

חיתת כוסמין, גידול חדש בישראל: טיפוח ואגרוטכניקה

Spelt Wheat, a new crop in Israel: breeding and agronomy

דו"ח שנתי לשנת 2016 (שנה א) מוגש לארגון עובדי הפלחה (תכנית מחקר מספר 277060916)  
ע"י

בן-דוד רואי: (מינהל המחקר החקלאי)- חוקר ראשי, מטפח וחוקר תבואות חורף  
;roib@volcani.agri.gov.il

בונפיל דוד י.: (מינהל המחקר החקלאי)-, אגרונומיה ואיכות חיטה ;bonfil@volcani.agri.gov.il  
עבו שחל: (הפקולטה לחקלאות)- גנטיקה ואגרונומיה של גידולי שדה ;abbo@agri.huji.ac.il

כמאל נאשף: (מינהל המחקר החקלאי)- טכנאי, מטפח וחוקר תבואות חורף  
;kamal@volcani.agri.gov.il

תקציר מדעי של הצעת המחקר:

חיתת הכוסמין, הינו תת מין של חיטה הלחם שהיה נפוץ בעבר הרחוק באזורינו. קמח כוסמין על מוצריו נחשב בעולם המערבי כמוצר בריאות. בהצעה זו מוצע מהלך משולב להכנסת חיתת הכוסמין כגידול חדש לסל הגד"ש בארץ. לאור הביקוש העולה למוצרי כוסמין יש לדעתנו פוטנציאל יישומי גבוה לרעיון זה. המחקר המוצע ישלב היבטים של גנטיקה, טיפוח, איכות וביוכימיה של הגידול. להשגת מטרת המחקר נקבעו היעדים הבאים: פיתוח תשתית גנטית לטיפוח של חיתת כוסמין מותאמת לתנאי ישראל, בדיקות איכות של קמח ולחם מגרגרי כוסמין, אפיון ביוכימי של גרגרי הכוסמין (הכולל אנליזה לערכי חלבון, שומן, ויטמינים, מינרלים ועוד) לבחינת הפרופיל התזונתי והפוטנציאל הבריאותי של הכוסמין המקומי ויצירת קווי טיפוח בכירים בעלי יבול ואיכות גבוהים. מירב זני חיתת הכוסמין הינם טיפוחי חיטה חורפית הרגישים לאורך יום ומותאמים לעונה ארוכה וקרה. בשל כך, אוסף של קווי כוסמין מסורתיים, שנאספו בעיקר מאזור אגן הים תיכון ומאזורים אחרים בעולם יגודל ויאופייין הן פנוטיפית והן באמצעות סמני דנ"א ספציפיים בשנת המחקר הראשונה. מטרתנו היא לאתר קווי כוסמין בכירים ואדישים לקיוט ולאורך יום שיתאימו לעונת הגידול הקצרה בארץ. קווים שיאותרו ישולבו באופן מהיר בתוכנית ההכלאות ליצירת קווי טיפוח מתקדמים (Di-Haploid). בשנה הראשונה נאסף ורובה באופן ראשוני אוסף מגוון של קווי חיתת כוסמין ממקומות שונים העולם. הקווים שגודלו בתנאי שדה אופיינו למספר תכונות אגרוטכניות והראו שונות ניכרת (ימים להשתבלות, גובה, מידת עיטוי הגרגר ויבול). הקווים נסרקו גם באמצעות מספר סמנים מולקולארים הנמצאים בתאחיזה לגנים המבקרים פריחה. מספר קווים בעלי בכירות ופוטנציאל יבול הוכלאו ליצירת צירופים גנטיים חדשים בשיטת הדי-הפלאיד. פירותיו של מחקר זה עשויים לתרום לגיוון סל הגד"ש ומאידך לשיפור יעילות הייצור ורווחיות חקלאי הגד"ש, לפיתוח הייצור החקלאי בארץ כחלופה לייבוא ובפיתוח שוק מקומי ללחם בריאות איכותי.

## מבוא

חיטה היא מהגידולים החקלאיים החשובים בעולם עם ייצור שנתי של 670 מיליון טון, המהווה רכיב בסיסי בסל התזונה העולמי (25% מהצריכה הקלורית העולמית). בישראל ייצור החיטה השנתי מגיע עד כ- 200,000 טון עם ממוצע של 250-620 ק"ג לדונם ברובו בפלחה. מגדלי החיטה תלויים בכמות המשקעים ואופן פיזורם במהלך עונת הגידול ולכן שולי הרווח קטנים. לצד מרכזיותה וחשיבותה של החיטה, קמח החיטה הוא בעל פוטנציאל אלרגני גבוה (Pahr 2012). אלרגיה למזון, המוגדרת גם כרגישות יתר, היא תגובה לא תקינה והדירה המתווכת ע"י מערכת החיסון כנגד רכיב מזון כלשהו, הכוללת תסמינים עוריים, נשימתיים וכן כאלו הקשורים למערכת העיכול. זוהי הפרעה שכיחה בעלת השפעה משמעותית על אורח החיים, המופיעה בעד כ- 8% מאוכלוסיית הילדים בעולם מתחת לגיל חמש, ובכ- 3.5% מהאוכלוסייה הכללית. חיטה היא אחת משמונה מזונות גורמי-האלרגיה העיקריים והנפוצים בעולם ("The big 8"), ביחד עם חלב, ביצים, אגוזים, בוטנים, סויה, דגים ופירות ים (Berin 2013).

חיטת הכוסמין (*Triticum aestivum var. spelta*), הינו תת מין ( $n=6x=422$ ) של חיטת הלחם שהיה נפוץ בעבר הרחוק באזורינו. לראיה, הכוסמין אף מוזכר בתלמוד: "אלו דברים שאדם יוצא בהן ידי חובתו בפסח: בחטים, בשעורים, בכוסמין, ובשיפון, ובשיבולת שועל ... " (פסחים, לה ע"א). הכוסמין מאופיין במבנה שיבולת מרווח (ספלטואידי). כמו כן הגלומות בכוסמין המהוות 20%-30% ממשקל השיבולת, אינן "חופשיות", ולכן קשות להפרדה במהלך הדייש ומחייבות שלב עיבוד נוסף במהלך ניקוי הזרעים (Ranhotra et al. 1996a,b; Escarnot 2012). בעבר סברו כי חיטת הכוסמין היא האב הקדום של חיטת הלחם הנפוצה כיום (McFadden and Sears, 1946). כהיפותזה הפוכה הוצעו לאחרונה כי מקור הכוסמין בהכלאה חופשית בין חיטה הקספלואידיית בעלת גרגר חופשי וחיטה טטראפלואידיית קדומה בעלת גרגר עטוי (Dvorak, 2012). ככלל נחשבת חיטת הכוסמין כמשתייכת לאותו מין כמו חיטת הלחם עם אבחנה פילוגנטית של שני תת המינים כשני *genepools* נפרדים (Escarnot, 2012).

המקור הגיאוגרפי של הכוסמין הוא המזרח התיכון משם נפוצה צפונה ובהמשך מערבה לאוסטריה, גרמניה ושווייץ. בתקופה הקרה שלפנה"ס התבסס הכוסמין כגידול דגן מרכזי באירופה כשהוא דוחק את החיטה הפרמיטיבית החד גרגרית (*T. monococcum*) והדו גרגרית (*T. dicoccum*). באלף השנים הבאות (שלאחר הספירה) נדחקה הכוסמין מן המזרע באירופה ע"י חיטת הלחם ושימשה מאז ועד היום בעיקר כגידול מספוא להזנת בע"ח. ברם, בשנים האחרונות תופסת הכוסמין נתח שוק הולך וגדל ב"נישת" המזון הבריאותי באירופה וצפון אמריקה כתחליף חיטת לחם במגוון שימושים כגון אפיית לחם, פסטה ודגני בוקר (Escarnot, 2012) בהקשר זה זינק היקף המכירות העולמי של הכוסמין בפחות מעשור בפי יותר מ- 30 (מ- 150 מיליון דולר ב- 2002 ל 5 מיליארד דולר ב- 2010).

מידת התאמת זני חיטה למגוון סביבות גידול נקבעת ע"י שורת אללים באתרים שונים בגנום המבקרים את תגובת הצמח לקיוט (VRN) [VRN1, VRN2, VRN3] שלושה גני עיקריים: [VRN1, VRN2, VRN3] ורגישות לאורך יום (PPD). אללים של VRN מבדילים בין חיטה חורפית ואביבית בעוד שאללים של PPD מבדילים בין זני

חיטה רגישים או אדישים לאורך יום (Distelfeld et al. 2009). מנגנון הקיוט המתבסס על צבירת מנות קור (עד לערך סף) בגידול שנזרע בסתיו, נועד לדחות את תזמון הפריחה לעונת האביב האופטימאלית מבחינת טמפרטורה ולצמצם נזקי קור בשיא החורף. הגן המרכזי והנפוץ המבקר את התגובה לאורך יום בחיטת לחם הנו Ppd-1 הממוקם על כרומוזום D2. מוטציה נפוצה בזנים של "המהפכה הירוקה" כוללת מקטע חסר של 2 kb באתר הפרומוטור של Ppd-1. שינוי זה יצר אלל בעל דומיננטיות חלקית (Ppd-D1a) המאפשר הקדמת פריחה וזאת בהשוואה לאלל המקנה רגישות לאורך יום (Ppd-D1b). הקדמת הפריחה היא פועל יוצא של אי ביטוי של PPD1 וביטוי מוגבר של VRN3 תחת תנאי יום קצר. השפעתו של אלל זה רחבה והוא המקנה אדישות לאורך יום ומאפשר אדפטציה של הגידול למגוון סביבות

(Beales et al. 2007, Distelfeld et al. 2009, Nishida 2013). לאחרונה אותרו שני אללים נפוצים פחות המקנים אי רגישות לאורך יום *Ppd-A1a* ו-*Ppd-B1a*. בניסוי שנערך ביפן (41°34' N, 133°55' E) נמצא שכל אחד משלושת האללים המוזכרים לעיל מקדים את ההשתבלות בטווח זמן של שבעה עד תשעה ימים בהשוואה לאלל הרגיש לאורך יום. כמו כן זוהתה השפעת גומלין בין האללים השונים (Nishida, 2013). כיום מגודלת חיטת כוסמין בעיקר במרכז אירופה (דרום מערב גרמניה ושווייץ), בצפון אגן הים התיכון ובאזורים נוספים באסיה, אפריקה ואמריקה (קווי רוחב 060-040). בשל ההתאמה לאזורי גידול אלו מירב זני הכוסמין הינם טיפוסי חיטה חורפית הרגישים לאורך יום ומותאמים לעונה ארוכה וקרה.

קמח כוסמין על מוצריו נחשב בעולם המערבי כמוצר בריאות והביקוש אליו עולה בהתמדה בד בבד עם העלאת המודעות לתזונה בריאה בקרב הצרכנים. מרבית הנתונים בספרות מצביעים על כך שתכולת החלבון בכוסמין גבוהה יותר מזו שבחיטה (Grela 1996, Abdel-Aal 2002 Marconi 2002). לדוגמא, עבור קמח לבן, Pruska-Kedzior et al (2008) מצאו תכולת חלבון בקמח כוסמין (14.7%) הגבוהה משמעותית מזו שבקמח חיטה רגיל. חלבונים הינם מקור לאנרגיה ולחומצות אמינו חיוניות. חלבוני החיטה והכוסמין הם חלבוני אלבומין, גלובולין, גלוטנין וגליאדין. הואיל ומידת ספיגת החנקן מהקרקע והפיכתו לחלבון תלויה במידה רבה בגנוטיפ ובתנאי הטיפוח, מומלץ שאנליזה השוואית תבצע בין דוגמאות שגודלו באותם תנאים. נמצא כי חלבוני הגלוטנין והגליאדין בכוסמין שונים במבנם מאלו שבחיטת לחם (Von Büren 2000, Radic et al. 1997). כמו כן, חלבוני תשמורת בכוסמין יוצרים גלוטן בעל תכונות ואיכויות שונות (Schober et al. 2002). באשר להרכב חומצות האמינו, כוסמין מכילה 38.2% חומצות אמינו חיוניות, בדומה לחיטה (Grela 1996). אחוז חומצות האמינו החיוניות מכלל חומצות האמינו בחלבון דומה בשני תתי המין, ומצביע על איכות וערכים ביולוגיים דומים (Matuz et al. 2000) על אף שלא נמצא הבדל משמעותי סטטיסטית בין כוסמין לחיטה מצויה מבחינת תכולת חומצות האמינו, יש ראיות לקיומם של ערכים גבוהים יותר בכוסמין מאשר בחיטה (למעט איזולאוצין, לאוצין וגליצין) (Dvoracek et al. 2002). ממצא זה נתמך גם ע"י Matuz et al (2000a) שהדגים כי תכולת מרבית חומצות האמינו בקמח כוסמין מלא ורגיל גבוהה יותר מזו שבחיטת לחם.

בנוסף, צוין בספרות שתכולת הגלוטן הנמוכה של גרגרי הכוסמין עשויה להוות יתרון בהזנת חולי צליאק וחולים עם רגישות אלרגנית לקמח חיטה (Pahr et al. 2012) Ranhotra et al. 1996a,b). הפרקציה השומנית בקמח כוסמין מלא גבוהה ב- 25% יותר בהשוואה לחיטה, ועם תכולה גבוהה יותר של חומצות שומן בלתי רוויות (Ruibal-Mendieta et al. 2002, Grela 1996, Ruibal-Mendieta et al. 2004). פחמימות מספקות 40-75% מצריכת האנרגיה הכללית, ומהוות מקור האנרגיה העיקרי בתזונת האדם (Gray 2003). עבור חיטה וכוסמין, פחמימות הינן הרכיב העיקרי בגרגר (Belitz and Grosch 1999), ומחקרים רבים הראו שאין הבדל בין הזנים בתכולת הפחמימות, העמילן, הסוכר והסיבים המסיסים (Grela 1996, Ranhorta et al. 1996a,b). דגנים הינם מקור חשוב גם למיקרונוטריינטים בתזונת האדם. מספר עבודות הדגימו תכולת אפר, נחשת, ברזל, אבץ מגנזיום וזרחן גבוהה יותר בכוסמין בהשוואה לחיטה (Ruibal-Mendieta 2005). זאת במקביל למגמה הפוכה עבור חומצה פיטית- שמפחיתה את הזמינות הביולוגית של ברזל ואבץ - שהיתה נמוכה ב- 40% בכוסמין בהשוואה לחיטה (Ruibal-Mendieta et al. 2005). לעומת מחקרים אלו, אנליזה של ברזל ואבץ בחמישה זני כוסמין הדגימה טווחים וממוצעים דומים לאלו המצויים בחיטת לחם, ותכולת סלניום גבוהה יותר בכוסמין מאשר בחיטת לחם ובחיטת דורום (Zhao 2009). תכולת ה-caroteneβ נמצאה גבוהה יותר בכוסמין (Abdel-Aal 1995), בעוד שתכולת הפיטוסטרולים הייתה דומה בשני הדגנים (Pelillo 2003, Rubial-Mendieta 2004). למרות האמור לעיל העניין המיוחד בכוסמין דורש מחקרים עדכניים יותר על ההרכב, האיכות והביוכימיה של הכוסמין הן ברמת המאקרו- והן ברמת המיקרו-נוטריינטים.

### **מטרות המחקר:**

הנחת היסוד היא שדרך מחקר גנטי וטיפוחי ניתן להתאים את חיטת הכוסמין לגידול בישראל וזאת תוך הבטחת היבול ואיכות הגרגירים. המטרה ארוכת הטווח של המחקר היא לשלב את הכוסמין כגידול חדש בסל הגד"ש בישראל וכך לתרום לפיתוח השוק המקומי של תעשיית לחמי הבריאות. להשגת המטרה נקבעו היעדים הבאים:

- [1] פיתוח תשתית גנטית לטיפוח של חיטת כוסמין מותאמת לתנאי ישראל.
- [2] יצירת קווי טיפוח בכירים בעלי יבול ואיכות גבוהים.
- [3] לימוד אגרוטכני של הגידול.

### **פירוט עיקרי הניסויים:**

#### **1. בניית אוסף מגוון של קווי כוסמין:**

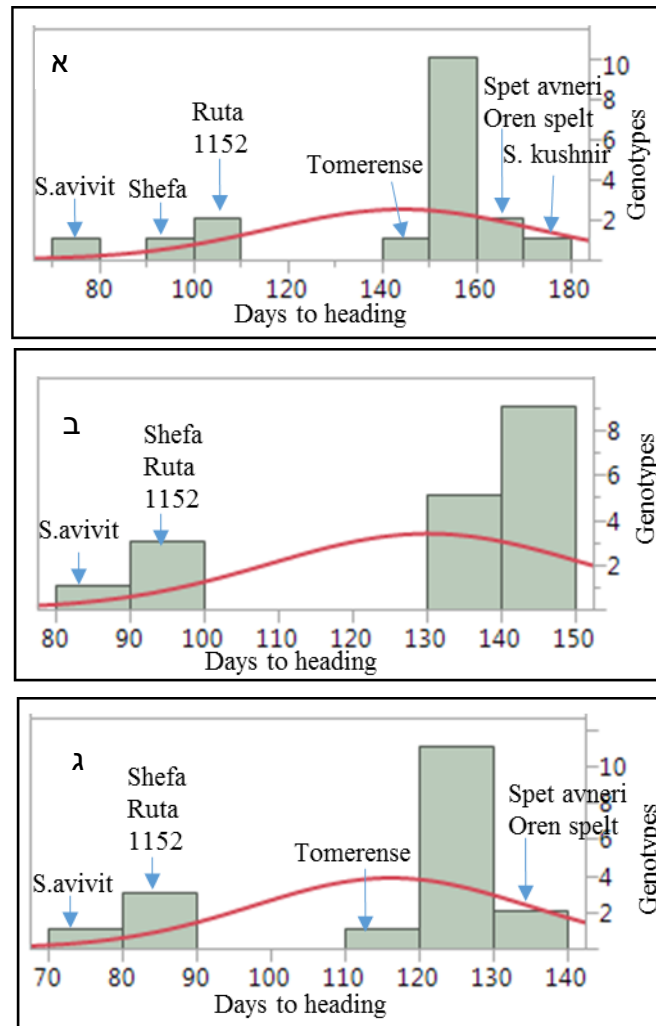
אוסף מגוון של 444 קווי כוסמין נאסף מאזורי גידול שונים בעולם וגודל במהלך עונת 2015-2016 ועונת 2016-17 במשתלת חורף בבית דגן (ראה טבלה 1). האוסף שימש לאפיון פנולוגי ראשוני ואפיון מולקולארי עם סמני דנ"א.

**Table 1: Total number of spelt genotypes collected: 444 genotypes**

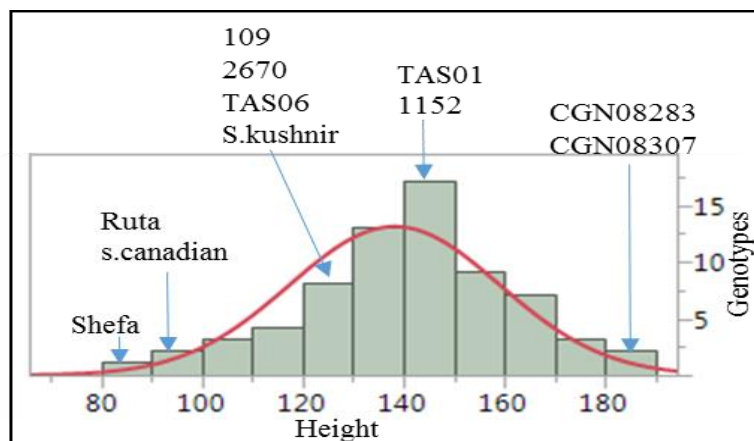
Source	No. accessions
IGB (received From USDA)	253
USDA, USA	125
CGN, Netherlands	47
TAU, Israel	9
IPK, Germany	6
ARO, Israel	1
M. Feldman	3
Total	444

## 2. אפיון פנוטיפי של קווי כוסמין:

פאנל מייצג של קווי כוסמין ולחם אופייני בבית הרשת בעונת 2015-16: 18 קווי כוסמין (קווי ביקורת: ארבעה קווי כוסמין שכבר נבחנו TAS-03 [Canada2014, Europe, 1152 זוני חטת הלחם רותה ושפע. המשתלה כללה ערוגות באורך 6 מ' (שש חלקות בערוגה). במשתלה תועדו מדדים פנוטיפים: גובה הקמה, רגישות לרביצה, מס' ימים להשתבלות; מדדי כושר ייצור: מספר שיבולים לצמח, מספר שיבוליות לשיבולת, יבול גרגרים ומשקל גרגר. הפאנל נזרע בשלושה מועדי זריעה שונים: 3 לנובמבר, 18 לנובמבר, ו-3 לדצמבר. בנוסף בתצפית נפרדת אופיינו כ-60 קווי כוסמין במועד זריעה של 18 לנובמבר. בבית דגן ירדו 360 מ"מ בעונת 2015-16. בנוסף אופיינו כל האוסף בעונת 2016-17 (חלק גדול מהקווים עדין לא סיים את ההבשלה ולכן הנתונים אינם מוצגים בדו"ח הנוכחי).



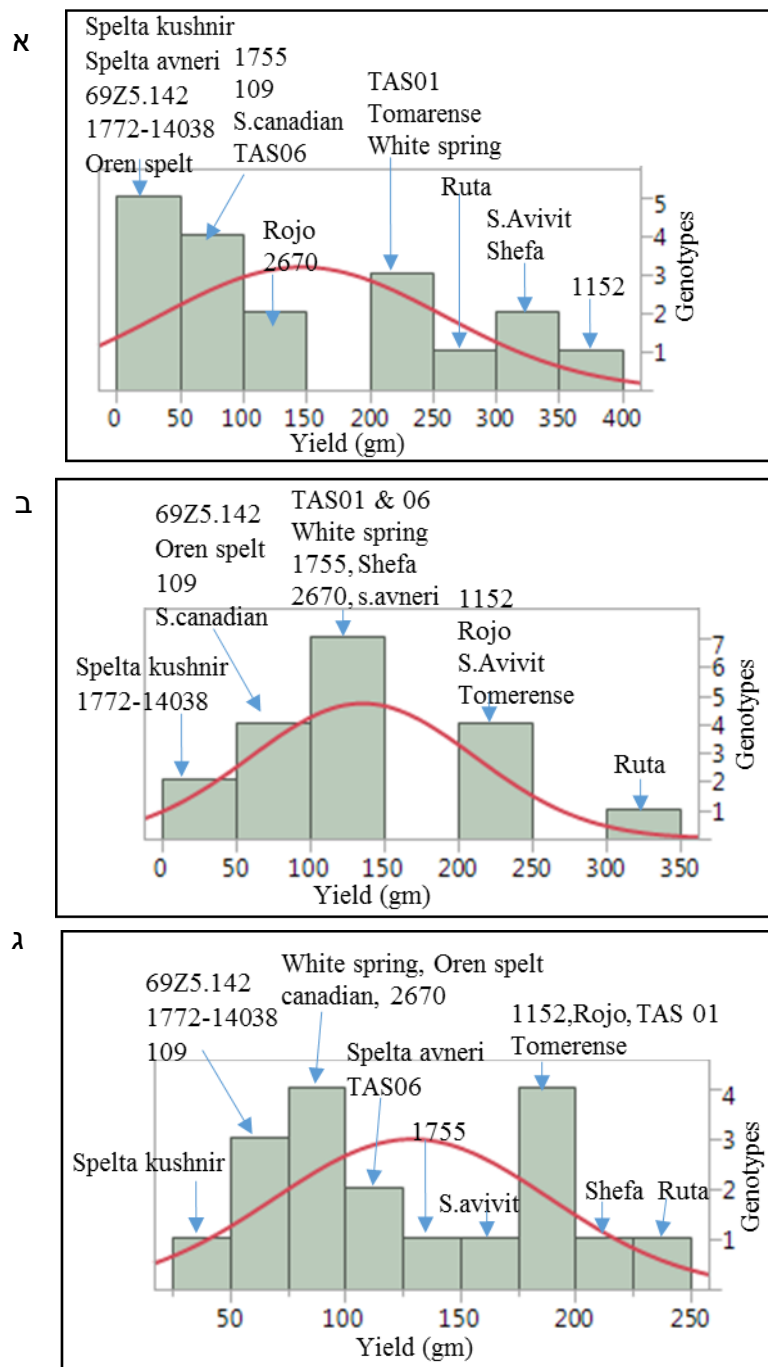
איור 1. ימים להשתבלות במועדי זריעה שונים. ניסוי בית רשת בבית דגן 2015-16. מועדי זריעה: 3 לנובמבר (א) 18 לנובמבר (ב) 3 לדצמבר (ג). שמות של חלק מהקווים הנבחרים מסומנים בחץ.



איור 2. גובה (בס"מ) באוסף רחב של קווי כוסמין. ניסוי בית רשת בבית דגן 2015-16. קווים נזרעו ב- 18 לנובמבר. שמות של חלק מהקווים הנבחרים מסומנים בחץ.

ניתן לראות שפאנל הקווים הנבחן מתחלק באופן קטגורי לקווים בכירים ואפילים מאד. כמו כן ככל שמועד הזריעה מאוחר יותר מתקצר משך הזמן הדרוש להשתבלות בקווים הנבחרים ומצטמצמת גם

השונות של מועד ההשתבלות (איור 1). הקמה בקווי הכוסמין גבוהה בהשוואה לזנים ישראליים (שפע ורותה) ומגיעה עד ל 180 ס"מ. שונות גדולה אותרה בתכונה זו באוסף קווי הכוסמין (איור 2).

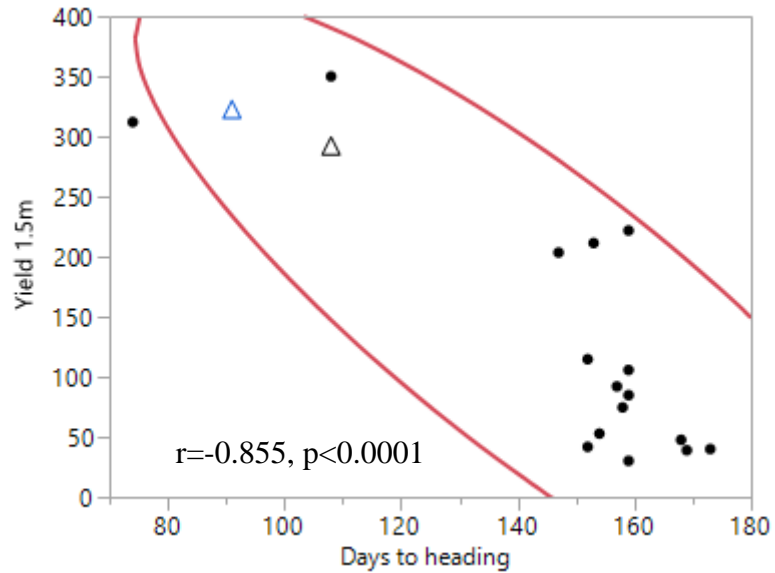


איור 3. יבול גרעינים במועדי זריעה שונים. ניסוי בית רשת בבית דגן 2015-16. 3 לנובמבר (א) 18 לנובמבר (ב) 3 לדצמבר (ג). שמות של חלק מהקווים הנבחרים מסומנים בחץ. חלקות של 0.25<sup>2</sup>.

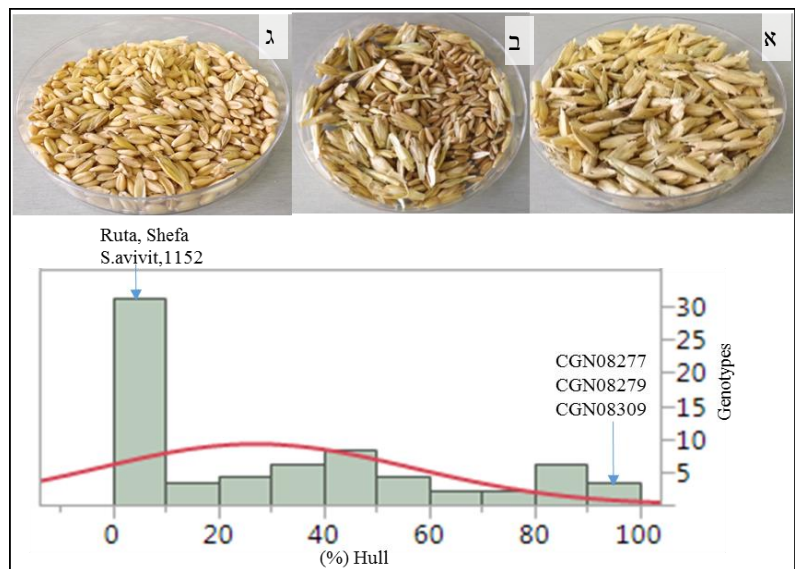
במשנתה היבול ניכרת שונות גדולה בין הקווים. היבול הגבוה התקבל במועד הזריעה הראשון והנמוך ביותר במועד הזריעה של תחילת דצמבר. ככלל וכמצופה, יתרון בולט לזני הביקורת הבכירים רותה ושפע על פני קווי הכוסמין האפילים בשני מועדי הזריעה הראשונים. במועד הזריעה הראשון ניתן לראות

שני קווי כוסמין בכירים המגיעים אף הם ליבולים דומים- 1152 וספלטה אביבית (300-400 גר') (איור 3).

מתאם שלילי גבוה ומובהק התקבל בין זמן להשתבלות ויבול סופי של גרעינים (איור 4). תוצאה זו מחזקת את ההשערה שבכירות הינה תכונה נדרשת בטיפוח כוסמין לתנאי ישראל.

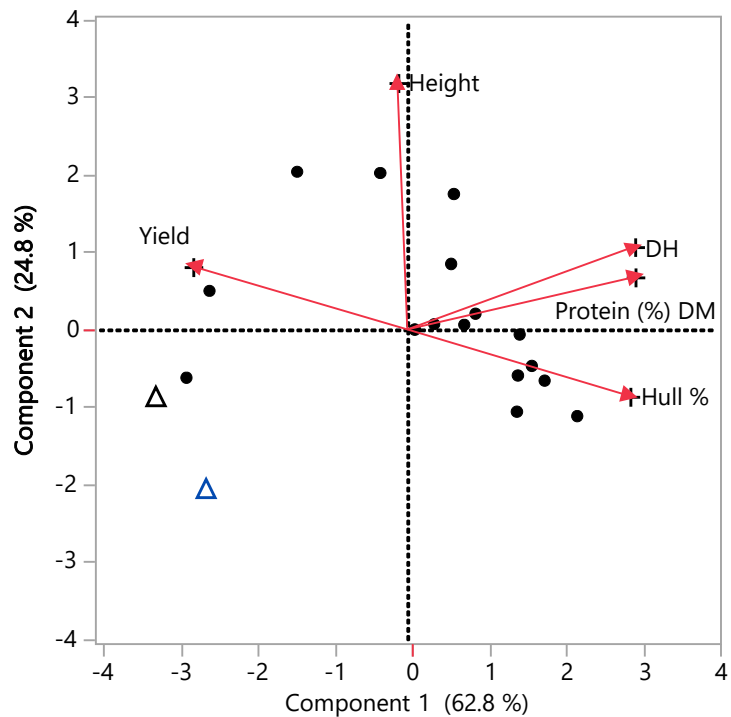


איור 4. מתאם בין ימים להשתבלות ויבול גרעינים סופי במועד זריעה ראשון. ניסוי בית רשת בבית דגן 2015-16. זן רותה (משולש שחור), זן שפע (משולש כחול).



איור 5. התפלגות שיעור הגרגר החופשי באוסף. שונות רחבה לתכונת הגרגר העטוי/חופשי באוסף הקווים. התמונות מייצגות רמות שונות של גרגר חופשי: (א) עטוי, (ב) עטוי חלקית, (ג) גרגר חופשי.

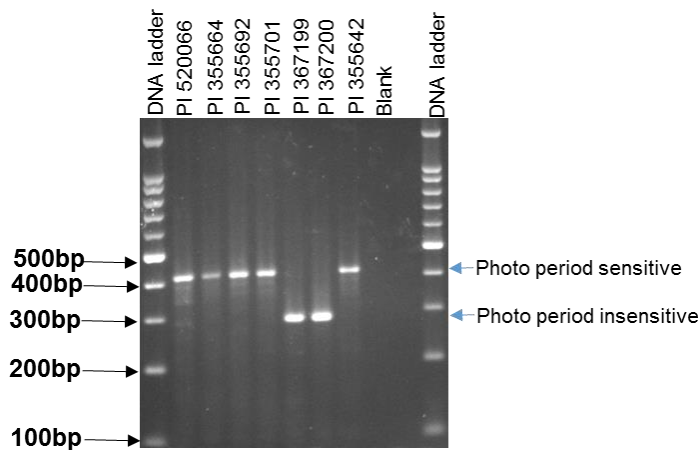
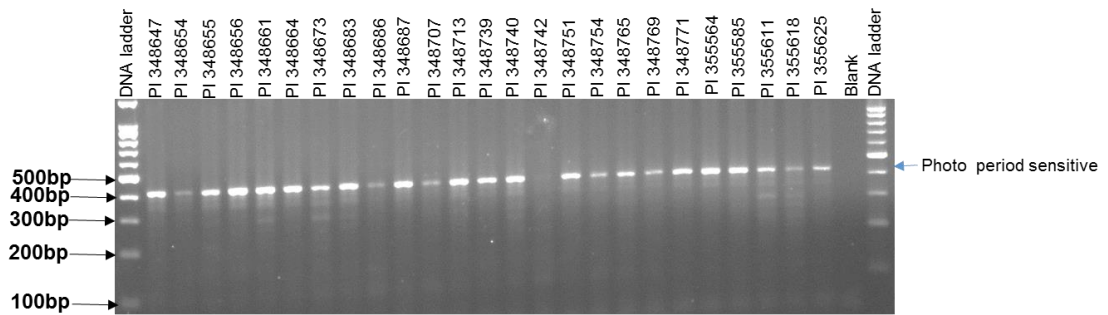




**איור 6. ניתוח Principal components analysis (PCA) של אוסף קווי כוסמין.** הניתוח מתבסס על משתנים פנוטיפיים ימים לפריחה, גובה, יבול גרעינים, תכולת חלבון ושיעור הגרגר העטוי שנמדדו בבית רשת בבית דגן ב- 2015-16. קווי כוסמין מסומנים בעיגולים שחורים, כביקורת: זן רותה (משולש שחור), זן שפע (משולש כחול). חיצים מסמנים את העוצמה והכוון של משתני המכור כפי שמתבטאים בצירי המרחב PC1 ו- PC2 המסבירים יחד 87.6% מהשונות הפנוטיפית של אוסף הקווים.

שונות ניכרת התגלתה במשתנה מידת העיטוי או "חופשיות" הגרגר (איור 5). הזנים המודרניים מייצגים את מופע הגרגר החופשי. כמעט כל קווי הכוסמין עטויים ברמה כזו או אחרת. מעניין לציין שחלק מקווי הכוסמין מראים שיעור גבוה של גרגר חופשי.

איור 6 מציג סיכום של השונות שהתקבלה בקווי הכוסמין במועד הזריעה השני במשתנים הפנוטיפיים המרכזיים. ניתוח רגרסיה רבת משתנים (PCA) Principal components analysis מאפשרת לנו לבחון את המתאם בין בין המשתנים פנוטיפיים שנמדדו: ימים להשתבלות, גובה קמה, שיעור גרגר חופשי, יבול ותכולת חלבון. בציר ה- PC1 (מסביר 63% מהשונות) בולטת ההפרדה בין שתי קבוצות: (1) זני החיטה המודרניים שפע ורותה ושני קווי הכוסמין הבכירים, (2) יתר קווי הכוסמין. בולט המתאם השלילי בין שיעור הגרגר החופשי והפנולוגיה של הצמח עם משתנה היבול. ציר ה- PC2 (מסביר 25% מהשונות) טעון חיובית במשתנה גובה הקמה שאינו נמצא במתאם לאף משתנה נמדד אחר.

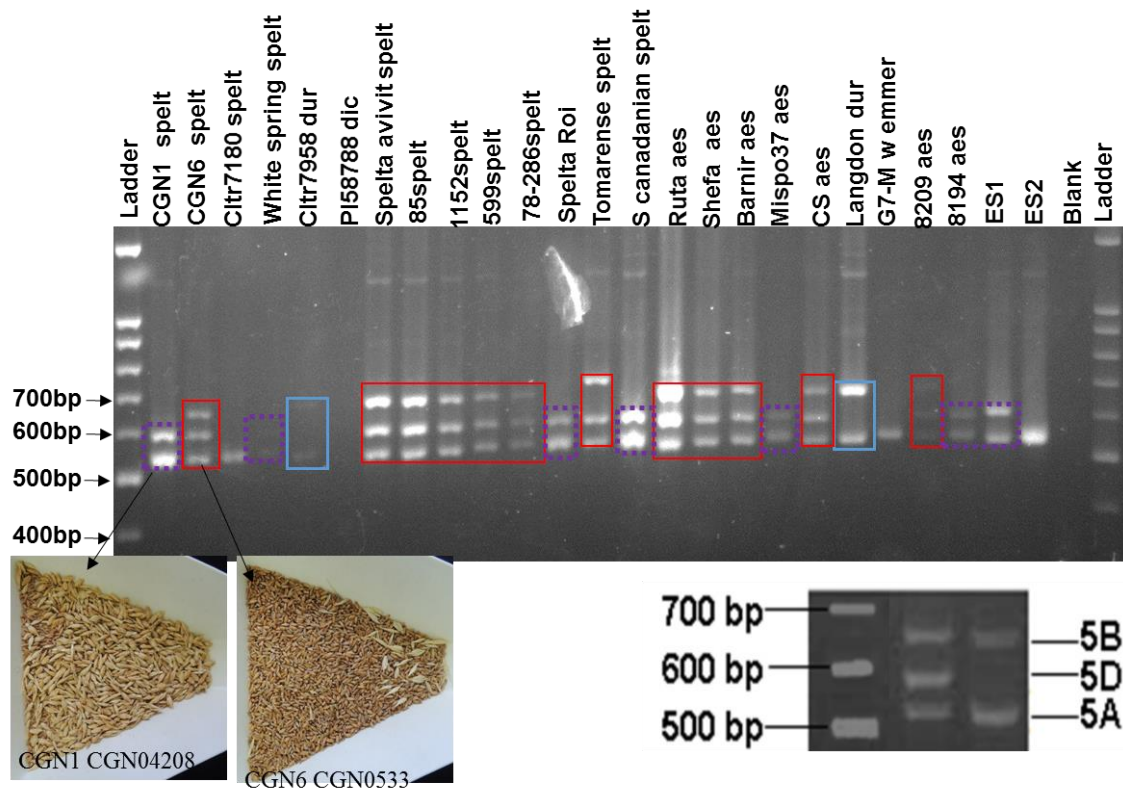


איור 6. סריקת אוסף קווי כוסמין עם סמן SSR האחוז לגן לרגישות לאורך יום *PpdD1*. תוצרי ה-PCR בגל אלקטרופורזה כוללים: אלל לאי רגישות לאורך יום בגודל 315bp ואלל לאי רגישות לאורך יום בגודל 315bp. מתוך 32 קווי כוסמין שנבדקו שני קווים (PI367199 and PI367200) הראו נוכחות לאלל לאי רגישות לאורך יום.

3. אפיון מולקולרי של קווי כוסמין: האוסף אופיין עם סמני דנ"א האחוזים לגנים לקיוט ורגישות לאורך יום. האפיון בוצע באמצעות סמני דנ"א מבוססי PCR האחוזים לגנים לתגובה לקיוט (*Vrn-A1*) ולרגישות לאורך יום (*Ppd-A1a*, *Ppd-B1a* and *Ppd-D1a*). הסריקה של אוסף הכוסמין באמצעות סמני הדנ"א עדין מתבצעת ולכן מוצגות בדיווח זה תוצאות חלקיות בלבד. לאור הממצאים המוצגים באיור 6 נדמה שסמן *Ppd-D1a* עשוי לשמש כסמן MAS (Marker assisted selection) בהליך האיתור של קווי כוסמין בכירים בתנאי ישראל האדישים לאורך יום. סמן זה ישמש לסריקה הן של קווי האוסף והן של קווי קדם הטיפוח שיפותחו במהלך המחקר.

בנוסף בוצעה סריקה עם סמן האחוז לאתר Q המבקר את מבנה השיבולת. תוצאות האפיון של אוסף מייצג של קווים מוצג באיור 7. נמצא מתאם בין נוכחות האלל בזרוע הכרומוזום 5B ופנוטיפ הגרגר החופשי. עם זאת בחלק מהמקרים לא התקבלה התאמה כזו: למשל הזן מספוא 37 שהינו זן מודרני בעל גרגר חופשי חסר את האלל ב- 5B. חסר זה מאפייין קווים אחרים בעלי גרגר עטוי. בדיקה נוספת

שאנו מתכננים לבצע תכלול שימוש בסמינים מולקולריים נוספים שנמצאים באסוציאציה לתכונת עיטוי הגרגר.



איור מספר 7. ריאקצית PCR לסמן של השונות האלילית באתר Q בקווי חיטה וקוסמין. נעשה שימוש בפריימרים יעודיים לגן Q לכל אחד מהגנומים בקובצת התאחיזה 5 (5A, 5B,) (Qi et al.2016). ההרצה בגל אגארוז 2% מאפשרת הפרדה בין התוצרים הצפויים: 536 bp ו- 665bp ו- 578bp עבור האתרים של הגן Q על 5A, 5B ו- 5D בהתאמה. נמצא מתאם גס לתכונת גרגר חופשי על סמך נוכחות האלל שמקורו ב- 5B כפי שמודגם ויזואלית לגבי שני קווי הכוסמין בעמודות הימניות: מלבן אדום- קווים עם גרגר חופשי, מלבן סגול מקוקו- קווים בעלי גרגר עטוי. מלבן תכלת קווים מרקע טטראפלואידי (חיטה דו-גרגרית או חיטת דורום) בהם חסר התוצר של 5D. במספר מקרים התאמה כזו אינה מתקיימת ותחייב סריקה נרחבת באמצעות הסמן על קווים נוספים מהאוסף.



**איור מספר 8. קווים מקדימים בחלקת הניסוי.** הקו Sharanse (מימין) והקו TAS3 (משמאל) מראים הקדמת פריחה (בכירות). קווים אלו וקווים נוספים יכנסו לתכנית ההכלאות. בית רשת בית דגן ניסוי קווים 09.03.17.



**איור מספר 9. ההבדל בין השיבולת בחיטת כוסמין וחיטת הלחם.** ניתן לראות את השיבולת הרפה של הכוסמין (א) לעומת השיבולת העבה של חיטת הלחם (ב), כמו כן ניתן להבחין בהבדל בקשיות הדיש. הגרעינים בחיטת הלחם משתחררים בקלות מהגלומות לעומת הכוסמין שנשאר עטוי. בכוסמין טיפוס עם מלענים (שמאלי) וללא מלענים (ימני).

### **סיכום ומסקנות:**

אותרה שונות רבה באוסף הכוסמין בתכונות אגרונומיות חשובות כגון גובה מועד השתבלות ופנולוגיה ויבול גרעינים. כל קווי הכוסמין שגודלו עד כה הראו מבחינה מורפולוגית שיבולת רפה שהנה מאפיין של המין (איור 8 ו-9). ניתוח רב משתנים מראה את הקשר הישיר בין פנולוגיה מתאימה (בכירות) ובן פוטנציאל היבול בתנאי ישראל ומאשש את הנחת העבודה שלנו שבכירות היא יעד סלקציה מרכזי בטיפוח כוסמין לתנאי ישראל. אותרו מספר קווים של כוסמין בעלי בכירות יחסית ובעלי פוטנציאל טיפוח. קווים אלו השתבלו בסוף פברואר בדומה לזני חיטה ישראלים אפילים כגון רותה ושפע (איור 8). קווים אלו התבלטו גם ביבול גרעינים ואופיינו בגרגר חופשי. נתוני הקווים הללו מופיעים בטבלה 2. בנוסף בין קווי הכוסמין האפילים אותרו מספר קווים בעלי אפילות מתונה כגון Rojo שלוה גם ביבול גרעינים גבוה יחסית (טבלה 2, איור 3). קוו זה הראה אפילות בינונית בהשוואה לרוב קווי האוסף שהשתבלו לאחר 160 מ יום ואף יותר (איור 1). הקווים הנבחרים המופיעים בטבלה 2 הוכלאו בהצלחה ליצירת צמחי  $F_1$  ובהמשך נמשיך בתהליך בדרך ליצירת קווי די-הפלואיד יציבים. המופע המשותף של בכירות קווי הכוסמין ו"חופשיות" הגרגר עשוי להעיד שחלק מהקווים הללו הם למעשה זני חיטה שעברו אינטרוגרסיה עם כוסמין ולא קווי כוסמין בעלי פרופיל אותנטי וייחודי. ניתן לבחון

הנחה זו ע"י אפיון הפרופיל הביוכימי של הקווים השונים בניסיון לאתר "סמן" או חותמת ביוכימית המבדילה כוסמין מחיטה רגילה.

### המשך המחקר בשנת המחקר השנייה:

1. ניסוי שדה מלא בבית הרשת בבית דגן בשנת 2016-17. הניסוי יכלול בחינה אגרונומית השוואתית בין פאנל של קווי כוסמין וזני חיטה מודרניים כקווי ביקורת.
2. המשך סריקת האוסף:
  - א. בסוף בעונת הגידול הנוכחית (עונת 2016-17) יאופיין למעשה כל האוסף (n=444) בתנאי שדה ויאספו משתנים פנוטיפים מרכזיים (גובה, מועד השתבלות, יבול וכו').
  - ב. המשך הסריקה המולקולארית של כל האוסף בסמנים האחוזים לגנים לקיוט ורגישות לאורך יום.
3. אפיון ביוכימי: אפיון פרופיל המינרלים ובטא קארטון של קווי כוסמין וחיטה מייצגים.
4. המשך פיתוח קווי די-פלואיד של צירופי הכלאות של קווי כוסמין בכירים.

טבלה 2: מידע על מספר קווי כוסמין בכירים שאותרו בסריקה בעונה הראשונה.

Accession number	Country of origin	Accession name	Year coll.	GeneBank	ppdD1 (photoperiod)	(%) Hull grain	HD of field
PI 367203	Ghowr, Afghanistan	1152	1966	NSGC USA	Photo. sensitive	0	90
PI 367200	Ghowr, Afghanistan	599	1966	NSGC USA	Photo. Insensitive	0	70
PI 520066	Federal District Mexico	26867-302Y-300M-OY	1987	NSGC USA	Photo. Insensitive	0	
	Israel	saharensense		TAU ISR M. Feldman, Israel	not studied	0	65
					Photo. Insensitive	0	75
PI 191100	Spain	Rojo	1950	NSGC USA	Photo. sensitive	30	144

### **פרסומים מדעיים שנהנו ממימון תכנית המחקר:**

במהלך השנה האחרונה עבדו על הפרויקט אריה קרזון (סטודנט למוסמך בהנחיה משותפת של שני החוקרים), צאנדרה קאטקוטה (פוסט-דוקטורט).

### **1. פוסטרים ותקצירים שהוצגו בכנסים:**

תוצאות העבודה הוצגו בכנסים בישראל.

קורזון א, קאטקוטה צ, רייפן ר, בר אל ש, עבו ש, בונפיל ד, אבנרי א, בן-דוד ר (2017) חיתת כוסמין והתאמתה לגידול בארץ. כנס ביכורי מחקר בגד"ש וירקות. מרץ, רחובות.

קורזון א, קאטקוטה צ, רייפן ר, בר אל ש, עבו ש, בונפיל ד, אבנרי א, בן-דוד ר (2016) חיתת כוסמין והתאמתה לגידול בארץ. כנס מגדלים מו"פ העמק. ספטמבר, עין חרוד.

### **רשימת ספרות:**

- Abdel-Aal ESM, Hucl P, Sosulski FW (1995) Compositional and nutritional characteristics of spring einkorn and spelt wheats. *Cereal Chem.* 72: 621-624.
- Abdel-Aal ESM, Hucl P (2002) Amino acid composition and in vitro protein digestibility of selected ancient wheats and their end products. *J Food Compos Anal.* 15: 737-747.
- Beales J, Turner A, Griffiths S, Snape JW, Laurie DA (2007) A pseudo-response regulator is misexpressed in the photoperiod insensitive Ppd-D1a mutant of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor Appl Genet.* 115(5): 721-733.
- Belitz HD, Grosch W (1999) Food chemistry. 2nd ed. Berlin, Heidelberg, Germany: Springer-Verlag. 631-636.
- Berin MC, Sampson HA (2013) Food allergy: an enigmatic epidemic. *Trends Immunol.* 34: 390-397.
- Von Büren M, Lüthy J, Hübner P (2000) A spelt-specific g-gliadin gene: discovery and detection. *Theor Appl Genet.* 100: 271-279.
- Distelfeld A, Li C, Dubcovsky J (2009) Regulation of flowering in temperate cereals. *Curr Opin Plant Biol.* 12(2): 178-184.
- Dvorak J, Deal KR, Luo MC, You FM, von Borstel K, Dehghani H (2012) The origin of spelt and free-threshing hexaploid wheat. *J Hered.* esr152.
- Escarnot E, Jacquemin JM, Agneessens R, Paquot M (2012) Comparative study of the content and profiles of macronutrients in spelt and wheat, a review. *Biotechnol Agron So. Environ.* 16(2): 243-256.
- Gray J (2003) Carbohydrates: nutritional and health aspects. ILSI Europe concise monograph series. Brussels: ILSI, 10.
- Grela ER (1996) Nutrient composition and content of antinutritional factors in spelt (*Triticum spelta* L.) cultivars. *J Sci Food Agric.* 71: 399-404.

- Marconi E, Carcea M, Schiavone M, Cubadda R (2002) Spelt (*Triticum spelta* L.) pasta quality: combined effect of flour properties and drying conditions. *Cereal Chem.* 79: 634-639.
- Matuz J, Bartok T, Morocz-Salamon K, Bona L (2000) Structure and potential allergenic character of cereal proteins. I. Protein content and amino acid composition. *Cereal Res Commun.* 28: 263-270.
- McFadden ES and Sears ER (1946) The origin of *Triticum spelta* and its free-threshing hexaploid relatives. *J Hered.* 37: 81–89
- Nishida H, Yoshida T, Kawakami K, Fujita M, Long B, Akashi Y, Kato K (2013) Structural variation in the 5' upstream region of photoperiod-insensitive alleles Ppd-A1a and Ppd-B1a identified in hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.), and their effect on heading time. *Mol Breed.* 31(1): 27-37.
- Pahr S, Constantin C, Mari A, Scheiblhofer S, Thalhamer J, Ebner C, Valenta R (2012). Molecular characterization of wheat allergens specifically recognized by patients suffering from wheat-induced respiratory allergy. *Clin Exp Allergy.* 42(4): 597-609.
- Pelillo M, Iafelice G, Marconi E, Caboni MF (2003) Identification of plant sterols in hexaploid and tetraploid wheats using gas chromatography with mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom.* 17: 2245-2252.
- Pruska-Kedzior A, Kedzior Z, Klockiewicz-Kaminska E (2008) Comparison of viscoelastic properties of gluten from spelt and common wheat. *Eur Food Res Technol.* 227:199-207.
- Qi, Z. (2015) Developing Specific Molecular Marker for Wheat Q Gene. *International Journal of Agriculture & Biology.* 17(2).
- Radic H, Günther T, Kling Ch I, Hesemann CU (1997) Characterization of spelt (*Triticum spelta* L.) forms by gel electrophoretic analyses of seed storage proteins. II. The glutenins. *Theor Appl Genet.* 94:882-886.
- Ranhotra GS, Gelroth JA, Glaser BK, Stallknecht GF (1996) Nutritional profile of three spelt wheat cultivars grown at five different locations. *Cereal Chem.* 73: 533-535.
- Ranhotra GS, Gelroth J A, Glaser BK, Lorenz KJ (1996) Nutrient composition of spelt wheat. *J Food Comp Anal.* 9(1): 81-84.
- Ruibal-Mendieta NL, Delacroix DL, Meurens M (2002) A comparative analysis of free, bound and total lipid content on spelt and winter wheat wholemeal. *J Cereal Sci.* 35: 337-342.

- Ruibal-Mendieta NL, Dekeyser A, Delacroix DL, Mignolet E, Larondelle Y, Meurens M (2004) Research note: The oleate/palmitate ratio allows the distinction between wholemeals of spelt (*Triticum spelta* L.) and winter wheat (*T. aestivum* L.). *J Cereal Sci.* 39: 413-415.
- Ruibal-Mendieta NL, Delacroix DL, Mignolet E, Pycke JM, Marques C, Rozenberg R, Petitjean G, Habib-Jiwan JL, Meurens M, Quetin-Leclercq J, Delzenne NM, Larondelle Y (2005) Spelt as a source of breadmaking flours and bran naturally enriched in oleic acid and minerals but not phytic acid. *J Agric Food Chem.* 53: 2751-2759.
- Schober TJ, Clarke CI, Kuhn M (2002) Characterization of functional properties of gluten proteins in spelt cultivars using rheological and quality factor measurements. *Cereal Chem.* 79: 408-417.
- Zhao FJ, Su Y, Dunham SJ, Rakszegi M, Bado Z, McGrath SP, Shewry PR (2009) Variation in mineral micronutrient concentrations in grain of wheat lines of diverse origin. *J Cereal Sci.* 49: 290-295.