ SE	High PWL-NILs Mean $\pm$ SE	% Difference
PWL of green fruit (mg/cm ²)	19.1 $\pm$ 1.4*	33.4 $\pm$ 5.1	43
PWL of red fruit (mg/cm ²)	21.6 $\pm$ 0.4**	40.0 $\pm$ 0.8	46
TSS before storage (%)	9.5 $\pm$ 0.1**	10.3 $\pm$ 0.1	8
TSS after storage (%)	11.7 $\pm$ 0.3	12.3 $\pm$ 0.2	
Fruit softening before storage (mm)	3.2 $\pm$ 0.1	3.6 $\pm$ 0.2	
Fruit softening after storage (mm)	3.0 $\pm$ 0.2*	4.1 $\pm$ 0.3	26
Days from anthesis to color break	39.6 $\pm$ 0.5	40.0 $\pm$ 0.7	
Days from anthesis to red color	46.1 $\pm$ 0.6**	43.7 $\pm$ 0.4	5
Days from anthesis to wilting	55.4 $\pm$ 0.8**	48.9 $\pm$ 0.8	12

* = t-test $p \leq 0.05$, ** = t-test $p \leq 0.001$

שיפור ערך תזונתי בפלפל- העלאת תכולת פלבנואידים (נוגדי חימצון)

- מיפוי גנטי ברזולוציה גבוהה לזיהוי גנים עקריים
המבקרים את התכונה



PI 1901



PI 1902

Bar= 10 cM



PI 1901 PI 1902

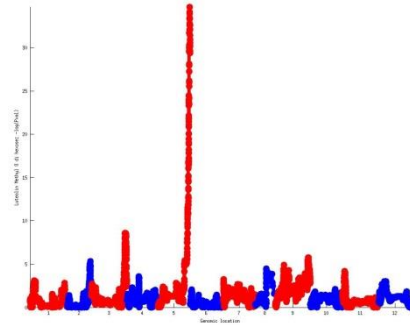
Metabolite	1901	1902
Chlorophyll (mg/100gr)	0.2 ± 2	27 ± 2
Provitamin A (mg/100gr)	1 ± 9.5	18 ± 2
Zeaxanthin (mg/100gr)	0.3	2.8
Vitamin E (mg/100gr)	3.5 ± 1	17 ± 2
Quercetin (mmol/100gr)	0.04	0.009
Luteolin (mmol/100gr)	0.007	0.0018
Vitamin C (mg/100gr)	210 ± 30	200 ± 50

מיפוי גנטי של תכולת מטבוליטים בטכנולוגיה של Genotyping by sequencing (GBS)

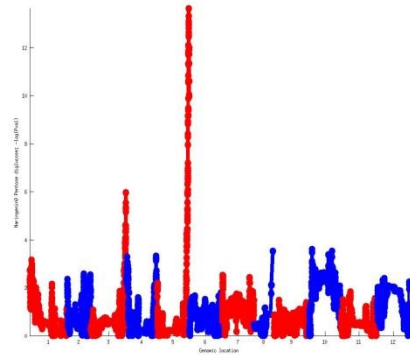
- 230 F2 progenies
- Phenotyping-136 semi polar metabolites in ripe fruit (chlorophyll in green fruit)
- Sequencing- 100nt SR
- Average number of reads per F2 individual: ~3.2M reads per sample
- 330,000 SNPs in 5711 BINs
- Map- 1409 cM, average bin size-0.2 cM (554,00 bp)
- QTL detection: t-test (FDR<10%),
- Positive control-SGR

מיפוי גן מרכזי המבקר תכולת פלבונואידים

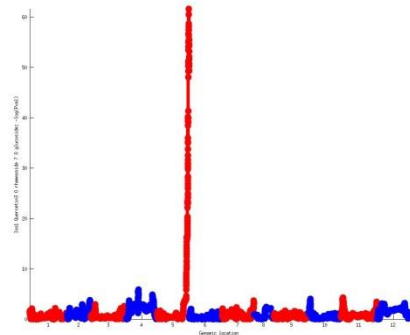
Luteolin_Methyl_O_di_hexose



Kaempferol_Hexose_Hexose_3_O_



Iso1_Quercetin3_O_rhamnoside
_7_O_glucoside



סיכום QTL לתכולת פלבונואידים

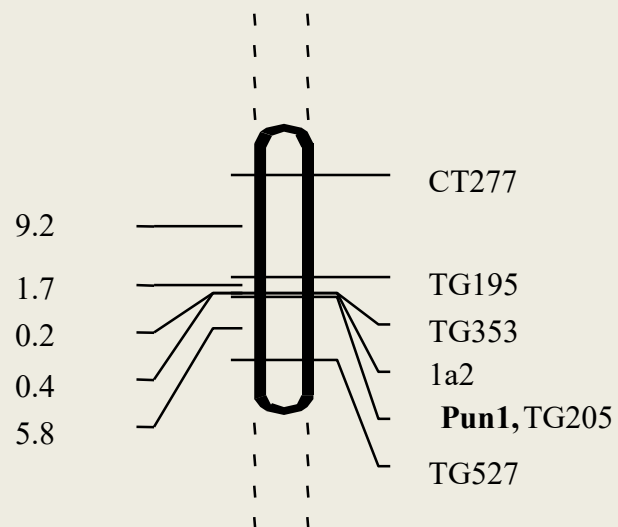
- מיפוי גנטי ברזולוציה גבוהה אפשר זיהוי אזור בגנום הפלפל המבקר את התכונה
- רצף גנום הפלפל אפשר זיהוי גן מועמד (בקר שעתוק ממשפחת MYB) המבקר את התכונה
- המשך עבודה- העברת התכונה לקוי טיפוח תוך שמוש בגן שנמצא בתאחיזה כסמן לסלקציה

סמנים גנטיים

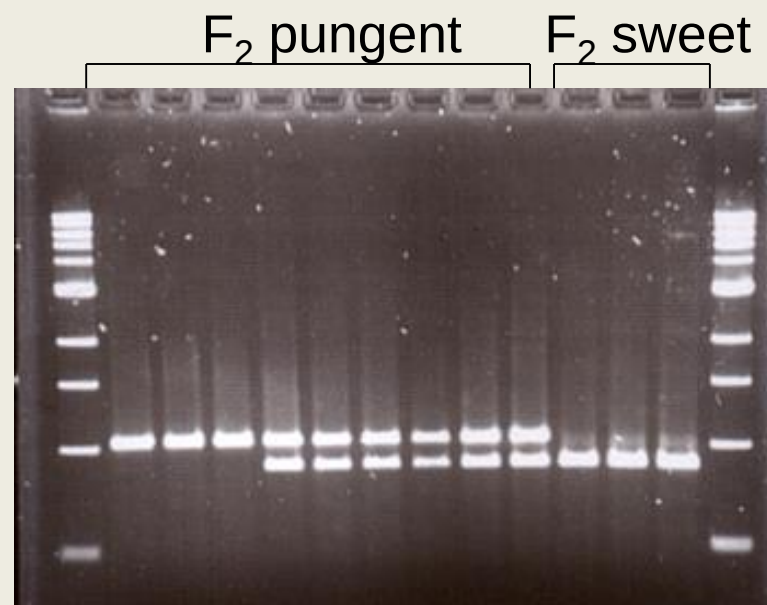
- סמן מולקולרי- שונות ברצף ה DNA הנמצאת בתאחיזה לגן מטרה
- השמוש בסמן לפשט את הסלקציה לתכונה – לדוגמה סלקציה לעמידות למחלות או תכונות מורכבות אחרות

סמן לחריפות בפלפל - הגן *Pun1*

Map of *Pun1* in chromosome 2



Marker for *Pun1*



שמוש במוטציות בהשבה



יצירת שונות חדשה: מוטגנזה

חזרה לבמה המרכזית

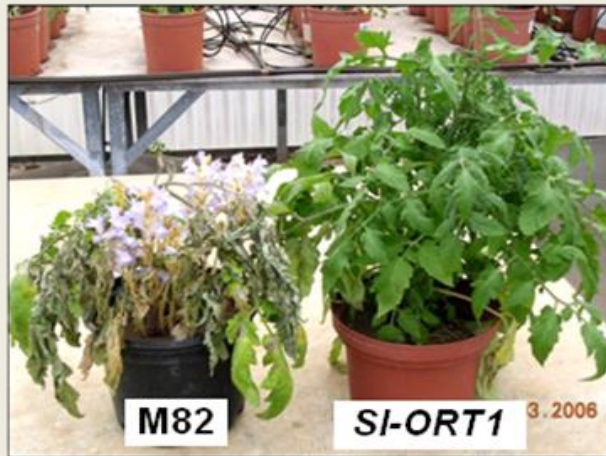
- שיטות מיפוי יעילות של המוטציה בגנום
- רצף הגנום מאפשר זיהוי רצפים של גנים מועמדים
- ניתן לחפש מוטציה בגן מטרה מסוים

מוטציות בהשבחת עגבניות

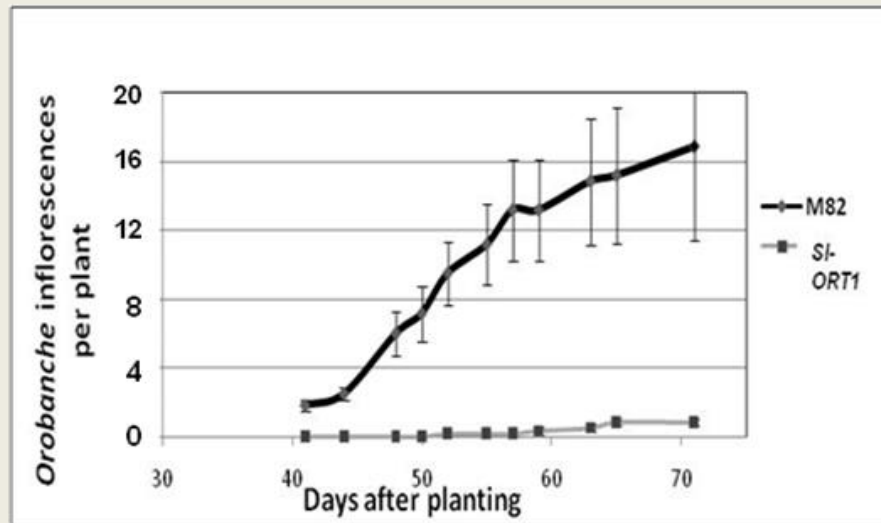
- Utilization of natural mutations
 - *self pruning (sp)*
 - *Ripening inhibitor (Rin, nor)*
 - Fruit color (*r, Beta, hp*)
 - Fruit shape (*ovate, sun, fasciated, lc*)
 - Fruit size (*fw2.2, lc*)
- Induced mutations (EMS)
 - Resistance to broomrape
 - Partenocarpy
- Tomato genome sequence and new detection methods allows identification of new beneficial mutations

עמידות לעלקת בעגבניה

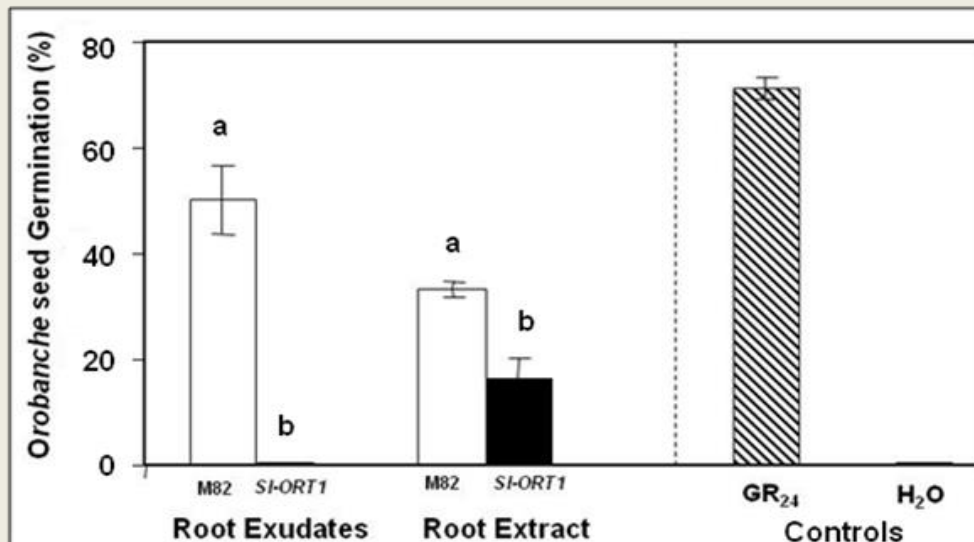
A



B



C



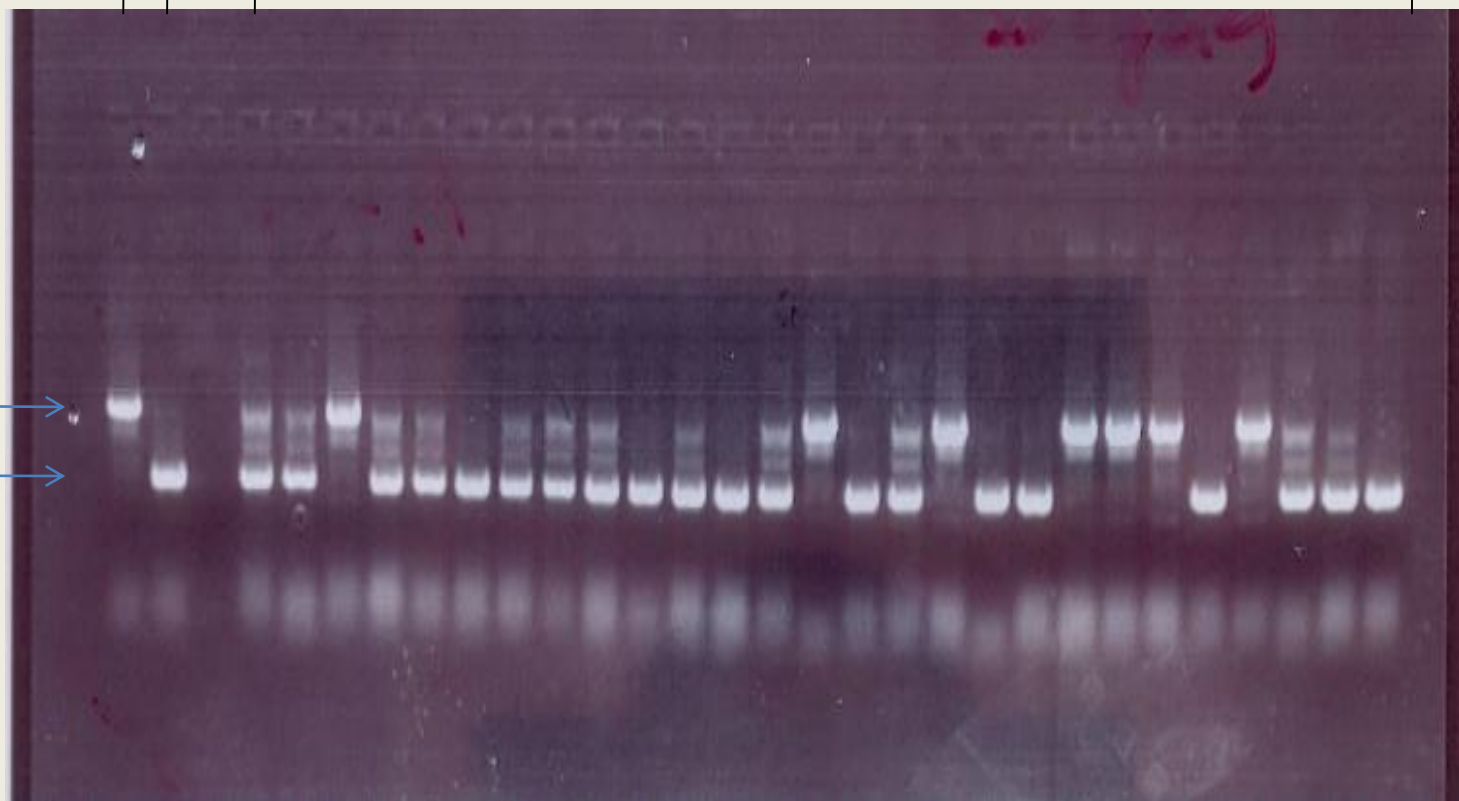
פיתוח סמן מולקולרי לסלקציה לצמחים עמידים לעלקת

WT ORT

F2

1000 bp

500 bp



חנטה בחום של מוטנט עגבניה פרתנוקרפית

מוטנט



M82



שיפור ביבול עגבניה במכלוא עם מוטנט המבקר דגם הצימח



M82

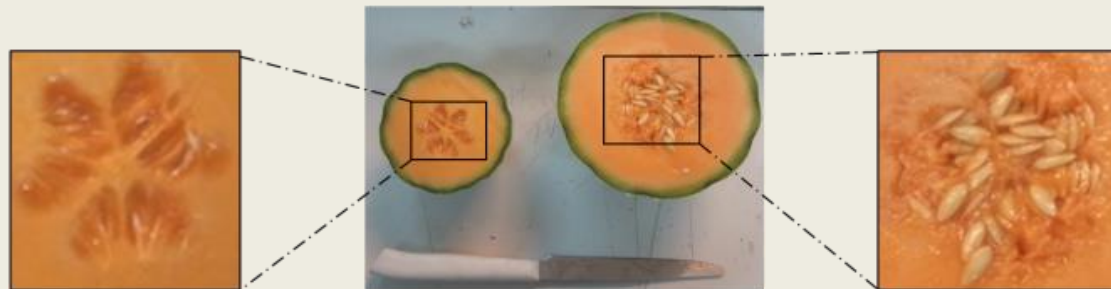
sft-4537

sft-4537

×

M82

מלון אישי באיכות ויבול גבוהים - superfruiter

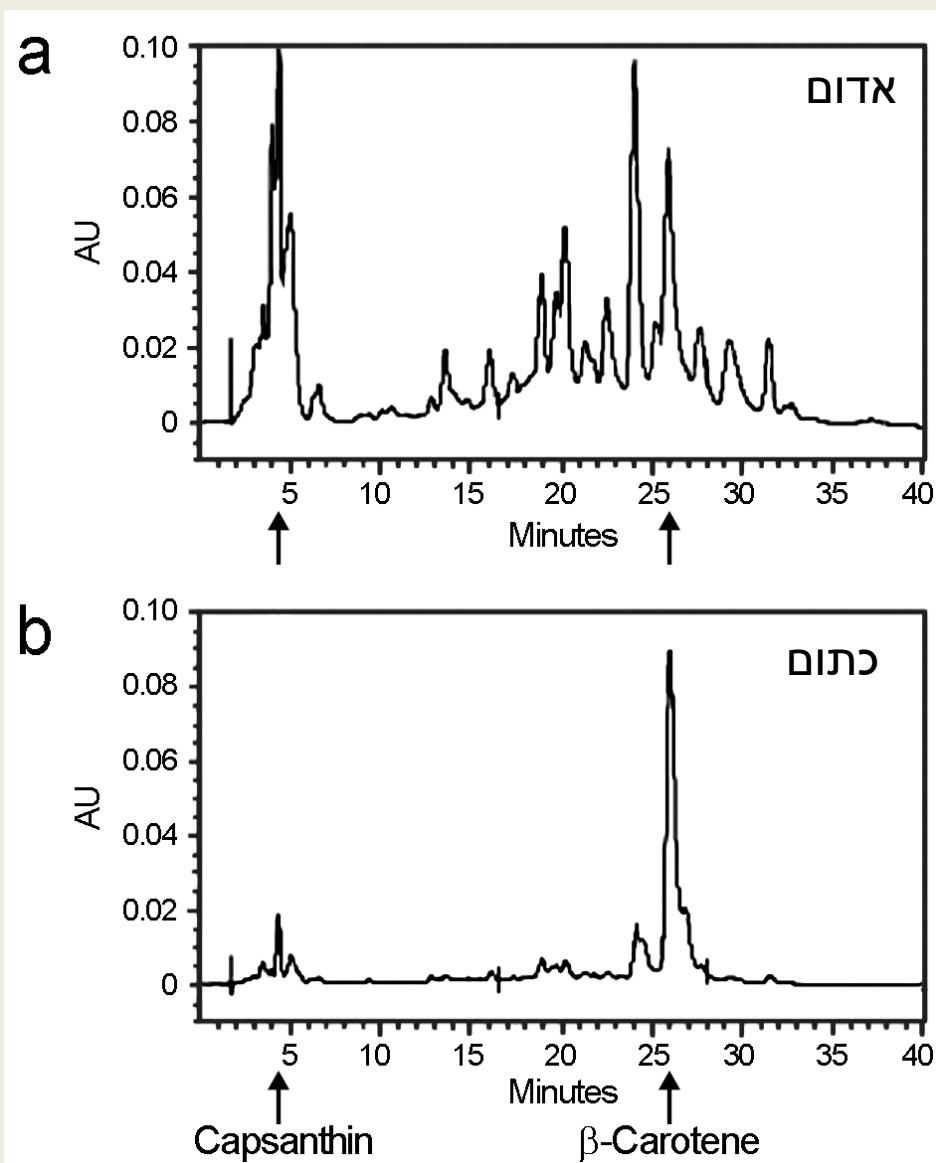
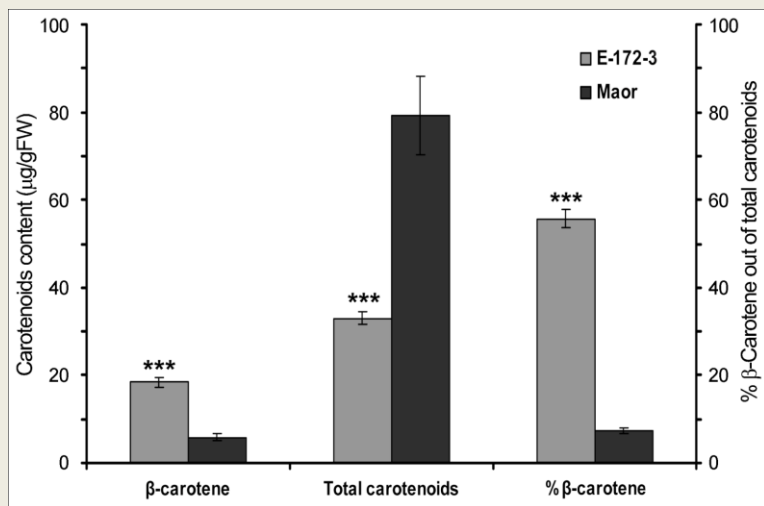


Superfruiter (*sf*) is a unique melon developed in the ARO that produces 'personal' high quality seedless fruit.

יצירת אוכלוסית מוטנטים בפלפל



מוטנט פלפל כתום עשיר בבטא קרוטן



צמחים טרנסגנים- עגבניה עמידה לניקוד בקטרי

- אין עמידות אפקטיבית בעגבניה
- הדברה כימית המבוססת על תכשירי נחושת לא אפקטיבית ורעילה לסביבה
- הגן Bs2 מקנה עמידות בפלפל כנגד טווח גזעים רחב של הפתוגן
- צמחי עגבניה טרנסגנים המכילים את הגן Bs2 מפלפל מראים עמידות גבוהה לפתוגן

ניסוי שדה לבחינת העמידות הטרונסגנית



רגיש



עמיד

Horvath DM, Stall RE,
Jones JB, Pauly MH,
et al. (2012)

מזון מהונדס גנטית בישראל

- אין בישראל מזון טרי מהונדס גנטית
- יש מזון מהונדס גנטית מעובד כמו תירס וסויה

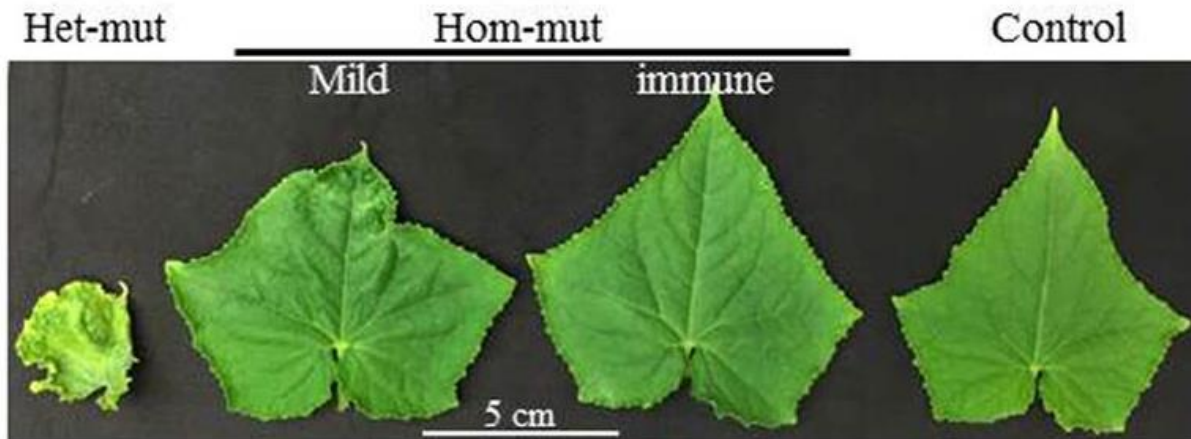
עריכה גנטית

- יצירת מוטציות מכוונות בגן מטרה בשיטות של הנדסה גנטית (CRISPR- Cas9)
– יצירת שבר ע"י אנזים חיתוך (Cas9) באתר מוגדר ב DNA ותיקון השבר במנגנון היוצר טעויות ברצף
- הצמח המוטנט אינו נחשב מהונדס גנטית שכן הגן המוטנט אינו מכיל DNA זר (הטרנסגן המכיל את Cas9 מורחק ע"י הכלאות עם צמח נורמלי)

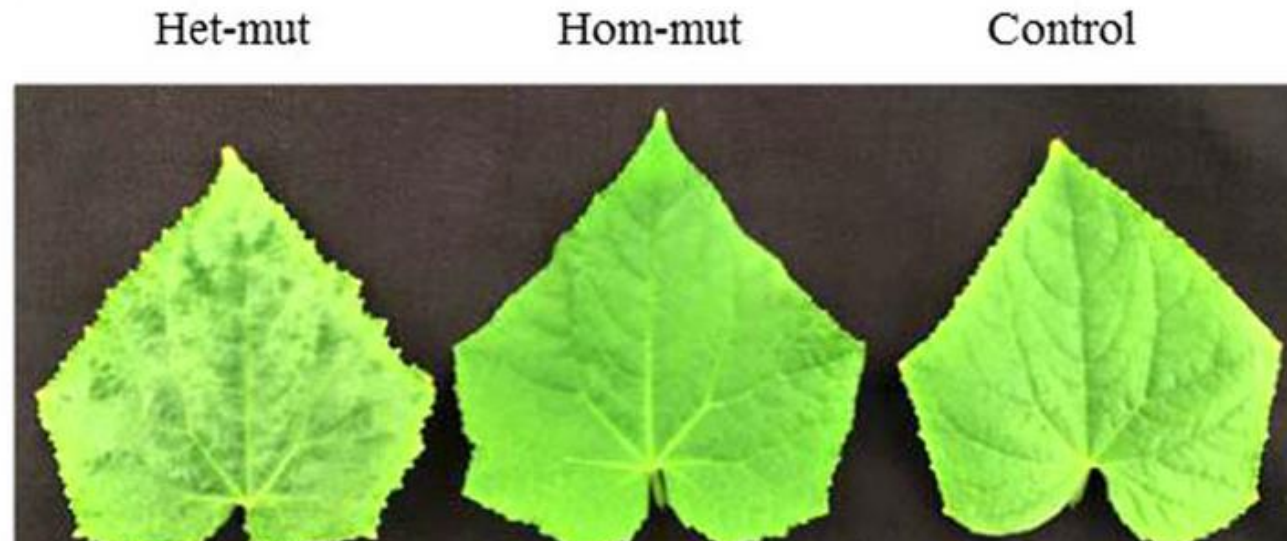
דוגמא-עמידות לוירוס במלפפון

(עבודה של עמית גלאון וחובריו)

Development of broad virus resistance in non-transgenic cucumber using CRISPR/Cas9 technology



עמידות ל ZYMV



עמידות ל PRSV

הרכבות בהשבחת ירקות



- יתרונות

- עמידות למחלות קרקע
- עמידות לעקות כגון מליחות ויובש
- יבול?
- השריית עמידות למחלות נוף?

- השבחת כנות תוך סלקציה לקומבינציות כנה/רוכב

- אבטיח/מילון על דלעות
- עגבניה על עגבניה בר (שיפור יבול)
- פלפל: יש עמידויות למחלות קרקע אך אין יתרון ביבול

סיכום-פיתוחים טכנולוגים ליעול ההשבחה

- פיענוח רצף הגנום של מרבית צמחי היבול
- ירידה דרמטית בעלות פיתוח ויישום סמנים מולקולרים ככלי סלקציה
- פיתוח שיטות לסלקציה של מוטנטים ומוטגנזה מכוונת
- שמוש בטכניקות טרנסגניות בהשבחה אולם הזן הסופי אינו טרנסגני
- יישום טכנולוגיות לקביעת הפנוטיפ בנפח גבוה – מערכות אוטומטיות למדידת פרמטרים של צמיחה



תודה על ההקשבה