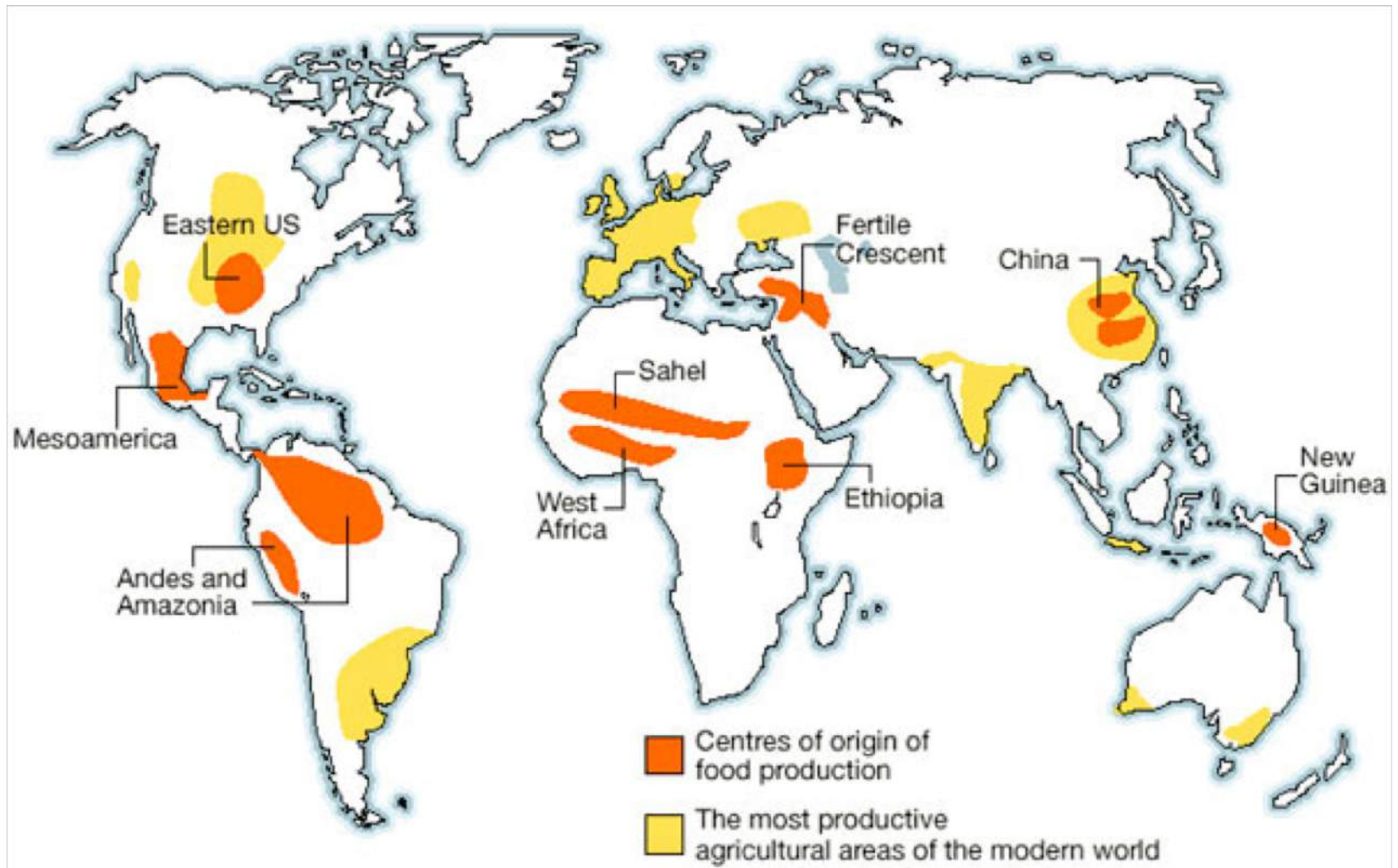


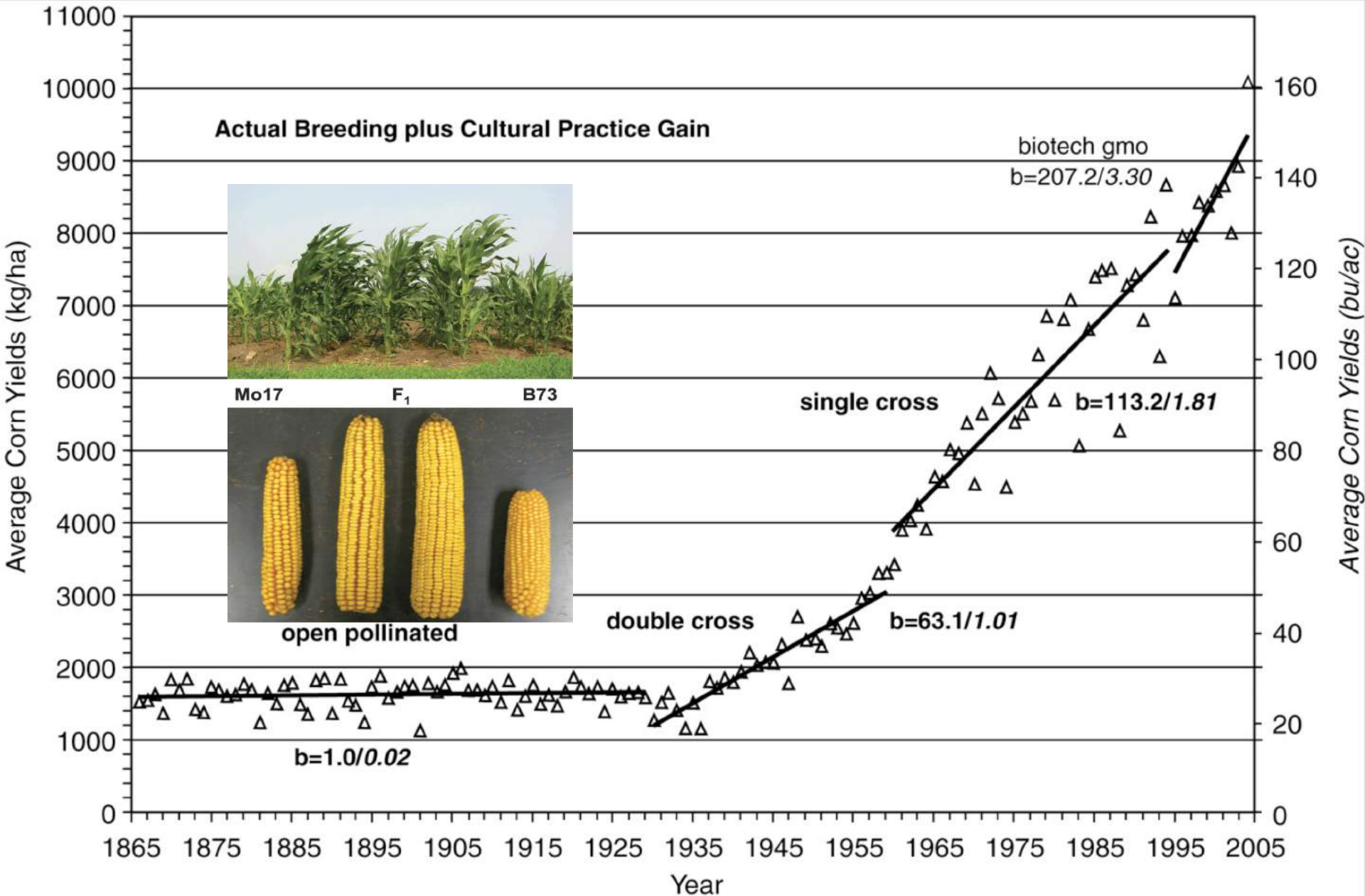
# לימוד וניצול שונות גנטית מהבר-שעורה כמודל

אייל פרידמן, ד"ר  
מכון למדעי הצמח, מכון וולקני

# Evolution Under Domestication

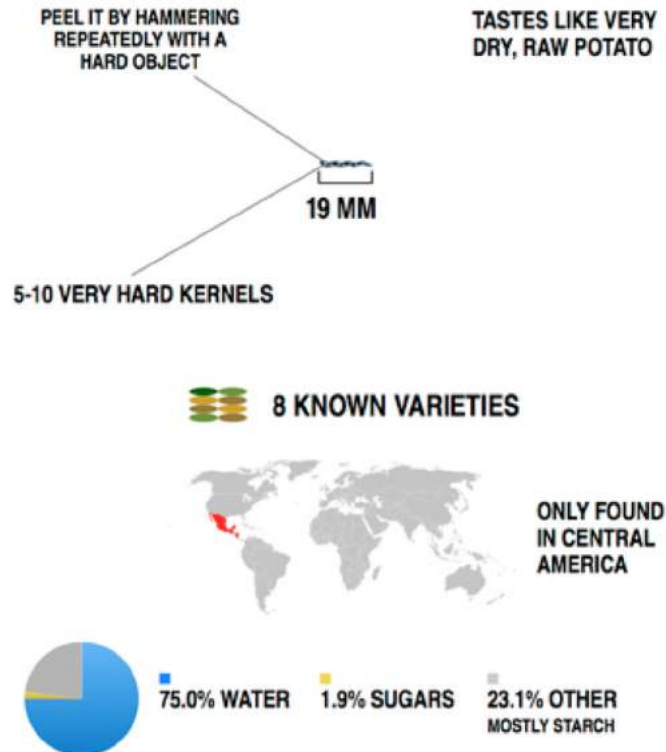


# Evolution Under Breeding

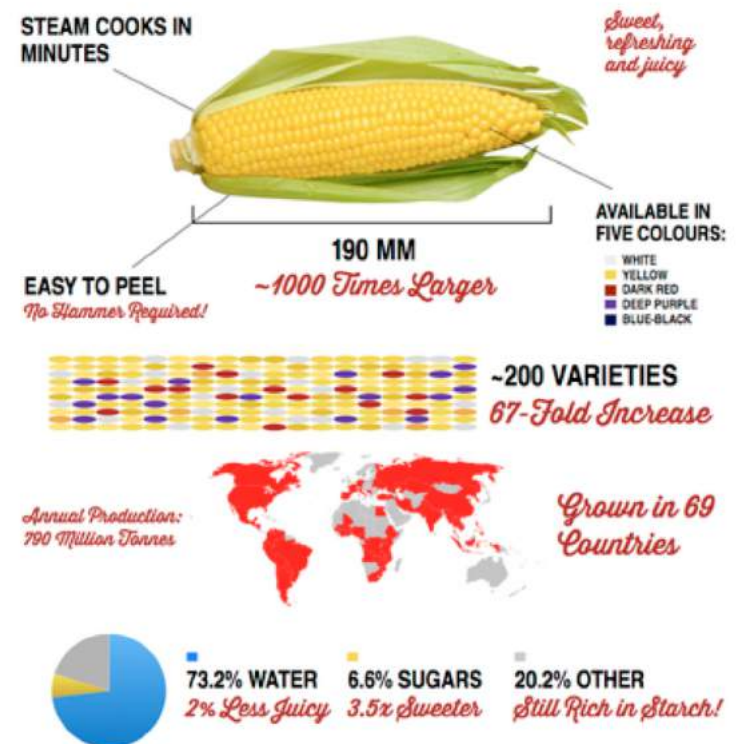


# Evolution Under Domestication

## NATURAL "CORN", 7000 B.C.



## ARTIFICIAL CORN, 2014



JAMESKENNEDYMONASH.WORDPRESS.COM

# From Green Revolution to Ecological Agriculture

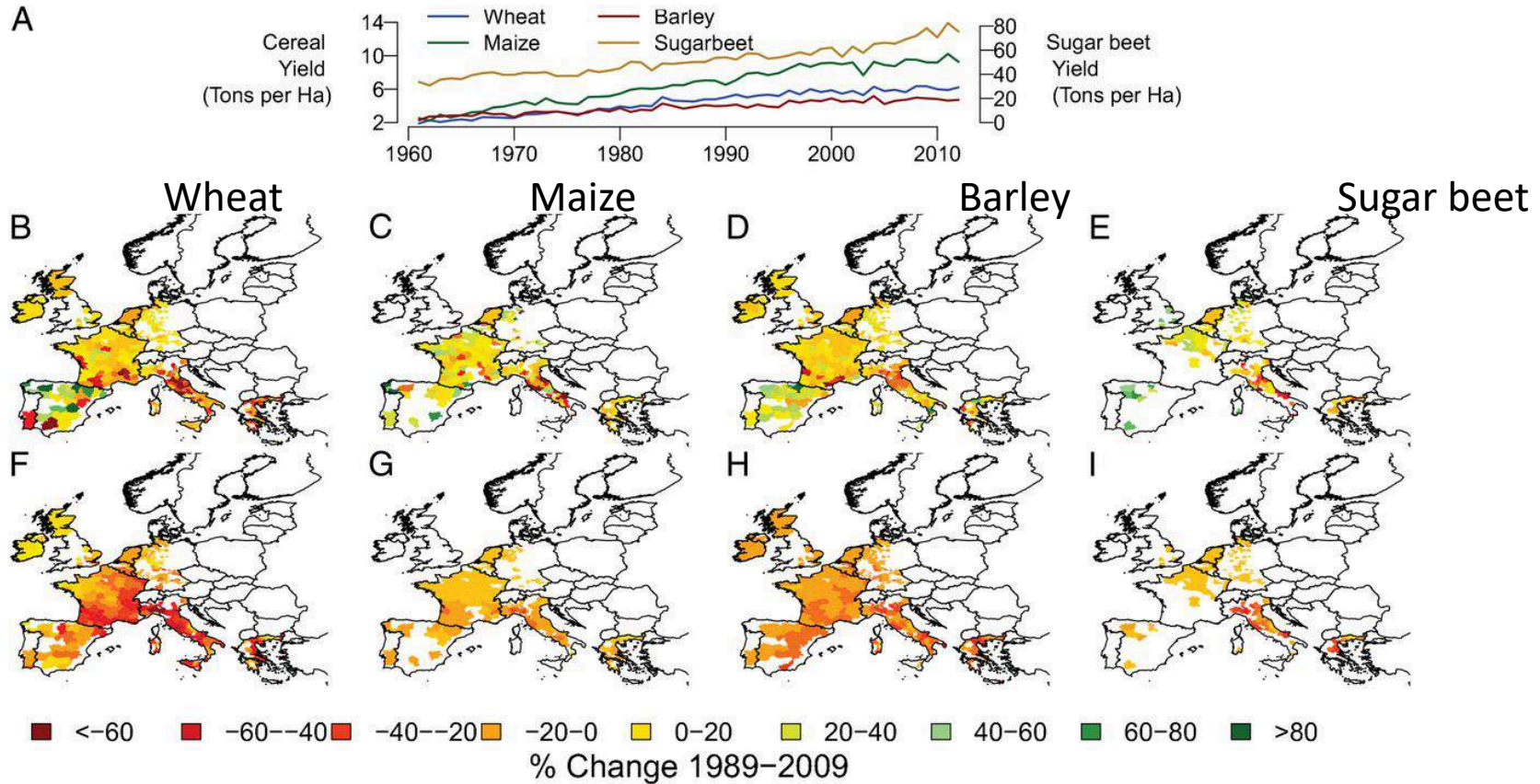


Dr M S Swaminathan

*...The first green revolution was conducted under reliable water supply.... (in Punjab)*

*...The next green revolution should lead to Ecological Agriculture...*

# Patterns and time evolution of crop yields - predicted impacts of climate trends.

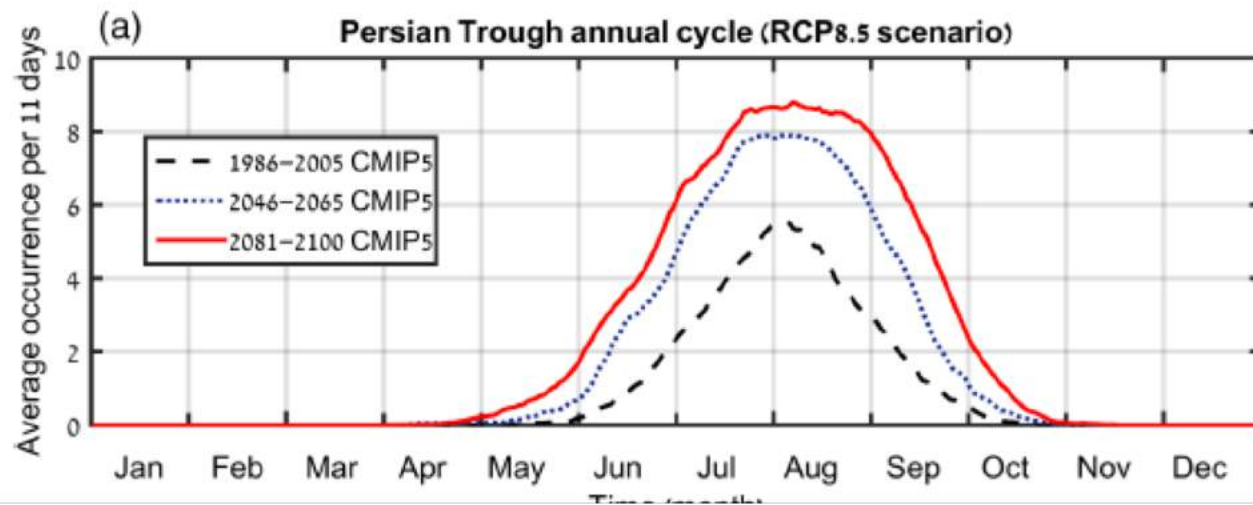


expected change in yield based on growing-season temperature and precipitation trends

Moore & Lobell PNAS 2015;112:2670-2675

PNAS

# Prediction for eastern Mediterranean (EM) Summer Times



## ***synoptic definition of the seasons***

The synoptic summer, characterized by the occurrence of the Persian Trough, is expected to be lengthened by 49% app. Two months longer summer { and shorter winter.. }

Hochman, Harpaz, Saaroni&Alpert (2018)

# מהן השאלות והמטרות?

- לימוד האבולוציה תחת תנאים טבעיים ותחת מעבר לתירבות, קרי השינויים בהרכב האללים באוכלוסיות?
- האם ישנם עקרונות התפתחותיים דומים, או שונים, בתגובת צמחי הבר והתרבות לתנאי הסביבה השונים וכיצד אלו יכולים להסביר התאמה לסביבות משתנות?
- מה מניע את אותה אבולוציה של האוכלוסיות? האם פלסטיות או איתנות פנוטיפית?
- מהם אותם גנים המעורבים בתהליכים אלו? ולאלו תכונות הם מקודדים
- כיצד ניתן ליישם זאת לטיפוח זנים עמידים יותר בתנאי סביבה קשים?
- מהם צווארי הבקבוק בניצול שונות אללית – פיתוח כלים



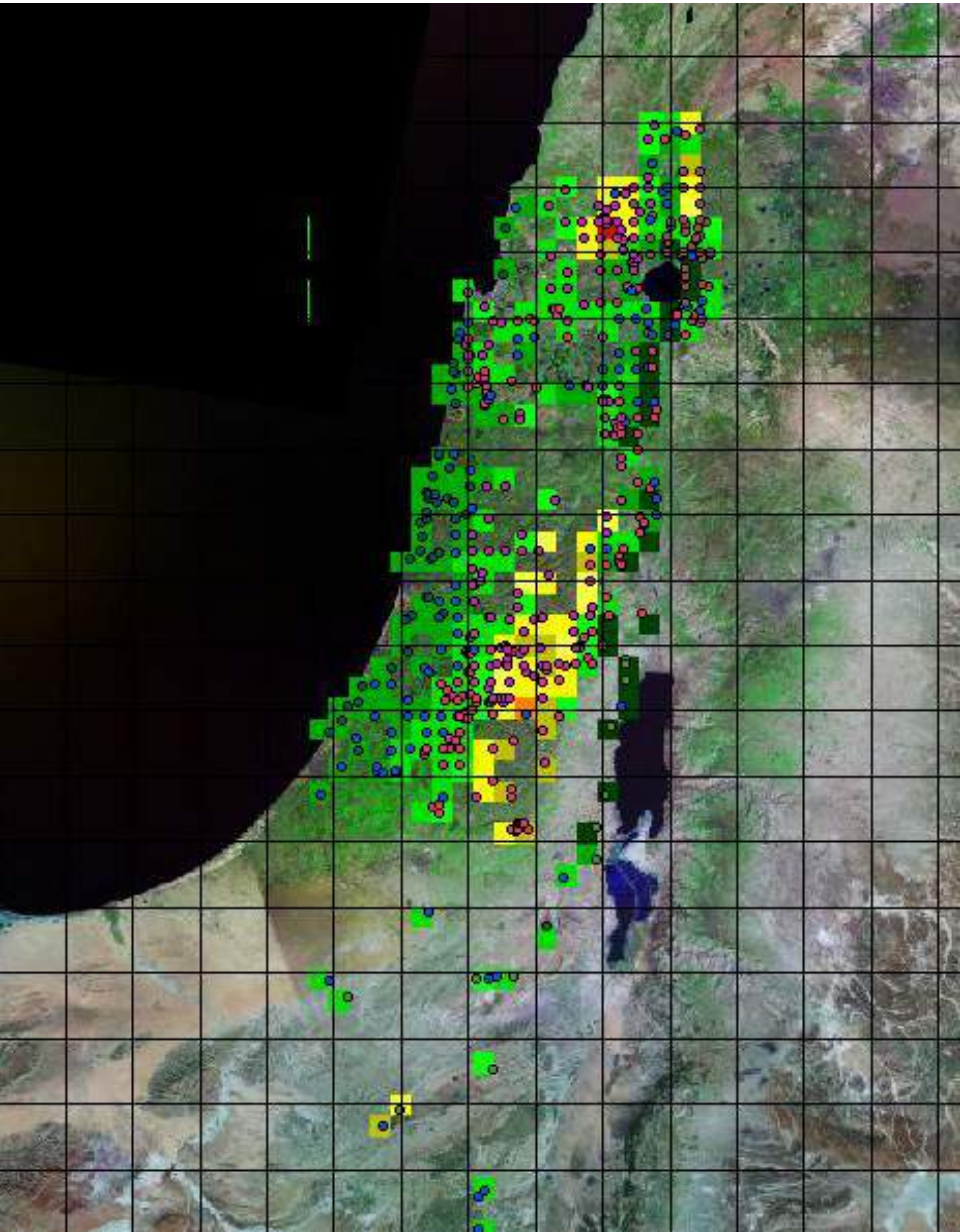
# להיום...

- הקדמה- אבולוציה תחת תרבות והשפעתה בגידולים
- אוכלוסית ה Barley1K – מודל לחקר וניצול שונות גנטית מהבר  
[ואוכלוסיות רב-הוריות אחרות]
- סריקה גנטית לאללים המקנים עמידות ליובש- אוכלוסיה רב-הורית
- (פלסטיות ואיתנות פנוטיפית- אוכלוסית ASHER)
- צוואר הבקבוק במיפויים גנטיים וניסיונות לפתרון בעריכה גנטית
- יצירת שונות חדשה במוטגנזה וכלים חישוביים לאתר גנים רלוונטיים לטיפוח ולמחקר בסיסי

# אז למה לי שעורה עכשיו, כאן ובכלל?

- Diploid genome [well, 5Gb, but still]
- Excellent genetic map
- Easy to cross with wild relatives- far, but close enough
- In Southern Levant- rich allelic repertoire, richest worldwide, with excellent environmental variation
- If you're patient enough, you can drink your experiments

# Wild Barley (Barley1K) Collection



*Hordeum spontaneum*

## Multi-layer analysis:

- 617 Initial localities
- Soil
- Grid lines (X,Y)
- Altitude
- 75 visited
- 51 selected for sampling

## Hierarchical Sampling

### Model (HSM)

- 51 Sites (B1Ks)
- 5 Poles (Micro-sites)
- 4 Spikes

B1K-36-20

Site number 36

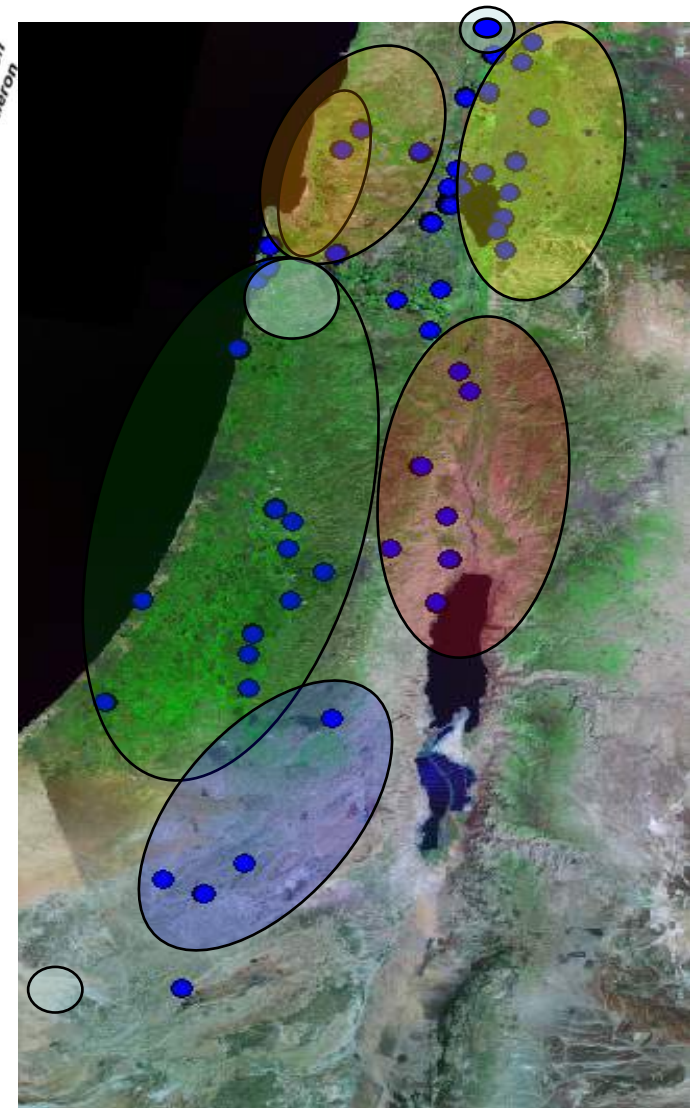
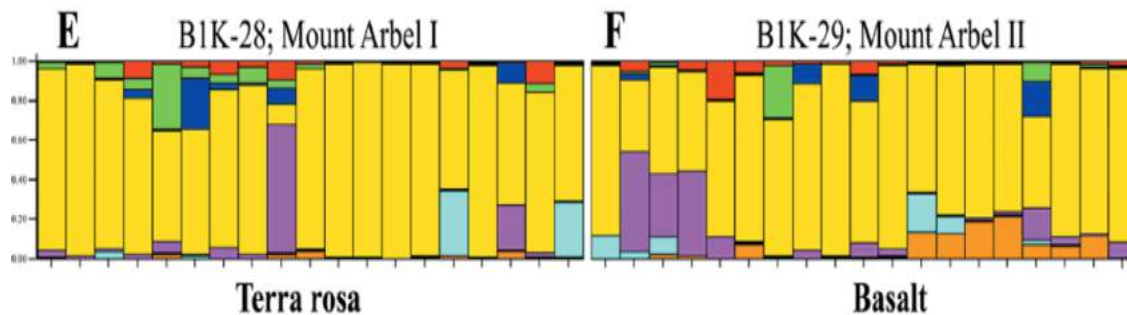
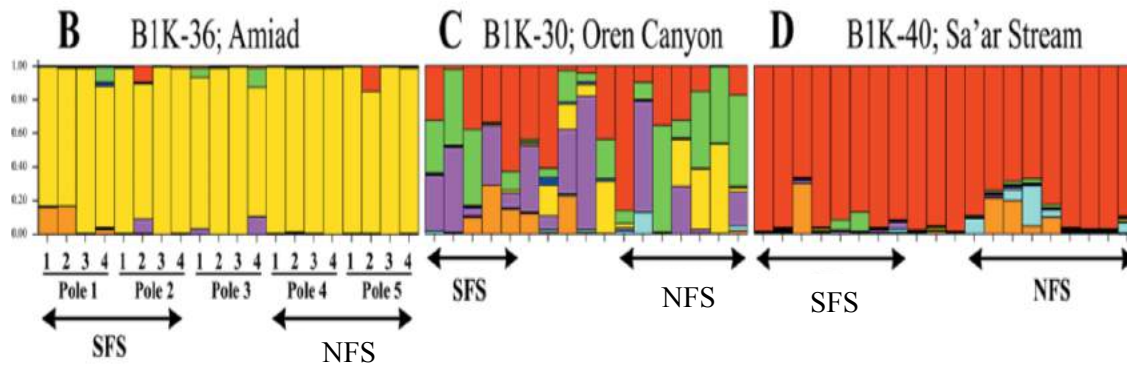
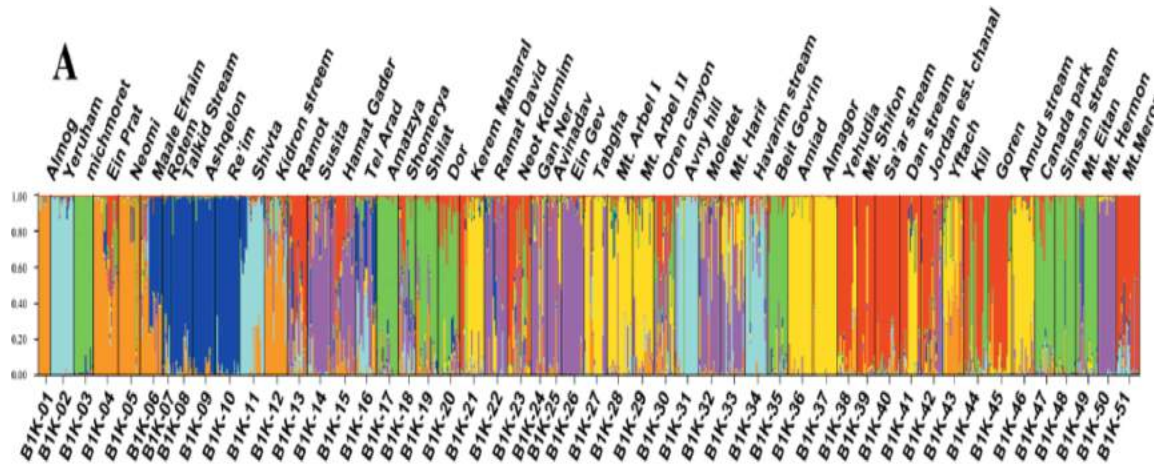
Pole number 5

Plant number 4

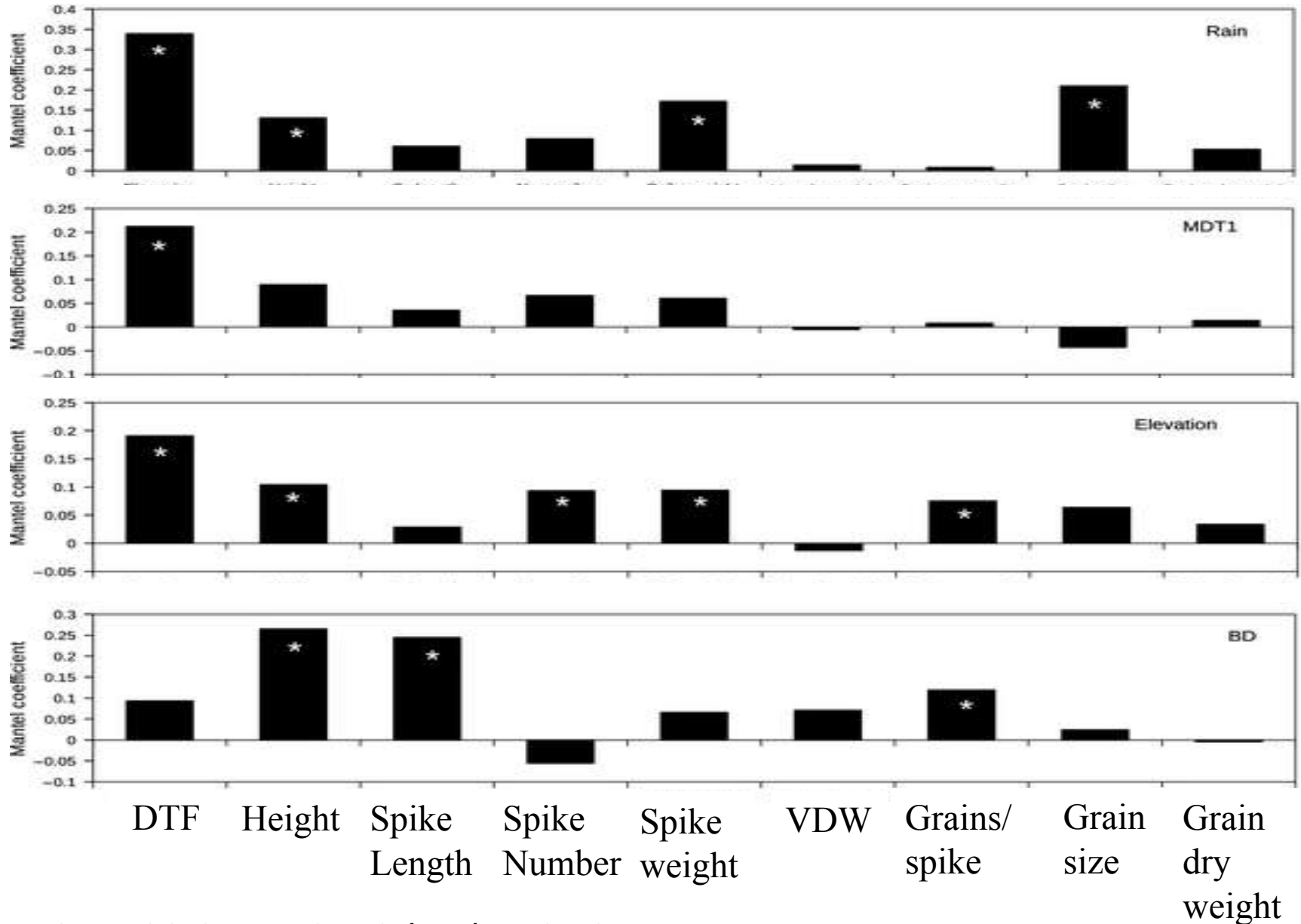


11  
Sarel Hubner

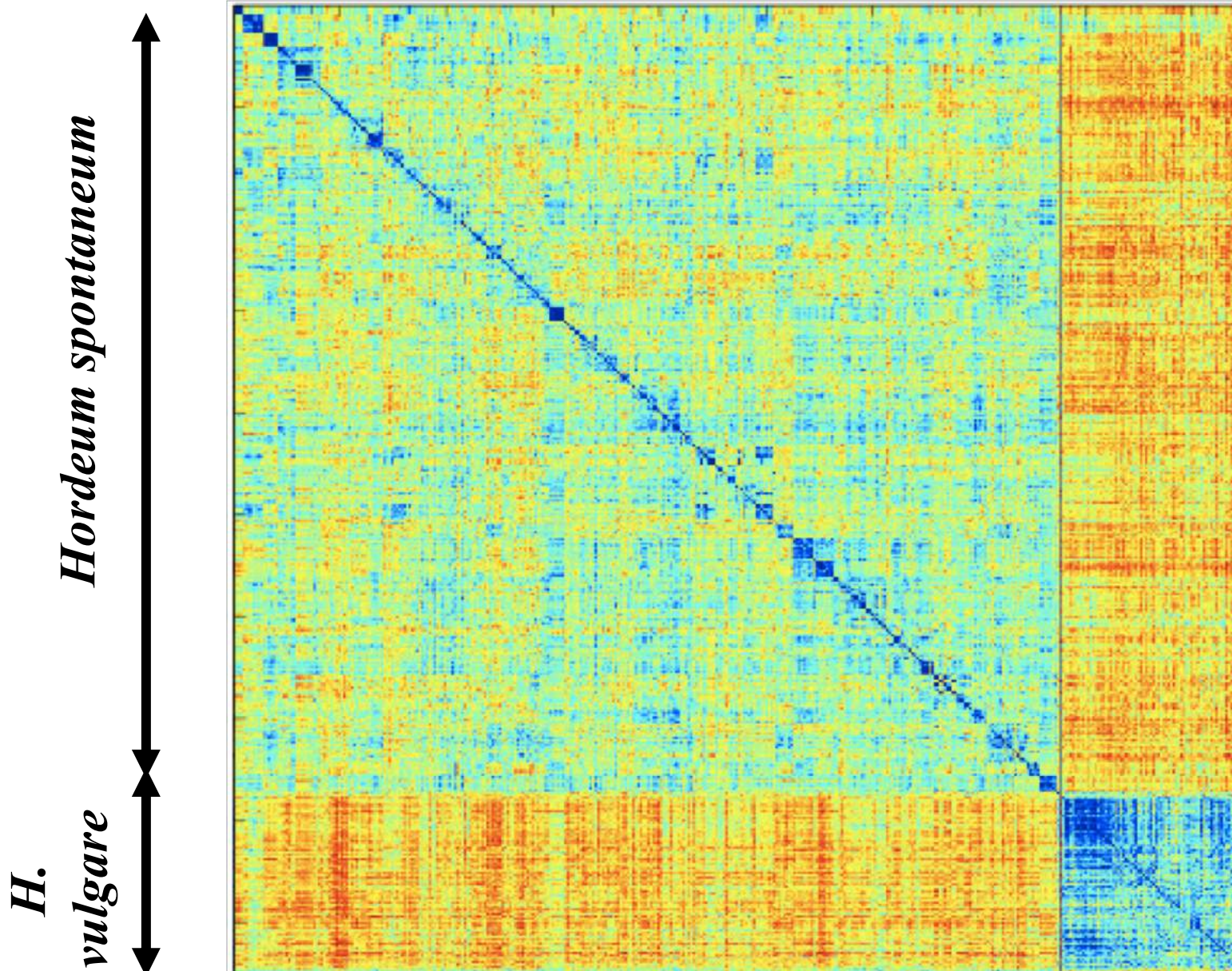
# Barley1K- Genetic make-up



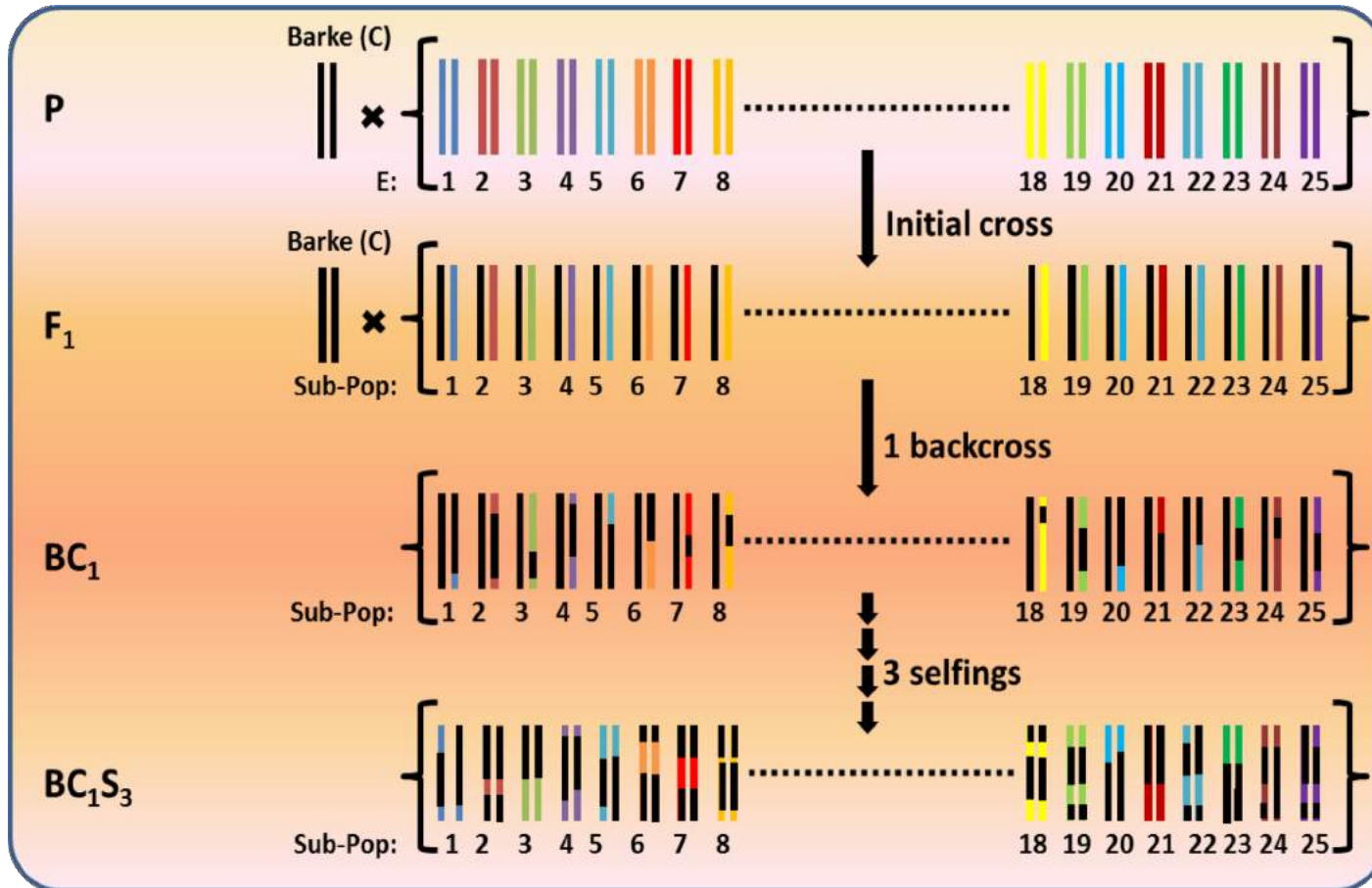
# Phenotypic landscapes



# Domestication Genetic Bottleneck



# The nested association mapping population HEB-25 – studying allelic variation among 25 wild barley accessions in parallel



Klaus Pillen- MLU

MLU/JHI- Nitrogen

Caust- Salinity

ARO- Drought

**HEB-25 (Halle exotic barley) = 25 families with 1,420 NAM lines in BC<sub>1</sub>S<sub>3</sub>**

**Expected segregation per locus: 72% : 6% : 22% (Hv:het:Hsp)**

# How much causal variation is out there, in wild?



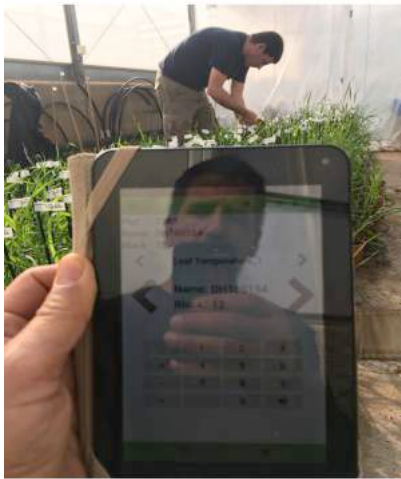
## High-Content Plant Phenotyping (HCPP)

- 12 pairs of plastic troughs
- 250 experimental units of 8-10 plants.
- Independent watering/drainage
- Treatment of drainage

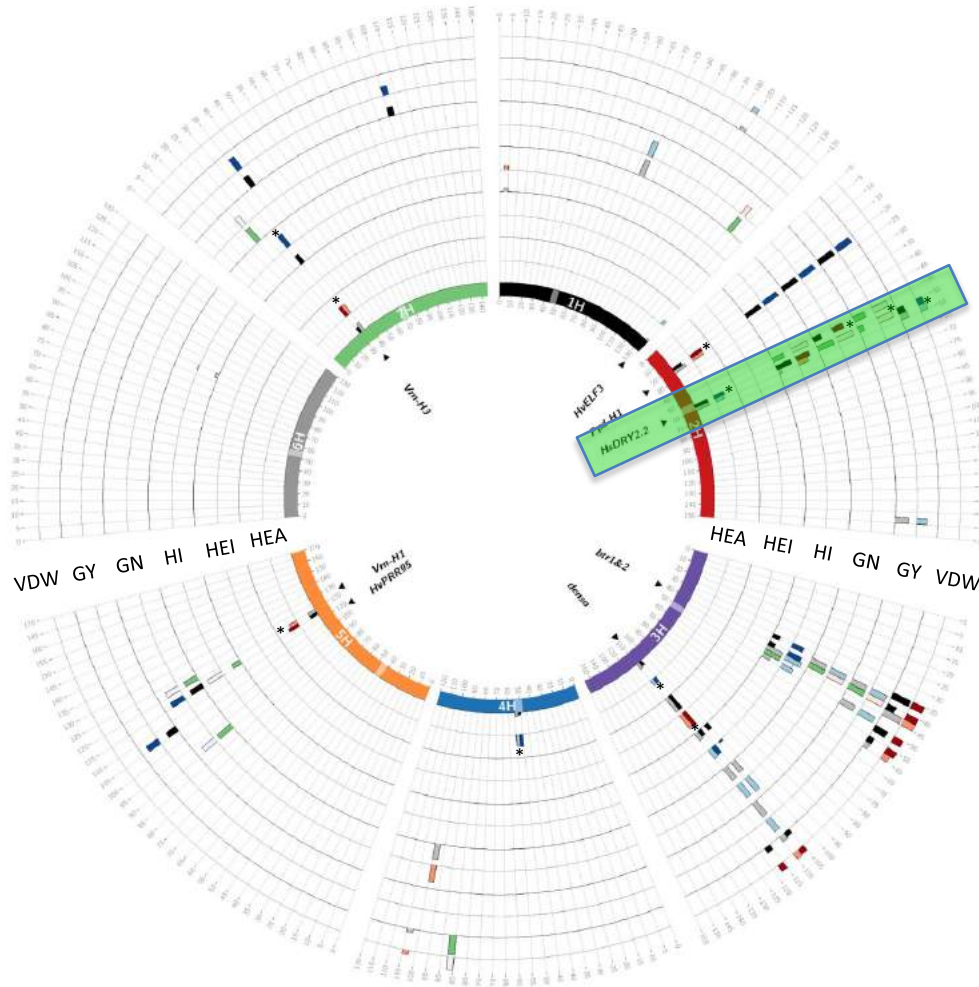




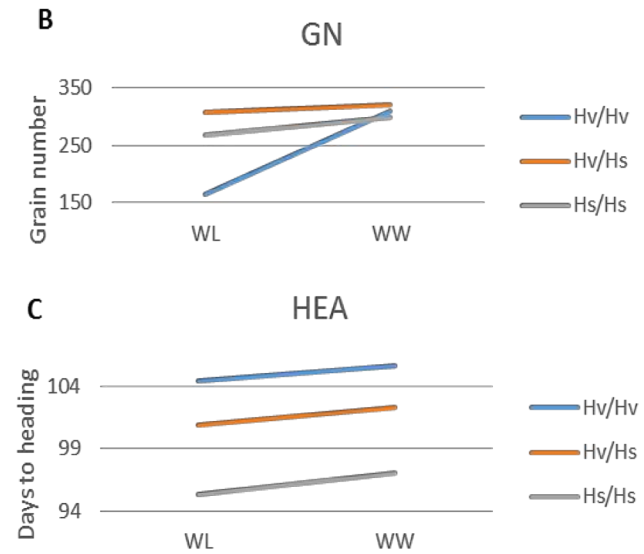
# Phenomics 1.0: Life history/Whole Plant Phenotype



# GWAF in HEB- QxE interactions on yield traits



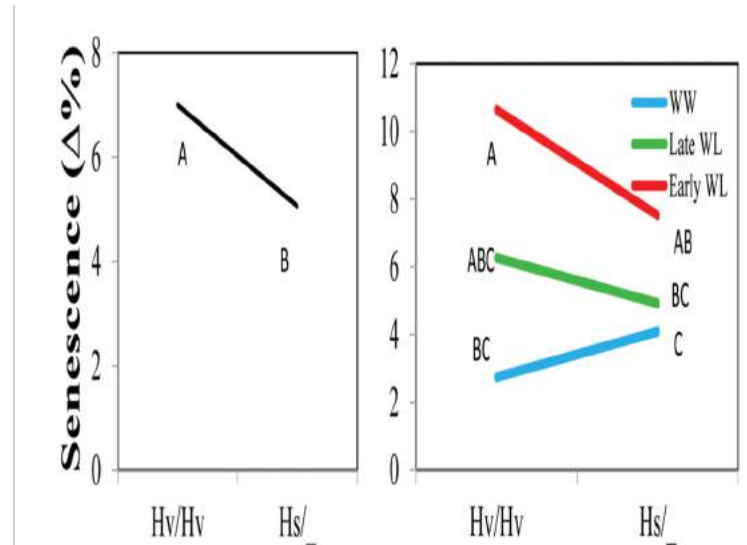
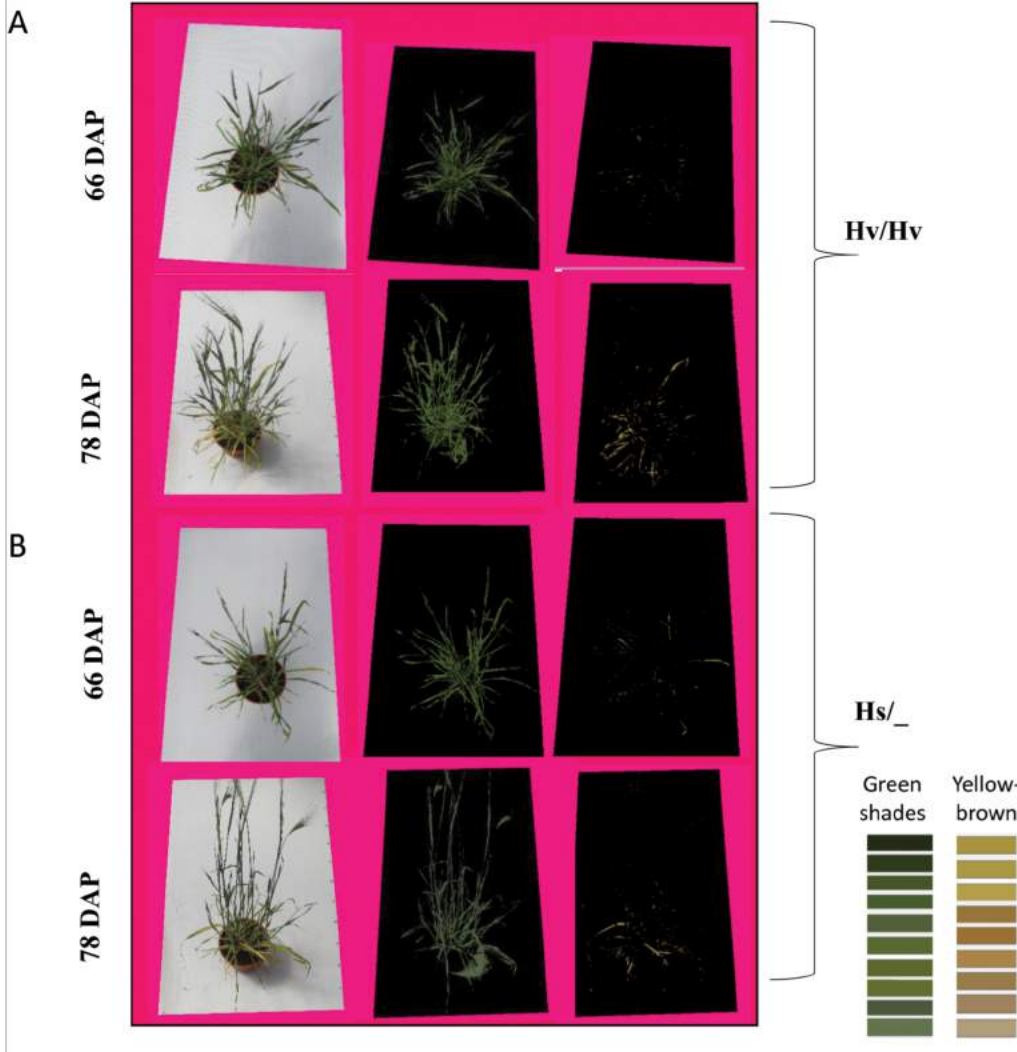
Green- QxE significant  
 Blue/Red- Q significant [WW or WL]



Genome scan identifies flowering-independent effects of barley *HsDry2.2* locus on yield traits under water deficit

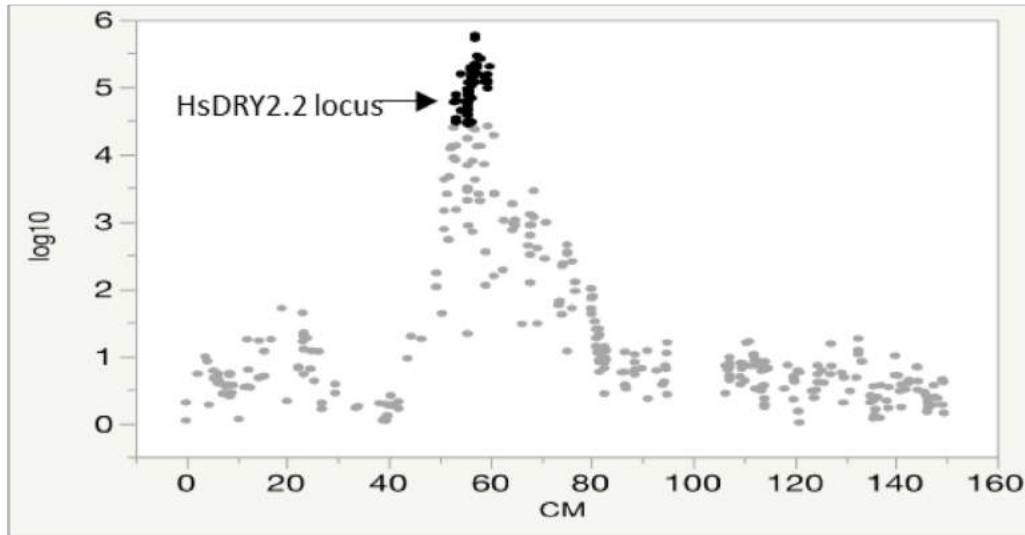
*Merchuk-Ovnat et al. J Exp Bot. 2018;69(7):1765-1779.*

# HsDry2.2: Pleiotropic (flowering independent) effects on GY [BC2S1]

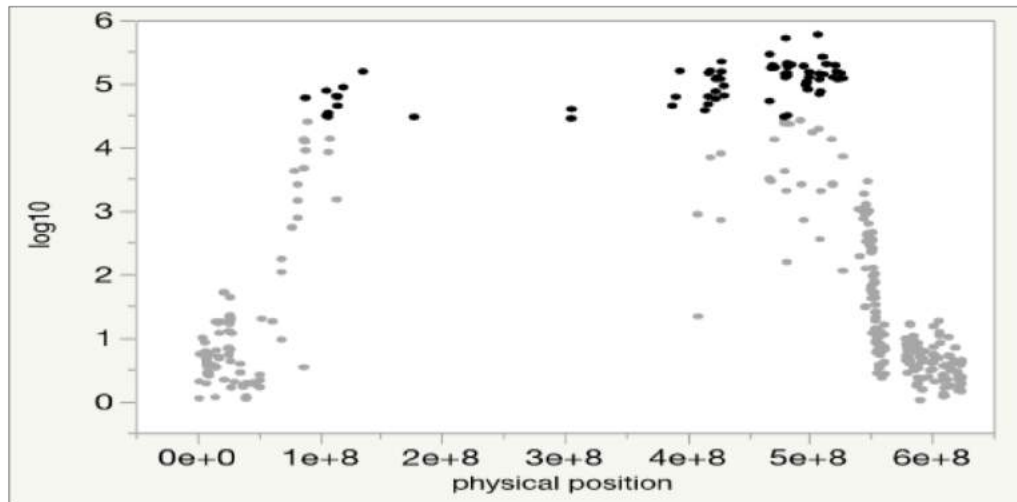


# Extended haplotype around HsDry2.2

D Genetic map



E Physical map



Letter

Natural variation in a homolog of *Antirrhinum CENTRORADIALIS* contributed to spring growth habit and environmental adaptation in cultivated barley

Jordi Comadran, Benjamin Kilian, Joanne Russell, Luke Ramsay, Nils Stein, Martin Ganai, Paul Shaw, Micha Bayer, William Thomas, David Marshall, Pete Hedley, Alessandro Tondelli, Nicola Pecchioni, Enrico Francia, Viktor Korzun, [Alexander Walther](#) & Robbie Waugh

*Nature Genetics* **44**, 1388–1392 (2012)

Received: 18 July 2012

Very low diversity in the spring pool at the HsDry2.2 / HvCen locus

A. Intense selection for HvCEN single SNP (malting vs. feed)

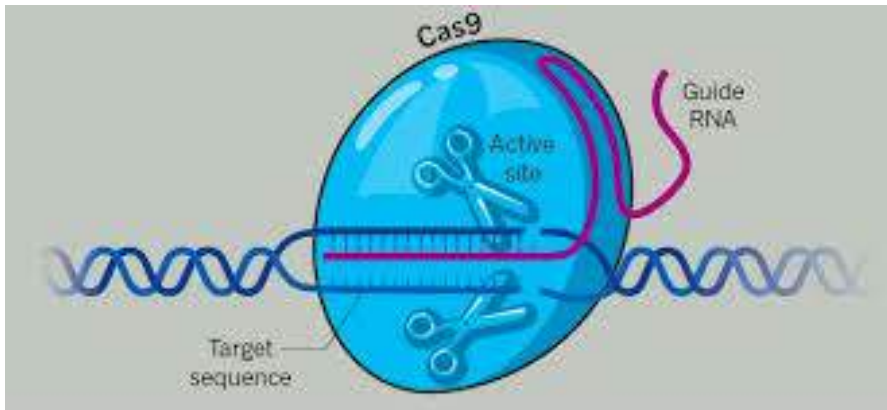
B. Restricted recombination

Mascher et al. Nature 2017

# CRISPR/CAS9: The Revolution of gene editing

The clustered regularly interspaced short palindromic repeats (CRISPR-CAS9) recognition system

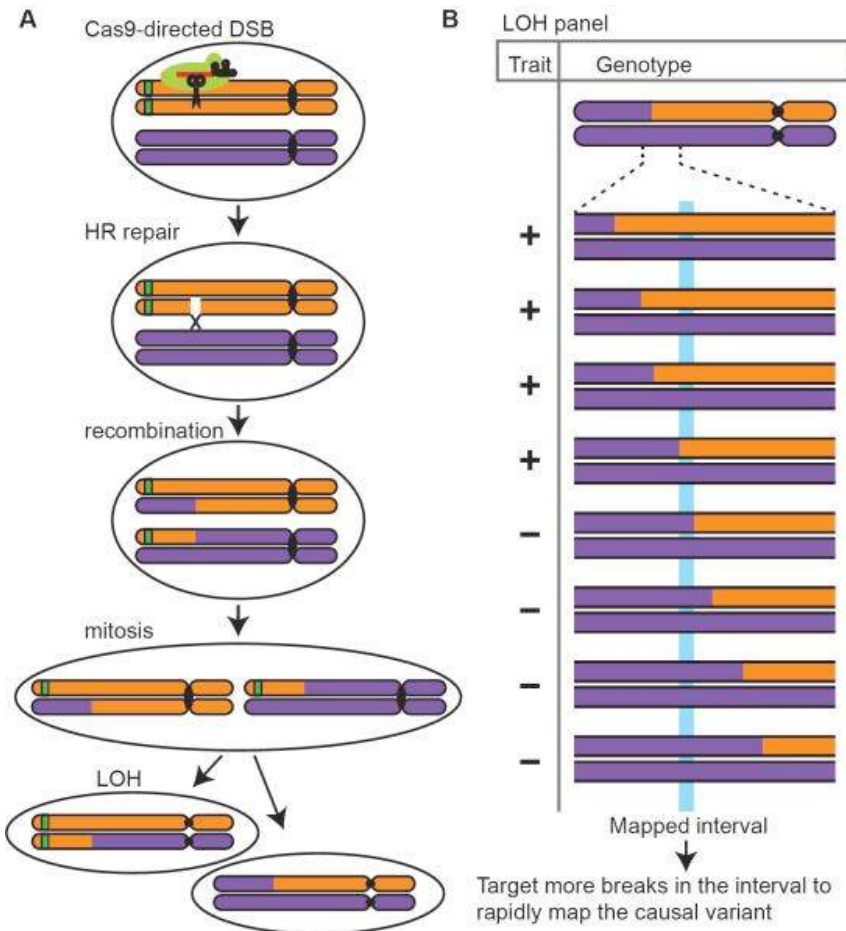
- "Traditional use" CRISPR-CAS9 - Gene/ gene family Nock-out or precise excision



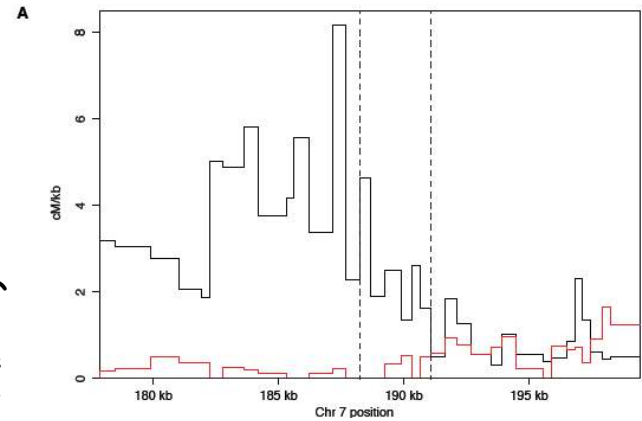
- Targeting sequence
- CAS9 recognition motif

# In Yeast: CRISPR-directed recombination enables genetic mapping without crossing

## LOH events obtained by CAS9



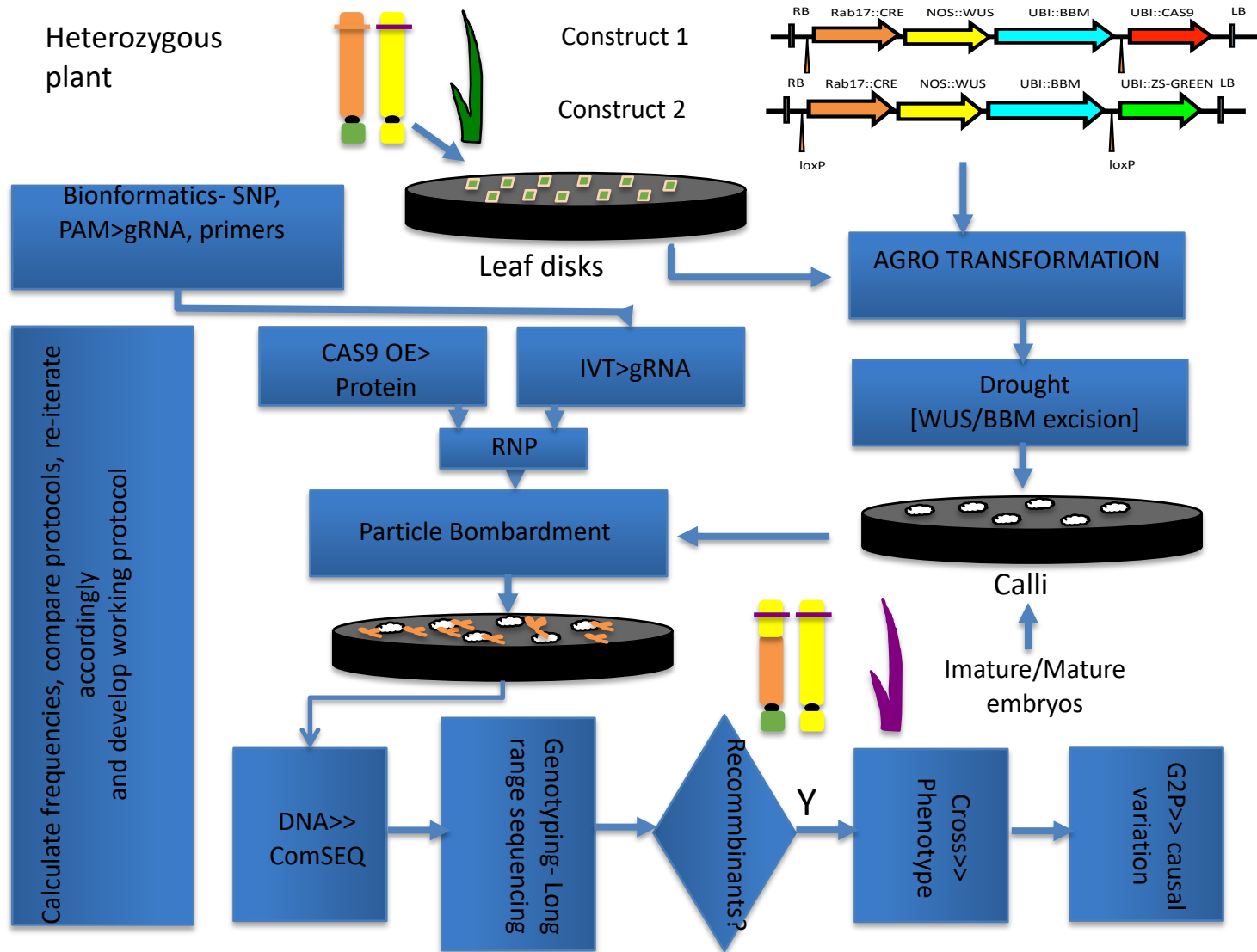
Recombination rate to physical distance  
(cM/kb)



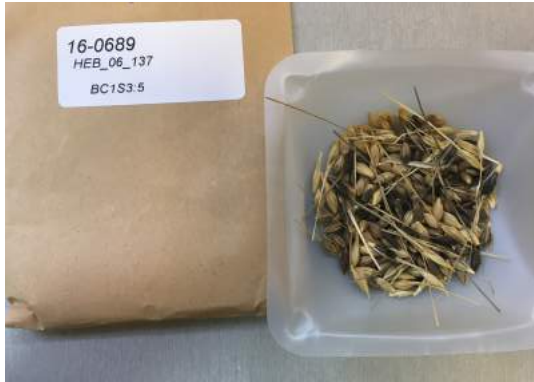
FACS

Sadhu et al., 2016, *Science*

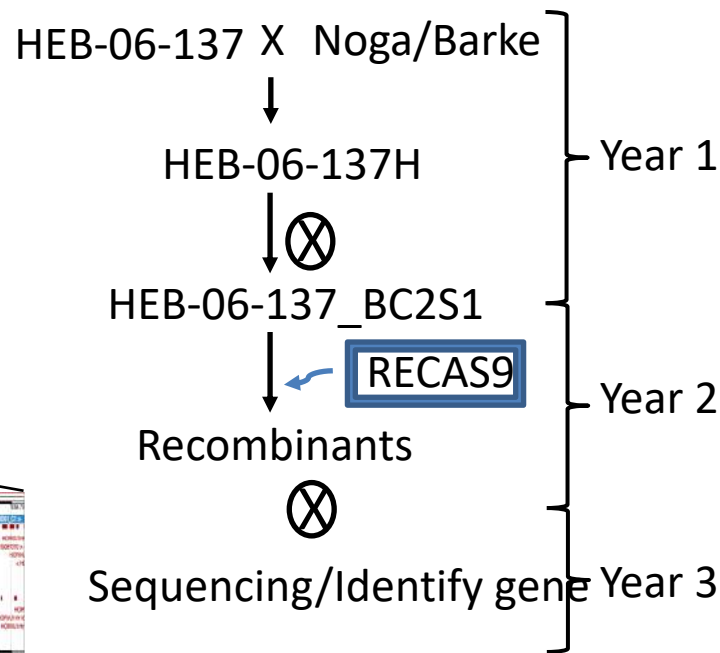
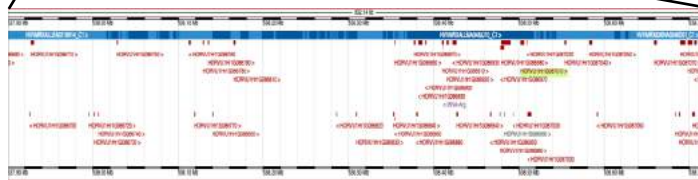
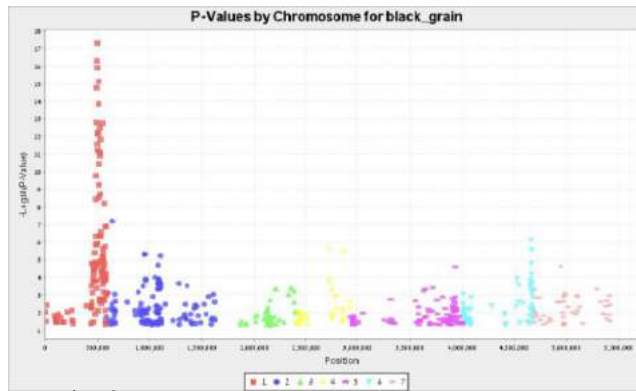
# RECAS9- Directed mitotic recombination



# RECAS9- Accelerated gene discovery. POC



Manas Prusty



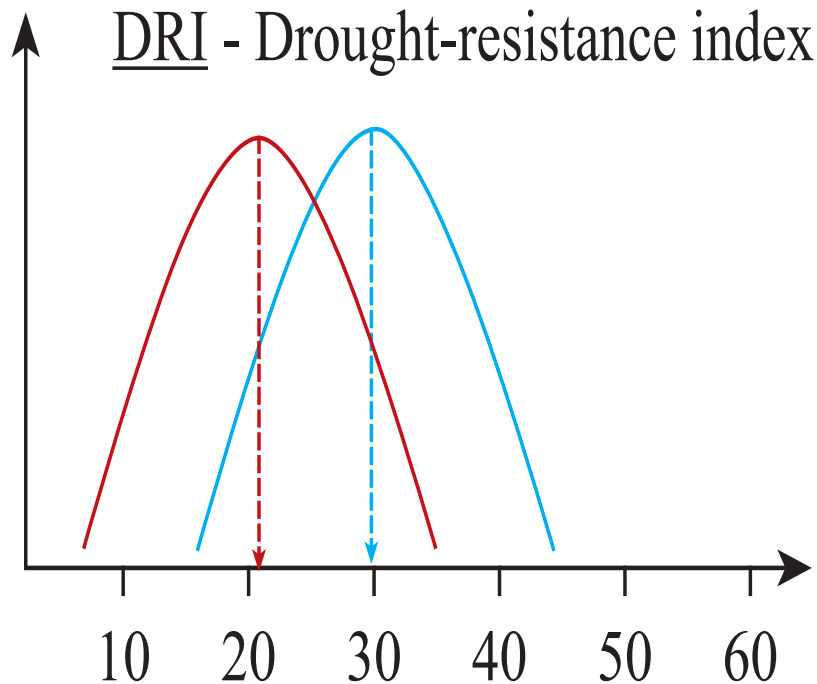
Shelly Lazar



## Lessons:

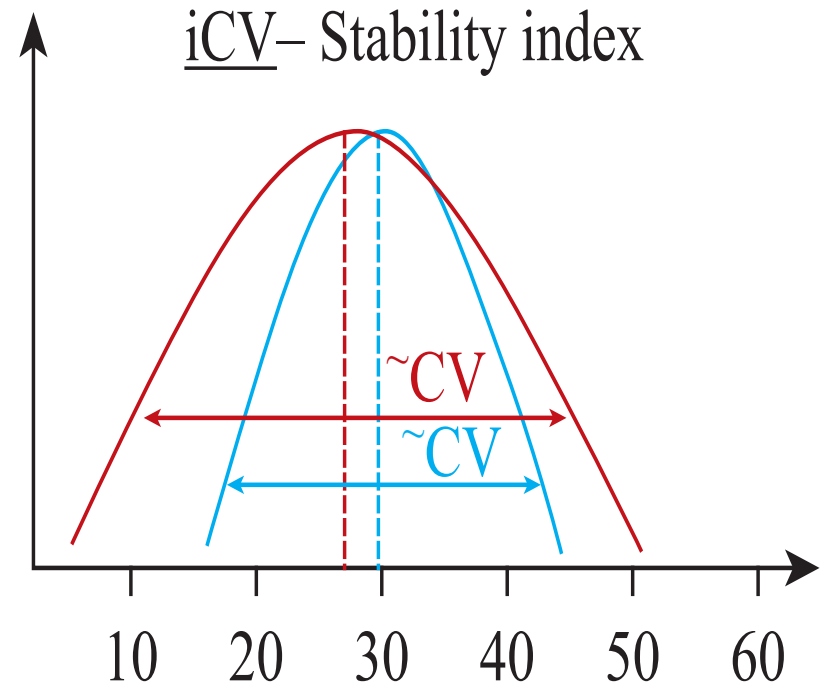
- **Rare GxE QTL** that increase yield under stress may do so in a **complex manner** (senescence, GW)—requires phenomics and integration to whole plant phenotype [“Green”+phenological]
- Biomass or green phenotype only are not sufficient to utilize variation underlying grain yield under stress (**Senescence & GFP critical>> grain weight**)
- **Locked haplotypes** hinder identification and utilization of adaptive QTL/genes
- There are not many hitherto unknown GxE loci in interspecific crosses- **where should we look for more variation?**

# Phenotypic robustness



$$\text{DRI} = \text{Mean}[s] / \text{Mean}[n]$$

*Fischer and Maurer (1978) Aust J Agron*



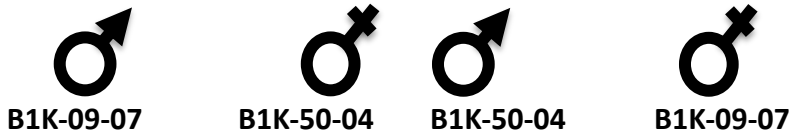
$$\text{iCV} = \text{CV}[s] / \text{CV}[n]$$

*Fridman (2015) Plant Science*

# B1K ASkelon-HERmon (ASHER) DH population



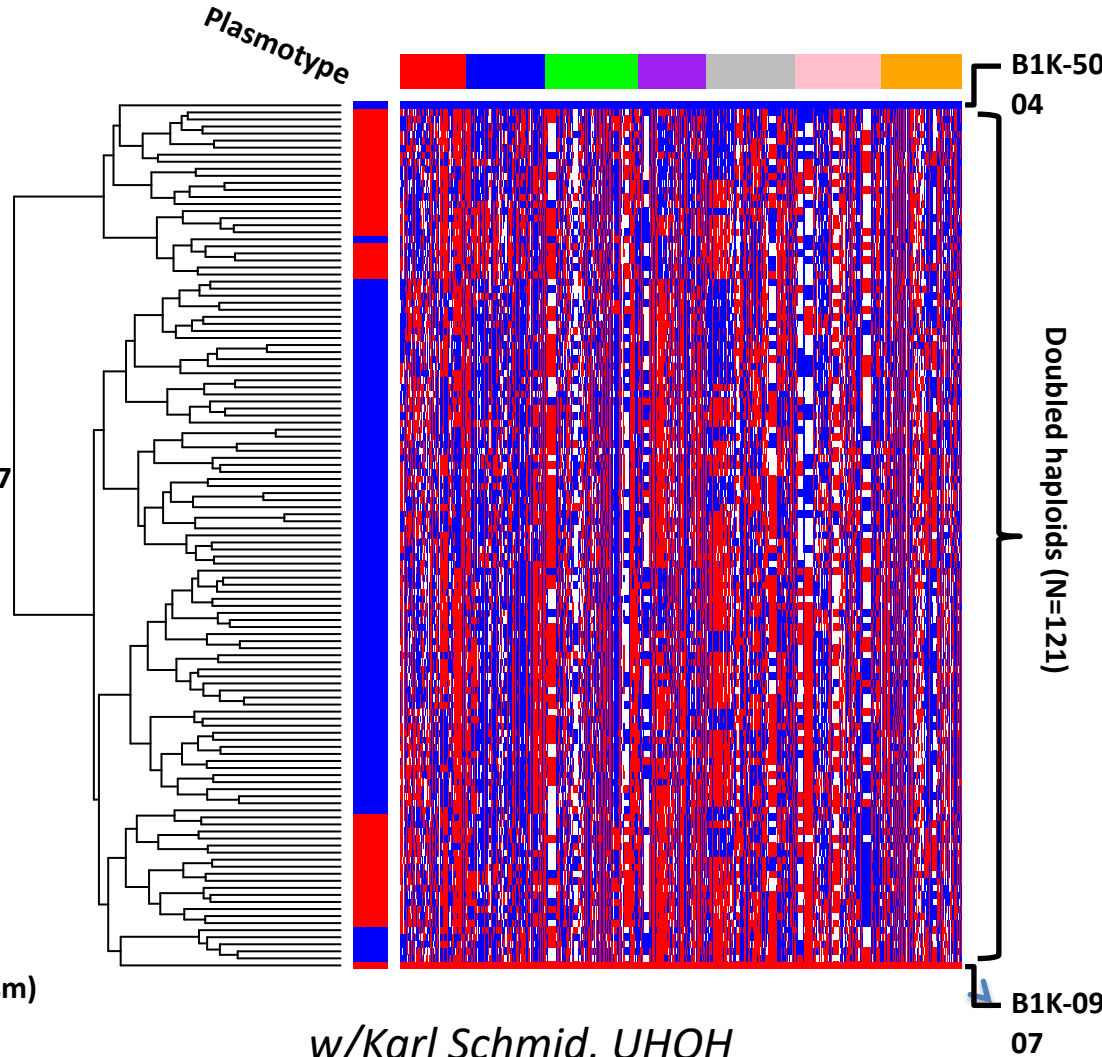
Eyal Bdolach



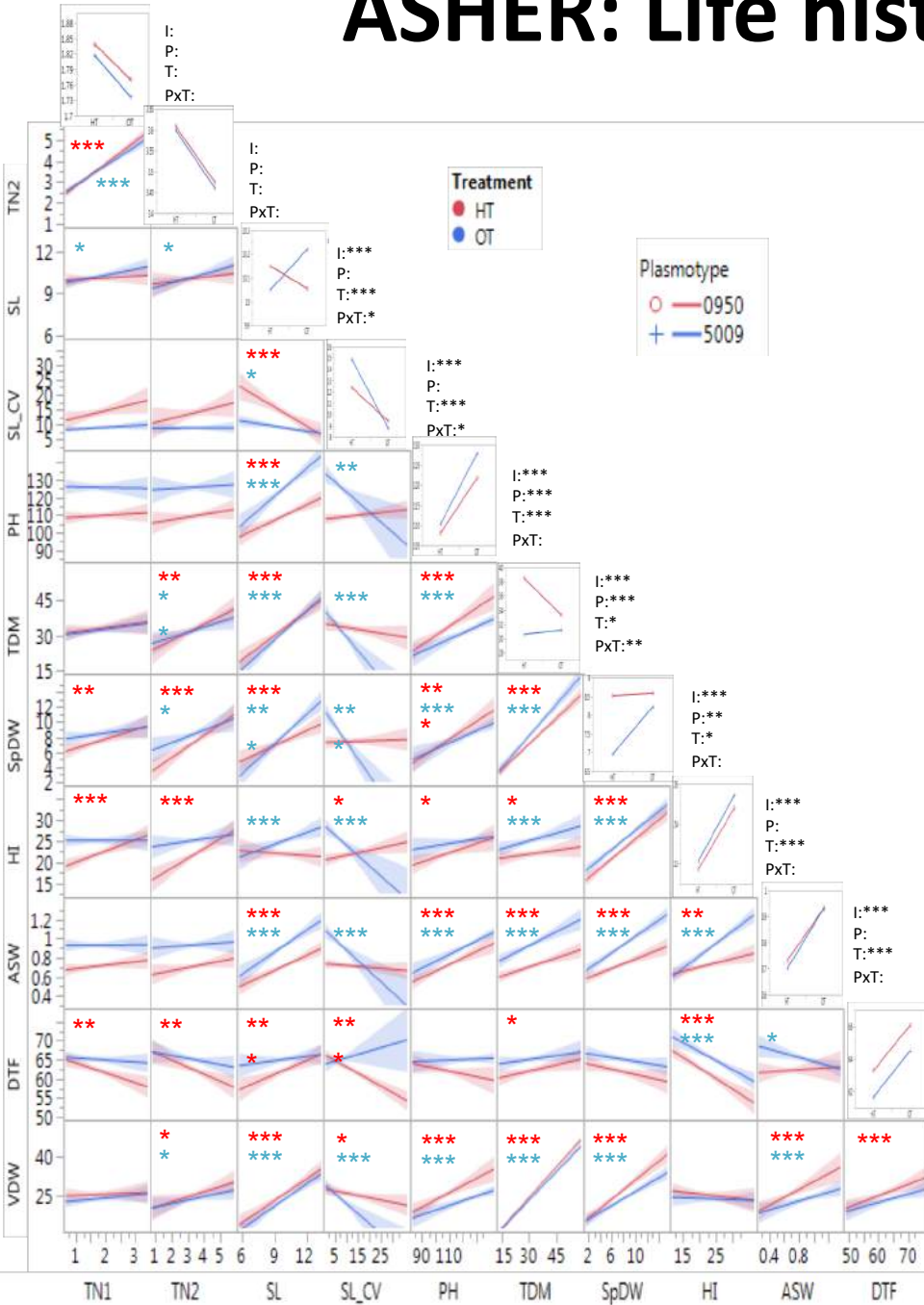
Anther culture >>  
**B** Doubled haploids



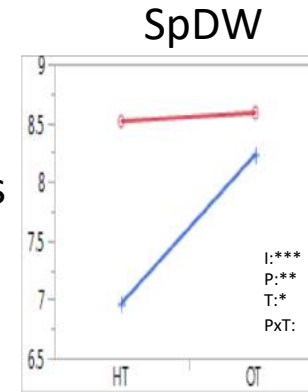
DHs (N=41; 09-07 cytoplasm)      DHs (N=82; 50-04 cytoplasm)



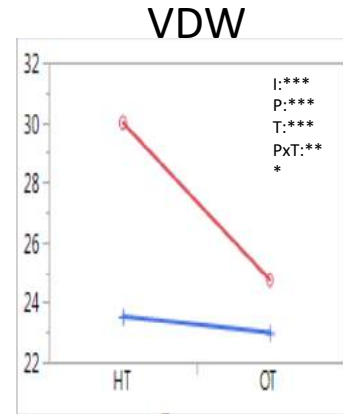
# ASHER: Life history traits



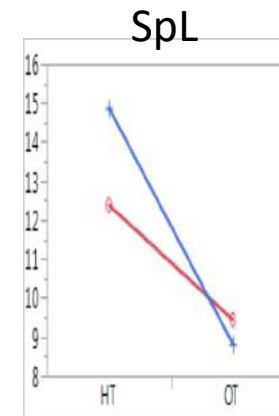
## Reproductive fitness



## Biomass

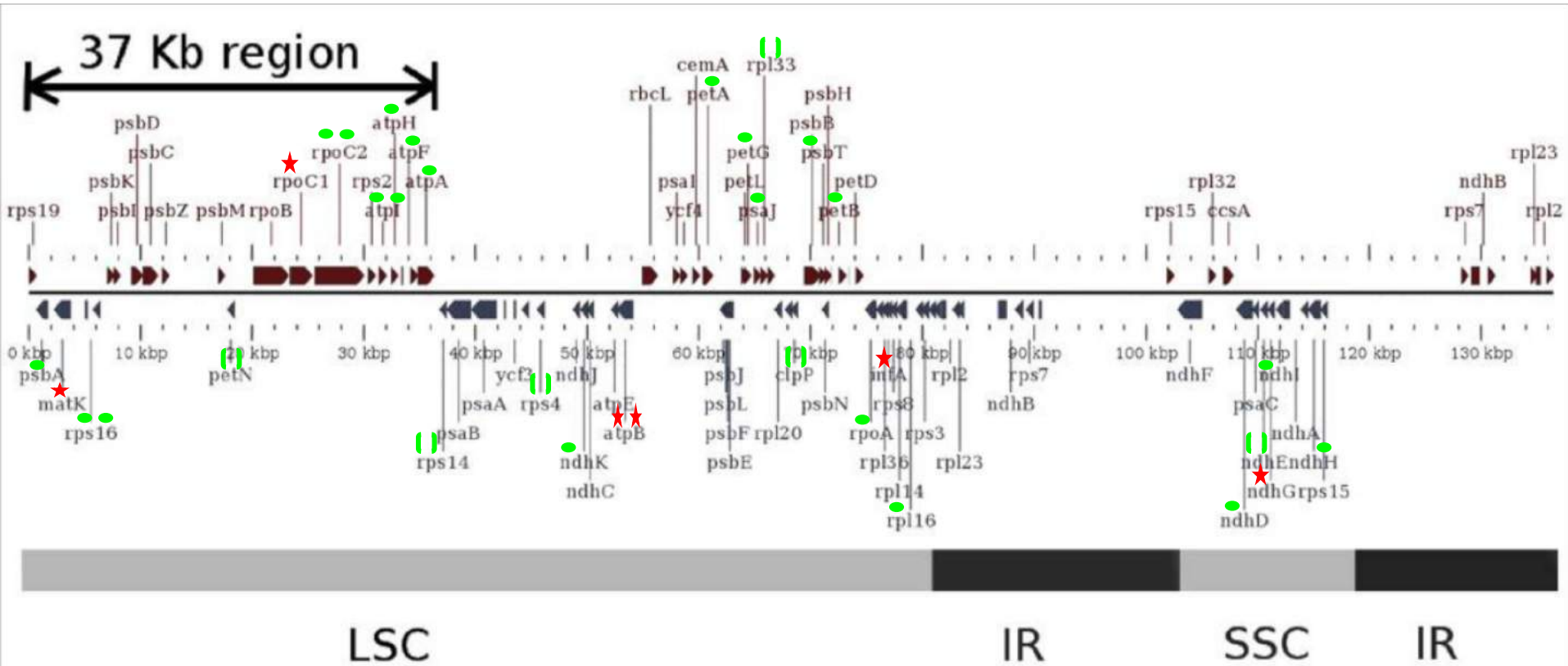


## CV [Stability per plant]



\*  $\leq 0.05$   
 \*\*  $\leq 0.01$   
 \*\*\*  $\leq 0.001$

# Barley (*H. vulgare*) chloroplast & variation



Middleton et al. (2014) PLoS One 9(3): e85761.

- ( ) Indel
- ★ Non-Synonymous
- Synonymous

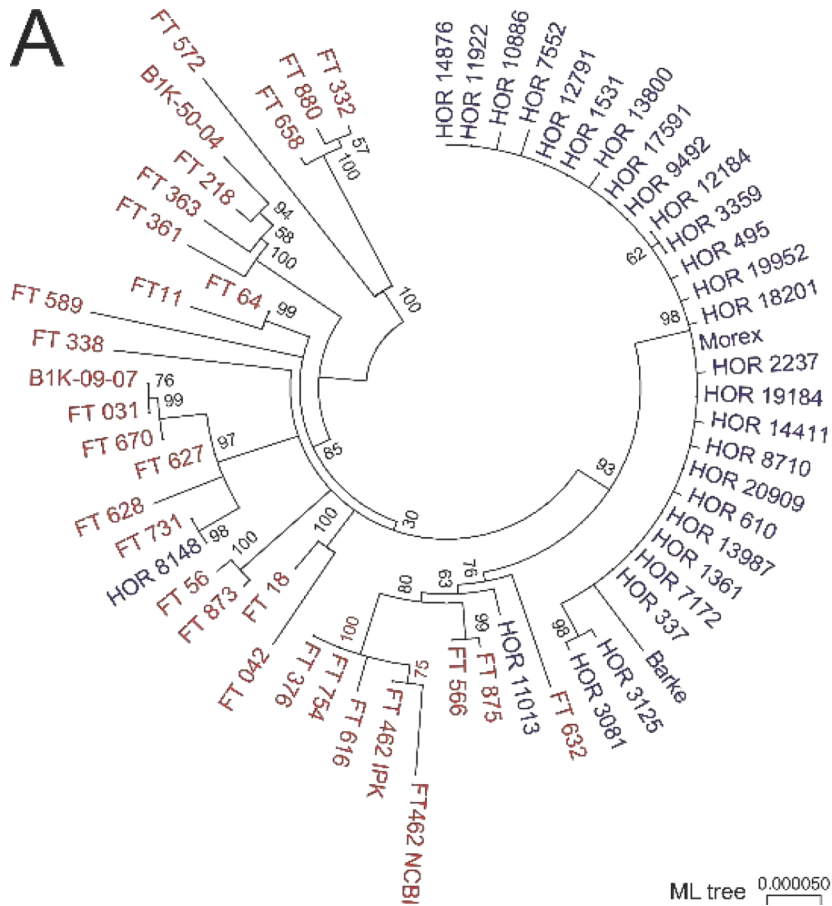
LSC, large single copy, ~80 kb

SSC, small single copy, ~8 kb

IR, inverted repeat, two sequences ~20 kb each

Stephan Greiner, Max Planck Golm

# Diallel cross



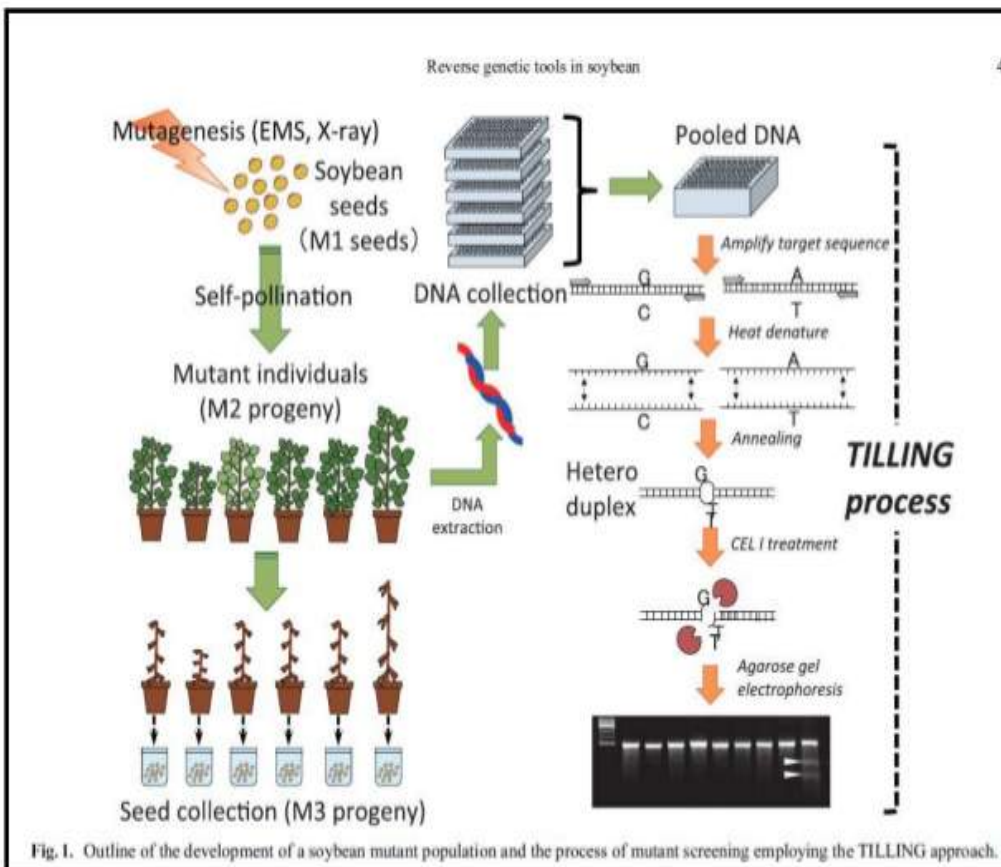
Fall 2018

		Female parent									
		B1K-02-02	B1K-03-09	B1K-04-04	B1K-05-07	B1K-09-07	B1K-29-13	B1K-33-09	B1K-42-16	B1K-50-04	Noga
Male parent	B1K-02-02		10	5		7				4	
	B1K-03-09	5		7	8	12	7	1	24		5
	B1K-04-04	4	16		8	15	8	14	10	5	14
	B1K-05-07		17	2				2			6
	B1K-09-07	3	16				9			42	7
	B1K-29-13	1	19	2		7		2	7	22	5
	B1K-33-09	4					1				1
	B1K-42-16		5	8	4	27	6			6	3
	B1K-50-04	14	30			60	15		4		29
	Noga	3	40	1	12	14	9	6	5	21	

w/Stephan Greiner, Golm

# שונות מושרית וכריית אללים

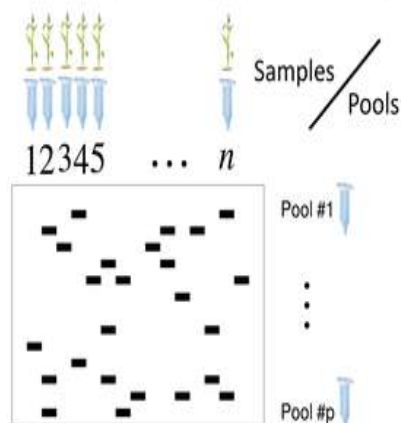
מטרה: יצירת בנק של מוטציות אקראיות ושיטה יעילה למציאת "מחט בשחת", קרי צמחים המכילים מוטציה בגן נבחר על מנת ללמוד פונקציה וקשר לפנוטיפ



Breeding Science 61: 462–467 (2012)

## Infrastructure: prepare ComSeq pools

Pool  $n$  samples into  $p$  pools according to a predefined design



## A specific ComSeq experiment performed over the pools

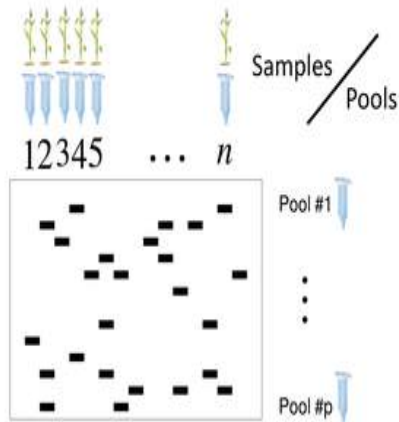
- Design primers to amplify the target region
- Perform library preparation for NGS
- Sequence
- Detect *de novo* SNPs and their carriers

Nida et al. (2016) The Plant Journal  
[Fridman and Shental Labs]

# HorENU

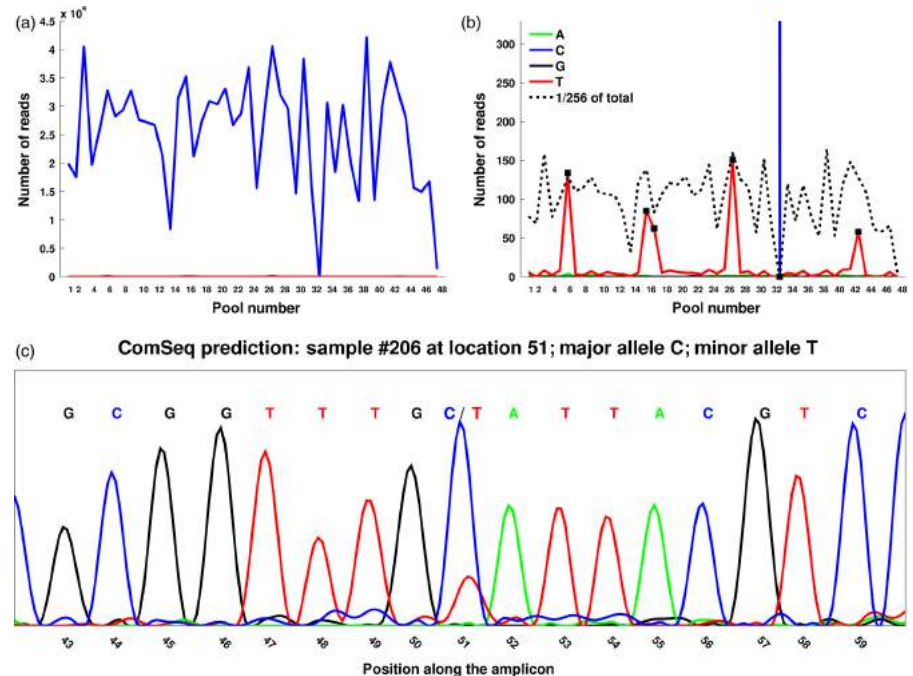
## Infrastructure: prepare ComSeq pools

Pool  $n$  samples into  $p$  pools according to a predefined design



## A specific ComSeq experiment performed over the pools

- Design primers to amplify the target region
- Perform library preparation for NGS
- Sequence
- Detect *de novo* SNPs and their carriers



Nida et al. (2016) The Plant Journal  
[Fridman and Shental Labs]



# Questions asked, few directions to answer these

- What is/are the evolutionary dynamics underlying plant adaptation? Changes in genomes make-up of CWR and modern crops

Correlation between genomics and environment [Hubner et al. 2009,2012, 2013; Bedada et al. 2014; Dakhiya et al. 2017]

- Are there common or different principles among CWR and modern crops that could explain adaptation to changing environments

Clock plasticity might, although needs more evidence [Millar et al. under domestication@tomato-benefit?]

- What drives adaptation? Plasticity vs robustness

Seems like plasticity, yet at certain stages (traits), has a benefit for fitness

- What are the gene alleles involved, and for which traits

The gene hunt has just began (at least for us) - genome editing probably will help

- How can we translate that to better adapted crops?

QTL off course, Cytolines from the wild as new source, Transplastomic plants?

Finding DeNovo mutations by allele mining>directly to breeding.

# YEVULIM outreach project



**הקשר בין השעון הצירקדי לבין התנאים הסביבתיים**  
 ליאור דור, מיה גינר ושרי אבוקרט  
 עבוד לאמריקה  
 Dakhya, Y., Hussien, D., Fridman, E., Kiflawi, M., & Green, R. M. (2017). Correlations between circadian rhythms and growth in challenging environments. *Plant physiology*, pp-00057.

**פלסטיות תרמית של השעון הצירקדי בשעורה בר היא תחת בקרה גרעינית וציטופלזמטית**

הילי אביה, נעמה לין ושרה חונברג  
 עבוד ותרגום המאמר:

Bdolach, E., Ranjan, M., Faigenboim-Doron, A., Filichkin, T., Helgerson, L., Schmid, K. J., ... & Fridman, E. (2018). Thermal plasticity of the circadian clock is under nuclear and cytoplasmic control in wild barley. *bioRxiv*, 330829.

**תקציר**

היכולת לשמור על מאפייני השעון הצירקדי (בעיקר זמן המחזור) לאור שינויי טמפרטורה, תכונה מרכזית במערכות שעון צירקדי. במחקר זה הווקרום חקרו את השפעת טמפרטורה גבוהה על השעון הצירקדי בשעורה. במחקר נבדקה אובולטיה הפלאידית כפולה שנוצרה מהכלאת קווי שעורת בר (מאשקלון ומהחרמון). הפנוטיפ (מדדי השעון הצירקדי) של הצמחים באובולטיה נקבע באמצעות מערכת בעלת תפוקה גבוהה תחת טמפרטורה אופטימלית וגבוהה. תוצאות המחקר מעידות על השפעה משמעותית של הגנום האימהי על השעון הצירקדי ומשמעותה (משתרעת). זהו הדיווח הראשון של פלסטיות של השעון הצירקדי המשפעת מהגנום האימהי היטופלזמטי. ממצאים אלו סוללים את הדרך ליהיה תורמים גרעיניים וציטופלזמטיים המעורבים בעמידות השעון והסתגלות הצמח לסביבות משתנות.

השעון הצירקדי, הינו מאפיין של כל היצורים החיים, ומשמש כמנגנון שיועיל לזיהוי ולתגובה לשינויים סביבתיים. השעון הצירקדי משמש כמנגנון שיועיל לזיהוי ולתגובה לשינויים סביבתיים. השעון הצירקדי משמש כמנגנון שיועיל לזיהוי ולתגובה לשינויים סביבתיים. השעון הצירקדי משמש כמנגנון שיועיל לזיהוי ולתגובה לשינויים סביבתיים.

השעון הצירקדי, הינו מאפיין של כל היצורים החיים, ומשמש כמנגנון שיועיל לזיהוי ולתגובה לשינויים סביבתיים. השעון הצירקדי משמש כמנגנון שיועיל לזיהוי ולתגובה לשינויים סביבתיים. השעון הצירקדי משמש כמנגנון שיועיל לזיהוי ולתגובה לשינויים סביבתיים.

אבולוציה של הצמח בעיקרה תלויה בתנאים סביבתיים. אבולוציה של הצמח בעיקרה תלויה בתנאים סביבתיים. אבולוציה של הצמח בעיקרה תלויה בתנאים סביבתיים. אבולוציה של הצמח בעיקרה תלויה בתנאים סביבתיים.

אבולוציה של הצמח בעיקרה תלויה בתנאים סביבתיים. אבולוציה של הצמח בעיקרה תלויה בתנאים סביבתיים. אבולוציה של הצמח בעיקרה תלויה בתנאים סביבתיים. אבולוציה של הצמח בעיקרה תלויה בתנאים סביבתיים.



- מהי אבולוציה בכלל וזו של גידולים חקלאיים בפרט?
- כיצד ניתן להשיב שונות (גנטית) אבודה מהבר?
- פרויקט המחקר [ביוחקר]- שאלות, תכנון, ניתוח, סיכום
- והצגת הפרויקט [חלק מבגרות]
- פעילות מעבדה ושטח

# Acknowledgements

## ARO, Bet-Dagan

Eyal Bdolach  
Roi Silberman  
Lianne Merchuk-Ovnat  
Shelly Lazar  
Khaled Bishara  
Manas Prusty  
Adi Feigenbaum-Doron  
Sariel Hubner

## HUJI, Jerusalem

Yuri Dakhiya  
Rachel Green

## Shibolim, Nes-Ziona

Galia Zer-Kavod

## Open U, Israel

Noam Shental

## SensyTIV, Israel

Roi Levav  
Oded Anner  
Elad Lifshin

## MLU, Germany

Klaus Pillen  
Andreas Maurer  
Vera Draba

## UD, UK

Andrew Flavell  
Rajib Sharma

## MP, Golm Germany

Stephan Greiner

## UHOH, Germany

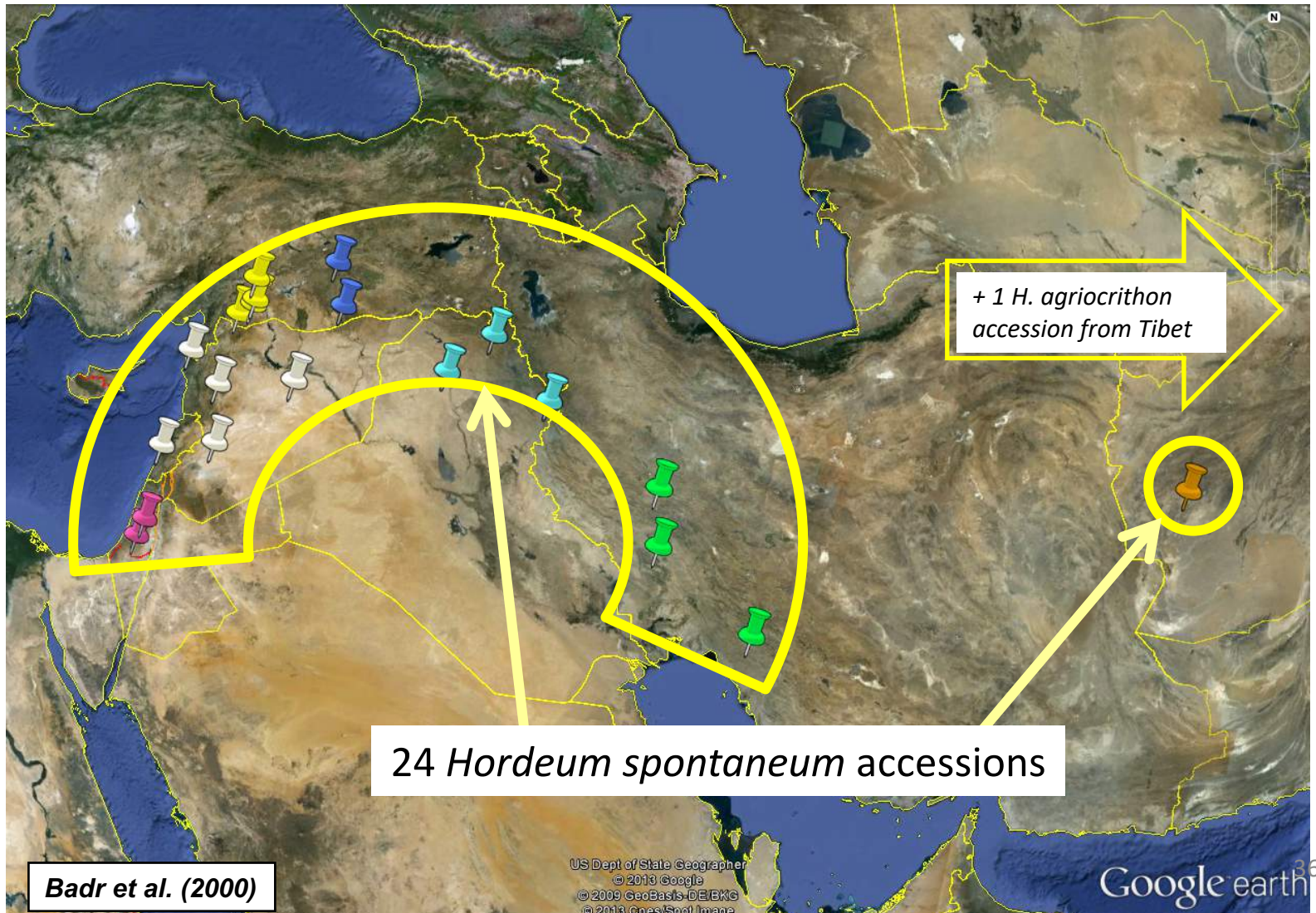
Karl Schmid

## OSU, US

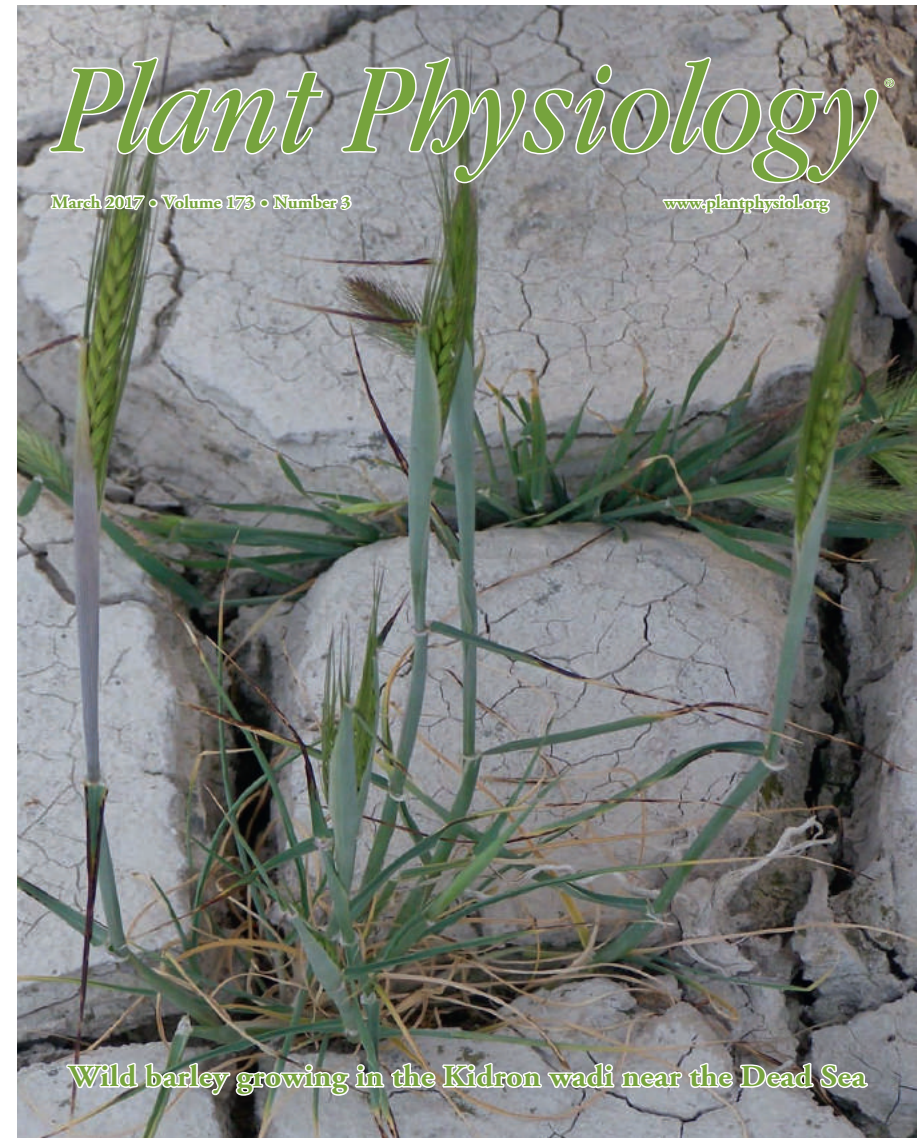
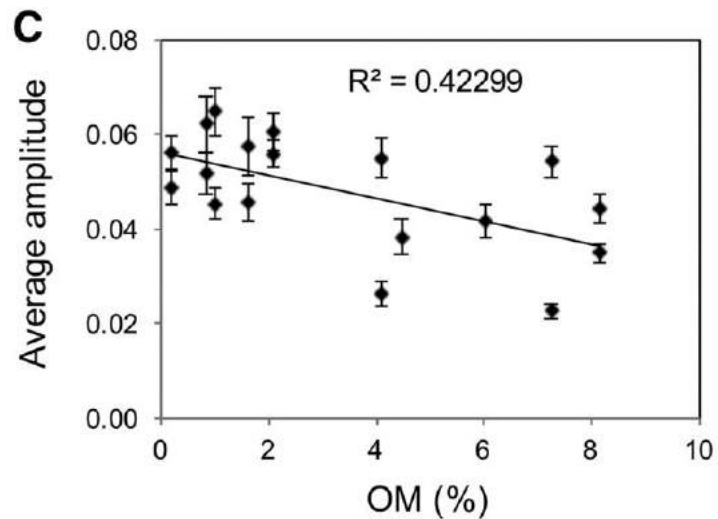
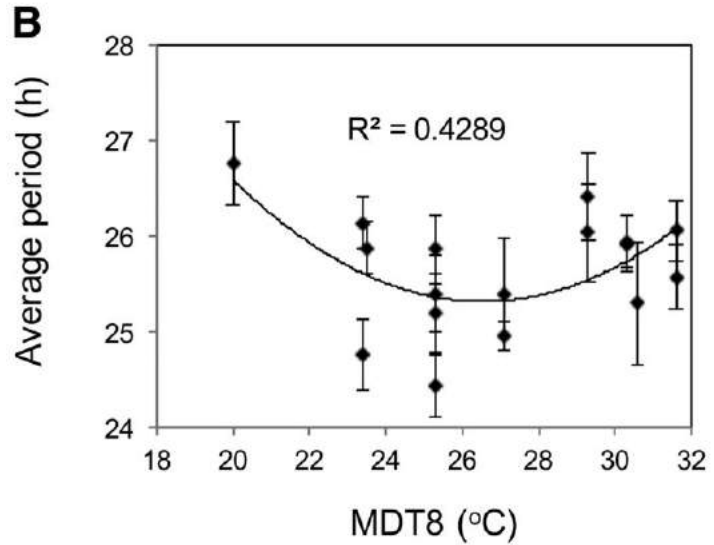
Pat Hayes  
Laura Helgerson



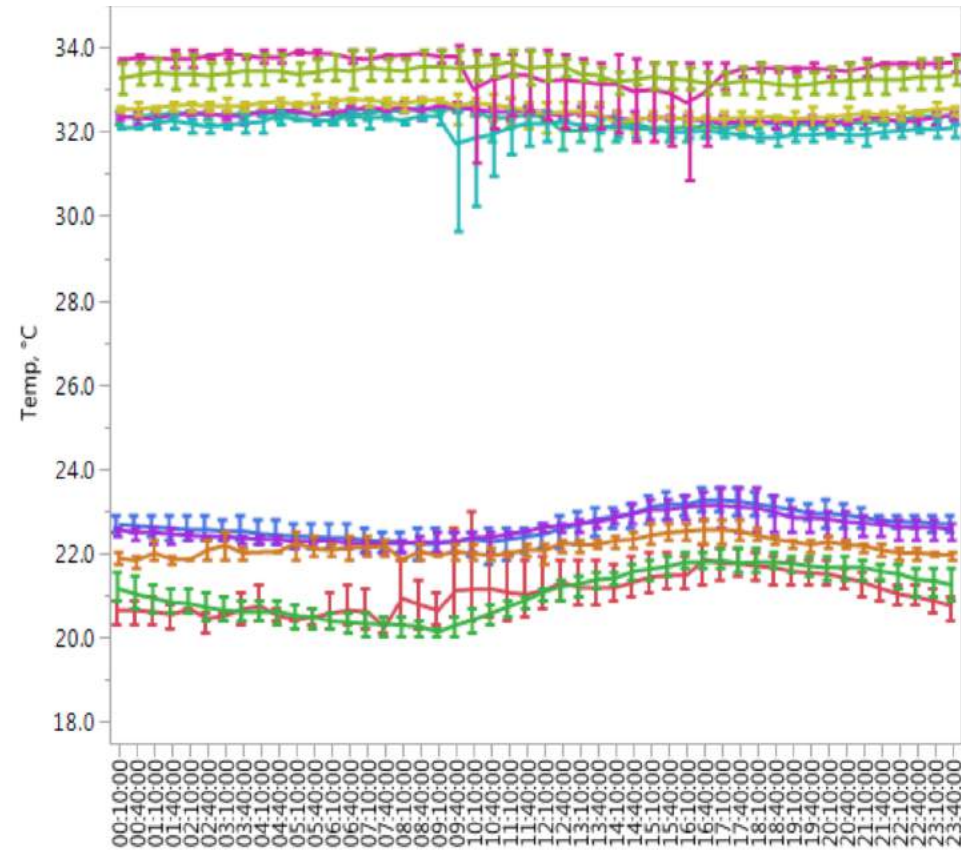
# Origin of the 25 exotic HEB donors



# Circadian rhythm correlates with environment



# Delta Temp in SensyPAM



# Divergence under domestication- Pair-wise correlations

*H. vulgare*

