

הבקרה הגנטית, המולקולארית והביוכימית של טעם הפרי בפלפל

Genetic, molecular and biochemical dissection of pepper fruit flavor

דוח מסכם. מוגש לקרן המדען הראשי במשרד החקלאות

אילן פארן המחלקה לחקר ירקות

ארי שפר, המחלקה לחקר הירקות

אלי פאליק, המחלקה לאחסון תוצרת חקלאית

רון אופיר, המחלקה לחקר עצי פרי

Ilan Paran, Department of Vegetable Research, The Volcani Center, ARO

מאי 2016

הממצאים בדו"ח זה הינם תוצאות ניסויים.

הניסויים מהווים המלצות לחקלאים: לא

_____ חתימת החוקר

תקציר

הצגת הבעיה: טעם הפרי היא אחת מתכונות האיכות החשובות בפלפל אשר מושפעת מתכולת מטבוליטים כגון סוכרים, חומצות אורגניות וחומרים נדיפים. קיימת בפלפל שונות גבוהה לתכולת חומרים אלו אולם הבסיס הגנטי לשונות זו אינו ידוע ולכן ניצול השונות למטרות השבחה לוקה בחסר. **מטרות המחקר:** זיהוי גנים ואתרים גנומים של תכונות כמותיות המבקרים את תכולת מוצקים מסיסים (TSS) המשפיעים באופן עיקרי על הטעם בפלפל. **שיטת העבודה:** איפיון גנטי ופנוטיפי של שתי אוכלוסיות צאצאים המתפצלות לתכונה. **תוצאות עיקריות:** פרות בשלים מאוכלוסיה ראשונה של צמחי F5 נמדדה ל TSS, חמיצות, משקל פרי וצבע ונערך מיפוי גנטי בשיטת *genotyping by sequencing*. זוהו לוקוס עיקרי המשפיע באופן מנוגד על TSS ומשקל פרי, כלומר העלאת ה TSS מלווה בהקטנה משמעותית של משקל הפרי. אוכלוסיה נוספת של קוי מחדר המכילים מחדרים ידועים ממין בר של פלפל אופיינה ונמצאו מספר קוים ומיכלואים עם ערכי TSS גבוהים אולם בדומה לאוכלוסיה הראשונה העלאת ה TSS לוותה בהקטנה של משקל הפרי. **מסקנות והמלצות:** תוצאות המיפוי בשתי האוכלוסיות מעידות על הקושי לאתר מקורות גנטיים שיאפשרו טפוח פרות פלפל גדולים בעלי TSS גבוה. הלוקוסיים שזוהו יאפשרו פיתוח קוי פלפל בעלי TSS גבוה ופרי בגודל קטן או בינוני.

מעריכים מומלצים לבדיקת הדוח המדעי

אמנון לרס, המכון לאחסון תוצרת חקלאית

גיורא בן ארי, המכון למדעי הצמח

ניר דאי, המכון למדעי הצמח

מבוא

טעם הוא מרכיב עיקרי של איכות פרי הפלפל והוא מושפע מגורמי תורשה וסביבה. המרכיבים העיקריים הקובעים את טעם פרי הפלפל הם מתיקות, חמיצות, מרירות וארומה. מחקר מועט בלבד נערך על גורמי הטעם בפרי הפלפל ולמעשה לא קיים שום מידע גנטי על בקרת הטעם בפרי חשוב זה ולמרות שקיימת שונות גבוהה במרכיבי הטעם ולא ידועים הגנים המבקרים שונות זו. מבין גורמי הטעם העיקריים בפלפל, מתיקות היא גורם הטעם המרכזי בהעדפת הצרכנים אך החומציות והארומה משפיעים גם הם על הטעם. מרכיביו העיקריים של החומר היבש בפרי הפלפל הם סוכרים וחומצות אורגניות. הסוכרים העיקריים התורמים למתיקות הפרי בפלפל הם גלוקוז ופרוקטוז והחומצות העיקריות הן חומצה אסקורבית, ציטרית ומאלית. האיזון בין חומצות וסוכרים הוא אחד הגורמים החשובים בקביעת הטעם והעדפתו ע"י הצרכנים במינים רבים. מדד ה-BRIX (אחוז מוצקים מסיסים בפרי) משקף נאמנה את רמת הסוכרים בפרי הפלפל מאחר ואלו מהווים מרכיב מרכזי בסך המוצקים המסיסים. כלל המוצקים המסיסים הינה תכונה מורכבת הנשלטת ע"י מס' גנים רב והסביבה ומספר מחקרים מדווחים כי היא נמצאת בקורלציה שלילית ליבול ולגודל פרי אך ניתן לזהות גנים ספציפים המבקרים את כלל המוצקים המסיסים ללא השפעה ניכרת על גודל הפרי. הבנת הבקרה הגנטית של התכונה תאפשר פיתוח סמנים מולקולריים בתאיזה לגנים המבקרים את התכונה ויישומם ככלי עזר לטיפוח פלפל בעל איכות משופרת.

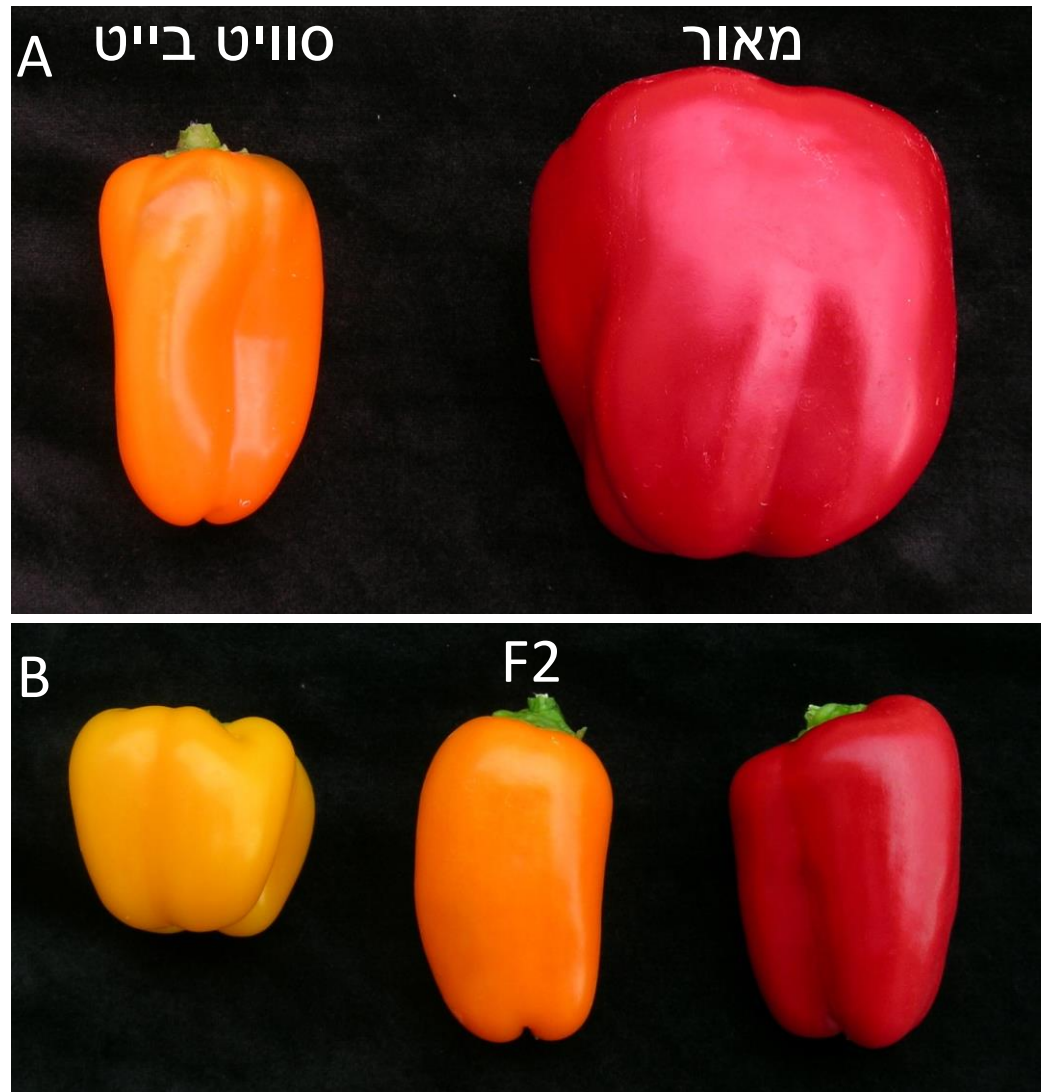
זיהוי גנים ולוקוסים של תכונות כמותיות (quantitative trait loci, QTL) המבקרים מרכיבי טעם בפרי ופיתוח חומר גנטי וסמנים מולקולריים ליישום טיפוחי של המידע הגנטי על בקרת התכונה. המטרות הפרטניות של המחקר הן:

1. קביעת הפנוטיפ של מרכיבי טעם באוכלוסיה מתפצלת
2. פיתוח סמנים מולקולריים למיפוי הגנים המבקרים מרכיבי טעם
3. זיהוי גנים ו QTL המבקרים מרכיבי טעם ואשרור האפקט שלהם בקוים איזוגנים

פרוט עקרי הניסויים

שנה I

אוכלוסיית F2 מהכלאה בין מאור בעל פרי אדום ותכולת סוכרים נמוכה ו Sweet bite (SB) בעל תכולת סוכרים גבוהה ופרי כתום (איור 1A) המונה 200 צמחים גודלה בבית רשת בקיץ בבית דגן. האוכלוסיה התפצלה לצבע הפרי אדום, צהוב, וכתום (איור 1B) לפי מודל של שני גנים המבקרים את התכונה. נמדדו תכונות מכל צמח, לפחות 3 פירות לצמח, של צבע פרי בשל, משקל פרי, עובי פריקרפ, כלל מוצקים מסיסים (BRIX), תכולת סוכרים ותכולת חומצות אורגניות ב HPLC.



איור 1. פירות הורי האוכלוסיה (A) והצאצאים (B)

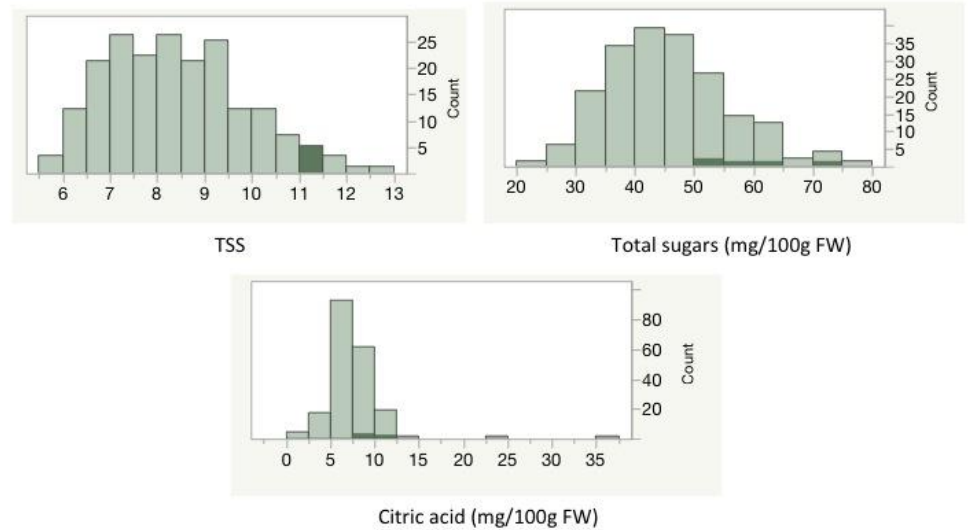
הקורלציות הפנוטיפיות בין התכונות השונות נמדדו באמצעות תוכנת JMP (טבלה 1). קורלציה שלילית ($r=-0.67$) נמצאה בין משקל פרי לתכולת מוצקים מסיסים (TSS) וכן בין משקל פרי לתכולת הסוכרים אך בערכים נמוכים יותר. המרכיב העקרי של TSS הוא כלל הסוכרים ($r=0.76$) ואילו תרומת החומצות ל TSS נמוכה יותר ($r=0.31$). הקורלציה בין תכולת סוכרים לתכולת החומצות חיובית אך נמוכה ($r=0.36$). בנוסף בדקנו רמת חומציות (PH) בצאצאים אולם למרות השונות בתכולת החומצות לא נצפתה שונות מובהקת ברמת ה PH. התפלגות צאצאי אוכלוסיית F2 עבור חלק מהתכונות שנמדדו מוצגת באיור 2. ההתפלגות מעידה עם שונות רחבה של התכונות באוכלוסיה.

DNA הופק מכל אחד מצמחי האוכלוסייה ונשלח לחברת Diversity Arrays Ltd באוסטרליה לקביעת הגנוטיפ ע"י סמנים מולקולריים המכסים את כלל הגנום. על פי התוכנית המקורית המטרה בשלב הראשון היתה לאתר פולימורפיזם בין ההורים אולם לאור השימוש בטכניקה של Genotyping by Sequencing (GBS) שלב זה נעשה מיותר שכן הפולימורפיזם נדגם ישירות באוכלוסיית הצאצאים (וההורים) ומספר הסמנים לא מהווה גורם מגביל. לקראת סוף שנת המחקר הראשונה התקבלו התוצאות של גנוטיפ הצמחים במעבדתינו. אולם ככל הנראה עקב איכות DNA נמוכה (דגרדציה של ה DNA) לא הצלחנו לקבל תוצאות מהימנות של סמנים מולקולריים באוכלוסיה ולא הצלחנו לקבוע מפה גנטית ולזהות QTL לתכונות השונות. הבעיה שנוצרה היא שעברו מספר חודשים רב בין גדול

האוכלוסיה והפקת ה DNA וקבלת התוצאות ועקב כך הצמחים חוסלו ולא היתה לנו אפשרות להפיק DNA חדש באיכות משופרת. עקב כך החלטנו לגדל אוכלוסית צמחים חדשה מאותה הכלאה ולדגום פנוטיפית וגנוטיפית מחדש את הצמחים. לשם כך גידלנו אוכלוסיה של כ 150 צמחים מדור מתקדם יותר F5 (recombinant inbred lines) מהכלאה של אותם הורים. לאור לקחי הניסוי הקודם עשינו אופטימיזציה של שיטת הפקת ה DNA והפקנו DNA באיכות גבוהה. יישום השיטה של GBS מחייב DNA באיכות גבוהה יותר מאשר ביישומים אחרים בהם נקטנו בעבר. DNA זה נשלח לחברת NRGENE (רחובות ישראל) לקביעת הגנוטיפ בשיטת GBS. ה DNA נבדק ואיכותו אושרה בסטנדרט הנדרש לשיטת GBS. בנוסף נמדדו באוכלוסיה זו תכולת מוצקים מסיסים כמדד לתכולת הסוכרים, משקל פרי וצבע (נתונים לא מצורפים).

טבלה 1. קורלציות בין התכונות באוכלוסיית F2 מהכלאה של מאור וסוויט בייט. FW- משקל פרי, TSS- כלל מוצקים מסיסים, Pericarp- עובי דופן.

	FW	TSS	Pericarp	Sucrose	Glucose	Fructose	Total sugars	Citric acid	Quinic acid	Total acids
FW	1.0000	-0.6735	0.5830	-0.1617	-0.3920	-0.4635	-0.4448	-0.2142	-0.2222	-0.2229
TSS	-0.6735	1.0000	-0.6218	0.3101	0.6882	0.7756	0.7654	0.3209	0.2464	0.3120
Pericarp	0.5830	-0.6218	1.0000	-0.2917	-0.3904	-0.4713	-0.4612	-0.2687	-0.2353	-0.2685
Sucrose	-0.1617	0.3101	-0.2917	1.0000	0.1601	0.2048	0.2857	0.2762	0.2400	0.2755
Glucose	-0.3920	0.6882	-0.3904	0.1601	1.0000	0.8856	0.9662	0.2224	0.2673	0.2405
Fructose	-0.4635	0.7756	-0.4713	0.2048	0.8856	1.0000	0.9658	0.4296	0.4070	0.4371
Total sugars	-0.4448	0.7654	-0.4612	0.2857	0.9662	0.9658	1.0000	0.3515	0.3605	0.3645
Citric acid	-0.2142	0.3209	-0.2687	0.2762	0.2224	0.4296	0.3515	1.0000	0.8401	0.9906
Quinic acid	-0.2222	0.2464	-0.2353	0.2400	0.2673	0.4070	0.3605	0.8401	1.0000	0.9065
Total acids	-0.2229	0.3120	-0.2685	0.2755	0.2405	0.4371	0.3645	0.9906	0.9065	1.0000



איור 2. התפלגות תכולת מוצקים מסיסים (%TSS), כלל סוכרים וחומצה ציטרית בצאצאי אוכלוסיית F2 של הכלאה בין מאור וסוויט בייט.

שנה II

ניתוח גנטי של התכונות נעשה בשתי אוכלוסיות המראות שונות לתכונה כמפורט להלן:

אוכלוסייה F5 מהכלאה של מאור X סוויט בייט

מקור האוכלוסייה מהכלאה בין 2 הורים הומוזיגוטים לא חריפים השייכים למין התרבותי *C. annuum*. ההורה הראשון הוא הזן הוותיק מאור. זן זה מאופיין בפרי בלוקי, צבע הפרי הבשל אדום והוא בעל ערכי BRIX נמוכים (טבלה 2). ההורה השני הוא קו הומוזיגוט PI 1127 (F7) שיוצר מהזן Sweet bite. זן זה מאופיין בצורת פרי אובלית, בעל פרי בגודל קטן-בינוני, צבע הפרי הבשל כתום והוא מצטיין בטעמו וערכי BRIX גבוהים (טבלה 2). יצרנו אוכלוסייה של קווים רקומביננטים (RIL-recombinant inbred lines) המצויים כעת בדור F5 מהכלאה של שני ההורים. מלבד תכונות הקשורות לטעם הפרי, האוכלוסייה שנוצרה מתפצלת גם בגודל וצבע הפרי (התפצלות די גנית לאדום, צהוב וכתום). צמחי F5 (150 צמחים) גדלו בחממה במכון וולקני בבית דגן יחד עם ההורים וצמחי F1. במהלך העונה נעשה אפיון פנוטיפי של האוכלוסייה. מכל קו נמדדו הפירות הבשלים (5 פירות מצמח) לתכונות הבאות: BRIX, משקל, PH, וצבע פרי. DNA שהופק מהצמחים נשלח לקביעת הגנוטיפ וניתוח QTL לחברת NRGENE בשיטה המבוססת על ריצוף עמוק חלקי בשיטת המיפוי החדשנית Genotyping-by-GBS Sequencing המאפשרת יצירת מפה גנטית רוויה באלפי סמנים.

טבלה 2. משקל פרי (גרם) וערכי BRIX ממוצעים בתוספת שגיאות התקן באוכלוסייה (RIL-F5), ההורים מאור ו-SB, F1 וממוצע F5.

קוים	ממוצע משקל פרי (גרם)	ממוצע BRIX (%)
Maor	87.66±6.1	6.16±0.23
SB	19.62±1.2	9.06±0.23
F1	44.22±3.6	7.52±0.23
אוכלוסייה RIL-F5	31.5±2.3	8.51±0.21

תוצאות מיפוי אוכלוסייה F5: מיפוי בשיטת GBS אפשר יצירת כ 80,000 סמנים פולימורפים באוכלוסיית F5 (נתוני המיפוי לא מצורפים). מיקום הסמנים מתייחס לגנום הפלפל בגירסה 1.55 (<http://www.sgn.cornell.edu/jbrowse/>). לתכונת צבע הפרי (כתום מול צהוב) זוהה אזור בקרה מרכזי בכרומוזום 2 (טבלה 3). האוכלוסייה מתפצלת לשלשה צבעים- אדום, כתום וצהוב בהתפצלות די גנית. הגן המבקר את הצבע האדום ידוע ואילו הגן המבדיל בין הצבע הכתום לצהוב אינו ידוע ולכן מופה באוכלוסייה. למשקל פרי (FrWeight) זוהו 3 QTLs, ה QTL המרכזי QTL1 בכרומוזום 8 המסביר 34% מהשונות לתכונה ($R^2=0.34$) ושני QTLs בעלי אפקט משני בכרומוזומים 8 ו 11. לתכולת מוצקים מסיסים (BRIX) זוהה QTL מרכזי QTL1 בכרומוזום 8 במיקום זהה ל QTL המבקר משקל פרי ולכן נראה שכלל הנראה מדובר ב QTL זהה המשפיע באופן פליאוטרופי הן על גודל הפרי והן על BRIX. בהתאם לקורלציה השלילית בין שתי התכונות, האלל ב QTL זה שמקורו בהורה מאור תורם להעלאת משקל הפרי אך גם להקטנת תכולת כלל מוצקים מסיסים במידה דומה. מדידת PH של הפירות בצאצאים הראתה חוסר שונות בתכונה זאת ולכן תכולת חומצות אורגאניות כמרכיב של כלל מוצקים מסיסים לא נבדקה בהמשך המחקר.

טבלה 3. QTLs שזוהו באוכלוסיית F5.

Trait Name	QTL Name	QTL position		R ²	LOD	Homo-1	Homo-2
		start	end			Average	Average
		Color (YO)*	QTL1(chr2)			162,210,381	162,574,375
Fruit Weight	QTL1(chr8)	131,419,989	131,475,098	0.341	12.52	54.11	28.79
	QTL2(chr11)	236,607,489	242,032,333	0.101	3.12	42.64	30.59
	QTL3(chr8)	545,400	1,162,302	0.074	2.17	39.67	29.79
BRIX	QTL1(chr8)	131,515,137	131,515,137	0.316	11.23	6.75	8.64
	QTL2(chr8)	109,261,259	109,264,356	0.068	2.07	7.8	8.53

*- תכונת הצבע התפצלה לכתום וצהוב. צמחים בעלי פרי אדום לא נכללו באנליזה. Homo-1: ממוצע הצמחים

המכילים את האלל ב QTL מההורה מאור במצב הומוזיגוטי. Homo-2: ממוצע הצמחים המכילים את האלל ב QTL מההורה סוויט בייט במצב הומוזיגוטי.

אוכלוסיית קוי אינטרוגרסיה (IL)

כדי לעבות את תוכנית המחקר ולא להתבסס על אוכלוסיה יחידה החלטנו על איפיון אוכלוסייה נוספת שנמצאת בדינו למרות שלא נכללה בתוכנית המחקר המקורית.

האוכלוסייה מונה 50 קווי אינטרוגרסיה (IL - Introgression lines) שיוצרו באופן יחודי במעבדה במכון וולקני לפני תחילת מחקר זה. מקור קווי האינטרוגרסיה מהכלאה בין מינית בין הזן התרבותי מאור ששימש כהורה באוכלוסייה א' (*Capsicum annuum*) ושושלת הבר BG 2816 (*C. frutescens*).

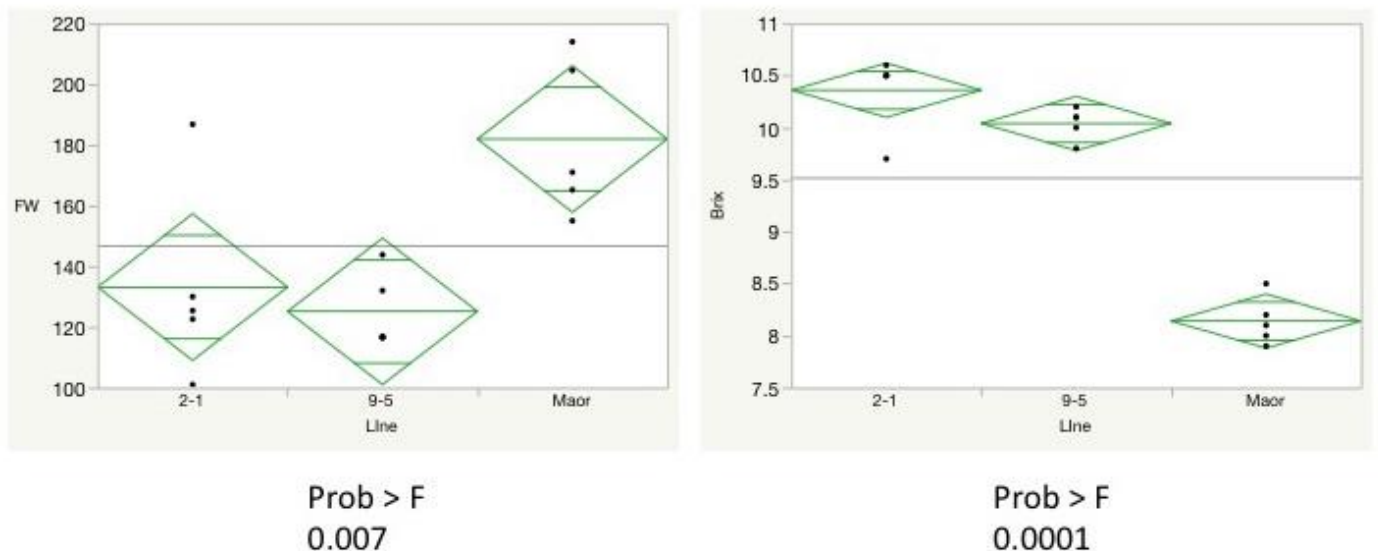
הקו BG2816 מאפיין מיני בר והוא בעל פרי קטן מאוד (משקל 0.2 גרם) וחרף בעל ערך BRIX=11. הכלאה זו הינה פולימורפית ומתפצלת למספר רב של תכונות הקשורות ליבול ואיכות פרי כגון: משקל, צורת פרי, מוצקות, בכירות, חריפות ותכולת מוצקים מסיסים ומהווה אוכלוסייה טובה למיפוי גנים, סמנים ו-QTL חדשים לתכונות אגרוטכניות חשובות בכלל, והקשורות לאיכות הפרי והטעם בפרט.

קוי ה IL מכילים מחדר הומוזיגוטי מזן הבר BG 2816 התחום על ידי סמנים מולקולריים ידועים אשר הועבר ע"י הכלאות מחזירות לרקע הגנטי של הזן התרבותי מאור. רב הקווים מקובעים בדור BC3F3 למחדר יחיד ומקצתם מכילים יותר ממחדר אחד. בשל ההרכב הגנטי של הקווים האיזוגנים האוכלוסייה מהווה מקור יעיל למיפוי של גנים המבקרים תכונות מונוגניות ופוליגניות, ומאפשרת לאפיין אזורים על גבי הגנום בעלי השפעה על תכונות רצויות שמקורם ממין הבר. כל הבדל סטטיסטי בתכונות הנמדדות לעומת ההורה החוזר מקורו ממקטע כרומוזומלי ידוע שהגיע ממין הבר ובדרך זה מצומצם אזור החיפוש אחר הגורם בעל השפעה. לאחר זיהוי QTLs בעלי השפעה חיובית על התכונות הנמדדות ניתן להעביר את אזור המחדר לקוי השבחה בהכלאות תוך שמוש בסמנים האחוזים

לגנים המבקרים את התכונה. החשיבות של אוכלוסיה זאת היא באיפיון התכונה ממקור גנטי נוסף וקיום קיום איזוגנים עם מחדר מוגדר שיאפשרו התקדמות מהירה בהמשך המחקר למיפוי ברזולוציה גבוהה והעברת התכונה לקוי השבחה.

קווי האינטרוגרסיה וההורים גודלו בחלקות של 10 צמחים לקו בבית רשת ב 2014 והתבצע אפיון פנוטיפי לקווים. 10 פירות מכל חלקה נקטפו בבאלק ונבדקו לתכונות הבאות: BRIX, משקל פרי, אורך פרי, רוחב פרי ותכולת זרעים, זאת במטרה עיקרית לאתר קווי מחדר בעלי תכולת כלל מוצקים מסיסים גבוהה. במקביל גודלו אותם הקווים בבית רשת לשם ביצוע הכלאות. מכל קו גדלו 4 צמחים עליהם נעשו הכלאות עם מאור כמקור אבקה ליצירת מכלואים לשם אפיון התכונות במצב הטרוזיגוטי של קווי המחדר וזיהוי השפעות הטרוטיות של ה QTLs. המכלואים וההורים נבחנו בשנה השלישית של תוכנית המחר כמפורט בהמשך.

אנליזת QTL: מתוך האוכלוסייה אותרו שני קווי מחדר IL2-1, ו- IL9-5 בעלי ערכי BRIX גבוהים באופן מובהק ממאור ההורה המחזיר (איור 3). קיים אלו אמנם בעלי פרי קטן ממאור אולם ברמת מובהקות נמוכה יחסית ולכן מהווים חומר גנטי בעל פוטנציאל להשבחת פלפל עם TSS גבוה. קוי IL נוספים הראו הבדלים מובהקים אך פחותים ב BRIX אך גם נבדלו במשקל הפרי ברמת מובהקות גבוהה (נתונים לא מצורפים).



איור 3: ממוצעי BRIX (%) ומשקל פרי (גרם) של 10 פירות שנדגמו מ 2 קווי מחדר IL2-1 ו-IL9-5 וההורה המחזיר מאור.

שנה III

כדי לחזור על ניסוי קוי האינטרוגרסיה בעונה נוספת ואף להעריך את ההשפעה על הפנוטיפ בקרע הטרוזיגוטי, הקיים והמכלואים שלהם עם מאור גודלו בקיץ 2015 ונמדדו לתכונות הבאות: BRIX, משקל פרי, צורת פרי (אינדקס של רוחב/אורך) וסה"כ יבול פרי מצטבר בשלשה קטיפים לאורך עונת הגידול. סכום מספר הקיים והמכלואים שהראו אפקטים מובהקים ביחס למאור (Dunnett test, $P < 0.05$) על התכונות מוצג בטבלה 4. נתוני התכונות בקיים ובמכלואים שלהם מוצגים בטבלאות 5, 6. מספר ה QTL המינימלי (קוי אינטרוגרסיה בעלי אפקט מובהק ללא חפיפה עם קיים אחרים ובהנחה שאפקט מובהק מייצג QTL יחיד) המבקרים את תכונת ה BRIX היה 7 ו 6 בקיים ובמכלואים בהתאמה. עבור כל ה QTL פרט לאחד, רמת ה BRIX היתה גבוהה ביחס למאור כלומר שנצפתה תרומה

חיובית של הורה הבר על התכונה. מבין QTL אלו רק שניים בכרומוזומים 1 ו 12 זהו הן בקוים והן במכלואים. מספר ה QTL הרב ביותר נצפה עבור משקל פרי (27 ו 21 לקוים ולמכלואים בהתאמה) ועבור כל ה QTL, משקל הפרי היה נמוך יותר מאשר הבקורת. אי לכך לא הצלחנו לזהות QTL שמגדיל את ערך ה BRIX ללא הקטנה של משקל הפרי. לא הצלחנו לזהות QTL המשפיעים על כלל יבול הפרי בקוים ובמכלואים. בהשוואה לתוצאות הניסוי של השנה השניה, הקו IL 2-1 לא נבט ולכן לא נכלל בניסוי בשנה השלישית ואילו הקו IL9-5 לא נמצא בעל אפקט מובהק על BRIX.

טבלה 4. סכום מספר קוי אינטרוגרסיה והמכלואים שלהם בעלי אפקט מובהק על התכונות ומספר מינימלי של QTL.

IL-F1		IL		תכונה
QTLs	קוים	QTLs	קוים	
6	6	7	7	BRIX
21	23	27	32	משקל פרי
4	4	10	11	צורת פרי
0	0	0	0	סה"כ יבול פרי

טבלה 5. ממוצעים ושגיאות תקן (S. E) של קווי האינטרוגרסיה עבור BRIX (%), משקל פרי (FW gram), סה"כ יבול (ק"ג), וצורת פרי (FS= fruit length/fruit diameter). מודגשים בצהוב אפקטים מובהקים (P < 0.05).

Line	Mean Brix	S.E	Mean FW	S.E	Mean Yield	S.E	Mean FS	S.E
1-1 IL	7.40	0.20	141.29	6.55	5.99	0.97	1.04	0.05
1-2 IL	7.48	0.20	147.71	6.55	6.57	0.97	1.00	0.05
1-3 IL	7.60	0.20	145.93	6.55	5.43	0.97	1.16	0.05
1-4 IL	8.81	0.20	81.25	6.55	3.16	0.97	1.53	0.05
10-1 IL	8.03	0.25	135.43	8.02	1.71	1.19	1.22	0.06
10-3 IL	8.45	0.25	121.32	8.02	4.73	1.19	1.49	0.06
11-1 IL	7.50	0.20	109.63	6.55	6.79	0.97	1.26	0.05
11-2 IL	7.35	0.25	138.32	8.02	4.12	1.19	0.97	0.06
11-4 IL	9.26	0.35	129.09	11.35	3.64	1.68	1.23	0.09
12-1 IL	7.08	0.20	147.18	6.55	5.53	0.97	0.95	0.05
12-2 IL	7.29	0.20	111.20	6.55	5.48	0.97	1.19	0.05
12-3 IL	9.06	0.25	98.09	8.02	3.30	1.19	1.19	0.06
12-4 IL	7.17	0.20	136.61	6.55	5.64	0.97	1.33	0.05
2-2 IL	8.44	0.20	107.06	6.55	5.22	0.97	1.00	0.05
2-7 IL	7.76	0.20	131.45	6.55	5.54	0.97	1.00	0.05
2-8 IL	7.06	0.20	60.18	6.55	3.46	0.97	0.91	0.05
2-9 IL	7.24	0.20	129.21	6.55	6.72	0.97	1.29	0.05
3-2 IL	7.63	0.20	116.58	6.55	5.45	0.97	1.03	0.05
3-3 IL	8.40	0.35	117.77	11.35	6.27	1.68	1.18	0.09
3-4 IL	7.48	0.35	93.44	11.35	3.42	1.68	1.26	0.09
3-5 IL	7.65	0.20	130.91	6.55	4.39	0.97	0.97	0.05
3-6 IL	8.24	0.20	116.68	6.55	4.73	0.97	1.08	0.05
4-1 IL	7.73	0.20	103.39	6.55	5.29	0.97	1.27	0.05
4-2 IL	8.69	0.20	107.32	6.55	5.48	0.97	1.42	0.05
4-3 IL	7.36	0.35	159.41	11.35	5.98	1.68	1.29	0.09
4-4 IL	8.15	0.35	131.63	11.35	5.91	1.68	1.15	0.09
5-1 IL	7.92	0.25	107.99	8.02	4.97	1.19	1.38	0.06
5-2 IL	6.39	0.20	151.86	6.55	4.25	0.97	1.21	0.05
5-3 IL	6.74	0.20	143.88	6.55	6.42	0.97	1.54	0.05
5-4 IL	6.50	0.20	123.73	6.55	5.88	0.97	1.37	0.05
5-5 IL	7.09	0.20	149.70	6.55	4.32	0.97	1.19	0.05
5-6 IL	7.39	0.20	151.60	6.55	5.83	0.97	1.24	0.05
6-1 IL	7.69	0.20	164.80	6.55	6.90	0.97	1.24	0.05
6-2 IL	7.86	0.25	157.25	8.02	5.56	1.19	1.13	0.06
6-4 IL	8.37	0.35	141.62	11.35	3.16	1.68	1.22	0.09
6-6 IL	7.10	0.25	136.15	8.02	4.91	1.19	1.29	0.06
7-2 IL	6.92	0.20	114.09	6.55	6.44	0.97	1.04	0.05
7-3 IL	8.40	0.35	165.38	11.35	5.41	1.68	1.39	0.09
7-4 IL	8.50	0.25	139.93	8.02	3.89	1.19	1.28	0.06
7-5 IL	7.53	0.25	161.51	8.02	6.80	1.19	1.25	0.06
7-6 IL	7.35	0.25	119.32	8.02	4.39	1.19	0.98	0.06

8-1 IL	6.80	0.25	155.80	8.02	7.01	1.19	1.18	0.06
8-2 IL	7.54	0.20	105.13	6.55	6.59	0.97	1.40	0.05
8-4 IL	8.70	0.20	135.67	6.55	6.19	0.97	1.05	0.05
9-1 IL	8.70	0.35	98.82	11.35	3.49	1.68	1.36	0.09
9-2 IL	8.97	0.25	135.94	8.02	5.15	1.19	1.15	0.06
9-4 IL	7.43	0.20	127.20	6.55	5.73	0.97	1.29	0.05
9-5 IL	7.71	0.25	122.28	8.02	6.89	1.19	1.18	0.06
MAOR	7.08	0.20	173.83	6.55	6.54	0.97	1.05	0.05

טבלה 6. ממוצעים ושגיאות תקן (S. E) של מיכלואי קוי האינטרוגרסיה עבור BRIX (%), משקל פרי (FW gram), סה"כ יבול (ק"ג), וצורת פרי (FS= fruit length/fruit diameter). מודגשים בצהוב אפקטים מובהקים ($P < 0.05$).

F1	Mean Brix	S.E	Mean FW	S.E	Mean Yield	S.E	Mean FS	S.E
1-1 F1	7.20	0.18	153.77	6.50	5.98	0.98	1.11	0.05
1-2 F1	7.23	0.18	152.09	6.50	6.22	0.98	1.01	0.05
1-3 F1	7.61	0.18	158.80	6.50	6.72	0.98	1.01	0.05
1-4 F1	8.43	0.18	104.70	6.50	3.61	0.98	1.75	0.06
10-3 F1	7.89	0.18	137.54	6.50	6.43	0.98	1.22	0.05
10-4 F1	7.77	0.18	143.73	6.50	5.34	0.98	1.21	0.05
11-1 F1	7.37	0.18	111.97	6.50	8.25	0.98	1.12	0.05
11-2 F1	7.24	0.18	163.64	6.50	6.85	0.98	1.21	0.05
11-4 F1	8.20	0.30	158.97	11.25	4.25	1.70	1.09	0.08
12-1 F1	7.32	0.18	155.07	6.50	7.69	0.98	1.11	0.05
12-2 F1	7.80	0.18	162.83	6.50	5.75	0.98	1.05	0.05
12-3 F1	8.06	0.18	139.05	6.50	6.15	0.98	1.24	0.05
12-4 F1	7.37	0.18	148.52	6.50	6.67	0.98	1.12	0.05
2-2 F1	8.06	0.18	120.71	6.50	6.15	0.98	1.07	0.05
2-7 F1	7.64	0.18	141.72	6.50	7.34	0.98	1.08	0.05
2-8 F1	7.13	0.18	105.99	6.50	5.68	0.98	0.99	0.05
2-9 F1	7.41	0.18	127.24	6.50	6.96	0.98	1.15	0.05
3-2 F1	7.36	0.18	140.07	6.50	7.62	0.98	0.90	0.05
3-3 F1	8.18	0.18	122.90	6.50	6.47	0.98	1.07	0.05
3-4 F1	7.21	0.18	129.06	6.50	6.44	0.98	1.14	0.05
3-5 F1	7.43	0.18	136.33	6.50	4.49	0.98	1.10	0.05
3-6 F1	7.96	0.18	136.63	6.50	7.03	0.98	1.12	0.05
4-1 F1	7.31	0.18	139.99	6.50	5.97	0.98	1.11	0.05
4-2 F1	7.89	0.21	122.65	7.96	4.14	1.20	1.18	0.06
4-3 F1	7.34	0.21	171.99	7.96	7.49	1.20	1.23	0.06
4-4 F1	7.31	0.18	155.52	6.50	7.27	0.98	1.11	0.05
5-1 F1	7.44	0.18	139.43	6.50	6.38	0.98	1.22	0.05
5-2 F1	7.37	0.18	150.15	6.50	6.32	0.98	1.18	0.05
5-3 F1	6.97	0.18	142.38	6.50	7.75	0.98	1.17	0.05
5-4 F1	7.32	0.18	151.12	6.50	4.82	0.98	1.03	0.05
5-5 F1	6.76	0.18	180.54	6.50	6.67	0.98	1.12	0.05
5-6 F1	7.62	0.18	158.84	6.50	6.21	0.98	1.10	0.05
6-1 F1	7.29	0.18	185.39	6.50	8.78	0.98	1.19	0.05
6-2 F1	7.53	0.18	179.07	6.50	8.37	0.98	1.17	0.05

6-4 F1	7.65	0.18	144.00	6.50	6.65	0.98	1.17	0.05
6-5 F1	7.61	0.18	127.13	6.50	7.03	0.98	1.26	0.05
6-6 F1	7.32	0.18	152.79	6.50	7.03	0.98	1.05	0.05
7-2 F1	6.90	0.18	140.65	6.50	6.63	0.98	1.11	0.05
7-3 F1	7.70	0.18	163.47	6.50	8.00	0.98	1.27	0.05
7-4 F1	7.65	0.21	152.69	7.96	5.42	1.20	1.30	0.06
7-5 F1	7.85	0.18	156.49	6.50	7.63	0.98	1.24	0.05
7-6 F1	7.27	0.18	144.25	6.50	6.49	0.98	1.00	0.05
8-1 F1	7.42	0.18	152.32	6.50	6.84	0.98	1.16	0.05
8-2 F1	7.42	0.18	145.54	6.50	5.98	0.98	1.23	0.05
9-1 F1	7.66	0.21	139.54	7.96	5.35	0.98	1.41	0.06
9-4 F1	7.36	0.30	141.18	11.25	7.10	1.70	1.02	0.08
9-5 F1	7.46	0.18	139.88	6.50	7.92	0.98	1.20	0.05
MAOR	7.08	0.18	173.83	6.50	6.54	0.98	1.05	0.05

דין

במחקר זה התמקדנו בתכונה של כלל מוצקים מסיסים (TSS) כיעד עיקרי לשיפור טעם הפרי. המרכיב העיקרי של המוצקים המסיסים הוא סוכרים ומרכיב משני הוא חומצות אורגניות. בשלב ראשון עשינו מיפוי של התכונה באוכלוסיה מהכלאה בין הזן סוויט בייט (בעל TSS גבוה) למאור (TSS נמוך). התוצאות של תכולת סוכרים וכלל מוצקים מסיסים מעידות על קשר שלילי עם גודל הפרי, כלומר שככל שהפרי קטן יותר תכולת הסוכרים גבוהה יותר ועל כן הטעם הצפוי משופר יותר. קשר שלילי זה בין תכונות אלו ידוע בגידולים נוספים כגון עגבניה. מטרת העבודה היתה לזהות גנים המשפיעים על תכולת מוצקים מסיסים ללא השפעה ניכרת על גודל הפרי. עבודות בעגבניה הראו שניתן לזהות גנים כאלו ולכן הנחת העבודה במחקר היתה שניתן לצפות שבאמצעות המיפוי הגנטי נוכל לזהות אתרים בגנום המשפיעים על תכולת הסוכרים ועל הטעם ללא תלות בגודל הפרי.

תוצאות המיפוי באוכלוסייה של מאור X סוויט בייט הצביעו על קיומו של QTL מרכזי בכרומוזום 8 המשפיע על משקל פרי והן על תכולת מוצקים מסיסים. ניתן לראות לפי טבלה 3 שקיים קשר שלילי בין התכונות כלומר האלל ב QTL זה שמקורו מההורה סוויט בייט (הומוזיגוטי 2-Homo) גורם להגדלת ערך BRIX אך גם להקטנת משקל הפרי. ההנחה היא שהקשר השלילי בין התכונות נובע מאפקט פליאוטרופי של אותו QTL על שתי התכונות. אפשרות שניה אם כי פחות סבירה היא שמקור האפקט הוא בתאחיזה של QTL בלתי תלויים. מיפוי ברזולוציה גבוהה יותר יכול לאפשר את בדיקת ההשערה שמדובר ב QTL יחיד עם אפקט פליאוטרופי ולא ב QTL שונים האחוזים זה לזה. קשר שלילי זה בין תכונות אלו ידוע בגידולים נוספים כגון עגבניה. השערת העבודה שלנו על סמך מחקרים בצמחים אחרים היתה שניתן לזהות QTLs ל BRIX שהם בלתי תלויים במשקל פרי אולם כאמור השערה זו לא עמדה במבחן המציאות באוכלוסייה שנבדקה. המשמעות לאור תוצאות אלו היא שיהיה קשה להשתמש בהורה Sweet Bite כמקור להגדלת תכולת מוצקים מסיסים להשבחת פלפל בעל פרי גדול מטיפוס בלוקי. מיפוי גן עיקרי המבקר את הצבע הכתום של הפרי הבשל יאפשר זיהוי גן זה ופיתוח סמן מולקולרי ככלי טיפוחי.

לאור אי היכולת לשבור את התאחיזה בין תכולת מוצקים מסיסים ומשקל פרי באוכלוסיה של מאור X סוויט בייט, החלטנו למפות את התכונה באוכלוסיה נוספת של קוי האינטרוגרסיה. בניסוי הראשון (שנת 2014) נבחנו הקוים ללא המכלואים שלהם. זוהו שני קוים בעלי מחדרים מוגדרים ממין הבר בכרומוזום 2 ו 9 בעלי ערך תכולת מוצקים

מסיסים גבוהה שאינה נבדלת באופן מובהק מהורה הבר. קיים אלו היו בעלי פרי קטן ממאור אך במובהקות נמוכה יחסית ולכן הערכנו שהם בעלי פוטנציאל להחדרת התכונה לרקעים גנטיים של פרי גדול. אולם תוצאות אלו לא חזרו על עצמם בניסוי ב 2015 (קו אחד לא נבט והשני לא היה מובהק). בניסוי ב 2015 זוהו מספר קוים/מיכלואים עם תכולת מוצקים מסיסים גבוהה ממאור אולם עבור כל הקוים התקבל פרי קטן ממאור ולכן גם באוכלוסיה זו לא הצלחנו לשבור את הקורלציה השלילית בין שתי התכונות. למרות תוצאות אלו הצלחנו בזיהוי QTL המעלים תכולת מוצקים מסיסים אשר ניתן להשתמש בהם להשבחה של פרות קטנים או בינוניים בעל טעם משופר. בעתיד הקרוב אנחנו מתכננים לערוך מבחני טעימה לקוי האינטרוגרסיה בעלי ה TSS הגבוה בהשוואה למאור.

פרסומים: עדיין לא פורסמו ממצאי המחקר.

סיכום עם שאלות מנחות

מטרות המחקר תוך התייחסות לתוכנית העבודה
זיהוי גנים ולוקוסים של תכונות כמותיות (QTL- quantitative trait loci) המבקרים תכולת מוצקים מסיסים בפרי. על פי תוכנית העבודה המקורית המחקר תוכנן להתבסס על אוכלוסיה אחת אולם לאור התוצאות המחקר הורחב לאוכלוסיה נוספת.
עיקרי הניסויים והתוצאות
שתי אוכלוסיות צאצאים גודלו והפירות אופיינו לתכולת מוצקים מסיסים ולתכונות נוספות. באוכלוסייה א' (Maor x SB) נערך מיפוי ברזולוציה גבוהה בשיטה החדשנית GBS ונמצא QTL עיקרי המשפיע באופן הפוך על תכולת מוצקים מסיסים ומשקל פרי. באוכלוסיה ב' (Maor x BG2816) נמצאו מספר קוים ומיכלואים עם ערכי TSS גבוהים מהבקורת אולם בדומה לאוכלוסיה הראשונה העלאת ה TSS לוותה בהקטנה של משקל הפרי.
מסקנות מדעיות וההשלכות לגבי יישום המחקר והמשכו. האם הושגו מטרות המחקר לתקופת הדוח?
תוצאות המיפוי בשתי האוכלוסיות מעידות על הקושי לאתר מקורות גנטיים שיאפשרו טפוח פרות פלפל גדולים בעלי TSS גבוה. הלוקוסים שזוהו יאפשרו פיתוח קוי פלפל בעלי TSS גבוה ופרי בגודל קטן או בינוני.
בעיות שנתרו לפתרון ו/או שינויים (טכנולוגיים, שיווקיים ואחרים) שחלו במהלך העבודה; התייחסות המשך המחקר לגביהן
באוכלוסיות שנחקרו לא הצלחנו לשבור את המתאם השלילי בין TSS למשקל פרי. כדי לנסות לשבור מתאם זה יהיה צורך בבחינה של מקורות גנטיים נוספים.
הפצת הידע שנוצר בתקופת הדו"ח: פרסומים בכתב - <u>ציטט</u> ביבליוגרפי כמקובל בפרסום מאמר מדעי; פטנטים - יש לציין שם ומס' פטנט; הרצאות וימי עיון - יש לפרט מקום, תאריך, ציטוט ביבליוגרפי של התקציר כמקובל בפרסום מאמר מדעי.
תוצאות המחקר עדיין לא פורסמו.
פרסום הדוח: אני ממליץ לפרסם את הדוח: (סמן אחת מהאופציות)
<
< ללא הגבלה (בספריות ובאינטרנט)
האם בכוונתך להגיש תוכנית המשך בתום תקופת המחקר הנוכחי? לא