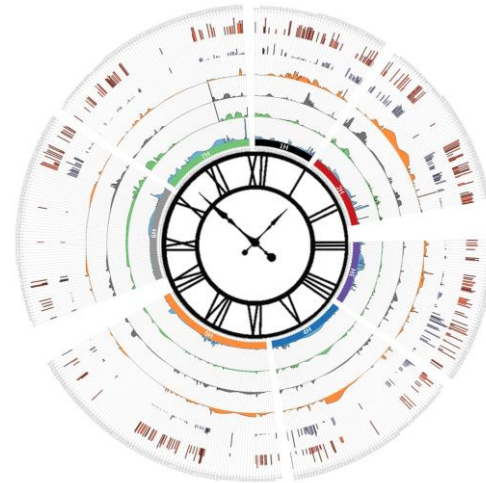


# פלסטיות מחזוריות השעון הצירקדי ומרכיבי יבול תחת חום בשעורת בר

אייל בדולח

המעבדה של דר' אייל פרידמן  
מכון וולקני

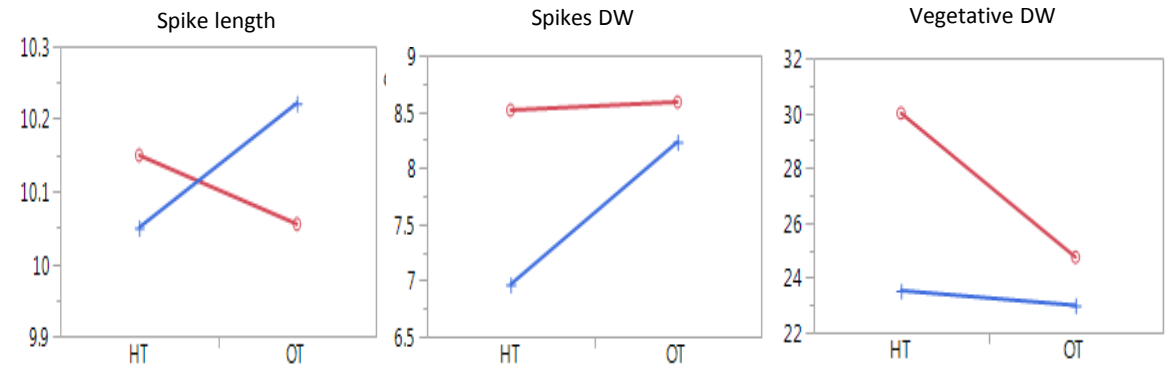


# פלסטיות/יציבות פנוטיפ

The ability of plant to change its phenotype in response to environmental change

- בין סביבות
- תוך סביבה

Reaction norms between environments

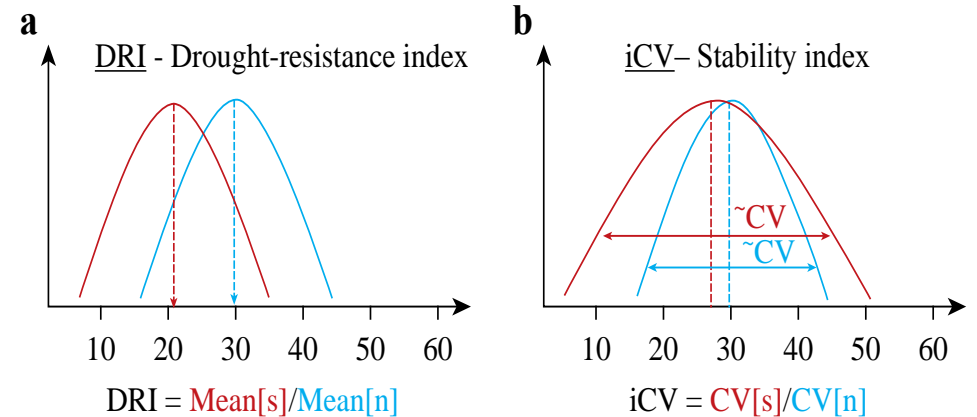


גנוטיפ א' —  
גנוטיפ ב' —

Major question in evolutionary biology:

Does selection work on trait per se or on stability?

Trait mean vs. Coefficient of variation

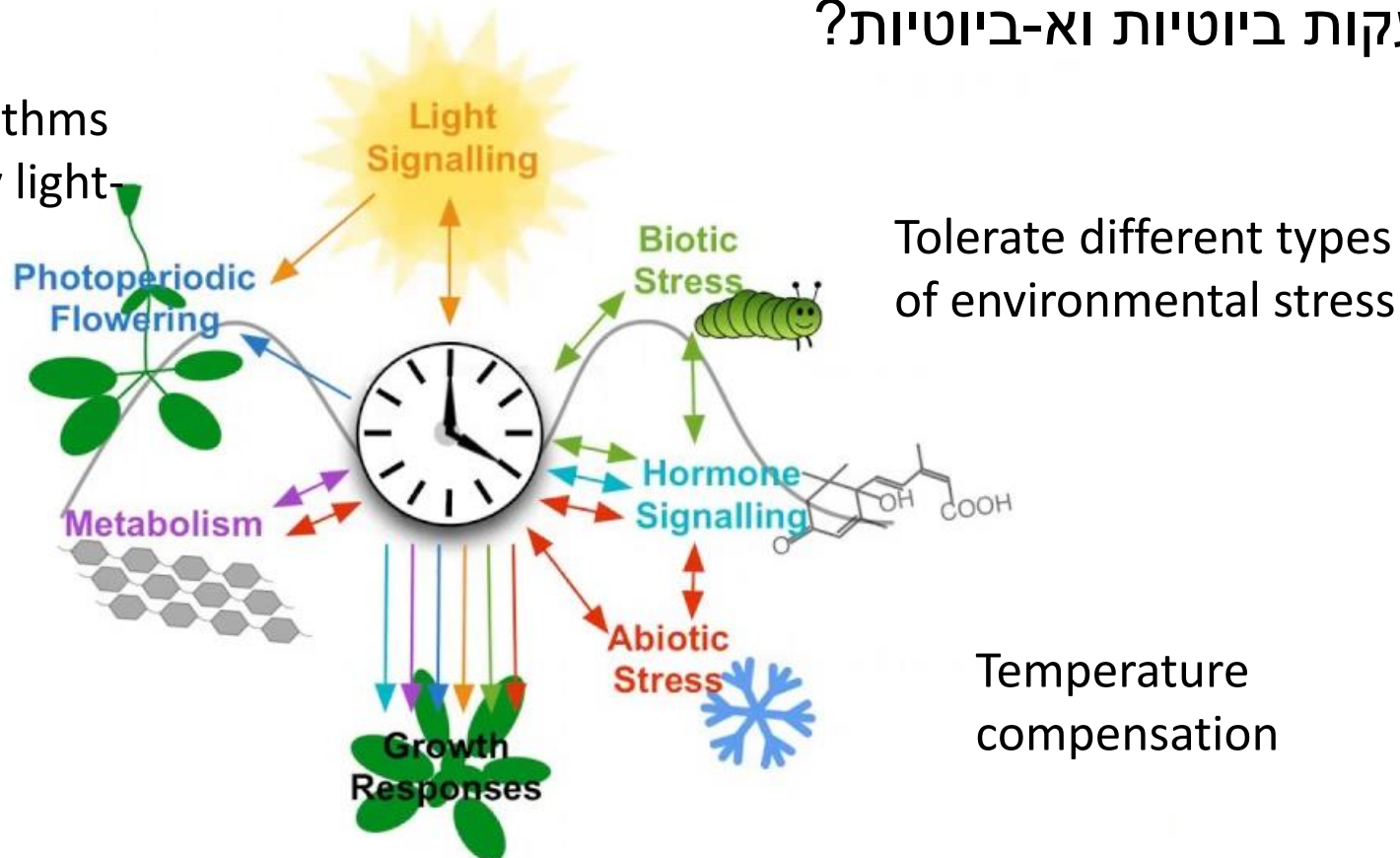


Fridman (2015) Plant Science

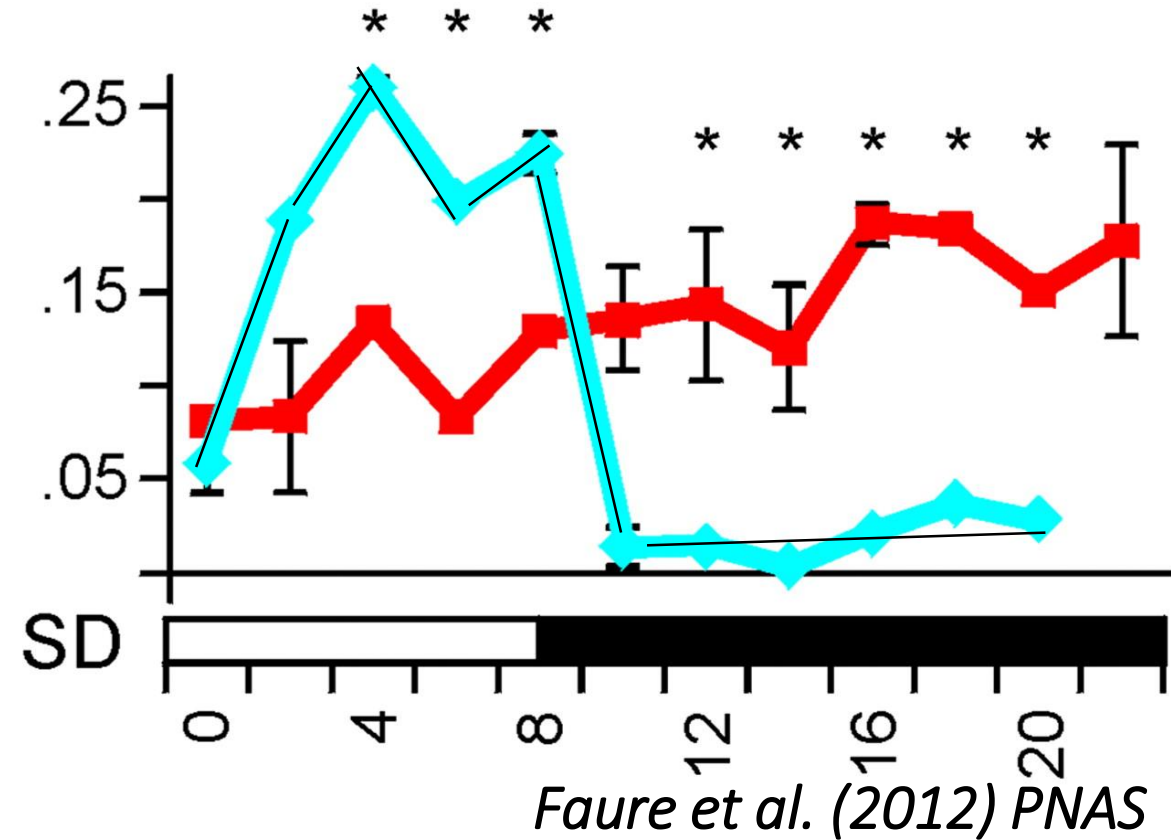
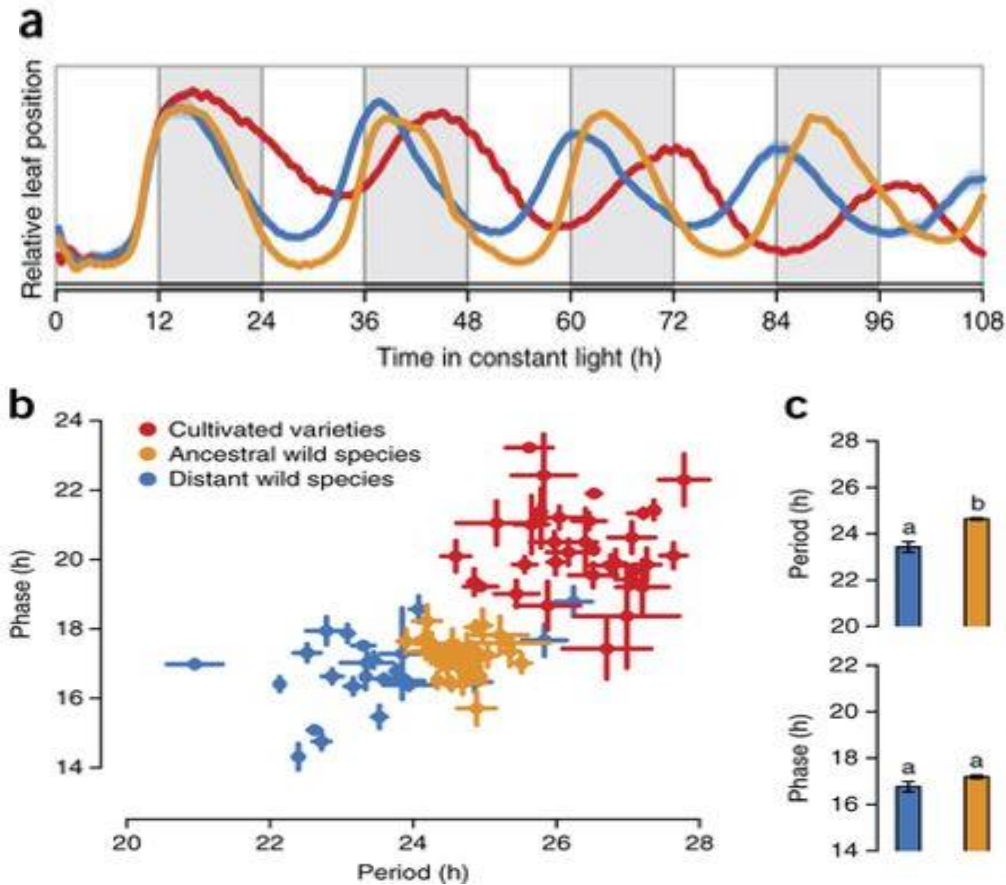
# השעון הביולוגי של הצמח (Circadian clock)

- מחזוריות פנימית בצמח (כ-24 שעות)
- נקבעת ע"פ קליטת אור בצמח
- משפיעה על פעילות הצמח-ביוכימיה והתפתחות
- האם משתנה בתגובה לעקות ביוטיות וא-ביוטיות?

Behavioral rhythms  
that are set by light-  
dark cycles



# מחזוריות השעון תחת אבולוציה

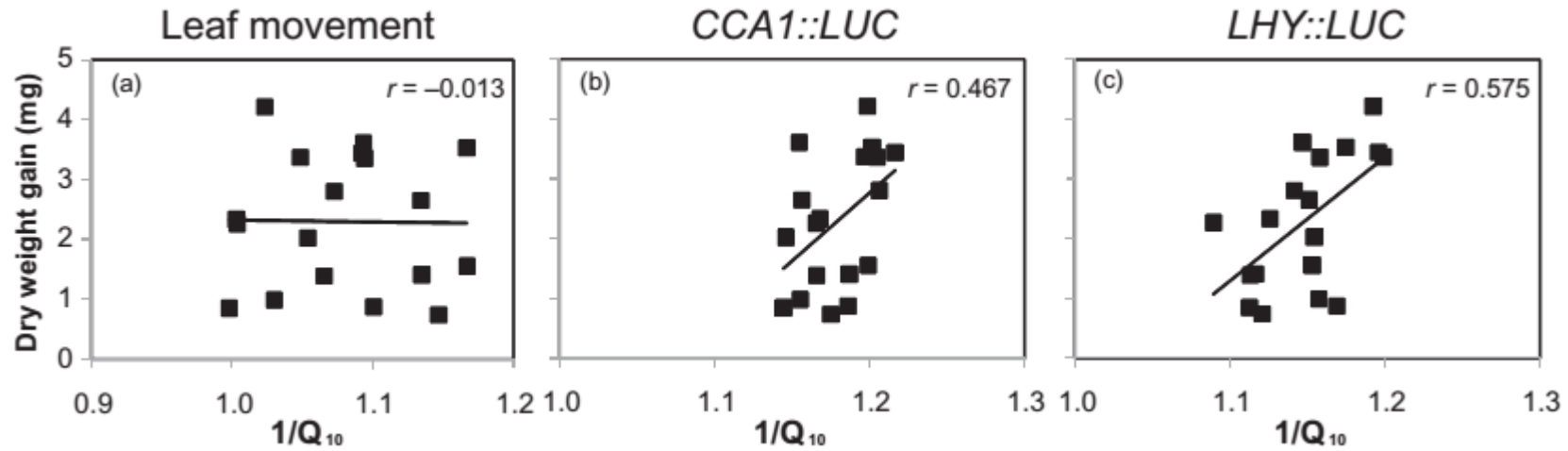


<https://www.nature.com/articles/ng.3447#f1>

**Tomato** Deceleration of clock in cultivated. No clear benefit

**Barley** Benefits from the loss of circadian clock function (*eam8*)- adaptation to Northern hemisphere, shorter season and longer days

# מחזוריות שעון וכשירות בצמח



No association between genetic variation of CCA and LHY and temperature-dependent modulation of growth

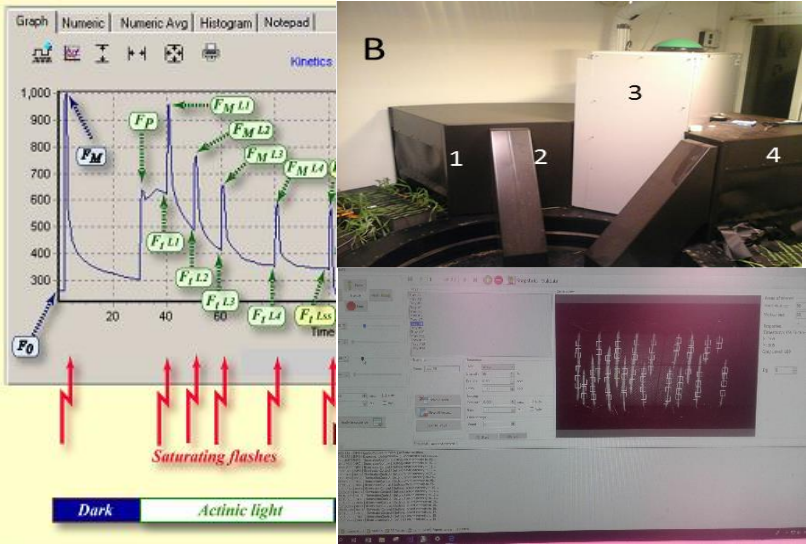
# מטרות המחקר

- אפיון של אוכלוסיה מתפצלת של שעורת בר בסביבות שונות
- לשעון הצירקדי תחת שתי טמפרטורות (22 מ"צ ו-32 מ"צ)
- אפיון תכונות כשירות בחממה תחת טמפרטורת סביבה וטמפרטורה חמה
- בחינת הבדלים בפנוטיפ שקשורים לשונות ציטופלזמתית
- מיפוי גנטי של אוכלוסיה מתפצלת לתכונות שעון ותכונות כשירות בחממה תחת חום
- יצירת קוי אינטרוגרסיה של זן תרבותי עם ציטופלזמה מהבר

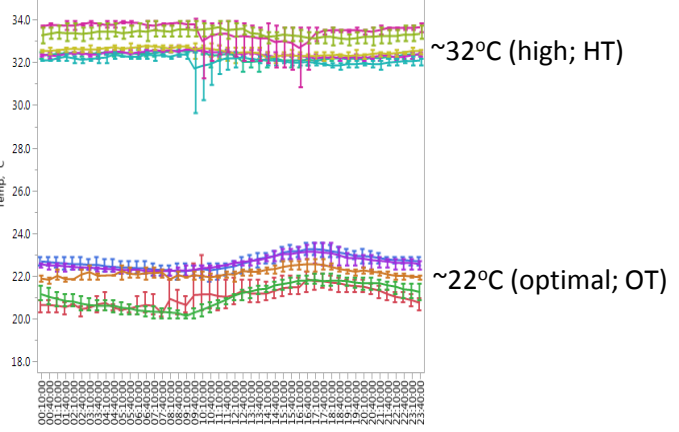
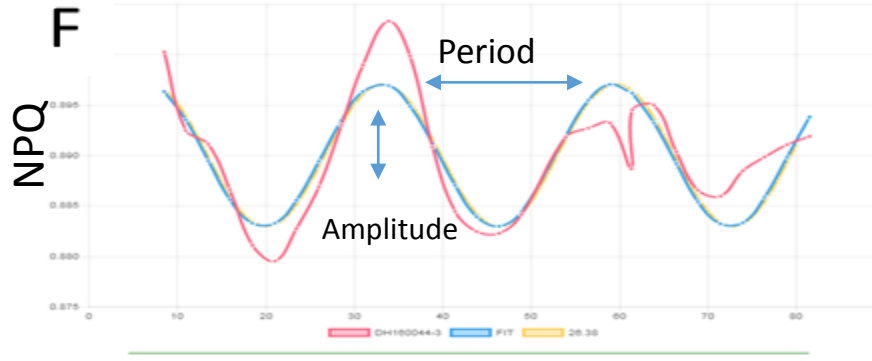
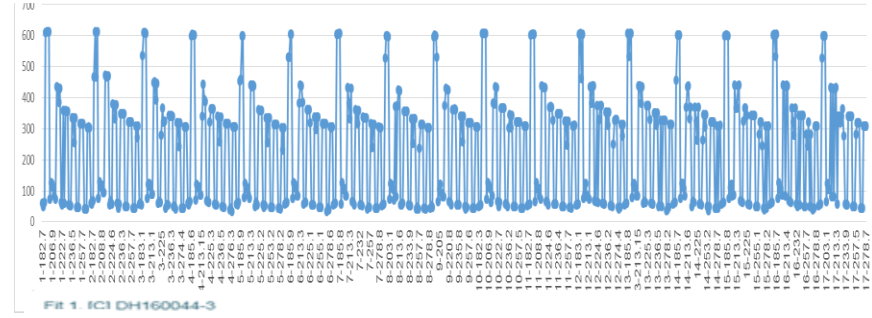
# SensyPAM: High-throughput PSII fluorescence measurement in high temporal resolution

מערכת לחישוב מחזוריות השעון ע"י מדידת פלורסנציה של כלורופיל תחת מגוון טמפרטורות סביבה

- I. 8/16 L/D entrainment
- II. Under constant light



Every 2.5 hours for 3 days



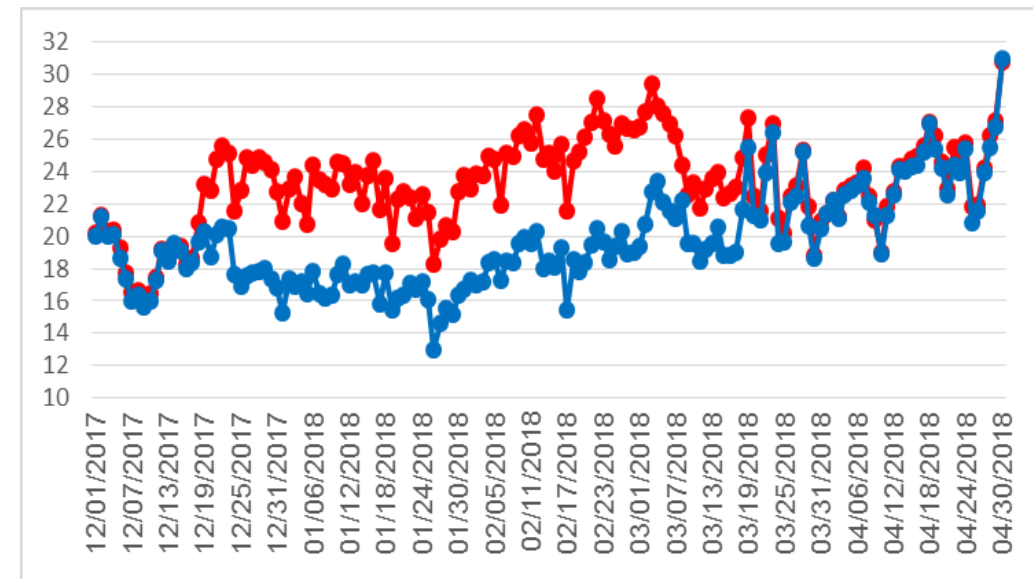
<https://biocare2.ed.ac.uk>

# פנוטיפ של תכונות כשירות בחממה תחת חום

- Half greenhouse covered in nylons + 3 heathers
- Growing as single plants
- Measuring spike length before it is shattering
- Covering all plant in nylon bag



טמפרטורה יומית ממוצעת לאורך עונת הגידול



טמפרטורת סביבה (AT) ————  
טמפרטורה עם חימום (HT) ————



# The **AShkelon-HERmon (ASHER)** doubled haploid population

- תוצר הכלאה רציפירוקלית בין שני גנוטיפים של שעורת בר מאשקלון והר חרמון
- אוכלוסיית מיפוי הומוזיגוטית
- שתי תתי אוכלוסיות בעלות ציטופלזמה (מיטוכונדריה וכלורופלסט) שונה (של הקו מאשקלון והקו מחרמון)

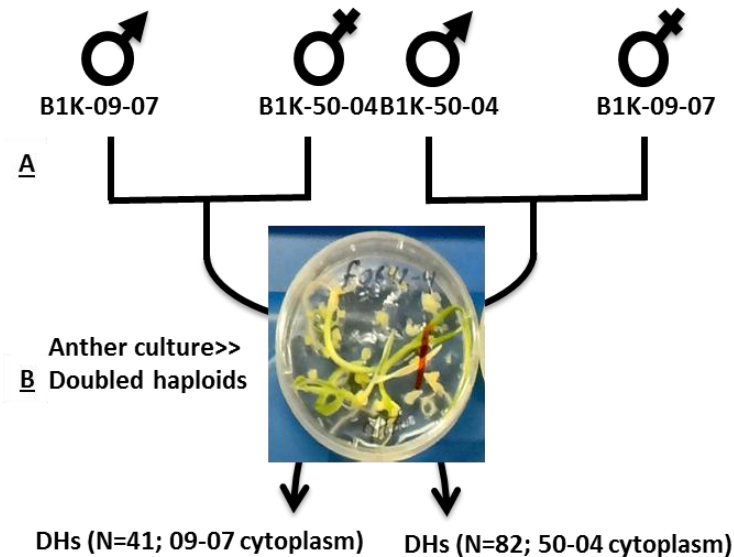


Ashkelon  
B1K-09-07



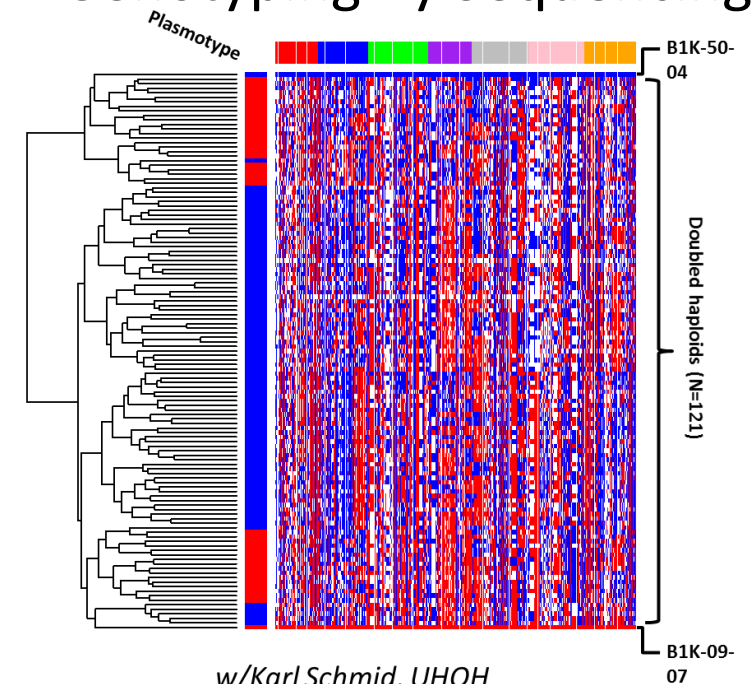
Mt. Hermon  
B1K-50-04

## Reciprocal cross for DH population

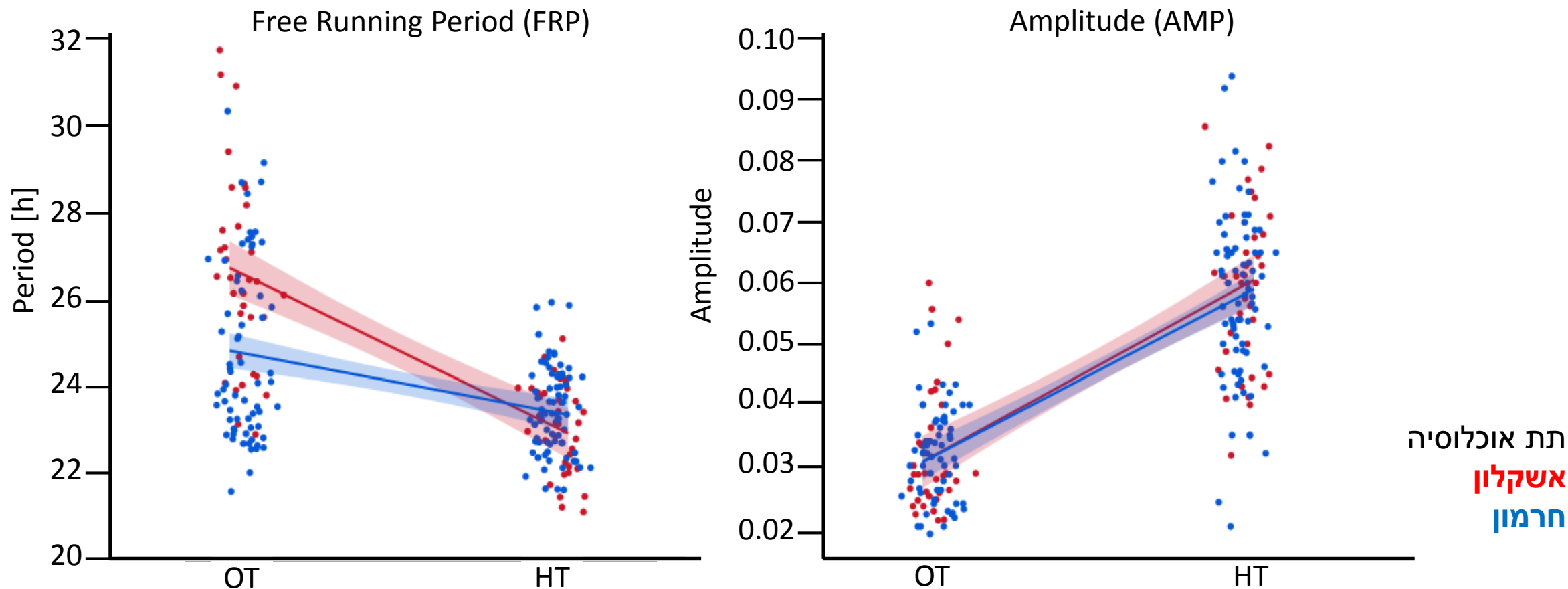


@Pat Hayes, OSU

## Genotyping By Sequencing (GBS)



# פלסטיות מאפייני השעון תחת טמפרטורה אופטימלית וגבוהה



Significant plasticity for the FRP trait (reduction in mean value under HT) of the 0950 lines compared to robustness of 5009 (no significant change between OT and HT).

# פלסטיות תכונות כשירות בחממה תחת טמפרטורת הסביבה וטמפרטורה גבוהה

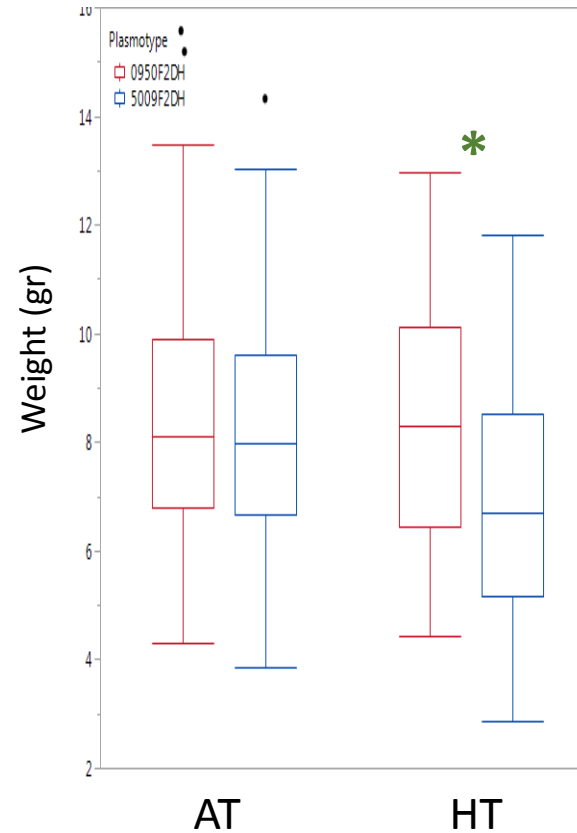
AT-ambient temperature



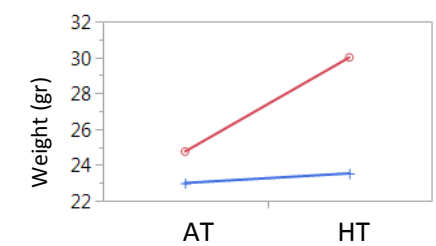
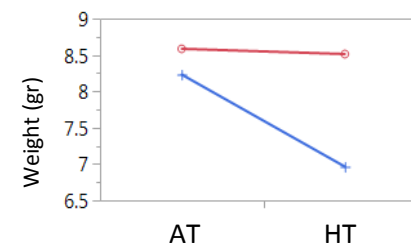
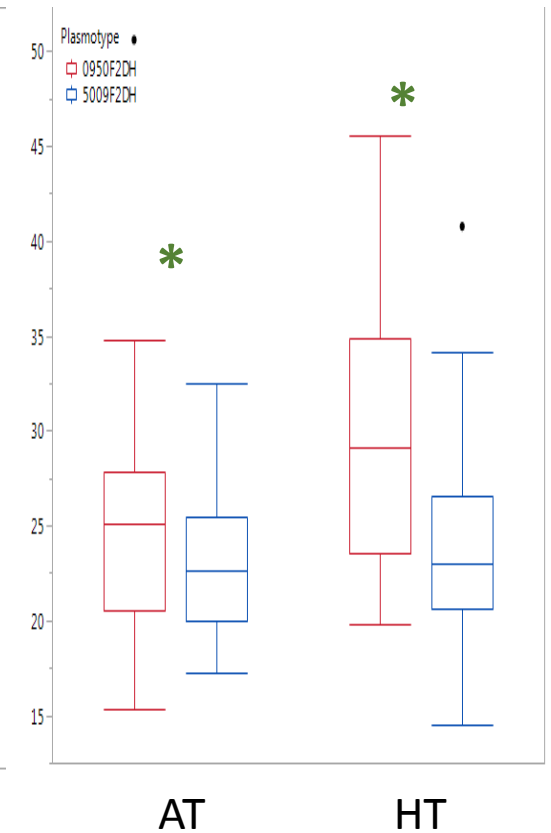
HT-high temperature



משקל שיבולים



משקל וגטיבי



תת אוכלוסיה  
אשקלון  
חרמון

\* Significant t Test  $p < 0.05$

# מיפוי גנטי

דרך פעולה:

יצירה ושימוש באוכלוסיה מתפצלת שמקורה בשני הורים או יותר

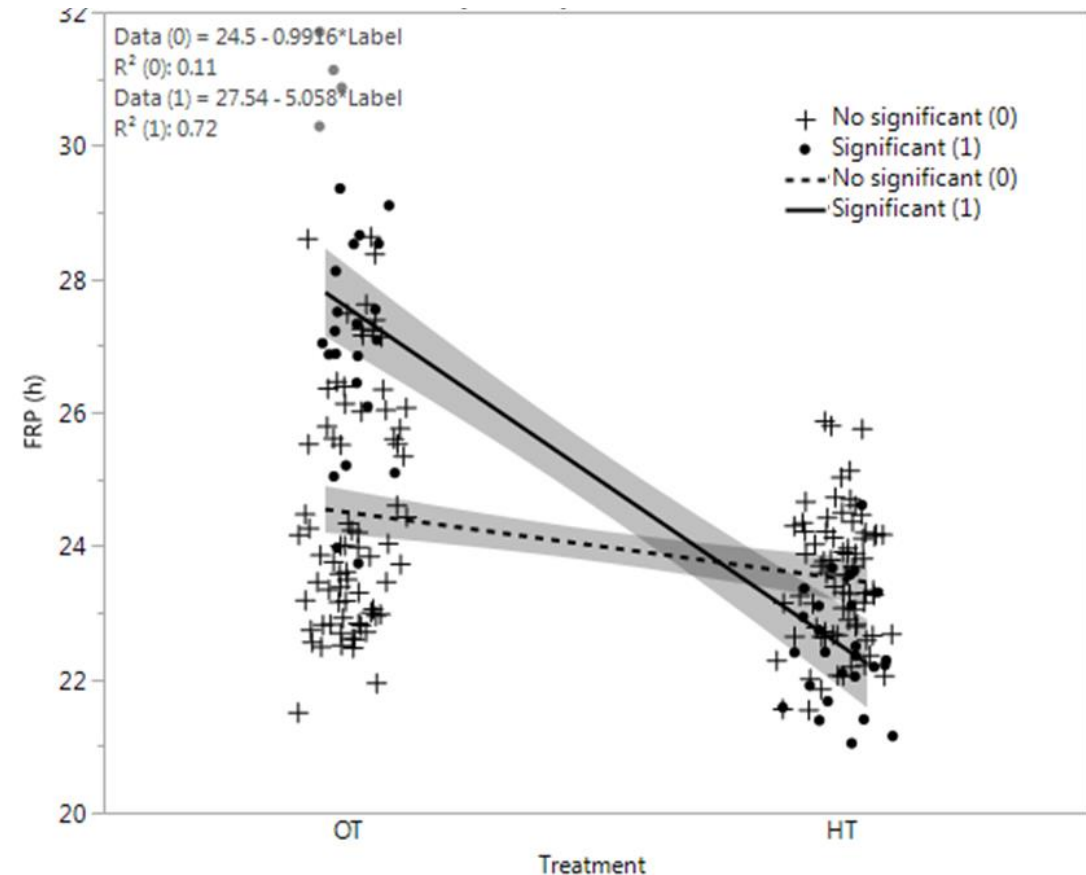
- איפיון גנטי (שונות אללית לאורך הכרומוזומים בכל הפרטים)
- איפיון פנוטיפי לכל הפרטים באוכלוסיה
- בחינת הקשר הספציפי בין שונות באתרים גנומיים (לוקי) לבין שונות בפנוטיפ

תוצאה:

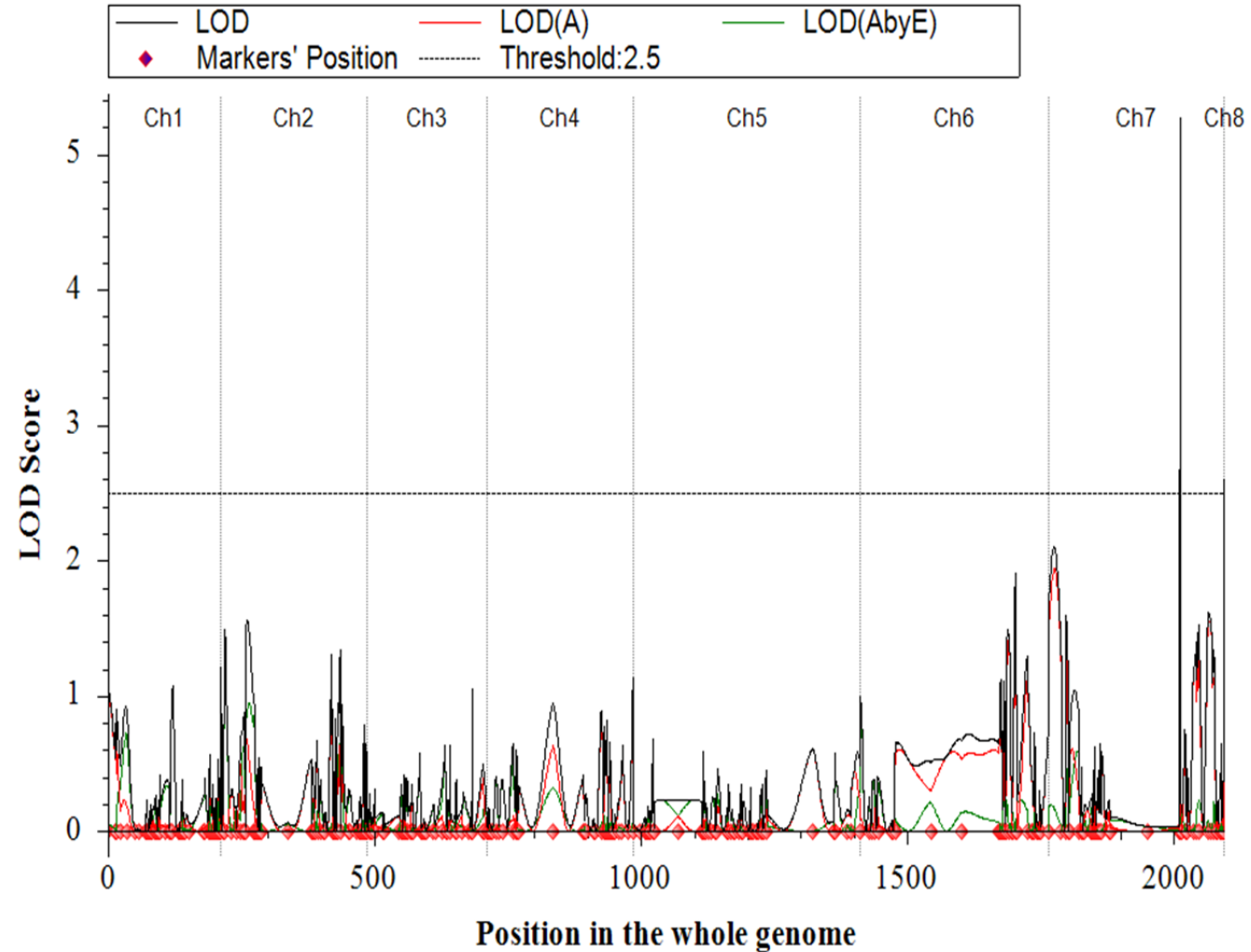
מפה גנטית או Manhattan plot שמבטאת את אותם מיקומים המשפיעים על התכונה, או על הביטוי מותנה סביבה (במידה וממפים אינטרקציה)

# QTL analysis for clock plasticity

- **QxE analysis**- Heat-conditioned effects of one allele vs another (GWAF) (Q by E, qe)
- Mapping the delta of the trait- HT minus OT values [delta, d]
- **Threshold model** (Falconer 1965)- Compare the means for each genotype for HT and OT, giving a binary score. 0 - no change; 1-significant (t-test;  $p \geq 0.01$ ) difference. Map the binary vector as a quantitative trait [environment response, er]



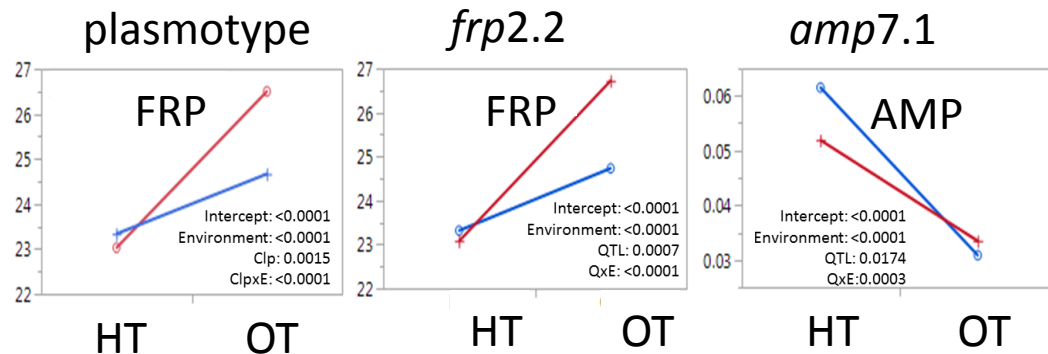
# QTL analysis for clock period- Output



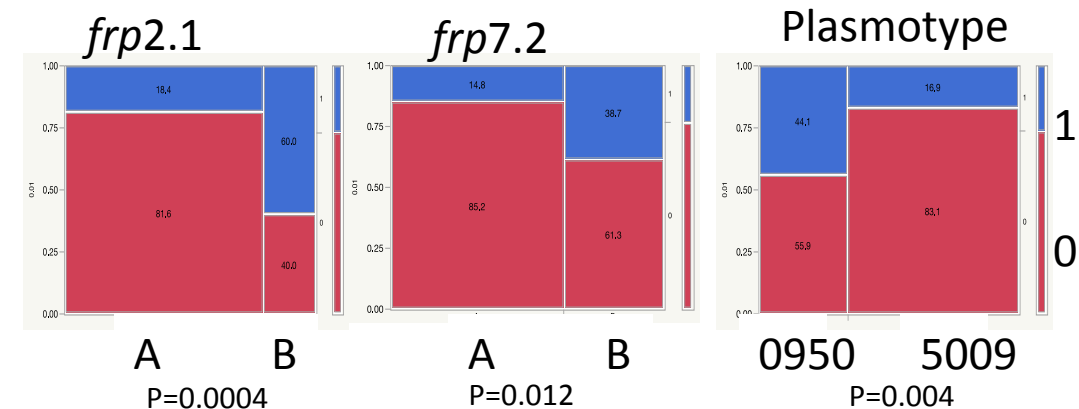
*amp7.3* QxE analysis

# סמנים שנמצאו בקשר לפלסטיות של השעון

Name	Method	Chr	Position [cM]	LeftMarker	RightMarker	LOD	PVE(%)	Add	LeftCI	RightCI	Candidate gene (Pankin et al)
<i>frp2.2</i>	delta	2	240	S2H_718338890	S2H_722401229	3.1302	13.4488	1.0143	239.5	240.5	
<i>frpcp1</i>	delta	plasmotype				3.2681	13.4041	0.9625	0	0	
<i>amp7.1</i>	delta	7	246	S7H_498472330	S7H_510903725	3.0891	11.1499	0.0055	245.5	246.5	TFL2/LPH1
<i>amp7.1</i>	QxE	7	246			5.2685	36.4381	0.0024	245.5	246.5	
<i>amp7.3</i>	QxE	7	329	S7H_651765311	S7H_656048080	2.597	9.9692	0.0009-	328.5	329	CIR1/RVE2
<i>frp2.1</i>	er	2	223	S2H_698875542	S2H_702308910	2.7998	3.6442	0.1731-	219.5	224.5	PIF1
<i>frp7.2</i>	er	7	320	S7H_638192717	S7H_640843045	3.8577	10.2369	0.2454	319.5	321.5	



A- Hermon allele  
B- Ashkelon allele

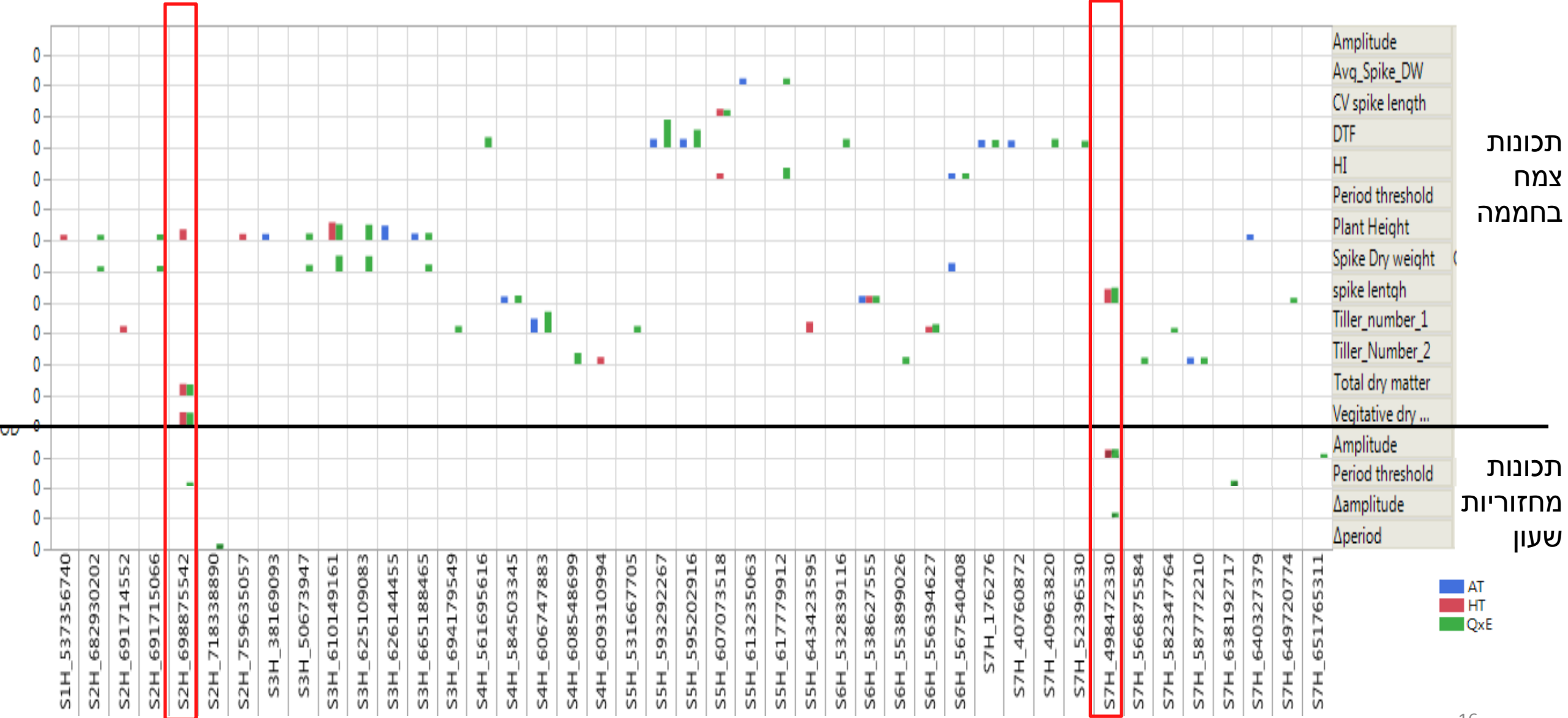


**FRP change between treatments**  
0 - no change  
1-significant  
(t-test;  $p \geq 0.01$ )

A- Hermon allele  
B- Ashkelon allele

# מובהקות (LOD) מבחן סמנים של תכונות כשירות ושעון ופולסטיות

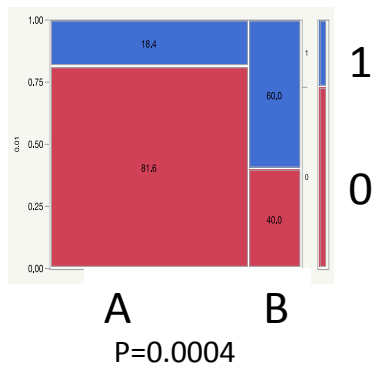
## תחת טמפרטורת סביבה חמה



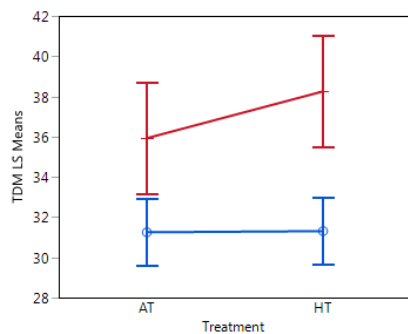


S2H\_698875542

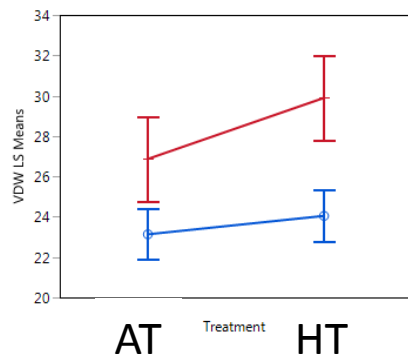
Period threshold



Total dry matter

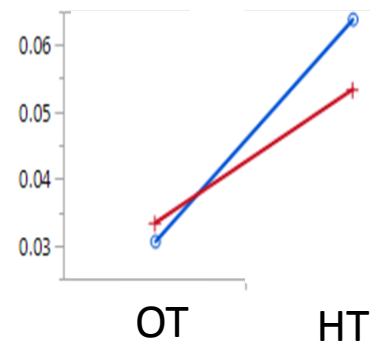


Vegetative dry weight

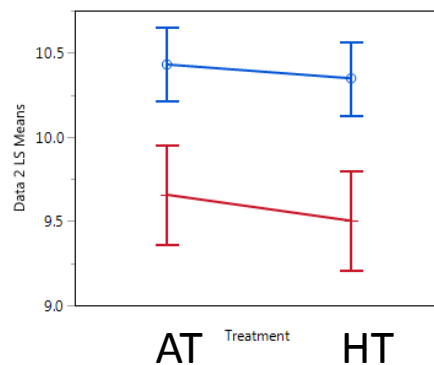


S7H\_498472330

Amplitude



Spike length



A- Hermon allele  
B- Ashkelon allele

סמנים מובהקים בתכונות

שעון וצמח

נראה שאלל של חרמון (A) מראה יציבות במחזוריות השעון במעבר לטמפ' גבוהה וגם יציבות במשקל צמח. פלסטיות במחזוריות השעון קשורה למשקל צמח גבוה יותר תחת חום

אמפליטודה גבוהה יותר תחת חום קשורה לשיבולת ארוכה יותר

# המשך מחקר ושאלות

- אינטרודוקציה של ציטופלסמות מקוי בר שונים ובחינתם בשדה-יצירת חומר גנטי חדש לטיפולוח בתנאי סביבה משתנים
- איפיון פנוטיפי בשדה חקלאי
- איפיון מולקולרי לגנים מועמדים לפלסטיות
- חיפוש קשר בין הגנום לציטופלזמה באוכלוסיית Diallel רציפרוקלית
- מיפוי גנטי על אוכלוסיית אוסף השעורה (B1K) לתכונות השעון

# Acknowledgements

## ARO

- Dr. Eyal Fridman
- Dr. Manas Ranjan Prusty
- Dr. Adi Faigenboim-Doron

Max Planck Golm

- Stephan Greiner

University of Hohenheim

- Prof. Karl Schmid

## BGU

- Prof. Khalil Kashkush

SensyTIV, Israel

- Roi Levav
- Oded Anner
- Elad Lifshin

Shibolim, Nes-Ziona

- Galia Zer-Kavod

