

דו"ח לתכנית מחקר מספר 261-1238-17

שנת המחקר: 3 מתוך 3 שנים

השבה שימור ואפיון של מגוון גנטי "אבוד": זני חיטה עתיקים משדות הפלחה המסורתיים בארץ ישראל
להשבחת זני חיטה מודרניים **Spelt Wheat, a new crop in Israel: breeding, quality and**

nutritional value

דו"ח שנתי לשנת 2019 (שנה ג) מוגש לקרן ענף פלחה חורף של ארגון עובדי הפלחה

ע"י השותפים למחקר ושטחי פעולתם:

רואי בן דוד, חוקר ראשי, טיפוח תבואות חורף, מנהל המחקר החקלאי.

אבי לוי, חוקר שותף, גנטיקה של דגניים, מכון וייצמן.

חנן סלע, חוקר שותף, מחקר דגניים.

דוד בונפיל, חוקר שותף, אגרונומיה ואיכות חיטה, מנהל המחקר החקלאי.

ביזי גולדברג, מיזם "ארץ חיטה".

עינב מייזליש גתי, מנהלת בנק הגנים הישראלי, מנהל המחקר החקלאי.

כאמל נאשף, טכנאי, תבואות חורף, מנהל המחקר החקלאי

תקציר מדעי של הצעת המחקר:

במחקר זה נאספו זני חיטה מסורתיים שמקורם מישראל, שהופקדו בעבר באוספים עולמיים, והושבו לשימור בארץ. המחקר כולל אפיון אוסף של זני חיטה מסורתיים מבחינה אגרונומית, גנטית וגנומית. מטרת המחקר: (א) השבה לארץ של זנים מסורתיים שגודלו בארץ ובניית אוסף רחב ומגוון. (ב) אפיון פנוטיפי ומורפולוגי של הזנים. (ג) אפיון גנומי מולקולרי של האוסף באמצעות טכנולוגיית Genotype by sequencing (GBS). (ד) בחינה אגרונומית של אוסף גרעיני מייצג בתנאי שדה כולל רכיבי יבול ומדדי איכות. (ה) איתור קווים בעלי פוטנציאל טיפוחי להכלאות עם זני עלית. (ו) קביעת אסטרטגיה לשימור המגוון הגנטי של לדורות הבאים. נאסף ונבנה אוסף של 912 קווי The Israeli Palestinian wheat landraces collection (IPLR) (כפול ממה שהתחייבנו לו בהצעת המחקר) והוא זמין כעת בבנק הגנים הישראלי לכלל קהילת חוקרי ומומחי החיטה בארץ ובעולם.

ממצאי אפיון פנוטיפי של כלל אוסף ה-IPLR (לאורך שתי עונות) ואפיון גנומי מולקולרי של כלל האוסף בפלטפורמת DARTSEQ אל מול קבוצת הביקורת (זנים ישראלי מודרניים) תומכים בהנחת המחקר שקווים מסורתיים מאזור ישראל וסביבותיה הינם מקור גנטי מגוון שאוצר שונות ייחודית. האוסף חולק לשני תתי אוספים לפי רמת הפלואידיות- טטראפלואיד (75% מהקווים באוסף) והקסאפלואיד (חיטת לחם). חלקו היחסי של כל תת-אוסף מייצג את תמונת המזרע ההיסטורית המתועדת בדיווחים ובעדויות מלפני 100 שנה. לכל תת אוסף בנפרד ביצענו סלקציה גנומית (משולבת עם נתוני ארכיב ופרופיל פנוטיפי) לאיתור אוספי ליבה: 96

ו-40 קווים בהתאמה. אוספי הליבה יאפשרו לבצע תיעודף של חומר גנטי לצורכי מחקר, טיפוח עתידי ושימור טווח ארוך בבנק הגנים.

פאנל של קווים נבחן בשדה בניסויי שדה מלאים בסביבה חצי-יובשנית (שתי עונות- כולל טיפולי השקיה) ובסביבה ים תיכונית (עונה אחת). אותרו חמישה קווים מצטיינים שנבחרו לבחינה בשדות חקלאים ולאנליזה עתידית של איכות גרגירים, אפיה ופרופיל מטאבולי. לסיכום, החומר הגנטי שנאסף לצרכי המחקר הנוכחי הנו ייחודי וכמעט שאבד עקב שינויים ותהליכים שקרו בארץ בטווח זמן של 100-150 שנה האחרונות. מכאן שהשונות הגנטית של הזנים המסורתיים בתכונות בעלות חשיבות אגרונומית הנה "אוצר בלום" של אללים שבזכות מחקר זה יש כעת הזדמנות בלתי חוזרת ללמוד אותו לעומק, לממש ולשמרו. מחקר המשך שאנו מקדמים בימים אלו נותן דגש בעיקר לתת-אוסף קווי הלחם במטרה להתמקד בהמשך המיפוי הגנטי של תכונות מפתח כולל בחינת הפוטנציאל הטיפוחי בארץ.

מבוא

1. **סטטוס המחקר:** חיטה היא מהגידולים החקלאיים החשובים בעולם עם ייצור שנתי של 736 מיליון טון (2015), המהווה רכיב בסיסי בסל התזונה העולמי (25% מהצריכה הקלורית העולמית). בישראל גידול החיטה משתרע על מיליון דונם (ברובם בפלחה) עם ייצור שמגיע עד כ- 200,000 טון גרעינים, ממוצע של 250-620 ק"ג לדונם. מגדלי החיטה תלויים בכמות המשקעים ואופן פיזורם במהלך עונת הגידול ולכן שולי הרווח קטנים. משחר החקלאות במזרח הקרוב ועד ימינו, החיטה (*Triticum sp.*) היא גידול מרכזי ונפוץ הן מבחינת שטחי מזרע והן כמקור מזון. פיתוח זנים עמידים לתנאי סביבה משתנים, הן ביוטים (מחלות, מזיקים) והן א-ביוטים (טמפרטורות גבוהות או נמוכות, מחסור במים ומליחות) הוא צורך חיוני לאבטחת אספקת המזון לאוכלוסיית העולם הגדלה במהירות. דע עקא, תהליכי תירבות מוקדמים וסלקציה מכוונת במערכות חקלאיות הביאו לצמצום ניכר בשונות הגנטית בחיטה המודרנית והגדילו את רגישותם לעקות סביבתיות שונות. עם זאת יש לזכור כי הזנים המסורתיים לרוב נחותים ביבולים בהשוואה לזנים המודרניים המותאמים לחקלאות אינטנסיבית. בנוסף, בחלק מהמקרים הזנים העתיקים מאופיינים באיכות גלוטן נמוכה למרות תכולת חלבון גבוהה או זהה (Longin et al. 2016).

2. **מטרת המחקר וחשיבותו:** במחקר זה אנו מציעים לאסוף זני חיטה מסורתיים שמקורם מישראל, שהופקדו בעבר באוספים עולמיים או פרטיים, ולהשיבם לשימור בישראל. הפרויקט המוצע יתבצע תוך שיתוף פעולה בין חוקרים מישראל ובמעורבות פעילה של בנק הגנים הישראלי תוך ניסיון לשמר ולאפיין ולו חלק מהמגוון הגנטי שאבד. יעדו הכללי של פרויקט זה הוא השבה ואפיון אוסף של זני חיטה מסורתיים שמקורם מישראל מבחינה אגרונומית, גנטית וגנומית. לאחר אפיון המגוון הגנטי האצור באוסף, מטרת המחקר תהייה לאתר זנים מסורתיים עם פוטנציאל אדפטיבי-טיפוחי שיוכלאו עם זני עלית ישראלים ליצירת חומר קדם-טיפוח לתנאי הגידול בישראל. להשגת יעדי הפרויקט נקבעו המטרות הבאות:

(א) השבה לארץ של זנים מסורתיים שגודלו בארץ ובניית אוסף רחב ומגוון. המטרה היא לרכז ולקבץ מספר אוספים (כולל אוספים פרטיים ואוספים ש"הוגלו" לחו"ל) לאוסף אחד שיגודל, ירובה וישמר בבנק הגנים בישראל. (ב) אפיון פנוטיפי, פנולוגי ומורפולוגי של הזנים. (ג) אפיון גנומי מולקולרי של האוסף באמצעות טכנולוגיית GBS. (ד) בחינה אגרונומית של אוסף גרעיני מייצג בתנאי שדה כולל רכיבי יבול ומדדי איכות. (ה) איתור קווים בעלי פוטנציאל טיפוחי להכלאות עם זני עלית תרבותיים. (ו) קביעת אסטרטגיה לשימור המגוון הגנטי של האוסף ושימורו בבנק הגנים הישראלי.

3. פרוט עיקרי הניסויים שבוצעו במחקר:

1. **השלמת בניית אוסף מגוון של זנים:** במהלך תקופת המחקר נבנה אוסף מגוון של 912 קווי חיטה מסורתיים שמקורם מישראל, שטחי הרשות הפלשתינאית וסביבתם הקרובה. האוסף הסופי כולל 689 קווי דורום, 193 קווי לחם ועוד נציגים בודדים של מינים אחרים של חיטה (איור 1). ריבוי האוסף הרחב חייב עבודה רבה והתפרס על פני שלושת עונות המחקר. בסיכום שלוש שנות מחקר, ריבויים של 24 קווים שנכללו ברשימות האוסף המקוריות כשל. האוסף נתרם מ-14 מקורות שונים (בנק הגנים הישראלי, בנקי גנים, אוספים מוסדיים, פרטיים ואחרים) (Frankin et al. 2019). מספר פעולות בוצעו למיון וקטלוג של הקווים: (א) אותנטיות של הקווים המסורתיים: נקבעה בשלב ראשון ע"י סריקה לנוכחות האלל *Rh1* (הגן לנינוס שהוחדר במהלך המהפכה הירוקה) (ב) ובשלב שני על ידי בחינת גובה הקמה בשדה. סה"כ אותרו 29 קווים שנושאים את האלל המננס ואלו הוצאו מהאוסף. (ג) השתייכות למין: נקבע על סמך בחינת מורפולוגית של השיבולים ועל סמך הפרופיל הגנטי בעזרת 83 סמני SNP. (ד) זיהוי כפילויות: קווים בעלי מספר קוד בנק גנים משותף שהראו גם זהות גנטית מלאה הוגדרו כ"כפולים" ויוצגו באוסף הסופי ע"י קו אחד בלבד. חלק זה של המחקר מסוכם ומוצג ב-Frankin et al. 2019. בשלב זה ביחד עם אנשי בנק הגנים אנו עסוקים בהפקדת האוסף בבנק הגנים הישראלי למטרת שימור ארוך טווח. דוגמאות הזרעים הטריים שמופקדים בבנק ועוברים פרוצדורה של ייבוש והכנה לאחסון ארוך טווח בקור ובלחות נמוכה הקווים עוברים קטלוג מסודר. לכל דוגמא נפתח קובץ נתונים הכולל את כל המידע הרלוונטי על הדוגמה וכל המאפיינים שלה (ראו פירוט של דרכי האפיון בהמשך): שם, אזור איסוף, אפיון מורפולוגי ופנוטיפי וכל מידע נוסף רלוונטי.

2. **בחינת האגרוטכניקה של זנים מסורתיים בהשוואה לזנים מודרניים בניסויי שדה מלאים בשתי עונות:** מתוך אוסף ה-IPLR נבחרו זנים מסורתיים מייצגים הן של חיטת לחם וחיטת דורום שהתבלטו ביבול ושהיו מהם כמות מספקת של זרעים לניסוי השדה במרכז מחקר גילת. תת-האוסף המייצג של הזנים המסורתיים ותערובת שלהם גדלו לצד זנים מודרניים (n=19) בעונות 2018-19 ו-2019-20 (איור 2-4). בעונה הראשונה הניסוי הוצב במבנה של חלקות מפוצלות (חלקה ראשית- טיפול השקיה- יבש מול רטוב, גורם משני- זן) בבולקים באקראי בארבע חזרות (עיקר הממצאים מעונה זו הובאו בדו"ח שנה שניה). בשנה ג' חזרנו על הניסוי במתכונת זהה בגילת נזרע ב-17.11.2019, וניסוי נוסף הוצב בסביבה ים תיכונית (695 מ"מ גשם) בחוות המטעים בוולקני בבית דגן (ללא טיפול השקיה).

הניסוי בבית דגן נזרע בתאריך 3.12.2019 בתתי חלקות בגודל 16 מ"ר בתבנית בלוקים באקראי (n=4). הניסוי בגילת כלל השקיית עזר בשתי רמות, סה"כ משקעים 412.9 ו-362.9 מ"מ לטיפול "רטוב" ו"יבש" בהתאמה. בשתי הסביבות נזרע השדה לעומד של 220 צמחים למ"ר והקציר בוצע באמצעות קומביין ניסויים.

בניסוי השדה אופיינו כל החלקות למשתנים הבאים:

אפיון פנוטיפי כללי: מדדי גובה, פנולוגיה (מועד השתבלות- 50% מהחלקה), אומדן איכותי לרביצה במספר מועדים (0-ללא רביצה עד 5- רביצה מלאה) וכימות הבימוסה הצמחית בשדה בוצע מדי שבוע במהלך העונה באופן בלתי הרסני על ידי חיישן ידני (RapidSCAN CS-45, Holland Scientific, USA). החיישן איפשר לנטר את התפתחות הקמה באמצעות מדד צמחי (NDVI) Normalized difference vegetation index באופן מהיר וגם לעקוב על קצב הזדקנות העלים והשריית העקה הטרמינאלית.

אפיון מדדי היבול: מכל חלקה נמדדו: משקל נפחי, משקל אלף גרגרים (על בסיס משקל 200 גרגרים ספורים), יבול הגרגרים לחלקה (קציר קומביין) ומתוך קציר ידני של $0.25m^2$ חושב אינדקס קציר (יחס משקלי של הגרגרים לבימוסה).

ניתוח מסכם של כלל ניסויי השדה מופיע באיור 3. ניתן לראות הפרדה במרחב הפנוטיפי בין סביבות כאשר הטיפול היבש בעונה 2019 הראה ממוצעי יצרנות נמוכים וגם גובה קמה מרוסן ורביצה פחותה בעוד הטיפול הרטוב בגילת 2020 והניסוי בבית דגן הראו ממוצעי יצרנות גבוהים. הזנים המודרניים היו בכירים, נמוכים יותר ובעלי יבול גרגרים עדיף כצפוי (איור 3 ב).

השפעת ההשקיה מבטאת במדד NDVI (איור 4-א) כפי שניתן להתרשם מהחלקות בעונת 2018-19 כאשר החלקות היבשות (200 מ"מ) מראות ערכים נמוכים מאד בהשוואה לטיפול ההשקיה "רטוב" (300 מ"מ). בנוסף בשתי העונות הזנים המודרניים (גדיש, רותה, C-9 וסולת) הראו יבול גרגרים עדיף בשני הטיפולים בהשוואה לממוצעי זני המורשת (איור 4-ב). ממוצעי היבול הנמוכים של זני המורשת נובעים הן מאינדקס קציר נמוך (בימוסה רבה ביחס למעט גרגרים) והן מנזקי רביצה קשים, בשני המקרים גובהם של זני המורשת היה להם לרועץ. על סמך הדוגמה של איור 4-ב ניתן לציין שתי קבוצות מעניינות בתוך הפאנל של זני המורשת: 1- זני מורשת שהראו בכירות ועמידות לרביצה והצטיינו באופן יחסי ביבול, 2- זני מורשת בעלי יצרנות נמוכה שהראו יציבות של יבול גרגרים תחת יובש (הבדל קטן מאד ביבול בין טיפולי ההשקיה). חמישה קווים מתוך הפאנל נבחרו בתום האפיון בשדה שארך לאורך שתי עונות כבעלי הפוטנציאל האגרוטכני הגבוה ביותר לזריעה מסחרית (יבול גרגרים ובימוסה, בכירות ועמידות יחסית לרביצה): HittiaSoada, Gaza, 8238, Lubnani Kisra ו Dier Hilla. בנוסף בוצעה סלקציה של קווים בעלי פוטנציאל טיפוחי למטרות הכלאה (זן מסורתי X זן מודרני). הכלאות בוצעו במהלך השנה השניה ויוצבו גנטית (DH) לשימוש במחקר וטיפוח עתידיים.

3. **אפיון המגוון הגנטי באוסף ה-IPLR:** משלב טרום המחקר ועד לשנה הנוכחית נערכו שלוש אנליזות גנטיות כפי שפורט בדו"ח שנה שניה (טבלה 2). בשלב הראשון נערך אפיון גנטי בעזרת סמני KASP-מכל קו נדגמו חמש דסקיות עלה שנשלחו במרכז להפקת DNA ואפיון עם 96 סמני KASP בחברת LGC (Teddington, Middlesex, UK). הסמנים מבוססי SNP מייצגים את 14 הכרומוזומים שבגנום החיטה הטראפלואידי. נתוני האפיון הגנטי שהתקבלו מחברת LGC עברו תהליך של בקרת איכות וכתוצאה מכך הוצאו מהניתוח 13 סמנים לא אינפורמטיביים. בשלב השני במסגרת שת"פ במכון CIMMYT במקסיקו בוצע במהלך שנת המחקר השנייה אפיון גנטי עמוק לאוסף ה-IPLR המלא בטכנולוגית DARTSEQ. לאחר שנת הריבוי הראשונה, מכל קו נדגמו 1 ג' של זרעים שנשלחו למכון CIMMYT במקסיקו. הפקת ה-DNA נערכה ב-CIMMYT כמו גם אנליזת DARTSEQ. בתום שלב זה זיהינו חוסר במידע ב-100+ קווים מתוך האוסף. במהלך שנה ג' הושלם האפיון הגנטי גם של קווים אלו והנתונים הגולמיים של האנליזה הגיעו אלינו בחודש האחרון ושימשו לבחינת המגוון הגנטי ובחירת אוספי ליבה לשימור. לאחר בדיקה מקדמית אותרו 26K סמנים אינפורמטיביים הן לקווים הטראפלואידיים והן לקווים ההקסאפלואידיים.

יצירת אוסף ליבה לתת-האוסף הטראפלואידי: בעזרת תוכנת COREHUNTER נבחרו 96 קוי דורום המייצגים את מרב השונות במרחב הגנטי המבוסס על 83 סמני SNP בגנום החיטה הטראפלואידי כמפורט בדו"ח שנה א'. 96 הקווים עברו אפיון גנטי עמוק יותר בעזרת מערך סמני 90K Illumina SNP והושוו ל-980 קווים באוסף ה-GDP (Global Durum Panel) של ה-Wheat Initiative (איור 5). הנקודות השחורות מייצגות את קווי IPLR הנקודות הצבעוניות מייצגות קווי דורום מהאוסף העולמי. במבט ראשון נראה כי קווי האוסף שלנו מרוכזים באזור מצומצם במרכז המרחב הגנטי (מפגש הצירים בתרשים ה-PCOA, איור 5). אך אם ניקח בחשבון את האזור הגיאוגרפי המצומצם בו נדגמו קווי ה-IPLR לעומת טווח התפוצה הגלובאלי של קווי אוסף הדורום העולמי נקודת המבט עשויה להשתנות דרמטית מה שמבליט מגוון גנטי עצום בשטח גיאוגרפי כה תחום ומצומצם.

יצירת אוסף ליבה לתת האוסף האקסאפלואידי: השלמת האפיון הגנטי של כלל האוסף באמצעות DARTSEQ אפשרו לנו לבצע באמצעותו בחירה של אוסף ליבה לקווי הלחם אך הפעם תוך שימוש במספר גדול מאד של סמנים. העבודה על מסד הנתונים התבצעה בסביבת R. בשלב ראשון חילקנו את האוסף לתתי אוספים הקסא-וטראפלואידיים. האללים בכל לוקוס סמן מתויגים ע"פ 3 קטגוריות: כ-0 אלל רפרנס, 1 הטרוזיגוט, 2 אלל נגדי. בשלב השני הסרנו סמנים שהוגדרו כ-missing data לפי קריטריון של מעל 10% אלל הטרוזיגוטי בסמן נתון. כך נותרו סך הכל 26,129 סמנים. בשלב הבא באמצעות corehunter ב-R - בחרנו כקריטריון ליצירת אוסף ליבה את CV: allele coverage שבוחר קווים לפי מידת ייצוג האללים באוכלוסייה. בשלב זה מתקבל תרשים המראה מה גודל אוסף הליבה המייצג את אחוז השונות הגבוה ביותר של האוכלוסייה (איור 6). בשלב נוסף שילבנו את הנתונים הפנוטיפיים (איור 3) תוך חישוב ממוצע של מדידות בין העונות ב-R בעזרת נוסחת (Best Linear Unbiased Prediction) BLUP. בסוף התהליך חזרנו על

הניתוח יחד עם הנתונים הגנטיים והפנוטיפים ובנבחר אוסף ליבה בגודל הרצוי: בחרנו לבנות אוסף של 40 קווי לחם השווה לגודלו היחסי של אוסף הליבה של קווי הדורום (מסך קווי הדורום באוסף) ומייצג 94% מהשונות באוסף קווי הלחם (איור 6). באיורים 7 ו-8 ניתן לראות את שני אוספי הליבה של שני תתי האוספים, דורום ולחם, ואת האופן בו הם מכסים את כלל המרחב הגנטי והפנוטיפי של אוסף ה-IPLR. כמו כן ניתן להבחין בניתוח השוואתי את המגוון של קווי ה-IPLR בהשוואה לקבוצת הביקורת של זנים מודרניים מישראל.

שימור האוסף בבנק הגנים הישראלי: במסגרת מאמצי השימור של האוסף הגנטי שהורכב בתכנית זו ננקטו מספר אסטרטגיות. האוסף השלם הכולל 912 דוגמאות זרעים שעברו ריבוי ראשוני במהלך שנות המחקר, הופקדו בבנק הגנים הישראלי לשימור ex-situ ארוך טווח (מהלך זה מושלם בימים אלו). כלל המידע שהתקבל במהלך המחקר עבור כל דוגמה צורף למאגר הנתונים של הבנק עבור כל אצווה (דוגמת זרעים) ופתוח לציבור המשתמשים. כעקרון חולק האוסף לשני תתי אוספים: חיתת דורום וחיתת לחם ולכל אוסף באופן יחסי לגודלו הוגדר "אוסף ליבה" (core collection): 96 ו-40 קווים, בהתאמה (כפי הוסבר ופורט בסעיף קודם). אוסף הליבה מייצג כפי שצוין לעיל, את עיקר השונות הגנטית והפנוטיפית ולכן מתועדף בשימור ארוך טווח ומאפשר שימור של חלקו הארי של המגוון הגנטי בהיקפי ריבוי סבירים וישימים. עבור שני "אוספי הליבה" מאמצי השימור יורחבו כולל הגדלת כמות הזרעים להפצה נרחבת יותר ואף לשימוש הציבור הרחב (ארץ חיטה <https://igb.agri.gov.il/web/?page=47&lang=he>). אסטרטגיית שימור נוספת שננקטה עבור אוסף זה, כוללת שימור in-situ באתרים שונים ברחבי הארץ. במקביל לפעילות המדעית שנערכה על האוסף במימון תכנית מדען, תמך המשרד לירושלים ומורשת (באמצעות הקרן למורשת ישראל, האגף למורשת בלתי מוחשית) בפעילות הפצת קווי חיטה מסורתיים כחלק מפעילות חינוכית ושימור דינמי בשדה. בשלוש השנים האחרונות הופצו כ-400 חבילות "ארץ חיטה" לבתי ספר, גינות קהילתיות, גנים בוטנים וחקלאים שונים (ארץ חיטה <https://igb.agri.gov.il/web/?page=47&lang=he>).

סיכום ומסקנות:

כפי שצינו בדו"ח שנה א' הכפלת כמות הקווים באוסף ה-IPLR השליכה באופן חריף על היקף העבודה לאורך כל שלושת שנות המחקר שחרג מעבר לתוכנית המחקר הראשונית. שיתוף הפעולה עם מכון מחקר CIMMYT אפשר ריצוף מלא של האוסף בטכנולוגיית DartSeq. רק לאחרונה פורסם מחקר מקיף ע"י שותפנו ב-CIMMYT שעשה שימוש בשיטה זו לאפיון המגוון הגנטי הקיים בבנק הגנים שלהם בבנק שהנו אוסף הדגניים הרחב בעולם (Sansaloni et al. 2020). השימוש באותה טכנולוגיה לאפיון המגוון הגנטי של אוסף IPLR מאפשר כעת בחינה השוואתית של האוסף שלנו עם אוסף הדגניים הגדול של CIMMYT. בתיאום עם בנק הגנים הישראלי שהינו שותף מלא בפרויקט האוסף המלא והמידע המצטבר עליו (passport data) מרוכז בימים אלו למטרת הפקדה וקטלוג במערכת הממוחשבת. במקביל הושק מערך של שימור דינמי באתר הפרוס כיום במספר רב של חלקות ברחבי הארץ (איור 5). שיתוף הפעולה עם מכון המחקר CIMMYT יצר כמה אפיקים של שת"פ מדעי עם קווי ה-IPLR, כפי שנפרט בהמשך.

עיקרי המסקנות מהמחקר הנוכחי מובאים כאן בתמצות:

1. תהליכים היסטוריים פוליטיים (ציונות) וחקלאים (מיכון ושימוש ב"זני המהפכה הירוקה") הביאו לשחיקה קשה של מקור גנטי מגוון וייחודי של זני חיטה מסורתיים מאזור ישראל כולל איבוד בפועל של חלקים גדולים שלו. הפרויקט הזה שינה משמעותית מציאות זו. הוא אפשר את יצירת אוסף ה-IPLR (Israel Palestine landrace collection) ששמור כעת בשימור ארוך טווח בבנק הגנים הישראלי, זמין למחקר וטיפול של קהילת חוקרי החיטה בארץ ובעולם.

2. האפיון הגנטי והפנוטיפי המלא של כל 912 קווי ה-IPLR והשימוש בכלי סלקציה גנומיים ופנוטיפיים אפשר סלקציה של אוספי ליבה הן בתת האוסף האקסאפלואידי (חיטת לחם- נבחרו 40 קווים המייצגים 198 קווי לחם מסורתיים) והן בתת האוסף הטטראפלואידי (חיטת דורום- 96 קווים המייצגים 698 קווי דורום מסורתיים). אוספי ליבה אלו יאפשר תיעדוף הן במחקר וטיפול והן בשימור עתידיים.

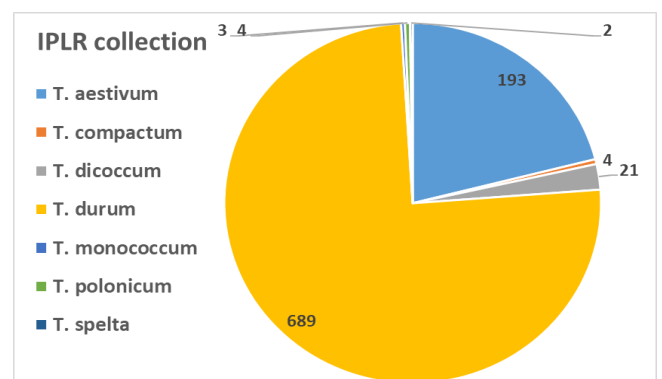
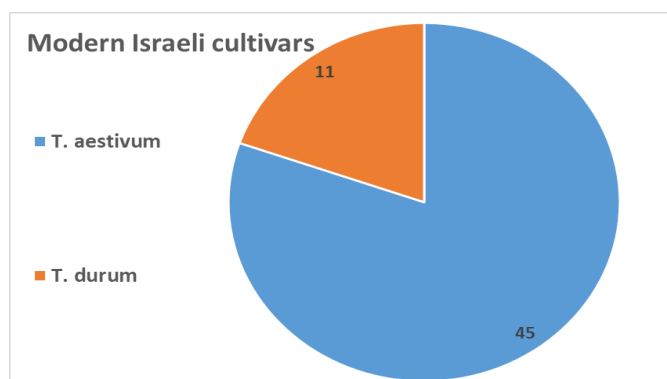
3. השימור בבנק הגנים יתעדף את אוספי הליבה באופן שאלו ירובו בתדירות מספקת כדי לאפשר זמינותם וחינויותם. יש לקחת בחשבון ששימור ארוך טווח בבנק הגנים משמר את השונות בין קווים באוסף אך מפחית את ההטרוגניות הגנטית בתוך כל דוגמא (Frankin et al. 2019). לשם כך ממשיך בנק הגנים במאמצי השימור באתר *in situ* הן באתר מכון וולקני והן במסגרת פרויקט ארץ חיטה (<https://iqb.agri.gov.il/web/?page=47&lang=he>).

4. ניתוח המגוון הגנטי והפנוטיפי של האוסף תומך בהיפותזה הראשונית של המחקר לגבי המגוון והשונות הרבים החבויים באוסף ה-IPLR הן בהשוואה לזני החיטה המודרניים שהרכיבו את המזרע בארץ ב- 50 שנה האחרונות והן בהשוואה לאוספי חיטה עולמיים (איורים 5, 7-8). ניתן לראות שלעיתים קווים בודדים ממקורות בנקי גנים שונים מייצגים מגוון גנטי ייחודי ונדיר (איור 8). ממצא זה מהווה הצדקה מוחשית למאמץ שלנו להגיע במהלך האיסוף לכל אוסף קיים בעולם ולכל קו זמין שהגיע לידנו מידע אודותיו. הדבר התאפשר בזכות השותפים הנאמנים והמסורים שמצאנו בארץ חיטה (עינב מיזליש גתי וביזי גולדברג), מכון ויצמן (אבי לוי ונעמי אביבי) ואוניברסיטת תל אביב (חנן סלע) שתרמו ולא חסכו זמן ומאמץ רב באיסוף, באפיון ובריבוי.

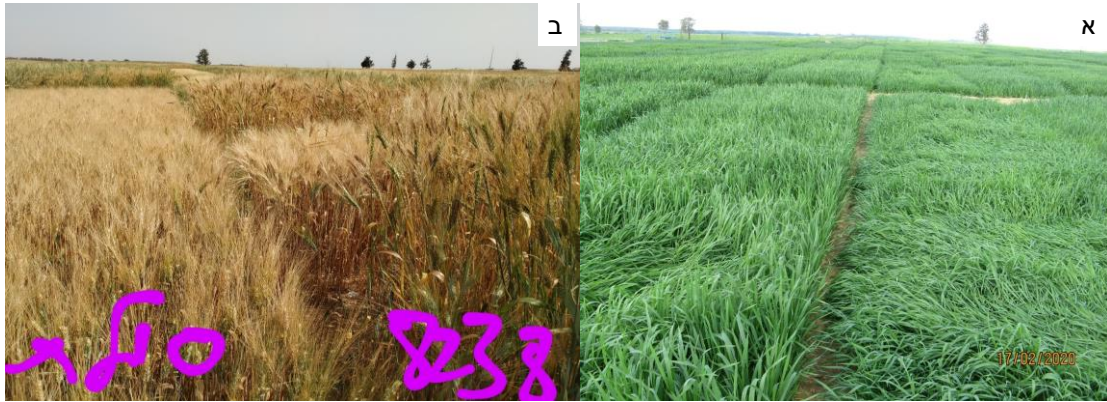
5. חלק מהקווים באוסף הראו פוטנציאל אגרוטכני מעניין. סומנו חמישה קווים (שלושה דורום ושניים לחם) שהתבלטו בניסויי השדה בשל בכירותם, עמידותם לרביצה ונתוני יבול טובים. קווים אלו שולבו במערך ההכלאות בדגש על הכלאות עם זנים מודרניים (לחם ודורום). קווים נוספים נבחנו השנה כגידולי נישה בצפון (שרונה בגליל התחתון) ובדרום (תלמי יוסף בנגב המערבי).

המשך המחקר ויישומי טיפוח:

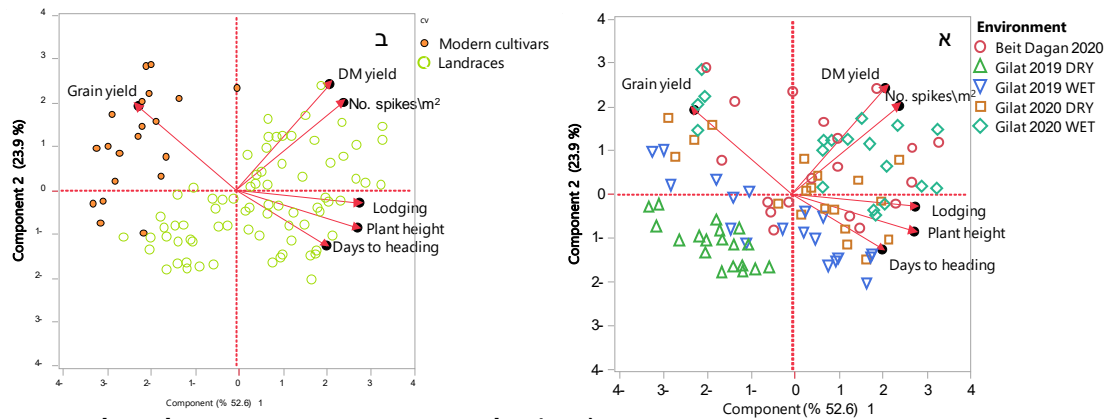
1. השלמת ההפקדה של כלל אוסף ה- IPLR בבנק הגנים. ואחסון ארוך טווח בבנק הגנים (ישראל עוד ב-2020).
2. כלל אוסף ה-IPLR+קבוצת הבקורת נשלח לבדיקות איכות גרעינים במעבדת האיכות של CIMMYT. הקווים ינטרו למשתני איכות בסיסיים ויאפשרו בניית מסד נתונים ראשוני לפרופיל איכות של קווי המורשת.
3. תת אוסף קווי הלחם+ קבוצת הביקורת יסרק לעמידות לחלדון צהוב (פתוגן החיטה הקשה ביותר בארץ) בשדה בבית דגן ובתחנת המחקר של טולוקה במרכז מקסיקו במסגרת שת"פ עם CIMMYT ומכון הדגניים בתל אביב. בנוסף יבחנו הקווים בשלב הצמחונים לתגובתם לחלדון צהוב, חלדון עלה וחלדון קנה הן בתל אביב והן ב- CIMMYT באמצעות אילוח בתבדידי בוחן.
4. נתוני השדה שנטרו לכלל האוסף כולל נתונים שיתקבלו מסעיפים 2+3 ישמשו לניתוח מיפוי אסוציאטיבי בנפרד לשני תתי האוסף (לחם ודורות) תוך שימוש בנתוני ה- DART-SEQ.
5. קווים מצטיינים מבחינה אגרוטכנית מהפאנל שנבחרו בניסויי השדה בגילת מהווים בסיס למחקר יישומי בתחום איכות הגרגר: (א) קווים מצטיינים יבחנו באופן מעמיק במעבדת האיכות בגילת כולל במסגרת של פאנל טעימה מתוכנן של אופים ארטיזנלים, (ב) גרגירים מעונת 2020 נשלחו לאנליזה מטבולית במעבדה של ורד צין בשדה בוקר. תוצאות האנליזה ישולבו עם ממצאי בדיקות האיכות ממעבדתו של דוד בונפיל ללימוד מעמיק של פרופיל האיכות של הקווים, (ג) שלושה זנים מצטיינים אגרוטכנית יבחנו באופן חצי מסחרי על שטח של עשרות דונמים באתרים בצפון הארץ ובנגב.
6. **מימון משלים לפרויקט התקבל מ:** קרן מדען ראשי משרד החקלאות, קרן מורשת במשרד ראש הממשלה, קרן יד הנדיב, CIMMYT במסגרת שת"פ מדעי ושנת שבתון של רואי בן דוד.



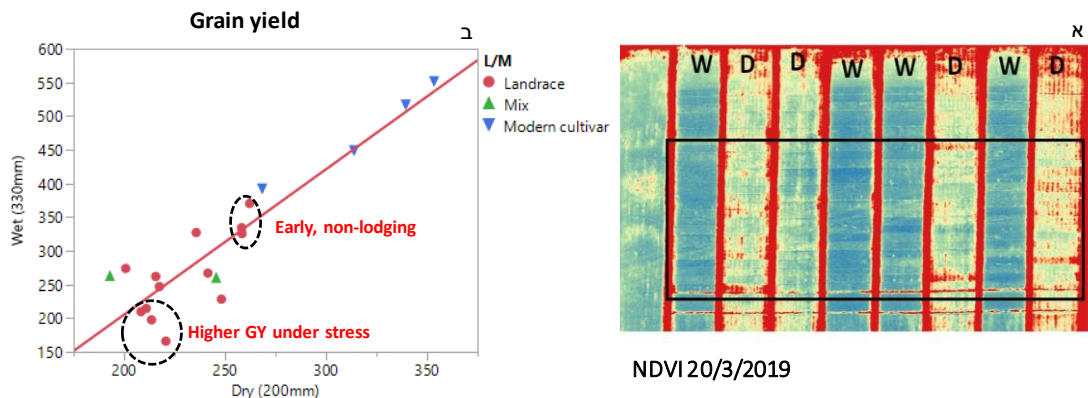
איור 1. התפלגות קווי אוסף ה- IPLR וקבוצת הביקורת של זנים מודרניים לפי מין הגידול.



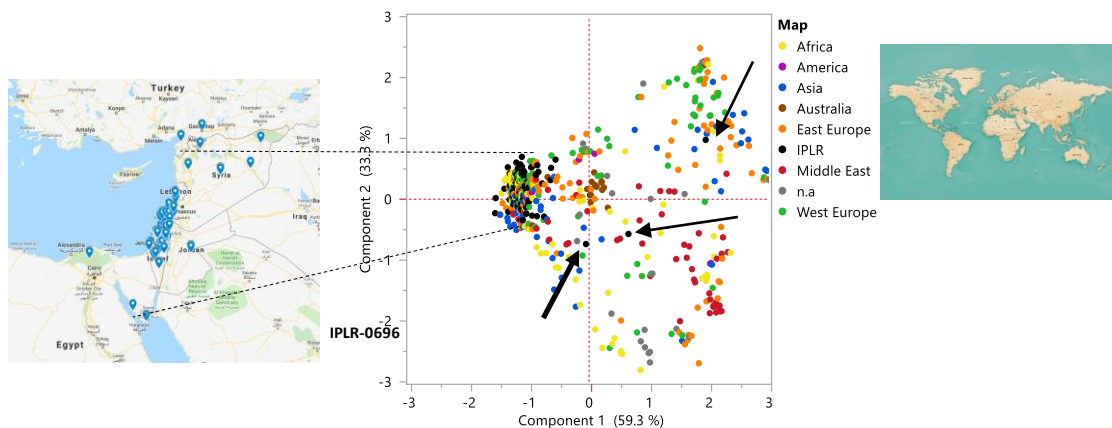
איור 2. שדה הניסוי בגילת 2019-20. רביצת קמה באמצע פברואר (א), קו הדורום 8238 והזן סולת בהבשלה (ב).



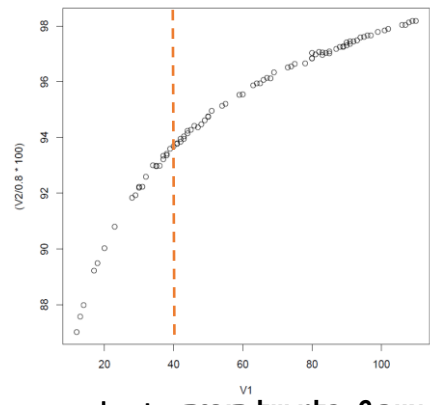
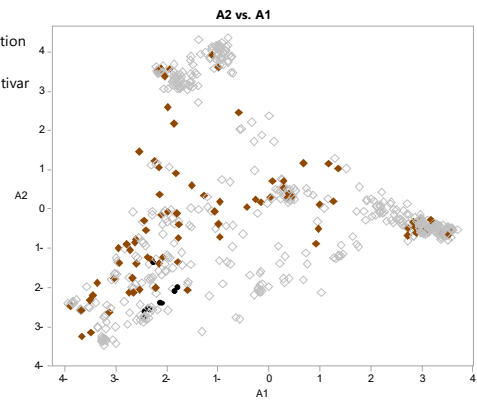
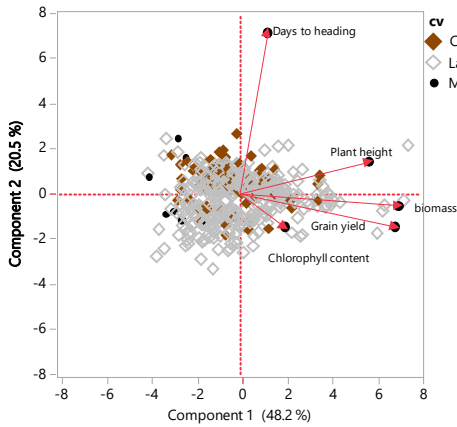
איור 3. ניתוח רב משתנים (PCA) של ממוצעי משתנים פנוטיפיים של פאנל ניסויי השדה משתי עונות המחקר האחרונות. הניתוח מתבסס על ממוצעי 19 קווים שגודלו בגילת 2019 וב 2020 תחת טיפולי השקיה (יבש ורטוב) ובבית דגן ב- 2020. חיצים מסמנים את העוצמה והכוון של משתני המקור כפי שמתבטאים בצירי המרחב PC1 ו- PC2 המסבירים יחד 76.5% מהשונות הפנוטיפית של אוסף הקווים. הפרדה לפי סביבות גידול (א), ולפי קווי מורשת וזנים מודרניים כביקורת (ב).



איור 4. ניסוי השדה בגילת 2019. סריקת רחפן לקבלת ערכי NDVI (א), מתאם ליניארי בין נתוני יבול הגרגרים בטיפולי יבש מול רטוב (ב).

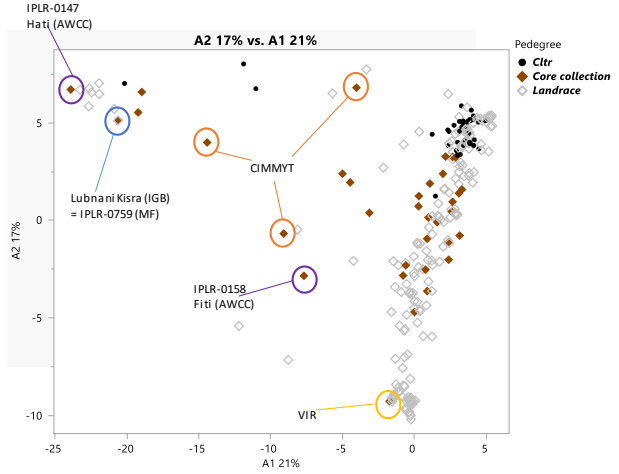
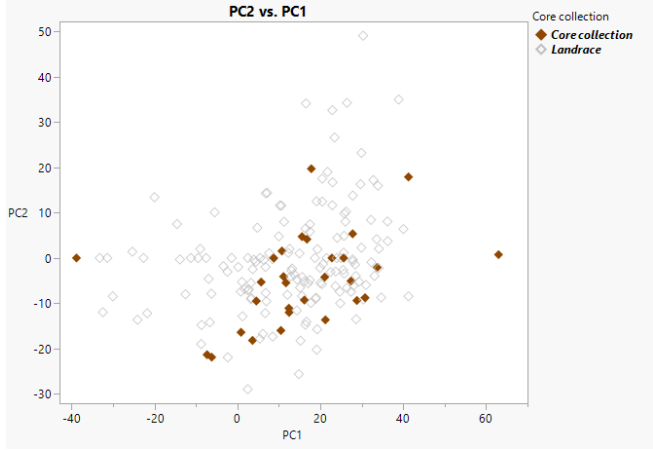


איור 5. אנליזת PCoA לזנים המסורתיים של ה-Global Durum Panel אל מול אוסף הליבה של ה-IPLR על פי



איור 7. אוסף הליבה של תת האוסף הטראפולואידי (דורום) שנבחר על סמך 83 סמני KAPS. כלל תת אוסף של קווי דורום (מעוינים אפורים) אוסף הליבה (מעוינים חומים) זנים מודרניים (נקודות שחורות). במרחב הגנטי שהתקבל מאנליזת DARTSEQ (א). במרחב הפנוטיפי ניתוח רב משתנים Principal components analysis (PCA) של ממוצעי משתנים פנוטיפים משתי עונות (ב).

איור 6. פלט של תוכנת core hunter לסלקציה גנומית של אוספי ליבה המציג את הניתוח של תת האוסף האקספולואידי (קווי הלחם). הקו הכתום המקווקוו מייצג אוסף בגודל 40 פרטים המסביר 94 מהשונות הגנטית של כלל קווי הלחם באוסף (n=198).



איור 8. אוסף הליבה של תת האוסף האקספולואידי (חיטת לחם) שנבחר על סמך K26 סמני DARTSEQ. כלל תת אוסף של קווי דורום (מעוינים אפורים) אוסף הליבה (מעוינים חומים) זנים מודרניים (נקודות שחורות). במרחב הגנטי שהתקבל מאנליזת DARTSEQ (א) מסומנים קווים ייחודיים מבחינת הפרופיל הגנטי שמקורם מאוספי מקור שונים. במרחב הפנוטיפי ניתוח רב משתנים Principal components analysis (PCA) של ממוצעי משתנים פנוטיפים משתי עונות בפריסה על שני הוקטורים הראשונים PC1 ו-PC2 (ב).

במהלך 3 שנות המחקר עבדה על הפרויקט סיוון פרנקין (דוקטורנטית), צוות עוזרי מחקר ממעבדתו של רואי בן-דוד ומבנק הגנים במכון וולקני, צוות טכנאי שדה ומעבדה ממעבדתו של דוד בונפיל ממרכז מחקר גילת, טכנאית מעבדה של חנן סלע מאוניברסיטת תל-אביב וטכנאית מצוותו של אבי לוי ממכון וויצמן. **ממצאי השנתיים הראשונות בדגש על בניית האוסף ואפיון ראשוני שלו פורסמו במאמר:**

Frankin, S., Kunta, S., Abbo, S., Sela, H., Goldberg, B. Z., Bonfil, D. J., ... & Faraj, T. (2019). The Israeli Palestinian wheat landraces collection: restoration and characterization of lost genetic diversity. *Journal of the Science of Food and Agriculture*.

כמו כן זכה המאמר לדף שער בכרך מיוחד בנושא זני מורשת של גידולים חקלאיים.

(Frankin, S., Kunta, S., Abbo, S., Sela, H., Goldberg, B. Z., Bonfil, D. J., ... & Faraj, T. (2020). Cover Image, Volume 100, Issue 11. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100(11), i-i.)

סיוון מסכמת כרגע את הנתונים הגנומיים והאגרוטכנים במסגרת שני פרסומים עתידיים בספרות בינלאומית. פוסטרים ותקצירים שהוצגו בכנסים: (עקב משבר הקורונה לא היו אפשרויות רבות להצגת ממצאי המחקר. בדו"ח שנה שניה הצגנו פירוט של כלל הכנסים בהם הוצגה העבודה. בסעיף זה מוצגת)

פרנקין ס, בונפיל ד, בן דוד ר, לוי א, סלע ח, נאשף כ, נעמי א, מיזלייש-גתי ע, גולדברג ב, סדנא לחקלאים ואופים. מנהל המחקר החקלאי, נובמבר 2019

פרנקין ס, בונפיל ד, בן דוד ר, מיזלייש-גתי ע, גולדברג ב, (2020) קציר חיטים: השבה שימור ואפיון של זני חיטה עתיקים משדות הפלחה המסורתיים בארץ ישראל. ביכורי מחקר, האגודה הישראלית לגד"ש וירקות.

רשימת ספרות:

Sansaloni, C., Franco, J., Santos, B., Percival-Alwyn, L., Singh, S., Petroli, C., ... & Kilian, B. (2020). Diversity analysis of 80,000 wheat accessions reveals consequences and opportunities of selection footprints. *Nature Communications*, 11(1), 1-12