

דו"ח לתכנית מחקר מספר 837-0149-13

שנת המחקר: 1 מתוך 3 שנים

## מיפוי גנטי בשעורה

### BARLEY-NAM - Locating exotic genes that control agronomic traits under stress in a wild barley nested association mapping (NAM) population

מוגש לקרן המדען הראשי במשרד החקלאות ולהנהלת ענף פרחים

ע"י

איל פרידמן חקר ירקות וגנטיקה, מינהל המחקר החקלאי, בית דגן

דוד בונפיל גידולי שדה מינהל המחקר החקלאי, גילת

Eyal Fridman, Dept. of Vegetable and Crop Research, Insitute of Plant Sciences, Agricultural Research Organization, P.O.B. 6 Bet Dagan. E-mail: [fridmane@agri.gov.il](mailto:fridmane@agri.gov.il)

David Bonfil, Field Crops and Natural Resources, The Institute of Plant Sciences Agricultural Research Organization, Gilat Research Center, M.P. Negev, 85280, ISRAEL. E-mail: [bonfil@volcani.agri.gov.il](mailto:bonfil@volcani.agri.gov.il)

## תקציר

### מעריכים מומלצים לבדיקת הדוח המדעי

1. רואי בן דוד, מכון וולקני
2. חנן סלע, אוניברסיטת תל אביב
3. אילן פארן, מכון וולקני

.....

### הצהרת החוקר הראשי:

הממצאים בדו"ח זה הינם תוצאות ניסויים.

הניסויים מהווים המלצות לחקלאים: לא (מחק את המיותר)

\*במידה וכן, על החוקר להמציא פרטים על הגוף שבאמצעותו מופץ הידע (כמו: שה"ם)

17.12.2014

תאריך:



חתימת החוקר

### רשימת פרסומים שנבעו מהמחקר:

1. Fridman, E. (2015) Consequences of hybridization and heterozygosity on plant vigor and phenotypic stability. Plant Sci 232: 35-40.

.2

**משרד החקלאות דו"ח לתוכניות מחקר  
לקרן המדען הראשי**

קוד זיהוי	א. נושא המחקר (בעברית)
837 - 0149 - 13	מיפוי גנטי באוכלוסיות שעורה

ג. כללי			
מוסד מחקר של החוקר הראשי			
אוניברסיטה עברית			
סוג הדו"ח		תאריכים	
1	תקופת המחקר	תאריך משלוח	הדו"ח למקורות המימון
	עבודה מוגשת הדו"ח	התחלה	סיום
	שנה חודש	שנה חודש	שנה חודש
	01 / 2014	12 / 2014	/
שנת המחקר: שנת מחקר/ סהכ שנים			
2014 / 01			

ב. צוות החוקרים		
שם פרטי	שם משפחה	שם פרטי
חוקר ראשי	פרידמן	איל
חוקרים משניים		
1	בונפיל	דוד
2		
3		
4		
5		
6		
7		

ד. מקורות מימון עבורם מיועד הדו"ח		
שם מקור המימון	קוד מקור מימון	סכום שאושר למחקר בשנת תיקצוב הדו"ח בשקלים
קרן מדען ראשי	293,000	

ה. תקציר שים לב על התקציר להיכתב בעברית לפי סעיף ה' שבהנחיות לכתיבת דיווחים

אספקת ייצור מזון בר קיימא לנוכח שינויי האקלים דורשת מהפכה בטיפוח גידולים המספקים יבול גבוה ובר קיימא תחת תנאים סביבתיים משתנים. מיני הבר של גידולים מודרניים מכילים גרסאות שונות של גנים (אללים) היכולים לשפר את היכולת להשיג מטרה זו, ועם זאת גידולים מודרניים הופכים עדיין להיות מדולדלים יותר ויותר במגוון ביולוגי. שני מכשולים העיקריים לניצול מוצלח של מיני הבר הינם מציאת השונות האללית הרלוונטית וגידול של הצמחים בשדה. פרויקט השעורה-NAM ישתמש בשעורת הבר (*Hordeum vulgare* SSP. *Spontaneum*) כמודל ויישם כלים גנומיים וטיפוחיים וזאת בכדי לשפר את הביצועים האגרונומיים של שעורה תרבותית תחת עקות ביוטיות ואביוטיות. לשם כך, אנו מיישמים גישת מיפוי אסוסיאציה מקונן (Neated Association Mapping; NAM) באמצעות אוכלוסיה ראשונה מסוג זה בדגניים, HEB-25.

אוכלוסיית HEB-25 כוללת 1,420 קווי BC1S3, שמקורן בהכלאות של זן שעורה מובחר (Barke) עם 25 תורמי שעורת בר שונים. הקווים יאופינו תחילה לשונות אללית ב-21,643 גנים (כל גני השעורה הידועים), תוך שימוש בטכנולוגיות ריצוף מתקדמות. אנו מצפים למפה הכוללת בערך SNPs 400,000 בתוך HEB-25. כמות זו מעניקה רמה חסרת תקדים של מיפוי ברזולוציה גבוהה. שנית, כל קווי HEB יבחנו בניסויי שדה בגרמניה, סקוטלנד וישראל כדי להעריך את ביצועים אגרונומיים תחת מחסור חנקן, בצורת והתקפת הפתוגן. מרכיבי יבול ותוכן תזונתי גם כן יבחנו, כמו גם התנגדות נגד חילדון העלה ומחלות שעורה נוספות. בנוסף, ביצועים אגרונומיים ימודלו על ידי טכנולוגיית חישה מרחוק לא פולשנית במטרה לחזות פנוטיפ סופי בתנאי שדה. שלישית, נתונים שיאספו ישמרו ויעובדו בבסיס הנתונים מרכזי, שנבנה סביב מסדי נתונים אינטרנטיים נגישים ומותאמים אישית. רביעית, נתונים גנוטיפ ופנוטיפ של HEB-25 ישולבו בסריקת הגנום (GWAS) על מנת לזהות אללים ממין הבר המשפרים ביצועים תחת עקות שונות. מכיוון שהמיפוי ברזולוציה גבוהה ביותר, מחקר זה יניב גנים מועמדים לשיפור התכונות שימדדו. פרויקט השעורה-NAM יהיה מועיל לאיתור גנים וריאנטים גנטיים המסדירים תכונות אגרונומיות בשעורה יוגדרו ברמת פירוט חסרת תקדים ליבול. מידע זה ישמש כארסנל אסטרטגי עתידי לשיפור יבולים בדגניים חשובים אחרים כגון חיטה ושיפון. בנוסף, אללים אלו יהיו זמינים ליישום בגידול שעורה בעתיד ובכך יתאפשר טיפוח זני שעורה חדשים עם ביצועים משופרים תוך הרחבת המגוון הביולוגי וקיימות של המאגר גנטי שישמר גם בזני שעורה מובחרים

1. אישורים

הנני מאשר שקראתי את ההנחיות להגשת דיווחים לקרן המדען הראשי והדו"ח המצ"ב מוגש לפיהן

17.12.2014

איל פרידמן

תאריך  
(שנה) (חודש) (יום)

רשות המחקר

אמרכלות  
(רשות המחקר)

מנהל המכון  
(פקולטה)

מנהל המחלקה

חוקר ראשי



Dec 17, 2014

## **1<sup>st</sup> annual progress report for Jan-1-2014 to Nov-30-2014**

ERA CAP Research Project –

BARLEY-NAM – Locating exotic genes that control agronomic traits under stress in a wild barley nested association mapping (NAM) population.

### ***1. Introduction***

The general goal of this research is to perform a genome scan for allelic variation from wild relatives of cultivated barley that modulates drought resistance in a field set-up. This is conducted by associating between single nucleotide polymorphism (SNP) within a multi-parent mapping population (HEB NAM) and field performance under well- and poor-watered conditions. The HEB NAM is derived from cross of an elite variety (*Hordeum vulgare*; cv Barke) to 25 wild barley accessions (*H. spontaneum*). The allelic diversity is obtained by next generation resequencing of 1420 progeny and field phenotype is conducted for the same population in Israel (drought tolerance), UK (nitrogen stress tolerance), and Germany (pathogen resistance). Agronomic performance in Israel include non-invasive remote sensing technologies to establish phenotype predictions.

The initial goals of the research are: (i) Perform genotype by sequencing (GBS) of the HEB NAM population and propagate seeds for field trials (after test by plant protection) (ii) To evaluate the field performance of the population by performing field trials and measurements in the field (iii) To perform QTL analysis for identifying single nucleotide polymorphism associated with index of drought for yield-related traits (iv) to compare remote sensing measurement to actual invasive phenotype in order to establish phenotypic predictions , and (v) To identify candidate genes for drought resistance and fine map these by test-cross selected recombinant lines derived from the HEB NAM population.

During the past year we have achieved several goals that should allow the field analysis of the whole population in one location (Rehovot) during the originally planned 2015, and part of it at Gilat. The activity during 2014 was mostly preparative and concentrated on 1) approving the seeds, after these were tested by the plant protection lab, and 2) propagating the population to allow examination of the population in an agricultural set-up, and 3) designing and building a suitable and approved quarantine to allow propagation of the whole collection, as well as execution

of controlled field trials in different water regimes (to be conducted during 2015). In addition, the equipment required for high throughput sowing of a relatively large and complicated field trial that includes more than 1400 lines was purchased (cassettes).

The process of seed import and approval for sowing lasted more than 6 months since initiation of the project. This delay was due to inappropriate delivery of the 1420 seed packs from Germany to Israel (failure of the postal service led us to initiate a second delivery by FedEx). The seeds arrived to Israel only at April 2014, germinated and plants were transplanted to the field only in June 2014. During the first half of 2014 soil-less culture system was built to allow propagation of the collection under the regulation of the plant protection and inspection services (PPIS; Ministry of Agriculture). Nevertheless, this system should allow us to examine one experiment during 2015 since we could not get enough seeds from all lines to perform the originally planned plot trial for all 1420 lines (see below).

Notably, as part of extending the goals of this research project, we have set experiments to examine responses of additional wild germplasm to abiotic stress. Original research activities that were postponed due to the delay in seeds delivery were substituted with setting the basis for a comparative QTL mapping between the HEB NAM population and the previously established Barley1K that was developed in the Fridman lab [1]. Eighty accessions have already been resequenced using an exome seq by in collaboration with the UK partner as part of this project (Prof. Andy Flavell, JHI). This collection was propagated and the field trials of 2015 would therefore be supplemented with examination of *Hordeum spontaneum* panel that includes accessions from the HEB NAM (the 25 parental *H. spontaneum* lines), together with 128 representative of the Barley1K collection.

## **2. Results**

### **2.1 *Set-up of the soil-less culture system (SCS) field/quarantine and propagation of the HEB NAM***

The 1420 HEB NAM accessions were all sampled for examination of contamination by viral, fungal and bacterial pathogens following the import permit. None of the accessions was found to carry hazardous pathogens and the remaining seeds were grown and caged for seed propagation. Soil-less culture system (SCS) system was built to allow drainage and treatment of the watering, which makes this system compatible for executing drought experiment during the whole project. Figure 1 depicts the set-up of the SCS that allows accommodation of >32,000 mature plants in a stand similar to commercial field. This allows examination of 2 experimental units of 10 single plants

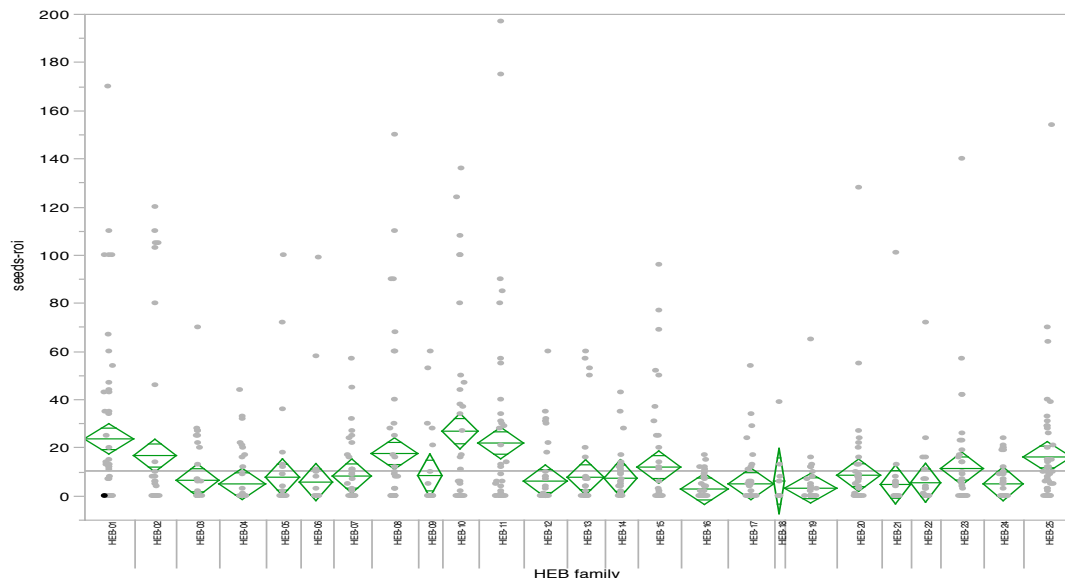
in one row, under well- and poor-watered conditions for all 1420 lines of the HEB NAM, and 128 B1K accessions.



**Figure 1. The soil-less culture system (SCS) for barley growth under controlled water regime.** The system is arranged in 12 pairs of plastic troughs, each accommodating 270 experimental units of 10 plants. Each trough could be watered independently and all are drained to a single tank to allow water treatment.

### ***2.2 Seed propagation of the HEB NAM population***

The HEB NAM population at its current stage includes BC1F3 progeny derived from 25 crosses between the Barke (*H. vulgare*) and *H. spontaneum* accessions originated from diverse location. This stage is such that each of the 1420 accession is expected to harbor 25% of the wild genome, yet with a residual heterozygosity. It was therefore imperative to cage at least 8 plants in bulk to maintain allelic diversity. Propagation of the first batch of seeds was not very efficient due to the very late planting and growth under July-August high temperatures. In this round we could obtain 10 seeds on average from each of the 1420 genotypes, and only quarter of the HEB NAM yielded minimal amount of 20 seeds (Figure 2). Nevertheless, this amount will allow us to calibrate the remote sensing protocols in the field of Gilat during the 2015 field trial (see planned research for 2015).



**Figure 2. Distribution of the seed number achieved for each of the 25 HEB NAM families (app. 60 accessions from each, total of 1420 accessions).** Since each BC1F3 family is expected to segregate within, 8-10 plants of each accession were caged and collected in pool (Figure 1). High temperatures during July and August led to reduced seed setting in most families. Additional round of propagation will take place during optimal season during winter-spring of 2015.

### 2.3 Genomic variation within the B1K diversity panel

DNA of 80 B1K accessions originated from 29 sites (Table 2) was sent to the lab of Andy Flavell (JHI, UK). Capturing and sequencing of the mRNA-coding was conducted using a recently developed platform the includes >61Mbp coding sequence target [2]. Figure 3A depicts the genetic coverage obtained for chromosome 6 using the exome capture. Linkage disequilibrium analysis using cut-off of minor allele frequency (MAF) of 0.1 (rare SNP exists in at least 8 accessions and SNP calling was achieved from >70 accessions) illustrates the high-resolution coverage using the exome-seq single nucleotide polymorphic markers. Zooming-in on specific regions highlights the short stretches of haplotypes (Figure 3B); for genes with several SNPs there are many cases in which linkage disequilibrium (LD) drops to less than  $D'=0.1$  within the gene, in agreement with previous work [3]. This indicates that association mapping may be feasible for candidate genes regulating phenotype of interest using this SNP dataset, or by implying resequencing of more genes. **This dataset will be paramount to conducting the statistical tests of association between a gene and drought indexes for traits of interest by constructing an empirical frequency distribution of the smallest  $P$  values based on genome-wide permutation. It could also serve for comparative mapping with the HEB NAM population.**



**Figure 3. LD map and haplotype blocks generated from Exome data of wild barley (B1K) accessions.**

The value within each rhombus represents the pairwise correlation between two SNPs. The LD block definition was conducted using Haploview v4.1

**A.** Positions of SNPs on chromosome 6

**B.** Zoom in on several genes (MLOCs) with varying  $r^2$  values

### 3. Discussion and future experimentation

#### 3.1 Field trials

##### 3.1.1 The HEB NAM analysis in the SCS (Rehovot)

The second batch of the HEB NAM seeds will allow planting of the whole population at two replicates of one row of 10 plants in well- and poor-watered conditions. Plants will be transplanted at third leaf stage and phenotype will follow the descriptor depicted in Table 2. Since population should be propagated for trial of 2016 (in field), plants will be caged and reproductive phenotype will be conducted on harvested caged plants. Propagation of all population in optimal season is expected to yield enough seeds from all accessions that would be sufficient for plot trials in Gilat, in a stand following the protocol of the European labs during 2016.

##### 3.1.2 The HEB NAM in the open field (Gilat)

Due to limitation of seeds for most HEB NAM accessions, only 95 accessions will be planted in both well- and poor-watered conditions, and app. 394 accessions will be planted as single plants. Goals of this reduced experiment (compared to original plan) will be 1) to test prediction of yield by means of remote sensing, and 2) compare phenotype in open field to SCS (for those genotypes shared between two experiments).

##### 3.1.3 The B1K analysis

Phenotype of the B1K accessions will follow our established protocol for whole plant



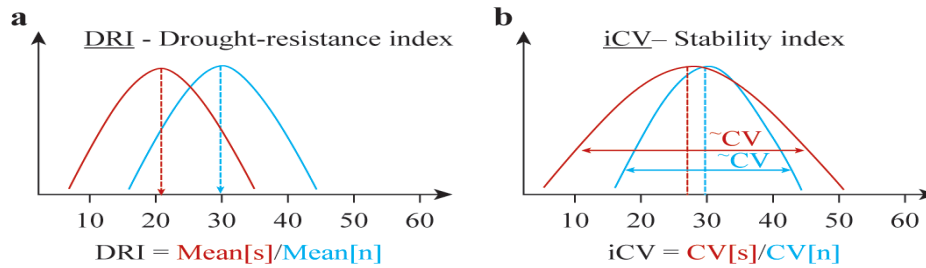
phenotype[4]. Six replicates of each accession will be phenotyped in accordance with the descriptor list (Table 2).

### ***3.1.4 Comparison of the phenotypic platforms***

The shared measured traits between the experiment in Gilat and Rehovot will be compared by correlation analysis. This would give an estimate of the type of yield-associated traits that could be tested in high throughput manner such as the one presented for Rehovot. Moreover, it will compare the reproducibility of stability or iCV measurements (see 3.2) in two independent environments for the B1K collection.

### ***3.2 Phenotypic parameters for the B1K phenotype under stress***

One of the major differences between crop plants and their wild relatives is that in naturally evolved populations the stability of fitness traits (e.g. seed number) may be as equally selected as the trait per se. Obtaining robustness against stress through different biochemical mechanisms could assist the plants to cope with a more fluctuating environment as compared to that found in the more uniform agricultural set-up. The consequence of such stabilizing mechanism would mean lower variation between individuals belonging to the same genotype [5]. Beyond the biological interest in mechanisms underlying stability, from a breeding perspective it may be beneficial to identify QTL that modulate the responsiveness of plants to stress, or the change in their coefficient of variation (index of CV, iCV; Figure 4). Inclusion of QTL for CV or iCV may improve the power of detecting QTL for trait per-se. We therefore plan to run a parallel analysis of the B1K and HEB NAM in search for QTL underlying iCV for yield traits, and at the same time, include these QTL as co-factors in the QTL analysis for the trait per-se. Such combination would set a model for incorporation genomics and phenomics of crop wild relatives for improvement of QTL analysis of more advanced pre-breeding material, i.e. the HEB NAM.



**Figure 4. Consequences of environmental stress on phenotype mean and stability.**

Traditionally, (a) The drought susceptibility index (DRI) is calculated as the ratio between the mean values of the trait (usually yield) under stress and normal environments ('n' and 's', respectively). Originally [6], this ratio was further divided by the overall change of the different genotypes analyzed (Mean [s]/Mean [n]). (b) The index of coefficient of variation (iCV) of a trait for a given genotype is calculated as the ratio between CV under stress and CV under normal or optimal conditions. Genotypes with lower iCV are considered to have higher canalization against this stress.

### 3.3 Modeling effects of drought by remote sensing

Canopy reflectance will be obtained using the RapidScan CS-45 (Holland Scientific) measuring along the whole plot. These measurements were performed at approximately 1 m above canopy. Reflectance will be collected every other week. Traditional and specific vegetation indices will be evaluated as a potential tool for phenotype classification and for yield estimation.

In addition, each genotype, the drought resistance index (DRI; [6]) on grain production will be calculated. Since the drought advance senescence, the NDVI decreases much faster than in the irrigated plants. Therefore, RapidScan data, that will be acquired during the grain filling stage would be used for modeling the DRI in grain production.

### 3.4 QTL analysis

#### 3.4.1 Analysis of drought QTL using the HEB NAM population (Rehovot)

The genetic model for analysis of all SNP provided by the European partners for the HEB NAM population will add to the genetic model of this population [7] a component of GxE interaction. Such analysis will point to modulators of yield under water deficit. Additional analysis will make use of shared SNP with the B1K that significantly modulate iCV (see 3.4.2) as covariants in the analysis. This will allow increase of the discovery power since variation in each genotypic group, for a given SNP, may be reduced in such a way that will Mendelize the QTL for the trait per-se.

#### 3.4.2 Analysis of phenotypic stability of the B1K under water deficit (Rehovot)

For each trait we will calculate iCV and genome wide association study (GWAS) will be performed with GBS data. The SSR data of the B1K [1] will serve to infer population structure and relatedness for the model.

To build a genome-wide map of the SNP significantly associated with physiological or molecular trait of interest, a stepwise model selection including effect estimation for each SNP will be calculated. This will be based on the mixed model approach described previously [8]. The P value threshold will be based on constructing an empirical frequency distribution of the smallest P values based on genome-wide permutation [9]. This analysis will be led by Dr. Efrat Laiba, a postdoc in the Fridman lab who has gained extensive know-how in association studies in human populations [10-12].

The SNP dataset for this GWAS will include both available exome seq data (currently available for 80 B1K accessions and planned for 45 more; Flavell and Fridman, personal communication), as well as candidate genes. These include candidate genes that were identified in a recent transcriptomic analysis of two accessions of the B1K that differ in their physiological responses to water deficit[13].

#### **4. Mode of activity and collaboration**

Eyal Fridman leads this project in collaboration with David Bonfil in Gilat. The two researchers share supervision of a MSc student under the auspices of the Hebrew University of Jerusalem. In addition, a postdoc and part time student in the Fridman lab are in charge of the QTL mapping and experimentation of the B1K population. Major activities are conducted with all members of the team, and monthly meetings are conducted to summarize projected activities and discussion on results. The phenotypic data retrieved from different stages of the project will be stored in Project Unity (<http://unity.phenome-networks.com>), operated by Phenome Networks company. They will be open to the two groups, and to the scientific community after publication.

#### **5. The projected deliverables from the second year of the project are:**

- 5.1** Map, and comparative map (between two populations) of QTL underlying index of drought for yield traits. Candidate genes for drought resistance, i.e. SNP within or nearby genes with significant contribution to the increased yield under drought
- 5.2** Map, and comparative map (between two populations) of QTL underlying index of stability (iCV) for yield traits
- 5.3** Modeling of remote sensing parameters on yield components
- 5.4** Large amount of seeds for plot experiments during 2016

Accession	Exome Seq	Accession	Exome Seq	Accession	Exome Seq
B1K-01-08	N	B1K-17-03	N	B1K-33-03	Y
B1K-01-12	N	B1K-17-07	Y	B1K-33-09	Y
B1K-01-16	N	B1K-17-10	Y	B1K-33-13	Y
B1K-02-02	N	B1K-17-17	Y	B1K-35-11	Y
B1K-02-05	N	B1K-19-01	Y	B1K-35-16	Y
B1K-02-13	N	B1K-19-12	Y	B1K-35-19	Y
B1K-02-18	N	B1K-19-20	Y	B1K-36-02	N
B1K-03-04	Y	B1K-20-02	Y	B1K-36-11	N
B1K-03-09	Y	B1K-20-13	Y	B1K-37-06	Y
B1K-03-16	N	B1K-20-17	Y	B1K-37-11	Y
B1K-04-04	N	B1K-21-08	Y	B1K-37-15	Y
B1K-04-12	Y	B1K-21-11	Y	B1K-38-01	Y
B1K-04-13	Y	B1K-21-20	Y	B1K-38-08	Y
B1K-05-07	N	B1K-23-06	N	B1K-38-14	Y
B1K-05-13	N	B1K-23-14	N	B1K-39-10	N
B1K-06-12	N	B1K-24-10	N	B1K-39-17	N
B1K-06-20	N	B1K-24-18	N	B1K-41-08	Y
B1K-07-02	Y	B1K-25-01	Y	B1K-41-13	Y
B1K-07-11	Y	B1K-25-15	Y	B1K-41-18	Y
B1K-07-17	Y	B1K-25-20	Y	B1K-42-01	Y
B1K-08-01	N	B1K-26-08	Y	B1K-42-07	Y
B1K-08-10	N	B1K-26-16	Y	B1K-42-16	Y
B1K-09-03	N	B1K-26-17	Y	B1K-43-05	N
B1K-09-07	N	B1K-27-08	Y	B1K-43-19	N
B1K-09-10	N	B1K-27-15	Y	B1K-44-07	Y
B1K-10-01	Y	B1K-27-19	Y	B1K-44-09	Y
B1K-10-05	Y	B1K-28-01	N	B1K-44-13	Y
B1K-10-10	Y	B1K-28-10	Y	B1K-45-02	N
B1K-11-11	N	B1K-28-17	Y	B1K-45-14	N
B1K-11-19	N	B1K-29-02	N	B1K-47-13	N
B1K-12-03	N	B1K-29-13	Y	B1K-48-11	Y
B1K-12-17	N	B1K-29-20	Y	B1K-48-16	Y
B1K-13-06	N	B1K-30-03	Y	B1K-48-19	Y
B1K-13-20	N	B1K-30-07	Y	B1K-49-11	N
B1K-14-04	Y	B1K-30-11	N	B1K-50-04	N
B1K-14-13	Y	B1K-30-13	Y	B1K-50-08	N
B1K-14-17	Y	B1K-31-01	Y	B1K-50-14	N
B1K-15-07	Y	B1K-31-05	Y	B1K-50-20	N
B1K-15-15	Y	B1K-31-19	Y	B1K-51-01	Y
B1K-15-19	Y	B1K-32-02	Y	B1K-51-07	Y
B1K-16-01	Y	B1K-32-09	Y	B1K-51-13	Y
B1K-16-10	Y	B1K-32-13	Y		
B1K-16-15	Y				

**Table 1. Barley1K included in the *Hordeum spontaneum* panel (total of 128 accessions). Y or N, exome sequence was determined or not, respectively.**

trait abbreviation	Trait	Unit	Description	Halle	Dundee	Quedlinburg	Rehovot	Gilat
SHO	time to shooting	days	days from sowing to shooting; date recorded when 50% of the plants in a plot have reached BBCH31 (First node at least 1 cm above tillering node)	x	N		N	
HEA	time to heading	days	days from sowing to flowering: date recorded when 50% of the plants in a plot have reached BBCH49 (First awns visible)	x	Y		Y	Y
MAT	time to maturity	days	days from sowing to maturity: date recorded when 50% of the plants in a plot have reached BBCH87 (Hard dough: grain content solid. Fingernail impression held)	x	Y?		Y	N
SEL	shoot elongation period	days	= HEA - SHO	x	N		N	
GFP	grain filling period	days	= MAT - HEA	x	Y?		N	
HEI	plant height	cm	average plant height of a plot (average determined visually), measured shortly before harvest	x	Y		Y	Y
ROW	2-row/6-row type		score of ear row type (either 2 or 6)	x	Y		Y	Y
LOD	lodging		lodging at harvest, scores from 1 (no lodging) to 9	x	Y		N	Y
TSH	threshability		score of threshability of harvested sample, visual rating 1 (difficult) to 9 (easy)	x	Necessary?		Y	
BRT	brittleness		score of brittleness of harvested ears, visual rating 1 (no btr.) to 9 (strong btr.)	x	Necessary?		Y	
EAR	number of ears per sqm		number of ears, counted from a representative 50 cm interval of the inner plot row	x	Y		N[#/plant]	
GNE	grain number per ear		number of grains per ear; mean of 10 randomly chosen ears of a plot	x	Y		Y	Y
TGW	thousand grain weight	g	based on appr. 200 grains out of the whole plot; analysis via MARVIN	x	Y		Y	Y
GW	grain width	mm	based on appr. 200 grains out of the whole plot; analysis via MARVIN	x	Y		Y	Y
GL	grain length	mm	based on appr. 200 grains out of the whole plot; analysis via MARVIN	x	Y		Y	Y
GA	grain area	mm <sup>2</sup>	based on appr. 200 grains out of the whole plot; analysis via MARVIN	x	Y		Y	Y
cYLD	calculated yield	g/50cm	yield caculated as the product of yield components (EAR*GNE*TGW)	x	Y			
YLD	plot yield	t/ha	harvest weight of plot after threshing	x	Y		Y	Y
GNC	Grain nitrogen content		Near Infrared (NIR)-based analysis of nitrogen content based on non-milled grains [after calibration with 100 milled samples)				Y	Y
CBM	Canopy biomass							
RBG	Relative biomass growth		Based on NIR measurements of plots				X	
HEA_SSW, etc.	Simple stress index water-deficit		SSD = LSMEANS(water deficit(W0) / LSMEANS(well watered( W1)				Y	
HEA_RSW, etc.	Relative stress index water-deficit		RSN = 1- (LSMEANS(W0) / LSMEANS(W1)) / 1- (LSMEANS_Barke(W0) / LSMEANS_Barke(W1)), see: Fischer and Maurer (1978)				Y	
	Relative stress stability indexes (iCV)		iCV=1-CV(Wo)/CV(W1)/1-(CV_Barke(Wo)/CV_Barke(W1), see:Fridman (2014))				Y	

Table 2. Phenotypic descriptor list. Included are traits to be scored in four experimental sites including Rehovot (SCS) and Gilat (Open field) during 2015 trial.

## References:

1. Hubner S, Hoffken M, Oren E, Haseneyer G, Stein N, Graner A, Schmid K, Fridman E: **Strong correlation of wild barley (*Hordeum spontaneum*) population structure with temperature and precipitation variation.** *Mol Ecol* 2009, **18**:1523-1536.
2. Mascher M, Richmond TA, Gerhardt DJ, Himmelbach A, Clissold L, Sampath D, Ayling S, Steuernagel B, Pfeifer M, D'Ascenzo M, et al.: **Barley whole exome capture: a tool for genomic research in the genus *Hordeum* and beyond.** *The Plant Journal* 2013, **76**:494-505.
3. Morrell PL, Toleno DM, Lundy KE, Clegg MT: **Low levels of linkage disequilibrium in wild barley (*Hordeum vulgare* ssp. *spontaneum*) despite high rates of self-fertilization.** *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2005, **102**:2442-2447.
4. Hubner S, Bdolach E, Ein-Gedy S, Schmid KJ, Korol A, Fridman E: **Phenotypic landscapes: phenological patterns in wild and cultivated barley.** *J Evol Biol* 2013, **26**:163-174.
5. Fridman E: **Consequences of hybridization and heterozygosity on plant vigor and phenotypic stability.** *Plant Science* 2014.
6. Fischer RA, Maurer R: **Drought resistance in wheat cultivars 1. Grain-yield responses.** *Aust J Agri Res* 1978, **29**:897-912.
7. Schnaithmann F, Kopahnke D, Pillen K: **A first step toward the development of a barley NAM population and its utilization to detect QTLs conferring leaf rust seedling resistance.** *Theor Appl Genet* 2014, **127**:1513-1525.
8. Yu J, Pressoir G, Briggs WH, Vroh Bi I, Yamasaki M, Doebley JF, McMullen MD, Gaut BS, Nielsen DM, Holland JB, et al.: **A unified mixed-model method for association mapping that accounts for multiple levels of relatedness.** *Nat Genet* 2006, **38**:203-208.
9. Sham PC, Purcell SM: **Statistical power and significance testing in large-scale genetic studies.** *Nat Rev Genet* 2014, **15**:335-346.
10. Manor I, Laiba E, Eisenberg J, Meidad S, Lerer E, Israel S, Gritsenko I, Tyano S, Faraone SV, Ebstein RP: **Association between tryptophan hydroxylase 2, performance on a continuance performance test and response to methylphenidate in ADHD participants.** *American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics* 2008, **147B**:1501-1508.
11. Treister R, Pud D, Ebstein RP, Laiba E, Raz Y, Gershon E, Haddad M, Eisenberg E: **Association Between Polymorphisms in Serotonin and Dopamine-Related Genes and Endogenous Pain Modulation.** *The Journal of Pain* **12**:875-883.
12. Goldstein I, Lerer E, Laiba E, Mallet J, Mujahed M, Laurent C, Rosen H, Ebstein RP, Lichtstein D: **Association Between Sodium- and Potassium-Activated Adenosine Triphosphatase  $\alpha$  Isoforms and Bipolar Disorders.** *Biological Psychiatry* **65**:985-991.
13. Bedada G, Westerbergh A, Muller T, Galkin E, Bdolach E, Moshelion M, Fridman E, Schmid K: **Transcriptome sequencing of two wild barley (*Hordeum spontaneum* L.) ecotypes differentially adapted to drought stress reveals ecotype-specific transcripts.** *BMC Genomics* 2014, **15**:995.

## סיכום עם שאלות מנחות

נא להתייחס לכל השאלות בקצרה ולעניין, ב 3 עד 4 שורות לכל שאלה (לא תובא בחשבון חריגה מגבולות המסגרת המודפסת).

שיתוף הפעולה שלך יסייע לתהליך ההערכה של תוצאות המחקר.

**הערות:** דוחות שיוגשו בסטטוס פרסום "מוגבל רק לספריות" יחשבו ע"י הקרן כדוחות **שאינם מוגבלים** לפרסום ויפורסמו באתר המדען הראשי של משרד החקלאות ופיתוח הכפר.

1.

מטרות המחקר תוך התייחסות לתוכנית העבודה.
ריבוי אוכלוסית שעורה רב הורית למיפוי גנטי של תכונות חקלאיות תחת עקת יובש
איפיון פנוטיפי ומיפוי QTL לעמידות צמחי שעורה ליובש
אלו ממטרות המחקר הושגו בעבודת המחקר בנוכחית
נבנתה קרנטינה יעודית שמאפשרת ניסוי תחת תנאי עקה במקביל למיפוי גנטי ונעשה ניתוח גנטי לאוכלוסיות בר לאחר שאלו רוצפו.
אותרו מעל 300,000 אתרים למיפוי לאחר ניתוח של הרצפים
עיקרי התוצאות
יבול חלקי של זרעים לניסוי שדה
ריצוף מחדש של 83 קוי בר הושג ואנליזה גנטית קבעה יחסי תאחיזה בפנל שמשמש כאוכלוסית בוחן לתכונות ספורות כגון זמן פריחה
מסקנות מדעיות וההשלכות לגבי יישום המחקר והמשכו. האם הושגו מטרות המחקר לתקופת הדו"ח?
רמת תאחיזה (linkage disequilibrium) מאוד נמוכה בפנל הבר, עובדה שמצביעה על אפשרות של מיפוי עדין לחלק מהתכונות ברמה של גנים בודדים
בעיות שנותרו לפתרון ו/או שינויים (טכנולוגיים, שיווקיים ואחרים) שחלו במהלך העבודה; התייחסות המשך המחקר לגביהן, האם יושגו מטרות המחקר בתקופה שנותרה לביצוע תוכנית המחקר?
תהליך משלוח הזרעים ואישרורו התארך לתוך הקיץ. עקב זאת, לא הושגו מספיק זרעים לניסוי שדה בגילת ולכן ניסוי מלא של האוכלוסיה הועמד שוב ברחובות בסתיו 2014 תחת שני משטרי השקיה. עם זאת החומר נמצא נקי מפטריות הסגר, מתקבלת כמות גדולה של זרעים בסיבוב השני כך שיתאפשרו שני ניסוי שדה פתוח בעונה הקרובה (בגילת ואתר נוסף). ניסוי שדה כפול בשנת 2015-16 יאפשר להשיג את מטרות המחקר (איתור של לוקי/גנים) לעמידות כנגד יובש בשעורה.
הפצת הידע שנוצר בתקופת הדו"ח: פרסומים בכתב <u>ציטט</u> ביבליוגרפי כמקובל בפרסום מאמר מדעי;

נכתב מאמר שמציג דרכים חדשות ואינדקסים לאמוד יציבות פנוטיפית של צמחים תחת עקה . אינדקסים אלו ישמשו באנליזה של הניסוי לאיתור גנים וסמנים לעמידות צמחים כנגד עקות

**Fridman, E.** (2015) Consequences of hybridization and heterozygosity on plant vigor and phenotypic stability. Plant Sci 232: 35-40.

פרסום הדו"ח: אני ממליץ לפרסם את הדו"ח: (סמן אחת מהאופציות)

ללא הגבלה (בספריות ובאינטרנט) <

<

האם בכוונתך להגיש תוכנית המשך בתום תקופת המחקר הנוכחי? כן\* לא

\*יש לענות על שאלה זו רק בדו"ח שנה ראשונה במחקר שאושר לשנתיים, או בדו"ח שנה שניה במחקר שאושר לשלוש שנים