

לקראת שיפור איכות פרי הפלפל: מיפוי גנים המבקרים שונות בתכולת מטבוליטים בעלי ערך בריאותי

Towards improvement of fruit quality in pepper: mapping genes controlling health related metabolites

מוגש לקרן המדען הראשי במשרד החקלאות

דוח מסכם

אילן פארן המחלקה לחקר ירקות

יעקב תדמור המחלקה לחקר ירקות

עדי פייגנבוים המחלקה לחקר ירקות

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

פברואר 2017

**הממצאים בדו"ח זה הינם תוצאות ניסויים.
הניסויים מהווים המלצות לחקלאים: לא**



חתימת החוקר

תקציר

הצגת הבעיה: בשנים האחרונה רוחניות גדול הפלפל נשחקה מסיבות שונות ובכלל זה ירידה באיכות הפרי. שיפור איכות הפרי ובכלל זה העלאת הערך התזונתי יאפשרו הגברת כושר התחרות של המגדלים הישראליים. מטרת המחקר: מטרת מחקר העיקרית היא לזהות גנים וסמנים מולקולרים שיאפשרו פיתוח חומר גנטי וכלים לסלקציה לערך תזונתי משופר בדגש על העלאת תכולת פלבנואידים. המטרות הספציפיות כוללות: 1. קביעת התכולה של מטבוליטים בעלי ערך בריאותי באוכלוסיה מתפצלת. 2. מיפוי QTL המבקרים תכולת מטבוליטים. 3. פיתוח סמנים מולקולרים ל QTLs המבקרים את תכולת המטבוליטים. 4. אשרור האפקט של ה QTL בקוים איזוגנים. שיטות העבודה: אנליזת מיפוי תכונות כמותיות באוכלוסיה מתפצלת, פיתוח סמנים מולקולרים ל QTL על בסיס נתוני הסמנים הפולימורפים, קידום אוכלוסית צמחים רקומביננטים ליצירת קוים איזוגנים, אשרור האפקט של QTL בקוים איזוגנים, ביטוי ביתר בעגבניה של גן מועמד לבקרת ה QTL. תוצאות עיקריות: נבנתה אוכלוסיית צאצאים מהכלאה בין שני קוים הנבדלים בתכולת פלבנואידים, קרוטנואידים, כלורופיל וטוקופרולים. פירות בשלים של הצמחים נקטפו ונשלחו להולנד לאנליזה מטבולומית. DNA הופק מהצמחים ונשלח למיפוי ברזולוציה גבוהה על ידי שיטת genotyping by sequencing. בסה"כ זוהו 52 QTL למטבוליטים שונים. ה QTL העיקרי שזוהה בכרומוזום 5 מבקר תכולה של מספר גדול של פלבנואידים שונים וזוהה גן מועמד בקר שעתוק ממשפחת MYB באזור ה QTL. האפקט של QTL זה חזר על עצמו באוכלוסיה של קוים איזוגנים בדור מתקדם. לבחינת תפקיד הגן הוכנו קונסטרוקטים לביטוי ביתר של הגן המועמד בעגבניה. מסקנות והמלצות: התקבלה מפה גנטית רוויה בעשרות אלפי סמנים וניתוח האסוציאציות בין נתוני הסמנים והתכונות איפשר זיהוי לוקוסים מרכזיים המבקרים את הצטברות המטבוליטים וזיהוי גן מועמד לבקרת ה QTL המרכזי. תוצאות ניתוח דגם הביטוי והידע על תפקיד הגן המועמד ממערכות אחרות מעידים על סבירות גבוהה של נכונות ההיפוטזה של תפקיד הגן בבקרת יצור פלבנואידים. ניסויים של ביטוי ביתר של הגן המועמד בעגבניה להוכחת תפקידו המשוער נמצאים בשלבי הכנה.

מעריכים מומלצים לבדיקת הדוח המדעי

רון פורת, המכון לאחסון תוצרת חקלאית

עמיר שרמן, המכון למדעי הצמח

עמית גור, המכון למדעי הצמח

מבוא

פרי הפלפל עשיר במגוון מטבוליטים משניים בעלי ערך תזונתי ובריאותי (פיטונוטריאנטים) כגון קפסצינואידים, קרוטנואידים, פלבנואידים, חומצה אסקורבית (ויטמין C) וטוקופרולים (ויטמין E). חומרים אלו ידועים כנוגדי חימצון בצמח ואף בעלי פעילות ביולוגית בעלת ערך בריאותי באדם. קיימת שונות רבה בתכולת חומרים אלו בפלפל אולם הקיום העשירים בפיטונוטריאנטים הם בעיקר טיפוס בר ואילו הזנים המודרניים ובכלל זה הפרי הבלוקי שהוא מוצר הצריכה העיקרי בישראל, הם בעלי תכולת פיטונוטריאנטים נמוכה מכיון שלא הושם דגש על העלאת הערך התזונתי של הפרי ולא נערכה סלקציה לתכונה זו במהלך ההשבה. תכולת המטבוליטים בפרי מושפעת מגורמים שונים כגון דרגת ההבשלה, תנאי הגדול ותנאי האחסון, אולם קיים מרכיב גנטי עיקרי המבקר תכולה זו בפרי הפלפל. מרכיב גנטי זה לא נחקר עד היום, כלומר לא ידוע אופן התורשה של השונות בתכולת המטבוליטים ולא מופו או זוהו גנים המבקרים שונות זו. חוסר מידע בסיסי זה מהווה מגבלה קשה בהשבת פלפל למטרת שיפור הערך התזונתי שכן קיים קושי טיפוחי לברור צמחים בעלי תכולת מטבוליטים גבוהה בגלל המורכבות של התכונה והעדר כלים טיפוחיים לסלקציה יעילה.

מטרת המחקר העיקרית היא לזהות גנים וסמנים מולקולריים שיאפשרו פיתוח חומר גנטי וכלים לסלקציה לערך תזונתי משופר בדגש על העלאת תכולת פלבנואידים. המטרות הספציפיות כוללות: 1. קביעת התכולה של מטבוליטים בעלי ערך בריאותי באוכלוסייה מתפצלת. 2. מיפוי QTL המבקרים תכולת מטבוליטים. 3. פיתוח סמנים מולקולריים ל QTLs המבקרים את תכולת המטבוליטים. 4. אשרור האפקט של ה QTL בקיום איזוגנים.

פרוט עקרי הניסויים

יצרנו אוכלוסיית F2 מהכלאה בין הקנים 1901 ו 1902 המשתייכים למין התרבות *Capsicum annuum* ונבדלים בתכולת פלבנואידים, כלורופיל, קרוטנואידים וטוקופרולים (ויטמין E). אוכלוסייה זו המונה 230 צמחים גודלה בבית רשת בקיץ בבית דגן. פירות בשלים (5 פרות לצמח) נקטפו ודוגמאות פרי נשקלו, הוקפאו ונשלחו למעבדתו של Dr. Arnaud Bovy בהולנד (Plant Research International, Wageningen, The Netherlands) לאנליזה מטבולומית. תכולת כלורופיל בפרי הלא בשל נמדדה בספקטופוטומטר בבית דגן. כמו כן נאספו זרעים מכל צמחי F2 לקבלת זרעי F3 למטרת קידום האוכלוסייה לקוי (RILs) recombinant inbred lines והופק DNA למטרת קביעת הגנוטיפ. בשלב ראשון נבדקה תכולת מטבוליטים משניים סמי-פולרים בעיקר פלבנואידים ע"י מכשיר LC-MS. בשנה השניה של המחקר אותן דוגמאות פרי נבדקו לתכולת קרוטנואידים וטוקופרולים. כדי למפות סמנים מולקולריים ברזולוציה גבוהה נקטנו בשיטה החדשנית (GBS) genotyping by sequencing. טכנולוגית ריצוף זו מבוססת על ריצוף חלקי של DNA גנומי לאחר חיתוך וסלקציה ע"י אנזימי רסטריקציה ומאפשרת ליצור אלפי סמנים בכלל הגנום. פירסום רצף גנום הפלפל בשנה האחרונה אף מאפשר שיוך הסמנים לאזורים גנומיים מוגדרים ואיתור גנים מועמדים לבקרת התכונה באזורים אלו. המיפוי בטכנולוגית GBS בוצע ע"י חברת NRGene, Israel. ניתוח QTL בוצע ע"י נתוח שונות חד כונוני על ממוצעי התכונות של שלשת הגנוטיפים עבור כל QTL מובהקים הוגדרו במבחן $FDR < 10\%$.

תוצאות המיפוי:

נתוני המיפוי העקריים מסוכמים בטבלה 1. הסריקה המטבולית של מטבוליטים פולריים למחצה במערכת כרומטוגרפיה LC-PDA-QTOF-MS איפשרה זיהוי של כ 70 מטבוליטים בעלי ידועה הכוללים פלבנואידים, פנילפרופנואידים, פנולים, דיטרפנים ונגזרות של חומצות אמינו וחומצות שומן (ועוד עשרות מטבוליטים בלתי מזוהים). בסה"כ זהו 52 QTLs לתכונות השונות (נתונים לא מובאים בגלל נפח נתונים גבוה), מהם ארבע QTLs היו בעלי אפקט גדול במיוחד (טבלה 2). QTLs אלו הסבירו למעלה מ 20% מהשונות לתכונה ($R^2 > 0.2$) ובחלקם אף למעלה מ 50% מהשונות. ה QTL בכרומוזום 9 (מסומן בצהוב בטבלה 2) מהווה בקר מרכזי של תכולת נגזרות שונות של המטבוליטים Capsianoside שהם גליקוזידים דיטרפנים (diterpene glycosides) שפעילותם הביולוגית אינה ידועה. סריקה של הגנים הממוקמים באזור שיא ה QTL באתר הגנומי של הסולניים (<http://www.sgn.cornell.edu/jbrowse/>) איפשרה זיהוי של מספר גנים מועמדים ביניהם שני פקטורי שיעתוק מסוג MYB. QTL מרכזי נוסף הוא בכרומוזום 5 (מסומן בכתום בטבלה 2, איור 1) המבקר תכולת פלבנואידים שונים כגון quercetin, luteolin, Kaempferol. גן מועמד מסוג פקטור שיעתוק MYB זוהה באזור שיא ה QTL. בכרומוזום 10 זוהה QTL מרכזי לתכולת כלורופיל בפרי הלא בשל ואלפא-טוקופרול בפרי הבשל (ויטמין E, מסומן בירוק בטבלה 2) המצטברים בכלורופלסטים. תכונות אלו נמצאות בהתאמה לצבע הירוק כהה של ההורה 1902. בכרומוזום 4 זוהה QTL המבקר אף הוא תכולות פלבנואידים (מסומן כחול בטבלה 2).

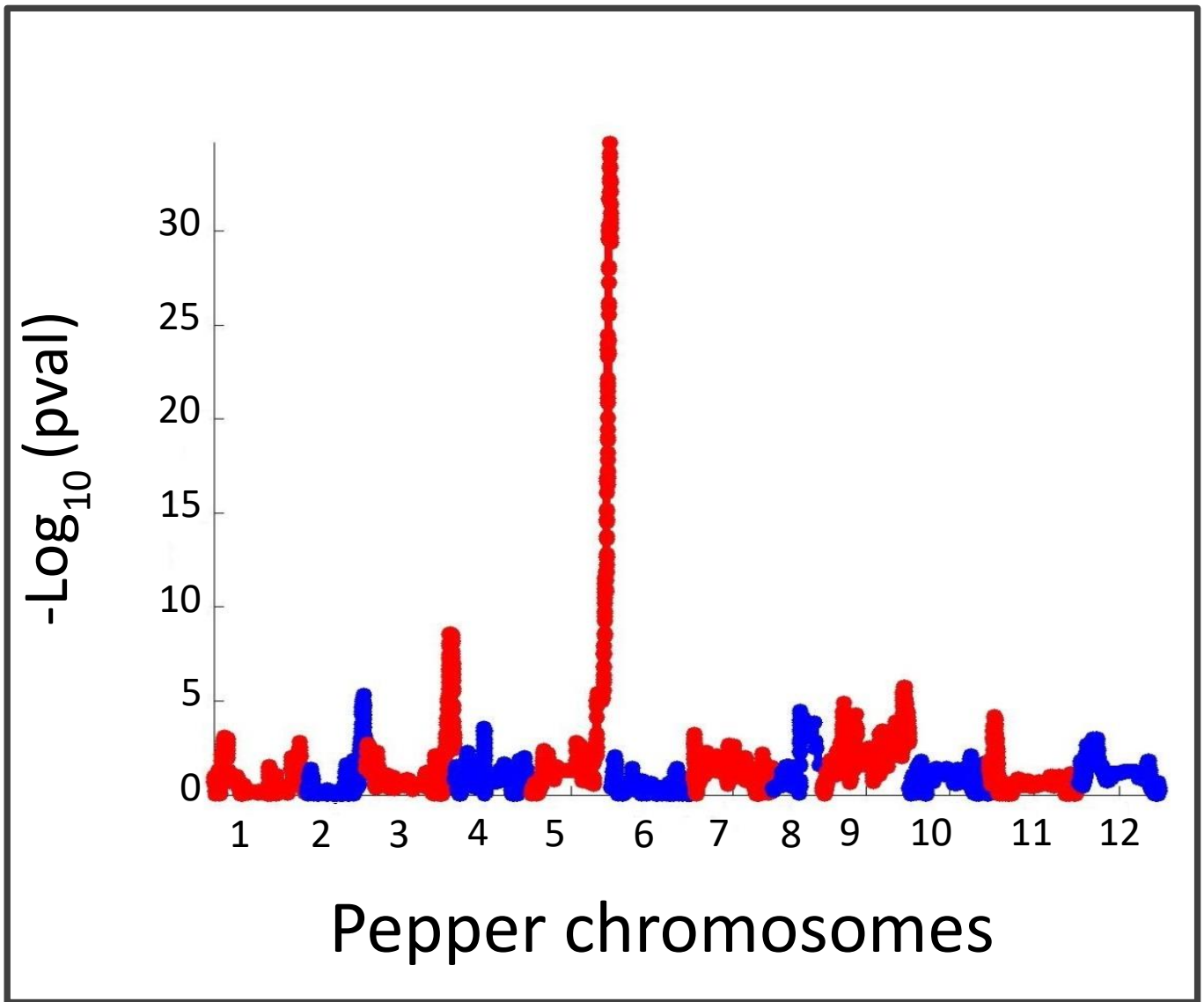
טבלה 1: סכום נתוני מיפוי באוכלוסיית F2 בטכניקה של GBS.

עומק ריצוף ממוצע לצמח: 0.1X
3.2 מיליון קריאות בממוצע לצמח
331,081 סמנים פולימורפים לאחר פילטרציה
5,711 בינים
גודל ממוצע של BIN ב bp: 554,562
גודל ממוצע של BIN: 0.24 cM
אורך מפה גנטית: 1409 cM
רמת מובהקות לזיהוי QTL: FDR<10%

טבלה 2: QTL עקריים שזוהו באוכלוסיות המיפוי.

Metabolite	QTL Name	QTL position*		R ²	LOD
		Max			
		start	end		
Capsianosidelll_1	QTL1(chr9)	251,377,374	251,403,401	0.6	47.6
Capsianosidelll_2	QTL1(chr9)	251,547,925	251,564,277	0.7	73.7
Capsianosidelll_2_1	QTL1(chr9)	251,547,925	251,564,277	0.6	51.9
CapsianosidelX_1	QTL1(chr9)	251,487,053	251,547,829	0.6	48.7
Capsianosidel_5	QTL1(chr9)	251,547,925	251,564,277	0.7	68.2
Capsianosidel_6	QTL1(chr9)	251,404,259	251,486,728	0.6	49.9
Chlorophyll Mg_grFw	QTL1(chr10)	205,900,873	205,906,514	0.4	26.1
a-tocopherol	QTL1(chr10)	215,393,724	215,508,188	0.2	8.7
Iso1_Quercetin3_O_rhamnoside_7_O_glucoside	QTL1(chr5)	228,864,546	228,864,546	0.3	24.9
Kaempferol_Hexose_Hexose_3_O_	QTL1(chr5)	228,870,584	228,876,138	0.2	15.4
Luteolin6_8_di_C_hexoside_____	QTL1(chr5)	228,864,546	228,864,546	0.2	13.8
Luteolin6_C_hexoside	QTL1(chr5)	228,870,584	228,876,138	0.2	15.0
Luteolin6_C_pentoside_8_C_hexoside	QTL1(chr5)	228,870,584	228,876,138	0.2	15
Luteolin_Methyl_O_di_hexose	QTL1(chr5)	228,864,546	228,864,546	0.2	16.7
Quercetin3_O_glucoside_7_O_rhamnoside	QTL1(chr5)	228,870,584	228,876,138	0.2	12.8
Quercetin3_O_rhamnoside_1	QTL1(chr5)	228,864,546	228,864,546	0.3	20.9
Quercetin3_O_rutinoside_7_O_glucoside_2	QTL1(chr5)	228,629,755	228,629,755	0.2	14.0
QuercetinRhamnoside_glucoside	QTL1(chr5)	228,864,546	228,864,546	0.4	27.7
Quercetin_Hex_Rha_PentOrKaempferolHex_Hex_Pent	QTL1(chr5)	228,864,546	228,864,546	0.2	13.4
Quercetin_Methyl_O_hexose_O_rhamnose	QTL1(chr5)	228,870,584	228,876,138	0.5	37
Luteolin_di_hexose	QTL1(chr4)	212,878,358	212,889,944	0.2	12.7
Quercetin3_O_rhamnoside	QTL1(chr4)	213,624,889	213,671,025	0.3	22.4

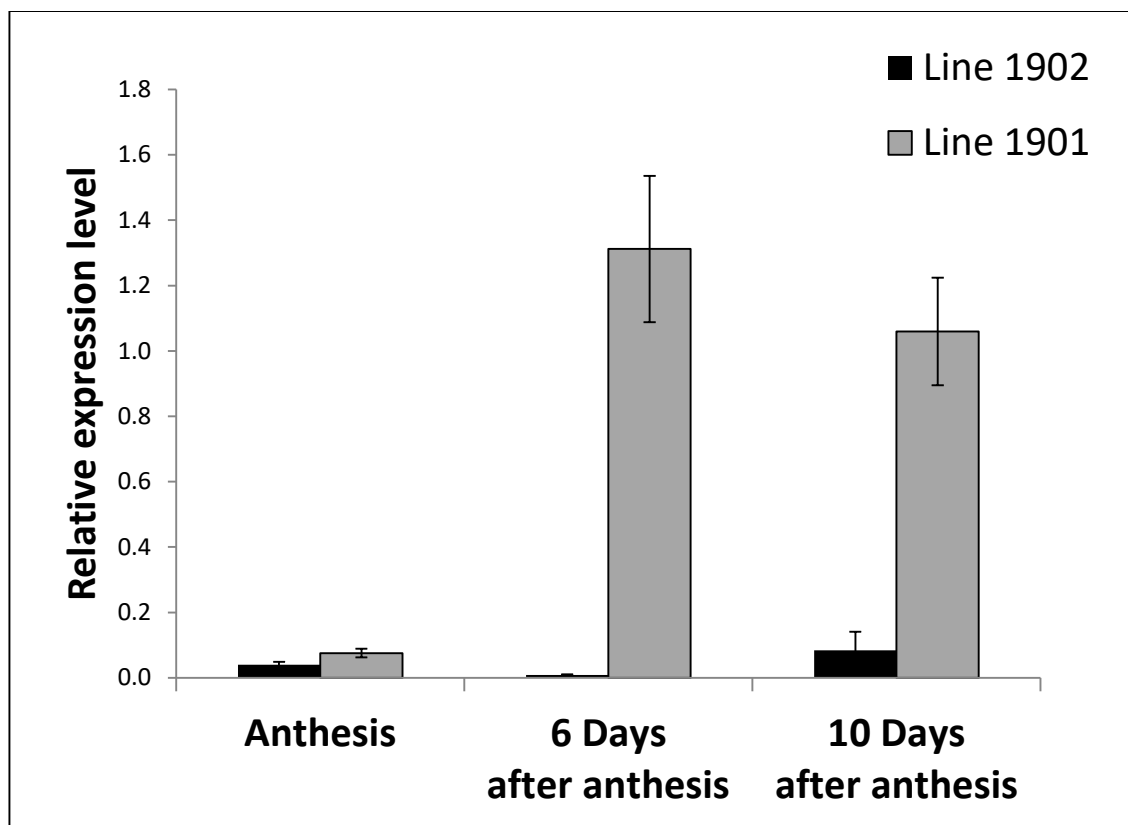
*Pepper genome version v.1.55



איור 1. Manhattan plot המדגים זיהוי QTL מרכזי בכרומוזום 5 המבקר תכולת פלבנואידים.

בהמשך המחקר התמקדנו ב QTL המרכזי בכרומוזומים 5 בעל האפקט המרכזי על תכולת פלבנואידים שונים. QTL זה מבקר פרופיל רחב של פלבנואידים ונמצא בתאחיזה הדוקה עם בקר השעתוק MYB12. מחקרים קודמים בארבידופסיס ובעגבניה (Mehrtens et al. 2005; Zhang et al. 2015) קושרים גנים מטיפוס MYB12 לבקרת סנטזת פלבנואידים ולכן הגן שנמצא בתאחיזה ל QTL בפלפל מהווה מועמד מצויין לבקרת התכונה. לאור ממצאים אלו התחלנו בניסויים נוספים לבסוס התפקיד של הגן המועמד בפלפל כמפורט להלן.

1. בדיקת רמת הביטוי של MYB12 בקוי ההורים. מנתונים מוקדמים ידוע שהגן מתבטא בעיקר בשלבי התפתחות מוקדמים של הפרי. לכן הופק RNA מפירות של שני ההורים בשלבים של חנטה, 6 ימים ו 10 ימים לאחר חנטה. הניסוי נערך בשלש חזרות. התוצאות מראות ביטוי גבוה יותר באופן מובהק בקו 1901 העשיר בפלבנואידים לעומת הקו 1902 (איור 2). נחזור על ניסוי הביטוי גם בקוים האיזוגנים המתוארים.



איור 2. ביטוי של הגן MYB12 בפירות של שני קווי ההורים בשלשה שלבי התפתחות של הפרי.

2. פיתוח קוים איזוגנים ל QTL. לצורך פיתוח הקוים האיזוגנים ללימוד מפורט של ה QTL, המשכנו בדורות נוספים של הפירות עצמיות של אוכלוסיית F2 המקורית וכעת יש לנו זרעי דור F7. על סמך נתוני ה GBS פיתחנו סמן מולקולרי למעכב אחר ה QTL הנמצא בתאחיזה הדוקה לגן המועמד MYB12. הסמן נסרק בצמחי F5 במטרה לאתר צמחים הטרוזיגוטים ל QTL זה. צמחי F5 הטרוזיגוטים עברו הפרייה עצמית כך שבדור F6 יצרנו קוים מקובעים שהם הומוזיגוטים לאללים של שני ההורים ב QTL. קוים מקובעים אלו (בדור F7) משמשים כהורים איזוגנים הנבדלים באללים שונים של ה QTL ודומים בהרכב הגנטי של שאר הגנום. קוים אלו עברו איפיון פנוטיפי מטבולי בשנה השלישית של המחקר בדומה לאיפיון המטבולי שנעשה על אוכלוסיית F2. פיתחנו ארבע זוגות בלתי תלויים של קוים איזוגנים אשר עברו פרופיל מטבולי של 37 מטבוליטים הן בפרי הבשל והן בפרי הירוק. התוצאות הראו כי כל ארבעת זוגות האיזוגנים נבדלו במספר גדול של מטבוליטים ובכך אישרו את תוצאות המיפוי הראשוני בדור F2. לשם המחשה, התוצאות של האיזוגנים ממשפחה אחת (208) מבין הארבע מובאות בטבלה 3. ניתן לראות כי יש חזרתיות גבוהה בין התוצאות בדור F2 ובקוים האיזוגנים (דור F7). מבין 28 המטבוליטים שנבדקו, 23 היו מובהקים בין הקוים האיזוגנים. כל המטבוליטים שהיו מובהקים בדור F2 הראו מובהקות בקוים האיזוגנים. מספר מטבוליטים שלא נבדלו באופן מובהק באוכלוסיית F2 הראו מובהקות בקוים האיזוגנים, דבר שניתן להסביר בכך שהקוים האיזוגנים נבדלים אך ורק באזור ה QTL הנבדק ואילו אוכלוסיית F2 מתפצלת לאזורים רבים בגנום ולכן יש מיסוך על האפקט של ה QTL הנבדק.

טבלה 3. ממוצעי מטבוליטים (ביחידות מסה) בקיום איזוגנים ובדור F2. מטבוליטים צבועים בצהוב מראים הבדלים מובהקים. * $P \leq 0.05$, ** $P \leq 0.01$, *** $P \leq 0.001$.

Metabolite	LOD F2	Mean NILF7-208P1	Mean NILF7-208P2
3-Caffeoylquinic acid (Chlorogenic acid)	NS	28,310±369	28,260±352
Apigenin 6,8-di-C-hexoside	7.2	36,547±5,588***	80,464±4,525
Apigenin 6-C-pentoside-8-C-hexoside	7.6	38,050±5,913***	93,329±4,277
Benzopyranone-Methyl-C9H15O2	NS	36,439±5,277	29,121±364
Benzyl alcohol-hexose-pentose + FA	NS	28,638±315	28,742±247
Caffeic acid 3-glucoside	NS	291,372±11,180	255,734±12,767
Capsianoside IX	NS	30,991±2,506	28,295±182
Capsianoside IX	NS	41,344±6,093*	28,804±321
Capsianoside V	NS	30,444±857*	39,205±2,495
Capsianoside X-1	NS	28,536±373	28,409±235
Coumaric acid-hexose III	NS	378,010±31,786	442,423±21,108
Ferulic acid-hexose II	NS	248,803±46,424	176,792±17,677
Ferulic acid-hexose II_1	NS	27,916±301	28,191±328
Flavonoid glycosides	NS	28,829±328	28,686±320
Icariside E5.	NS	31,474±1,964	29,309±600
Kaempferol 3-O-rutinoside	NS	37,178±4,557	37,963±5,242
Kaempferol-synapoyl-hexose-pentose	NS	28,608±479	27,948±286
Luteolin (apiosyl-acetyl)-glucoside	NS	28,340±382	28,516±274
Luteolin 6,8-di-C-hexoside	12.0	29,268±943***	75,110±4,695
Luteolin 6-C-hexoside	12.8	41,196±8,340***	173,203±11,731
Luteolin 6-C-hexoside-8-C-pentoside	12.3	30,193±1,809***	93,040±4,461
Luteolin 6-C-pentoside-8-C-hexoside	12.2	28,332±328***	68,957±4,806
Luteolin 7-O-(2-apiosyl)-glucoside	NS	28,183±360	30,057±1,700
Luteolin 8-C-hexoside		34,014±3,674***	111,857±7,498
Luteolin-di-hexose	4.9	35,458±6,797***	165,526±11,677
Luteolin-Methyl-O-di-hexose	14.5	28,153±233	28,531±217
Naringenin Chalcone	NS	984,935±657,150	1,640,351±552,733
Naringenin O-Pentose-diglucose	5.3	27,945±291	28,730±285
Naringenin-C-diglycoside I	NS	44,621±6,783	50,330±3,595
Naringenin-O-hexose 3	NS	484,892±139,556***	1,380,650±79,455
Naringenin-O-hexose 3	NS	280,323±80,931***	819,864±51,137
Phloretin-C-diglycoside	NS	220,965±56,315***	631,455±36,584
Quercetin 3-O-glucoside	8.2	45,155±8,247**	89,139±10,045
Quercetin 3-O-rhamnoside	24.5	1,016,228±458,055***	5,228,594±194,427
Quercetin 3-O-rhamnoside-7-O-glucoside	NS	289,611±126,575***	2,153,819±110,568
Quercetin rhamnoside-glucoside	NS	83,666±19,154***	497,735±42,893
Quercetin rhamnoside-glucoside	22.9	83,666±19,154***	497,735±42,893
trans-p-Sinapoyl beta-D-glucopyranoside	NS	230,433±47,684*	110,705±15,192

3. לאור ממצאים בעגבניה שתכולה גבוהה של פלבנואידים משפרת את חיי המדף של הפרי ואת העמידות לפתוגן *Botrytis cinerea* (Zhang et al. 2015, Plant Physiology 169: 1568-1583), בדקנו האם הורי אוכלוסיית המיפוי נבדלים בתכונות אלו. אכן נמצא שההורה בעל תכולת פלבנואידים גבוהה (PI 1901) בעל קצב אבוד מים נמוך יותר מהפרי לאחר האחסון ורגיש פחות להדבקה בפטריה (טבלה 4). תוצאות אלו יבדקו בשנית בקיום האיזוגנים ל QTL.

4. **טבלה 4.** בדיקת קצב אבוד מים מהפרי לאחר הקטיף ורגישות לפתוגן *Botrytis cinerea* בהורי אוכלוסיית המיפוי.

	PI 1901	PI 1902
Fruit water loss** (mg/cm ²)	15.74 ± 1*	20 ± 0.9
Average mycelium size*** (cm)	3.3 ± 0.26*	4.1 ± 0.3

* $P \leq 0.05$

**After 4 days in 20°C storage

*** 3 days from inoculation.

4. בדיקת תפקיד הגן MYB12 מפלפל בעגבניה. לצורך בחינת ההיפוטזה שהגן MYB12 של פלפל מבקר סנטזה של פלבנואידים וביטוי ביתר שלו מאפשר צבירת גבוהה של חומרים אלו, התחלנו בביצוע ניסויים של ביטוי ביתר של הגן מפלפל בעגבניה. ביטוי הגן יבחן בעגבניה בשל הקושי לייצר צמחים טרנסגנים בפלפל. יצרנו קונסטרקטים של הגן המשובט (מסגרת הקריאה השלמה מההורה 1901) תחת הפרומוטר הקונסטיטוטיבי 35S. יצרנו צמחים טרנסגנים T0 המטאים ביתר את הגן. בימים אלו אנו אוספים זרעים לדור T1 לייצוב הקיים במצב הומוזיגוטי. פרות מצמחים אלו ישלחו להולנד בהמשך 2017 לאיפיון פרופיל מטבולי.

דין

שיטת המיפוי GBS הוכחה בפלפל כיעילה ביותר ולמעשה מאפשרת קפיצת מדרגה ביכולות המיפוי על ידי הגעה לרזולוציה מיפוי גבוהה מאד כבר בדור F2. בשלוב גישה לרצף ואנוטציית גנום הפלפל שפורסם ב 2014, ניתן לאתר גנים מועמדים הנמצאים באזור QTLs מרכזיים כבר בשלבים מוקדמים של המחקר. שלוב של רווית הגנום באלפי סמנים ומדידות מטבולומיות מדויקות איפשר זיהוי מספר רב של לוקוסים מהם הושם דגש מיוחד על הלוקוס המרכזי בכרומוזום 5 המבקר תכולת נגזרות שונות של פלבנואידים. באזור ה QTL זוהה גן המקדד לפקטור שיעתוק ממשפחת MYB המהווה על סמך ידע קיים בספרות גן מועמד מצויין לבקרת התכונות. בהמשך המחקר התמקדנו באשרור הפעילות של גן זה ע"י איפיון מטבולי של ה QTL בקיום איזוגנים, בדיקת ביטוי הגן בהורי האוכלוסיה ויצירת תמחי עגבניה טרנסגנים המבטאים את הגן מפלפל.

השפעת ה QTL על מספר רב של מטבוליטים מעידה שככל הנראה הגן בבסיס ה QTL הינו פקטור שעתוק. זיהוי הבדלים מובהקים בדגם הביטוי של הגן בין שני ההורים מחזק את ההשערה בדבר תפקיד הגן בבקרת הסנטזה של פלבנואידים בפלפל. בהמשך המחקר נאשש את תוצאות דגם הביטוי גם בקוים איזוגנים. נצפו הבדלים בין ההורים של אוכלוסיית המיפוי בקצב אבוד מים מהפרי לאחר האחסון ובמידת הרגישות לפתוגן בוטריטיס. הבדלים אלו יבדקו בקוים האיזוגנים כדי לאמת את ההשערה שהם נמצאים באסוציאציה עם ההבדלים בתכולת פלבנואידים. כמו כן אנליזה של פרופיל פלבנואידים בצמחי עגבניה טרנסגנים המבטאים ביתר את הגן MYB12 בהמשך השנה תאפשר חיזוק ההשערה שהגן המועמד אכן נמצא תחת ה QTL. בנוסף, התחלנו בתוכנית הכלאות מחזירות להעברת ה QTL למספר רקעים של פלפל בלוקי מתוך כדי לבחון את השפעת ה QTL בקווי השבחה מתקדמים. לסכום, תוצאות המחקר מעידות כי קיים פוטנציאל טוב לניצול שונות טבעית הקיימת בפלפל למטרת השבחת זנים עשירים בחומרים בעלי ערך תזונתי כגון פלבנואידים.

פרסומים:

Sigal Popovsky, Oded Cohen, Omer Zahavi, Arnaud Bovy and Ilan Paran. 2016. QTL mapping of flavonoid content in pepper fruit. In: Breaking yield barriers of crop plants, Ein Gedi, Israel. Poster

Ilan Paran. 2015. Improvement of pepper fruit quality by molecular breeding. The 12th Solanaceae conference, Bordeaux, France. Invited lecture

References

Mehrtens F., Kranz H., Bednarek P., Weisshaar. B. 2005. The Arabidopsis transcription factor MYB12 is a flavonol- specific regulator of phenylpropanoid biosynthesis. *Plant Physiology* 138: 1083-1096.

Zhang Y., Stefano RD., Robine M. et al. 2015. Different reactive oxygen species scavenging properties of flavonoids determine their abilities to extend the shelf life of tomato. *Plant Physiology* 169: 1568-1583.

<p align="center">הניסויים שנעשו תוך השוואה לתוכנית העבודה והתאמתם למטרות המחקר</p>
<p>תוכנית העבודה התבצעה כמפורט בתוכנית המחקר בהתאם למטרות התוכנית: 1. קביעת התכולה של מטבוליטים בעלי ערך בריאותי באוכלוסיה מתפצלת. 2. מיפוי QTL המבקרים תכולת מטבוליטים. 3. פיתוח סמנים מולקולרים ל QTLs המבקרים את תכולת המטבוליטים. 4. אשרור האפקט של ה QTL בקוים איזוגנים.</p>
<p align="center">עיקרי הניסויים והתוצאות</p>
<p>ננקטה שיטה חדשנית של מיפוי סמנים מולקולרים ברזולוציה גבוהה מאד. גישה גנוטיפית זו בלווי איפיון מטבולי מדויק של אוכלוסית הצאצאים איפשרו זיהוי תאחיזות מדויקות ללוקוסים מרכזיים המבקרים את צבירת המטבוליטים. המשך המחקר התמקד ב QTL המרכזי בכרומוזום 5. ביטוי הגן המועמד לבקרת ה QTL הראה הבדל מובהק בדגם הביטוי בין שני ההורים בהתאמה לתפקיד הצפוי של הגן. אפקט ה QTL חזר על עצמו בקוים איזוגנים בדור F7. להוכחת תפקיד הגן המועמד התחלנו בניסויי ביטוי ביתר של הגן מפלפל בעגבניה.</p>
<p align="center">כיצד הושגו מטרות המחקר</p>
<p align="center">כל מטרות המחקר הושגו בהתאם לתוכנית העבודה</p>
<p align="center">בהתאם להצעה המקיפה, ציין מה התבצע מתוך טבלת המשימות ואבני דרך, כולל אבני דרך</p>
<p>כל המשימות בוצעו כמתוכנן. מתוך אבני הדרך, לא בוצעה אבן הדרך האחרונה (מדידת פעילות אנטי חימצונית בקוים איזוגנים) שכן הניסוי הנ"ל מתוכנן לקיץ 2017 מעבר למועד הגשת הדו"ח.</p>
<p align="center">מסקנות מדעיות וההשלכות לגבי יישום המחקר והמשכו.</p>
<p>הושגה התקדמות רבה בזיהוי גן מועמד לבקרת ה QTL והוכחת תפקודו אף שחלק זה של המחקר לא הוגדר במסגרת המטרות. התחלנו בניסויים לבדיקת תפקוד הגן במערכת הטרולוגית של עגבניה. כמו כן התחלנו בהעברת ה QTL לרקעים גנטיים נוספים להוכחת תפקודו בקווי השבחה מתקדמים של פלפל.</p>
<p align="center">בעיות שנותרו לפתרון ו/או שינויים (טכנולוגיים, שיווקיים ואחרים) שחלו במהלך העבודה; התייחסות המשך המחקר לגביהן</p>
<p>הוכחת האפקט של הגן המועמד לבקרת ה QTL בצמחים טרנסגנים הוספה לתוכנית העבודה למרות שלא הוגדרה במטרות התוכנית המקורית. השלמת המחקר באספקט זה תעשה בשנה הקרובה אולם לאחר תום המימון.</p>
<p>הפצת הידע שנוצר בתקופת הדו"ח: פרסומים בכתב - ציטט 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.</p>

תוצאות המחקר פורסמו במסגרת פוסטר והרצאה בשני כנסים בין לאומיים כמפורט בגוף הדוח. מאמר מדעי נמצא בהכנה.
פרסום הדוח: אני ממליץ לפרסם את הדוח: (סמן אחת מהאופציות)
⏪
ללא הגבלה (בספריות ובאינטרנט) ⏪
⏪
האם בכוונתך להגיש תוכנית המשך בתום תקופת המחקר הנוכחי? כן