

255-0436-98

קוד מחקר:

נושא: מיפוי וזיהוי גנים בתוכניות טפוח בדלועיים

מוסד: מינהל המחקר החקלאי

ד"ר נורית קציר

חוקר ראשי:

3

חוקרים שותפים:

1996-1998

תקופת מחקר:

7

מאמרים:

תקציר

מטרות המחקר: מחקר זה נועד לפיתוח סמנים מולקולריים ומפת תאחיזה למלון ודלועיים נוספים. המפה נועדה למיפוי תכונות כמותיות, לטיפוח עתידי בעזרת סמנים ולבידוד עתידי של גנים. הסמנים אשר פותחו היו סמני מיקרוסטליטים (סמני SSR) אשר מצטיינים כסמנים חד אתריים קו-דומיננטיים, פולימורפיים ובעלי חדירות גבוהה. לפיכך, סמנים אלו משמשים גם כנקודות ייחוס לאיחוד המפות החלקיות הקיימות בדלועיים, להשגה מהירה יותר של מפה רוויה.

מהלך העבודה: סמני המיקרוסטליטים בודדו בעיקר מתוך ספריות גנומיות אשר נבנו לצורך זה ונסרקו בעזרת פרובים של מיקרוסטליטים. לפיתוח המפה נסרקו הסמנים באוכלוסית מיפוי אשר נבנתה למיפוי העמידות לוירוס צהבון הקישוא. תכונות נוספות נקבעו בצמחי אוכלוסיות המיפוי.

תוצאות עיקריות: (1) פותחו כ-60 סמני מיקרוסטליטים ונבדקה מידת הפולימורפיות שלהם בין גוטיפים שונים של מלון ומלפפון. (2) פותחה מפת תאחיזה למלון הכוללת 24 סמני מיקרוסטליטים, 50 סמני RAPD ותכונות שונות: עמידות לוירוס צהבון הקישוא, עמידות לפוזריום, ותכונות איכות דוגמת חומציות. (3) מופו סמני מיקרוסטליטים במפות מלון ומלפפון נוספות אשר פותחו על ידי קבוצות מחקר שונות בעולם תוך שימוש באוכלוסיות מיפוי שונות.

מסקנות והמלצות: סמני מיקרוסטליטים הוכחו כיעילים ביותר במיפוי מלון ומלפפון. יש להמשיך לרוות את המפה בעזרת סמנים נוספים ולהוסיף תכונות אפשריות אשר ניתן לקבוע באוכלוסיה זו. כמו כן, יש להמשיך באחוד מפות להשגת מפה רוויה בתכונות וסמנים.

דוח מסכם (1996-1998)
 הצעת מחקר מס': 255-0436-96
 מקור מימון:
 קרן המדען הראשי של משרד החקלאות

נושא המחקר: מיפוי וזיהוי גנים בתוכניות טיפוח בדלועיים

שמות החוקרים: קציר נורית, דנין-פולג יעל, קרחי צבי
 היחידה לדלועיים, מרכז מחקר נוה יער, מינהל המחקר החקלאי

Mapping and Identification of Cucurbitacea Genes for Plant Breeding Programs

Nurit Katzir, Yael Danin- Poleg, Karchi Zvi

Agricultural Research Organization, Newe Ya'ar Research Center
 e-mail: geneweya@netvision.net.il

מבוא

טיפוח המלון בשנים האחרונות נתקל בבעיות להן אין מענה בשיטות הטיפוח הקלאסי, הן בארץ והן בעולם. בין הבעיות הללו: יצירת זנים עמידים לירוסים, לכנימות, לאקריות ולפתוגנים אחרים. לחלק מגורמי המחלות הללו יש מקורות עמידות, בעיקר מצמחי בר. מקורות עמידות נוספים נמצאו במחקרים מקדימים שנערכו בנוה יער. ניסויים להחדרת עמידויות טבעיות אלו נמשכים שנים רבות, בעלויות גבוהות, כאשר התוצאות חלקיות ובלתי מספקות. עלותם הגבוהה של הניסויים נובעת מכך שהעמידויות מוקנות על ידי מספר גנים ולפיכך יש צורך לגדל מספר צמחים רב (מאות עד אלפי צמחים) מידי שנה. הסיבות המרכזיות לההתקדמות האיטית הן תלות הטיפוח במדדים המושפעים מתנאי סביבה (סימפטומים במקרה של וירוסים ופטירות), או מדדים עתירי עבודה (מבחנים ביולוגיים במקרה של כנימות ואקריות). שילוב שיטות מולקולריות שונות בטיפוח זני מלון עשוי לתת פתרון למכלול בעיות מסוג זה. שיטות מולקולריות מאפשרות זיהוי ומיפוי אתרים המשפיעים על תכונות כמותיות, שימוש בסמנים ככלי עזר שאינם מושפעים מתנאי סביבה להחדרת גנים ולהשבחה (Marker Assisted Breeding- MAB), וכן שיבוט גנים. פיתוח מפת תאחיה מולקולרית למלון וחיפוש סמנים מולקולריים תוך שימוש בחומר הגנטי הקיים בנוה יער, עתידים לתרום ליכולת תכניות הטיפוח לעמוד בתחרות הקשה הקיימת בענף, ויקטינו את סכנת איבוד האמצעים הנשקפת לו כיום. בכנס בין לאומי שנערך באר"ב בנובמבר 1994 (Cucurbitacea 94), סוכם על שיתוף פעולה בין הקבוצות העוסקות ביצירת מפת סמנים מולקולריים למלון, מתוך הכרה שזהו צורך הכרחי להמשך התקדמות הענף. כדי שאפשר יהיה להשתמש במפה לעזרת הטיפוח המפה חייבת להיות רוויה במספר רב של סמנים, כדוגמת המפות הקיימות בתירס ועגבניה. יש יתרון לשימוש בסמנים קודומיננטיים. רק פעולה של מספר קבוצות במקביל תאפשר השגת מטרה זו. אישור תוכנית זו איפשר לקבוצת המחקר שלנו להשתלב במאמץ זה ולהפיק את היתרונות הצפויים החיוניים להמשך קידום הענף בארץ.

לפיתוח מערכת הסמנים המולקולריים השלכות נוספות כגון: (1) היכולת לבצע ברירה בנבטים דבר שיביא לחיסכון בשטחי שדה גדולים. (2) האפשרות לשימוש בסמנים להגנה משפטית על זנים ובדיקת ניקיונם.

(3) האפשרות לשימוש בחלק מהסמנים אשר פותחו (מקבוצת ה-SSR), במיני דלועיים נוספים (הוכח בעבודה הקדמית).

ליצירת המפה בחרנו לפתח סמני SSR שהם קודומיננטים ובעלי יתרונות נוספים (Katzir et al 1996). לריווי המפה בחרנו להוסיף סמנים ממשפחות שונות RAPD, ו-Inter-SSR PCR. פיתוח מפת התאחיזה יעשה באוכלוסית מיפוי אשר פיתחנו למיפוי אתרים הקשורים לעמידות לוירוס ZYMV. אוכלוסיה זו היא אוכלוסיה מתפצלת (F_2) מההכלאה בין תורם העמידות $PI414723-S_5$ (P_1), לבין הזן המקבל $Dulce Cv.$ (P_2). הסמנים ימופו בנוסף באוכלוסיית מיפוי אשר שימשה לפיתוח המפה המולקולרית הראשונה אשר פורסמה במלון (Baudracco-Arnas and Pitrat 1996).

מטרות המחקר :

מטרת המחקר היא יצירת מפת תאחיזה של סמנים מולקולריים למלון (*Cucumis melo L.*), באמצעות סמני RAPD, SSR ו-RFLP.

מטרות המחקר לשנת הדוח האחרונה (9-1998):

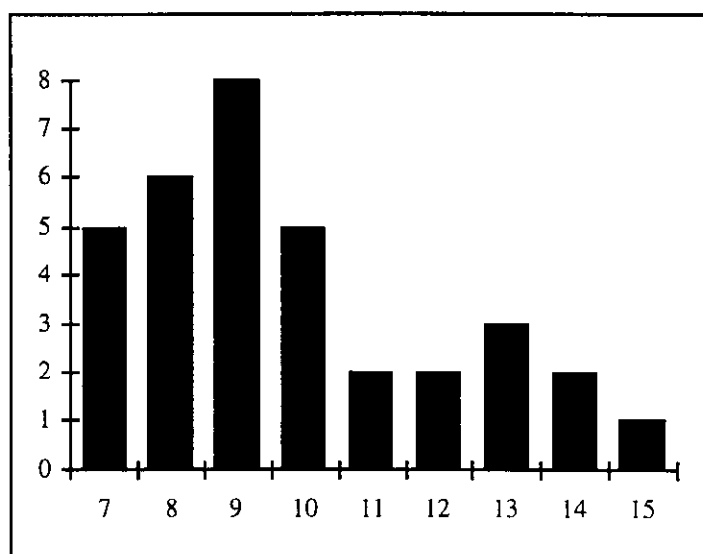
1. המשך פיתוח סמני SSR.
2. בחינת השונות שמגלים סמנים אלו במידגם של קווי מלון.
3. תחילת בחינת התפלגות הסמנים באוכלוסיות המיפוי.
4. המשך בחינת התפלגות סמני Inter SSR באוכלוסית המיפוי שלנו.

פירוט הניסויים והתוצאות

סמני SSR (מיקרוסטליטים) : הוכנו ספריות גנומיות (ספריות פלסמידים וספריות פאגיים λ -zap) של מלון אשר נסרקו בעזרת הגלאים $(CT)_{15}$, $(CAC)_6$, $(ATT)_5$ ו- $(TCC)_5$. כמו כן נסרקו רצפים ממשפחת הדלועיים אשר פורסמו במאגרי גנים. סך הכל בודדו כ-100 מיקרוסטליטים, מתוכם הושלם איפיונם של 61 אשר יתוארו להלן. הגלאי $(CT)_{15}$ נמצא יעיל ביותר לאיתור מיקרוסטליטים מספריות: כחצי אחוז מהקלונים היו חיוביים בסריקה עם גלאי זה וכמחציתם הכילו מיקרוסטליט ארוך מ-7 בסיסים (האורך המינימלי אשר נמצא לסמן פולימורפי). בעזרת גלאי זה בודדו 34 אתרי מיקרוסטליטים, אשר התפלגות אורכם (מספר חזרות ה-CT בהם) מוצגת באיור 1 להלן. נמצא כי שיעור הופעת חזרות ה-CT בגנום המלון הינו אחד לכל 500 אלף זוגות בסיסים. הוכנו תחלים (פריימרים) ייחודיים מהאזורים התוחמים את רצפי 61 המיקרוסטליטים. 46 סמנים בודדו מהספריות הגנומיות של מלון, שישה בודדו מספריות cDNA של מלפפון ותשעה מרצפים של משפחת הדלועיים אשר פורסמו במאגרי גנים. חמישים ושלושה זוגות תחלים נתנו תוצרי שיכפול ברורים ב-PCR, ושמונה לא עבדו. שלושים וארבעה מתוך 61 המיקרוסטליטים הכילו חזרה על רצף CT, 10 הכילו חזרה על רצף AT, חמישה הכילו חזרה על רצף ATT, שלושה הכילו חזרה על רצף CAC ו-אחד CCT. חלק מהמיקרוסטליטים בעלי רצפים מורכבים, ומכילים יותר ממוטיב אחד. להמשך העבודה נבחרו 40 סמנים אשר היו פולימורפיים במדגם גנוטיפים של מלון ומלפפון. עשרים ושמונה מיקרוסטליטים בודדו מהספריות הגנומיות של מלון, ארבעה מספריות cDNA

של מלפפון ו-8 מיקרוסטליטים נמצאו במאגרי גנים. סמנים אלה מוצגים בטבלה 1. כל הסמנים נבחנו במדגם של 13 גנוטיפים של מלון ו-11 גנוטיפים של מלפפון, אשר מוצגים בטבלה 2. מידת השונות המזוהה על ידי סמני המיקרוסטליטים מוצגת בטבלה 3.

איור 1: התפלגות מספר חזרות ה-CT ב-34 סמני מיקרוסטליטים.



טבלה 3: התפלגות סמני המיקרוסטליטים.

מקור הסמנים	מספר סמנים פולימורפיים	אחוז הסמנים הפולימורפיים	
		מלון	מלפפון
מלון	30	86%	37%
מלפפון	10	40%	80%
סה"כ	40	75%	48%

כפי שמוצג בטבלה 3, 30 סמנים היו פולימורפיים במלון. סמנים אלו גילו בין 2 עד 6 אללים במדגם הגנוטיפים (טבלה 2). מידת האינפורמטיביות של הסמנים נמדדת על פי ערכי Gene diversity: מידת השונות המתגלה ע"י ה-SSR בקבוצת פרטים הומוזיגוטיים מחושבת על פי הנוסחה:

$$\text{Gene diversity} = 1 - \sum P_{ij}^2$$

כאשר $\sum P_{ij}$ הינה סכום תדירויות האלל j לאתר ה-SSR i (Katzir et al 1996).

הערכים אשר התקבלו במלון היו בין 0.14-0.77 (מפורט בטבלה 1). בעבודה הקדמית (Katzir et al. 1996) מצינו שסמנים ממלון יעילים גם במלפפון ולהפך. לפיכך נסרקו הסמנים גם במלפפון, שם גילו 2-5 אללים לכל

סמן מעשרת הסמנים הפולומורפיים.

תוצאות אפיון סמני המיקרוסטליטים שימושו ללימוד יחסי הקרבה בין 13 הגנוטיפים של המלון ובין 11 הגנוטיפים של המלפפון. יחסי הקרבה בין שני גנוטיפים מבוססים בצורה הנוחה ביותר בצורת דנדרוגרמות. התפלגות סמני המיקרוסטליטים בכל הגנוטיפים נבחנה עבור כל אתר ואתר, וסומנה: נוכח (1); חסר (0); ו- הטרוזיגוט (0.5). תוצאות ההתפלגות שמשו לחישוב מטריצת המרחק הגנטי (Distance matrix) בין הגנוטיפים (Nei, 1973). קיבוץ הגנוטיפים (cluster analysis) נעשה בשיטת ה-UPGMA בעזרת תוכנת ה-Systat 7.0. שתי הדנדרוגרמות שהתקבלו (האחת למלון והשנייה למלפפון) מוצגות באיור 2. מהתוצאות עולה כי קבוצות הבר של המלון נבדלות בצורה מובהקת מקבוצות התרבות. (קבוצות 8,5,4 בטבלה 2, ענפים 3-1 באיור 2א). כמו כן נמצא כי קיים ערוב גנטי בקבוצות המלון המתורבתות בעקבות הטיפוח (קבוצות 7,3,2,1 בטבלה 2, ענף 4 באיור 2א). תמונה דומה התקבלה במלפפון כאשר קבוצת הבר ניבדלה בצורה מובהקת מקבוצת התרבות (טבלה 2, איור 2ב). כמו כן עולה כי השונות הגנטית בין טיפוס המלפפון קטנה לעומת השונות בין טיפוס המלון. תוצאות אלה נמצאות בהתאמה למחקרים נוספים (Silberstein et al. 1998).

מיפוי הסמנים: סמני המיקרוסטליטים נבחנו בהתאמתם למיפוי ונמצאו יעילים ביותר במלון ובמלפפון: הסמנים קודומיננטיים, הדירות השיטה גבוהה ביותר וקל לעקוב אחרי האללים השונים של ההורים וההטרוזיגוט באוכלוסיות מתפצלות. המעקב נעשה על גלים של אגרוז (כאשר המרחק בין שני האללים גדול משישה זוגות בסיסים) או על גלים של אקרילאמיד בהם ניתן להבחין בהבדל של בסיס בודד. תמונה 1 מראה התפלגות סמני המיקרוסטליטיים באוכלוסית מיפוי של מלון (א) בגל אגרוז (ב) בגל אקרילאמיד. התפלגות 40 הסמנים נבחנה בתחילה בעשרה גנוטיפים הכוללים 5 זוגות הורים לארבע אוכלוסיות מיפוי של מלון ואוכלוסית מיפוי אחת של מלפפון (טבלה 4):

(1) קוי ההורים (PI414723-S₅ ו-Dulce Cv.) של אוכלוסית מיפוי אשר פותחה על ידינו. עשרים וארבעה סמני מיקרוסטליטים אשר נמצאו פולומורפיים שימשו ליצירת מפת תאחיזה לאוכלוסיה זו כפי שיתואר להלן (וכפי שמוצג באיור 3);

(2) קוי ההורים (PI161375 ו-Vedrantais) של אוכלוסית מלון נוספת אשר לפיה נבנתה המפה הראשונה אשר פורסמה במלון (Baudracco-Arnas and Pitrat 1996). תשעה עשר מהסמנים מופו כבר על ידינו במפה זו (איור 4).

(3) קוי ההורים לשתי אוכלוסיות מיפוי נוספות במלון אשר פותחו על ידי קבוצות מחקר באר"ה ובספרד, כמתואר בטבלה 4. הפולומורפיות הגבוהה של הסמנים באוכלוסיות השונות מאפשרת שימוש בסמנים אלו כנקודות עוגן לאיחוד מפות המלון השונות. איחוד המפות בעזרת סמנים אלו מועדף על ידי כל הקבוצות המשתתפות במיפוי מלון.

(4) קוי הורים למפת מלפפון כמתואר בטבלה 4. שבעה סמנים מופו כבר באוכלוסיה זו. מיפוי מקדים זה הוכיח פיזור אקראי של סמני המיקרוסטליטים גם בגנום המלפפון, ויהווה בסיס למיפוי משווה בין שני המינים.

יצירת מפת תאחיזה: מפת התאחיזה פותחה לאוכלוסית המיפוי F2 מההכלאה בין PI414723-S₅ ו-Dulce Cv. מפה זו מבוססת על קביעת הגנוטיפ של כל אחד מצמחי האוכלוסיה באמצעות כל אחד מהסמנים הפולומורפיים. עד כה נסרקו באוכלוסיה זו 42 סמני מיקרוסטליטים, 50 סמני RAPD ו- 3 סמני Inter-SSR. המיפוי מתבסס על שיטת הנראות המירבית (Maximum Likelihood) בתוכנת ה-

Map Maker (Lander and Botstein 1989). שיטה זו מוצאת בהסתברות הסטטיסטית הגבוהה ביותר את שיעור הרקומבינציה המסביר את תדירויות הגנוטיפים של התפצלות דו-גנית. בעזרת קבוצות התאחיזה הדו-גניות נבנות קבוצות תאחיזה רב גניות בעלות ההסתברות הגבוהה ביותר. מפת התאחיזה אשר מוצגת באיור 3 כוללת 22 סמני מיקרוסטליטים, 46 סמני RAPD ו-2 סמני Inter-SSR. לא בתאחיזה נשאו 2 סמני מיקרוסטליטים, 4 סמני RAPD ו-2 סמני Inter-SSR.

מסקנות והשלכות

מחקר זה הביא לפיתוח מפת תאחיזה למלון, ולפיתוח סמני מיקרוסטליטים ראשונים בדלועיים. סמני המיקרוסטליטים נמצאו פולימורפיים ויעילים למיפוי בשני המינים של הסוג *Cucumis*: מלון ומלפפון. מספר האללים אשר הם מגלים וערכי ה-*gene diversity*, גבוהים יחסית לערכים אשר נמצאו על ידי סמנים אחרים (RAPD, RFLP) במחקרים נוספים (Kennard et al. 1994, Baudracco-Arnas and Pitrat 1996). הסמנים נמצאו מתאימים ביותר למיפוי: הסמנים חד-אתריים, קודומיננטיים, הדירותם גבוהה והם נוחים לעבודה בהיותם סמני PCR. התוצאות עד כה מצביעות על פיזור טוב על פני הגנום, ללא יצירת צברים. יתרון הגדול של סמנים אלו הוא כנקודות מפתח לאיחוד מפות: סמנים אלו מתאימים ביותר לשמש כנקודות עוגן בין המפות השונות של מלון (בהיותם קודומיננטיים ופולימורפיים). איחוד מפות מלון שונות בעזרתם החל כבר. בנוסף, מתאימים הסמנים למיפוי השוואתי בין מלון למלפפון. התאמת הסמנים לאיחוד מפות ולמיפוי משווה היא בעלת חשיבות רבה לפיתוח מפות גנטיות רוויות של מלון ומלפפון. לפיכך אנו רואים בפיתוח סמנים אלו את התרומה העיקרית של מחקרנו. סמנים נוספים אשר פותחו במסגרת המחקר (כאמור לעיל, סה"כ 100 סמני מיקרוסטליטים) ממופים עתה. בהמשך יש להשלים את ריווי המפה בסמנים, ולמפות תכונות בעלות חשיבות חקלאית כגון עמידויות למחלות ותכונות איכות פרי. יישום הסמנים אשר פותחו כאן, למיפוי תכונות בעלות חשיבות חקלאית, יאפשרו הפקת תועלת מירבית ממחקר זה.

פרסומים מדעיים

1. Danin-Poleg Y., Tzuri G., Karchi Z., Cregan P.B. and Katzir N. (1996). Length polymorphism and homologies of microsatellites in several cucurbitacea species. Poster presented at the Eucarpia meeting on Cucurbit Genetics and Breeding (Malaga, Spain 28 - 30 May 1996).
2. Danin-Poleg Y., Reis N., Pitrat M. and Katzir N. (1997). Simple Sequence Repeats for germplasm analysis and mapping in melon (*Cucumis melo* L.). Poster presented at the Plant and Animal Genome V. (San Diego, USA, 12-16 January, 1997).
3. Katzir N. (1997). Simple Sequence Repeats for germplasm analysis and mapping in *Cucumis* species. Invited lecture, French-Israeli symposium on: Plant Genome (Versailles, France, November 17-20, 1997).
4. Danin-Poleg, Y., Reis, N., Pitrat, M. and Katzir, N. (1997). Simple sequence repeats for

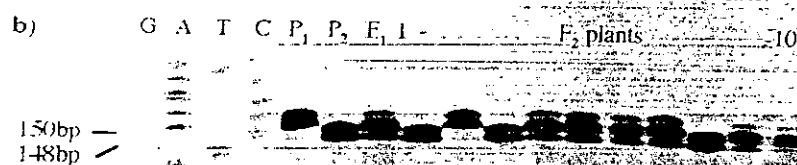
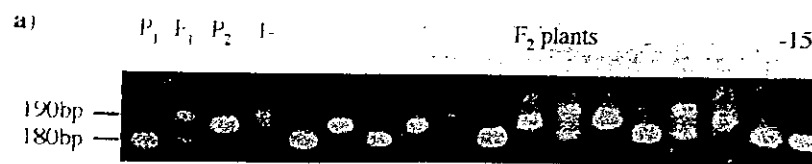
- germplasm analysis and mapping in melon (*Cucumis melo* L.). Annual joint meeting of the Botanical Society of Israel, The Israel Plant Molecular Biology Society and the Israel Society for Plant Cell Structure, Tel-Aviv, Israel. Israel J. of Plant Sciences 45: 259.
5. Danin-Poleg Y., N. Reis, G. Tzuri and N. Katzir (1998). Simple Sequence Repeats as Reference Points in *Cucumis* Mapping. in: proceeding of Cucurbitaceae 1998, (Asilomar, CA USA, 30 Nov.-4 Dec., 1998).
 6. Danin-Poleg Y, Reis N., Baudracco-Arnas S. , Pitrat M. and Katzir N. (1999) Integration of Simple Sequence Repeats into melon (*Cucumis melo* L.) linkage map. (submitted to Genome).
 7. Danin-Poleg Y., Reis, N., Tzuri G. and Katzir, N. (1998). Development and Characterization of microsatellite in *Cucumis*. (in preparation).

רשימת ספרות מצוטטת

- Baudracco-Arnas S., Pitrat M. 1996. A genetic map of melon (*Cucumis melo* L.) with RFLP, RAPD, isozyme, disease resistance and morphological markers. Theor. Appl. Genet. 93: 57-64
- Katzir N., Danin-poleg Y., Tzuri G., Karchi Z., Lavi U. and Cregan P.B., 1996. Length polymorphism and homologies of microsatellites in several Cucurbitaceae species. Theor. Appl. Genet. 93: 1282-1290
- Kennard, WC, K Poetter, A Dijkhuizen, V Meglic, J Staub, and M Havey (1994) Linkages among RFLP, RAPD, isozyme, disease resistance, and morphological markers in narrow and wide crosses of cucumber. Theor. Appl. Genet. 89:42-48
- Lander E.S., & Botstein E.D., 1989. Mapping Mendelian factors underlying Quantitative traits using RFLP linkage maps. Genetics 121:185-199.
- Nei M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided population. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 70:5369-5273
- Silberstein L., Kovalski I., Huang R., Anagnostou k., Kyle-Jahn M. and Perl- Treves R. (1998). Molecular variation in melon (*Cucumis melo* L.) as revealed by RFLP and RAPD markers. Scientia Horticulturae 1259:1-11.

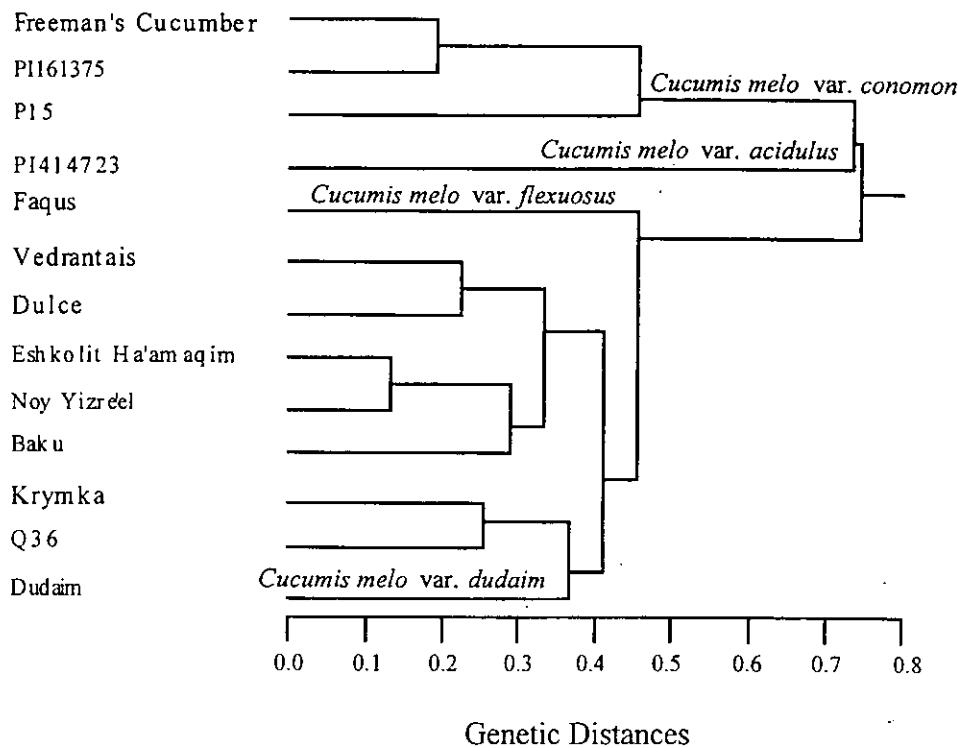
תמונה 1

התפלגות סמני מירוסטליטים באוכלוסיה מתפצלת: (א) הפרדה על גן אגרוז (ב) הפרדה על גל אקרילאמיד

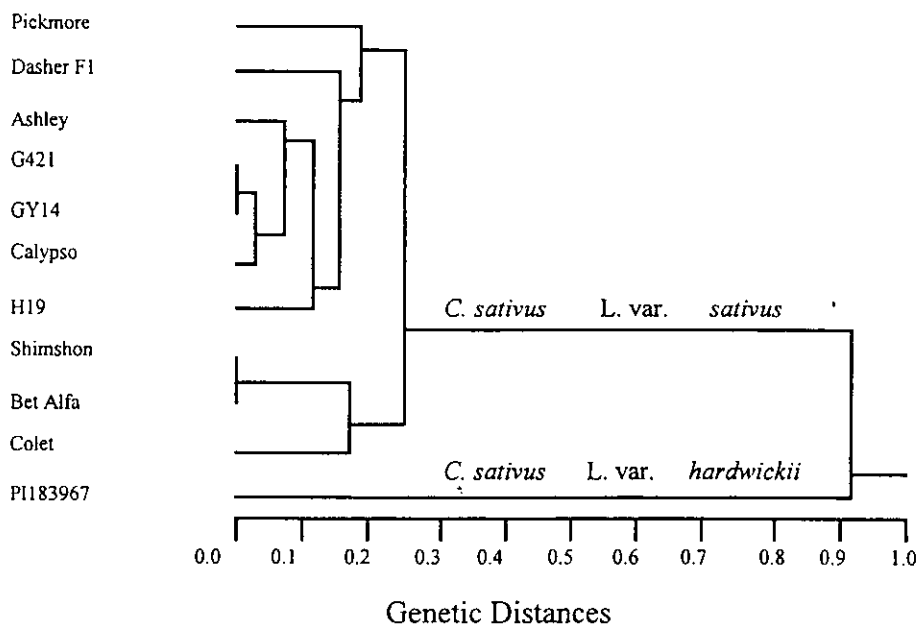


איור 2: יחסי הקרבה בין 13 גנוטיפים של מלון ו-11 גנוטיפים של מלפפון כפי שהתקבלו
 ניתוח בשיטת UPGMA תוך שימוש בסמני מיקרוסטליטים.

א.



ב.



טבלה 2 : גנוטיפים של מלון ומלפפון אשר נבחרו לסריקה ע"י סמני המיקרוסטליטים ושיוכם על פי קבוצות.

Melon

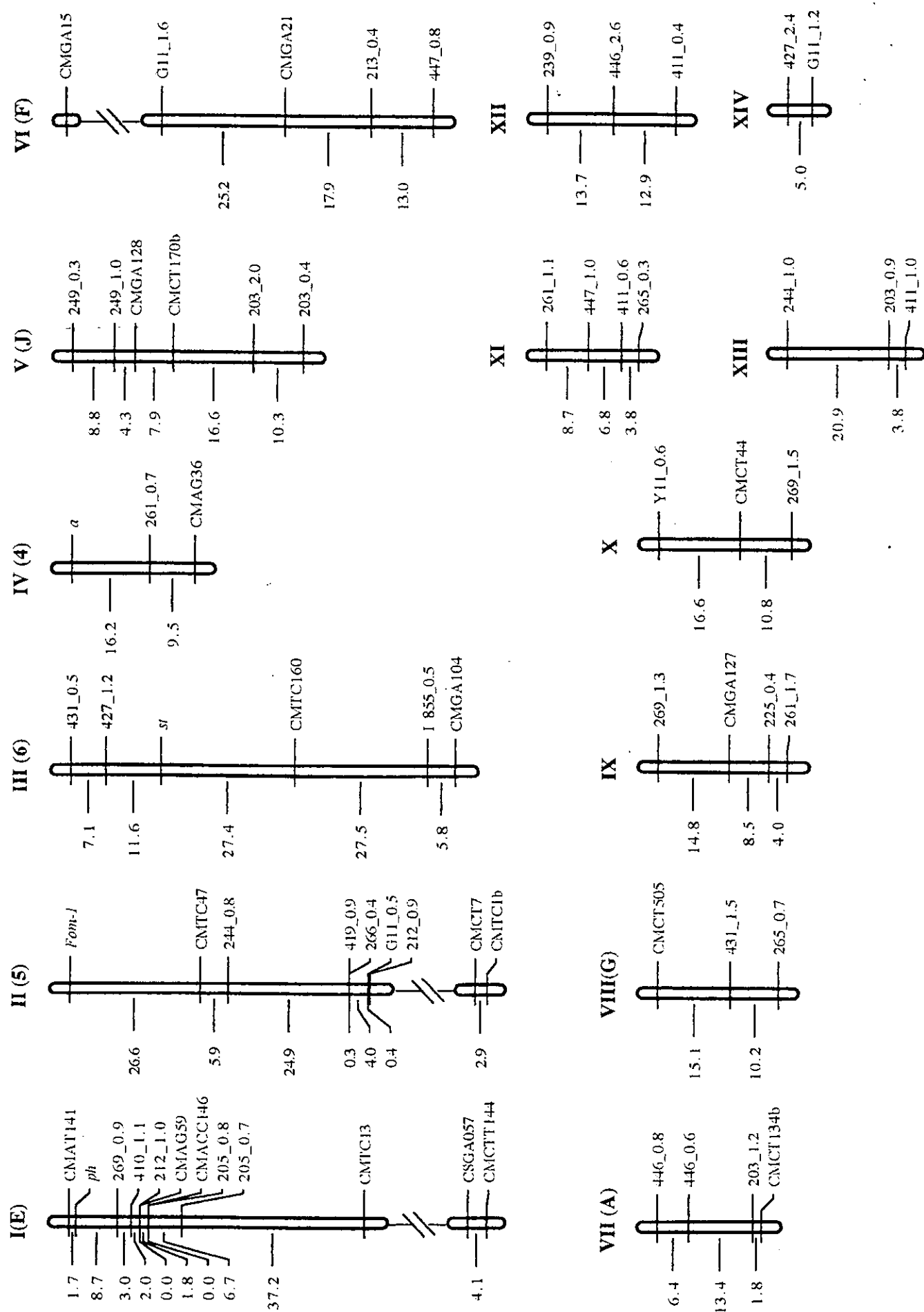
Cucumis melo var.:

- | | |
|--------------------------|----------------------------|
| 1. <i>cantaloupensis</i> | Noy Yizre'el |
| 2. <i>reticulatus</i> | Krymka |
| | Eshkolit Ha'amaqim |
| | Dulce |
| | Vedrantais |
| 3. <i>inodorus</i> | Q36 |
| | Baku |
| 4. <i>flexuosus</i> | Faqus |
| 5. <i>conomon</i> | P15 |
| | Freeman's Cucumber |
| | Songwhan Charmi (PI161375) |
| 6. <i>chito</i> | |
| 7. <i>dudaim</i> | Dudaim |
| 8. <i>acidulus</i> | PI414723 |

Cucumber

Cucumis sativus var.

- | | |
|----------------------|----------|
| 1. <i>sativus</i> | Bet Alfa |
| | Ashley |
| | Pickmore |
| | Calypso |
| | Colet |
| | Shimshon |
| | GY14 |
| | G421 |
| | H19 |
| | Dasher |
| 2. <i>hardwickii</i> | PI183967 |



טבלה 1: מספרי אללים וערכי השונות המזוהים ע"י 40 סמני מירוסטליטים כפי שנסקרו ב-13 גנוטיפים של מלון ו-11 גנוטיפים של מלפפון

SSR designation	Core motif and number of repeats	melon		cucumber	
		Alleles	Gene diversity ¹	Alleles	Gene diversity
from melon genomic library					
CMTC13*	(TC) ₁₂ (CG) ₅ (AG) ₃	5	0.68	1	-
CMAG59	(GA) ₂ A(AG) ₈	5	0.72	nss	
CMGA127*	(GA) ₁₃ A(GA) ₂	4	0.39	ns	
CMGA128	(GA) ₁₀ AA(GA) ₂	3	0.54	ns	
CMGA15	(GA) ₇	2	0.43	1	-
CMCT44*	(CT) ₁₀ TGTT(CT) ₃	4	0.33	2	0.17
CMGA104*	(GA) ₁₄ AA(GA) ₃	6	0.72	ns	
CMACC146	(ACC) ₉	3	0.46	1	-
CMCTT144*	((CTT) ₁₀ CTAC(CTT) ₄	6	0.77	2	0.17
CMTC47*	(TC) ₉ (CT) ₆	5	0.61	2	0.17
CMAT141	(AT) ₇ (GT) ₆	4	0.49	nss	
CMCCA145**	(CCA) ₅	2	0.36	2	0.24
CMTC168	(TC) ₁₄	4	0.63	ns	-
CMGA172	(GA) ₉	3	0.59	2	0.17
CMTC123*	(TC) ₉ (TTTC) ₂	2	0.39	1	-
CMCT126	(CT) ₉	1	-	ns	
CMTC158	(TC) ₁₁ (ATT) ₆	1	-	ns	
CMGT108	(GT) ₉ N65(CT) ₇	2	0.50	1	-
CMTC163	(CTT) ₂ (TC) ₈	1	-	ns	
CMTAA166	(TAA) ₉ N8(GA) ₉ (AT) ₃	2	0.14	2	0.17
CMTA170a	(TA) ₉ T(TA) ₃	6	0.79	ns	
CMCT170b	(CT) ₈	4	0.72	ns	
CMGA165**	(GA) ₁₀	3	0.60	2	0.46
CMTA134a*	(TA) ₁₂	5	0.76	ns	
CMCT134b*	(TA) ₂ (CT) ₈ (AT) ₇	4	0.68	ns	
CMCT160a**	(TC) ₂ (TCC) ₂ (CT) ₈	2	0.14	3	0.24
CMTC160a+b*,**	(TC) ₂ (TCC) ₂ (CT) ₈ N122(TC) ₈	2	0.45	3	0.24
CMCT505*,**	(CT) ₁₅ (AT) ₁₂ (AC) ₁₁ (AT) ₄	4	0.51	2	0.46
from cucumber cDNA library					
CSCTTT15a	(CTTT) ₆	3	0.38	2	0.17
CSGTT15b	(GTT) ₆	1	-	1	-
CSTCC813**	(TCC) ₇	ns		2	0.24
CSCT335**	(CT) ₈ N4(CT) ₁₁	ns		2	0.46
from database					
melon					
CMAT35	(TA) ₃ AA(TA) ₂ C(AT) ₇	2	0.36	ns	
CMTC51	(CT) ₃ GA(TC) ₉ (CT) ₅	1	-	2	0.17
cucumber					
CSGA057	(GA) ₈	3	0.52	2	0.17
CSAT542**	(AT) ₇ (N) ₃₇ (AT) ₁₃	1	-	5	0.66
CSAT214**	(AT) ₁₃	ns	-	5	0.70
CSAT425	(AT) ₁₀ T(TA) ₂	4	0.60	2	0.17
CSAT425		5	0.67	-	-
CSCCT571	(CCT) ₅ CTT(CT) ₂	2	0.26	1	-
CSTA050	(TA) ₄ (TTC) ₃ G(TA) ₅ TG(TA) ₂	1	-	2	0.17

¹ Calculated for 13 or 11 homozygous varieties for melon and cucumber respectively

* Calculated for 26 gametes (13 melon varieties)

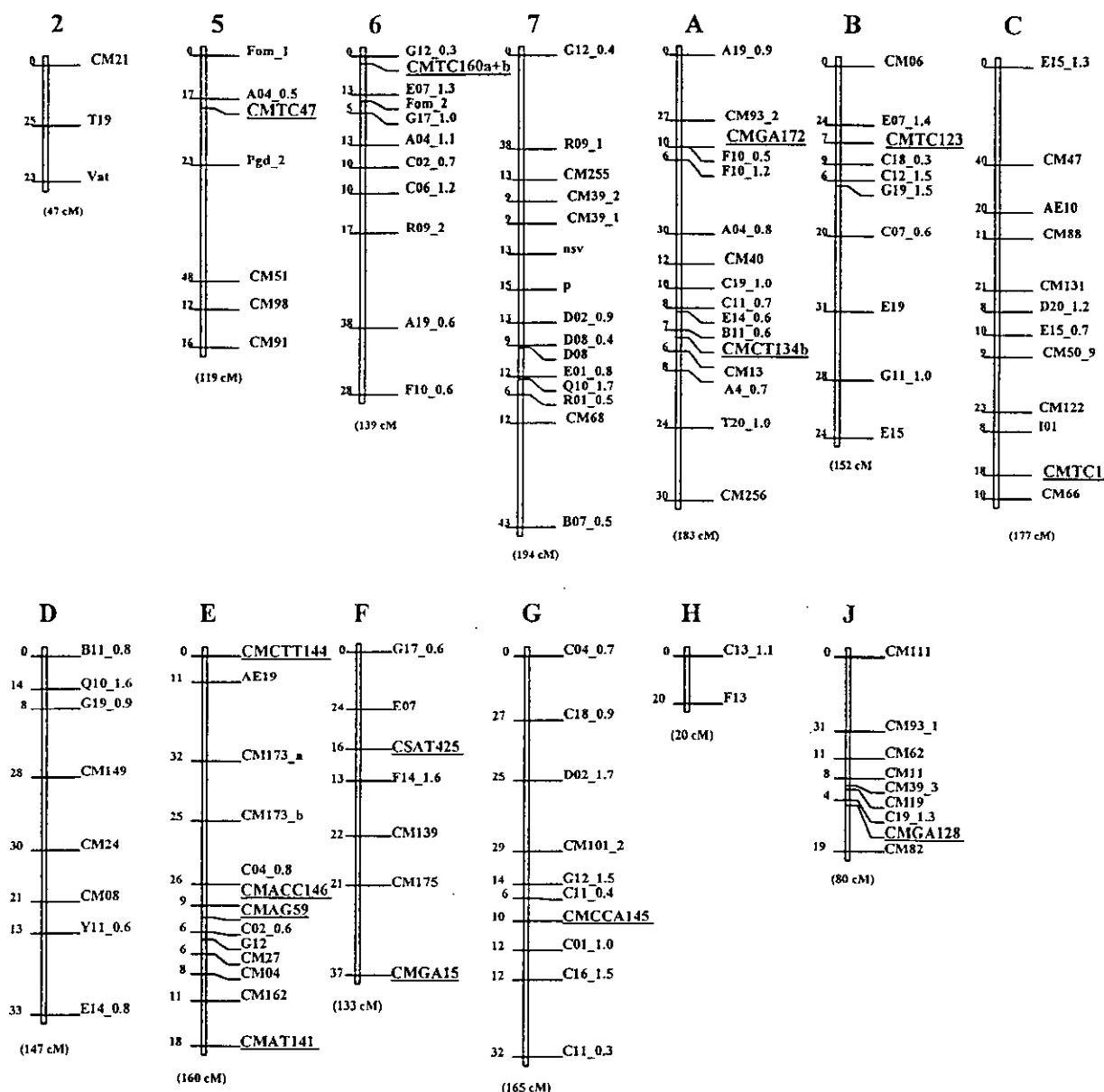
** Calculated for 22 gametes (11 cucumber varieties)

ns = no signal.

טבלה 4: יעילות סמני מיקרוסטליטים באוכלוסיות מיפוי שונות של מלון ומלפפון.

SSR designation	chromosomal location*	Mapping populations				
		Melon				Cucumber
		Védrantais PI161375	PI414723 Dulce	Piel de Sapo PI161375	MR-1 Ananas Yoque'am	GY14 PI183967
from genomic library melon						
CMTC13	E	-	+	+	+	-
CMAG59	E	+	+	+	+	-
CMGA127		-	+	-	+	
CMGA128	J	+	+	+	-	
CMGA15	F	+	+	+	-	-
CMGA104	6	+	+	+	+	
CMCT44		-	+	-	-	+
CMACC146	E	+	+	+	-	-
CMTC47	5	+	+	+	+	+
CMTC123	B	+	-	+	+	
CMAT141	E	+	+	+	+	-
CMCTT144	E	+	+	-	+	+
CMCCA145	G	+	-	+	+	+
CMGA/AC108	4	-	-	+	-	
CMTAA/GA166	2	-	-	+	+	+
CMTC168	C	+	+	+	+	
CMTA170a		-	+	+	+	
CMCT170b	J	-	+	+	+	
CMGA172	A	+	-	+	+	+
CMGA165	A	-	-	+	+	-
CMTA134a		+	+	+	+	
CMCT134b	A	+	+	+	+	
CMCT160a		-	+	-	-	+
CMTC160a+b	6	+	+	+	-	+
CMCT505	G	+	+	+	+	-
from cucumber cDNA library						
CSCTTT15		-	-	+	-	+
CSTCC813		-	-	-	-	+
CSCT335		-	-	-	-	+
from database melon						
CMAT35	2	+	-	+	-	+
cucumber						
CSGA057	E	-	+	+	+	+
CSAT542		-	-	-	-	+
CSAT214		-	-	-	-	+
CSAT425a	7	-	+	+	+	+
CSAT425b	F	+	-	+		-
CSCCT571	C	+	-	+	-	-
CSTA050		-	-	-	-	+

איור 4: שילוב מיקרוסטליטים (המסומנים בקו) במפה גנטית של מלון מההכלאה בין
PI161375 לבין Vedraltais



Unlinked: RAPD: C11_0.6, E07_0.7, E19_1.0, F13_0.4
RFLP: CM58, CM134, CM142, Pmel1
SSR: CMGA104, CSCCT571, CMCT505, CMAT35