

## Analisis Molekuler dan *Clustering* Piramidisasi Gen Tahan Virus *Ty-1*, *Ty-5* dan *Ty-6* pada Populasi BC<sub>4</sub>F<sub>1</sub> Tanaman Tomat (*Solanum lycopersicum* L.)

Janwar Eka Saputra<sup>1</sup>, Anas<sup>2</sup>, dan Noladhi Wicaksana<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Program Magister Agronomi, Fakultas Pertanian, Universitas Padjadjaran

<sup>2</sup>Departemen Budidaya Pertanian, Universitas Padjadjaran

Jl. Raya Bandung-Sumedang KM 21, Jatinangor 45363

\*Alamat korespondensi: anas@unpad.ac.id

### ABSTRACT

**Molecular Analysis and Clustering of *Ty-1*, *Ty-5* and *Ty-6* virus resistant genes piramyded in BC<sub>4</sub>F<sub>1</sub> population of Tomato Plants (*Solanum lycopersicum* L)**

Approach for breeding resistance crops using the pyramidization of virus-resistant genes is an effort to combine the resistance genes from host plants or their relatives that are responsible for adaptation and resistant to virus pathogen attacks. That could be an opportunity for developing durable resistance to various virus types. The crossing between null resistant-gene tomato parents and the presence of three resistant-gene tomato parents was performed to develop the BC<sub>4</sub>F<sub>1</sub> tomato population. The objective of the experiment was to identify the presence of *Ty-1*, *Ty-5* and *Ty-6* genes in BC<sub>4</sub>F<sub>1</sub> tomato population and to analyze genetic similarity among individual tomato plant of BC<sub>4</sub>F<sub>1</sub> population. Kinship through clustering analysis was conducted based on molecular markers analysis. The molecular analysis showed that 117 genotypes contained the *Ty-1* resistant genes, *Ty-5* resistant-gene for seven genotypes and 45 genotypes contained the *Ty-6* resistant-gene. Clustering analysis produced seven clusters by measuring the similarity based on Euclidean distance. Seventy-one genotypes were grouped in cluster 1 that almost contained *Ty-1* gene, three genotypes grouped in cluster 2 that contained only *Ty-5* gene, 43 genotypes grouped in cluster 3 that contained *Ty-1* + *Ty-6* gene, two genotypes grouped in cluster 4 that consisted of *Ty-1* + *Ty-5* gene, one genotype was in cluster 5 that brought *Ty-5* + *Ty-6*, one genotype was in cluster 6 that brought three resistant-genes *Ty-1* + *Ty-5* + *Ty-6*, and three genotypes did not have the resistant-genes in cluster 7. The seven groups of *Ty* gene combinations can be parental material for developing of further breeding activities.

Keywords: Begomovirus, Clustering hierarchical, Distance matrix, Identification of *Ty* genes, TYLCV

### ABSTRAK

Pendekatan pemuliaan ketahanan menggunakan piramidisasi gen tahan virus merupakan upaya dalam menggabungkan gen ketahanan dari tanaman inang atau kerabatnya yang bertanggung jawab dalam adaptasi dan ketahanan terhadap serangan patogen virus. Hal tersebut dapat menjadi peluang yang baik dalam pengembangan ketahanan yang tahan lama terhadap berbagai jenis virus. Persilangan antara tetua tomat yang tidak memiliki gen tahan dan tetua dengan tiga gen ketahanan dilakukan untuk mengembangkan populasi tomat BC<sub>4</sub>F<sub>1</sub>. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi keberadaan gen *Ty-1*, *Ty-5* dan *Ty-6* pada populasi tomat BC<sub>4</sub>F<sub>1</sub> dan untuk menganalisis kesamaan genetik antara individu tanaman tomat pada populasi BC<sub>4</sub>F<sub>1</sub>. Analisis kekerabatan melalui analisis pengelompokan dilakukan berdasarkan analisis penanda molekuler. Analisis molekuler menunjukkan bahwa 117 genotipe mengandung gen tahan *Ty-1*, tujuh genotipe dengan gen tahan *Ty-5*, dan 45 genotipe mengandung gen tahan *Ty-6*. Analisis klaster menghasilkan tujuh kluster dengan mengukur kesamaan berdasarkan jarak Euclidean. Tujuh puluh satu genotipe dikelompokkan dalam kelompok 1 yang mengandung gen *Ty-1*, Tiga genotipe yang dikelompokkan dalam klaster 2 yang hanya berisi gen *Ty-5*, 43 genotipe yang dikelompokkan dalam kelompok 3 yang

mengandung gen *Ty-1 + Ty-6*, dua genotipe yang dikelompokkan dalam kelompok 4 yang terdiri dari gen *Ty-1 + Ty-5*, satu genotipe berada di kelompok 7 dari kelompok gen *Ty-5* dan *Ty-6*, satu genotipe berada di klaster 6 yang membawa tiga gen tahan *Ty-1 + Ty-5 + Ty-6*, dan tiga genotipe tidak memiliki gen tahan di dalam kluster 7. Tujuh kelompok kombinasi gen *Ty* tersebut dapat menjadi materi tetua atau genotipe harapan bagi pengembangan kegiatan pemuliaan lanjutnya selanjutnya.

Kata Kunci: Begomovirus, Identifikasi gen *Ty*, Matrix jarak, Pengelompokan hierarkis, *TYLCV*

---

## PENDAHULUAN

Tanaman tomat (*Solanum lycopersicum* L.) merupakan salah satu tanaman hortikultura yang memiliki faktor pembatas produksi berupa serangan patogen virus dari genus begomovirus yaitu *Tomato Yellow Leaf Curl Virus* (*TYLCV*). *TYLCV* yang telah dilaporkan oleh Moriones & Castillo (2000) merupakan patogen virus yang banyak menyerang tanaman baik di daerah tropis maupun subtropis karena merupakan salah satu penyebab utama penurunan produksi tanaman. *TYLCV* merupakan salah satu virus dari genus Begomovirus dan merupakan genus yang tersebar luas dari keluarga Geminiviridae (Fauquet & Stanley, 2005). Kehilangan hasil akibat serangan *TYLCV* tercatat di berbagai Negara yaitu dengan kisaran 50-80 % bahkan dapat mencapai 100% (Mohamed, 2010; Rakib *et al.*, 2011). Di Indonesia, beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa serangan Begomovirus pada tanaman tomat di daerah Bogor dan sekitarnya dapat mencapai kurang lebih 50-70% (Sudiono dkk., 2004).

Hanson *et al.* (2000) menyatakan bahwa pendekatan pemuliaan ketahanan dengan introgressi gen tahan virus merupakan bagian dari upaya pemanfaatan gen-gen ketahanan dari tanaman inang ataupun kerabatnya. Ketahanan tersebut bertanggungjawab terhadap adaptasi dan respon tanaman inang terhadap serangan patogen virus yang dapat memberikan harapan dan peluang besar untuk pengembangan ketahanan yang bersifat *durable* (dapat bertahan lama dan berkelanjutan). Kultivar tahan *TYLCV* tersedia secara komersial di banyak daerah produksi tomat, dan sebagian besar menggunakan gen *Ty-1* yang berada di kromosom 6 yaitu gen yang teridentifikasi bersifat dominan akan tetapi gen *Ty-1* tidak efektif melawan beberapa jenis *TYLCV* dan beberapa Begomovirus lainnya (Hutton *et al.*, 2012). Selain gen *Ty-1*, beberapa gen ketahanan tambahan telah diidentifikasi termasuk *Ty-2*, *Ty-3*, *Ty-4*, dan *Ty-5*, dan yang terbaru adalah

gen *Ty-6* (Hutton *et al.*, 2012; Hutton & Scott, 2014). Pewarisan gen-gen *Ty-5* dan *Ty-6* telah banyak dikarakterisasi dalam persilangan piramidasi dan memiliki tingkat ketahanan lebih tinggi dan berbasis lebih luas terhadap berbagai virus Begomovirus (Mejia *et al.*, 2010; Vidavski, 2007).

Dalam merespon ketahanan terhadap *TYLCV* kombinasi dari gen-gen dengan konsep piramida gen jauh lebih baik dibandingkan dengan hanya memiliki satu gen dalam satu individu saja. Seperti yang disampaikan oleh Grimmer *et al.* (2015) bahwa konsep piramida gen memiliki prospek yang lebih besar untuk mencapai ketahanan yang tahan lama terhadap tekanan biotik dan abiotik pada tanaman. Gen ketahanan yang berbeda sering memberikan ketahanan terhadap spesies virus yang berbeda. Menggabungkan ketahanan dapat memperluas jumlah ras atau isolat yang lebih dari satu karakter dalam varietas pada saat yang bersamaan. Penelitian piramidasi gen *Ty* ini belum banyak dilakukan dan di lapangan keberadaan varietas tomat yang memiliki kombinasi dua sampai tiga gen memiliki ketahanan yang kuat terhadap begomovirus khususnya *TYLCV* dan disukai oleh petani.

Tomat hasil kegiatan introgresi dengan konsep piramidasi yang terkonfirmasi memiliki gen target *Ty* selanjutnya dianalisis hubungan kekerabatannya berdasarkan analisis ukuran kemiripan genetik. Analisis kekerabatan dilakukan berdasarkan marka molekuler yang dapat diketahui informasi tentang konstitusi genetik dari tiap kelompok genotip yang terbentuk. Selain itu analisis pengelompokan (*clustering*) dapat dilakukan dalam membantu kegiatan identifikasi dan analisis penampilan suatu genotip (Bennett, 1997). Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi keberadaan tiga gen tahan virus *TYLCV* yaitu *Ty-1*, *Ty-5* dan *Ty-6* hasil piramidasi pada populasi silang balik (*Backcrossing*) BC<sub>4</sub>F<sub>1</sub> berbasis marka molekuler serta mendapatkan informasi kemiripan genetik dari 124 genotip tanaman tomat populasi BC<sub>4</sub>F<sub>1</sub>.

## BAHAN DAN METODE

### Percobaan Lapangan

Percobaan ini dilaksanakan pada bulan September 2019 – Februari 2020 yang berlokasi di kebun percobaan PT. BISI International, Tbk - Farm lembang, di kampung Pamecelan Jl. Kolonel Masturi 112, Desa Sukajaya Kec. Lembang dengan ketinggian 1200 mdpl. Metode percobaan yang digunakan adalah eksperimen dengan rancangan percobaan tanpa tata ruang, populasi BC<sub>4</sub>F<sub>1</sub> merupakan generasi silang-balik keempat dari hasil persilangan generasi ketiga-BC<sub>3</sub>F<sub>1</sub> yang disilangkan dengan tetua BTM #96 (*recurrent*).

### Percobaan Laboratorium

Kegiatan identifikasi gen tahan *Ty* dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi BISI International Tbk, di Jl. Pare Wates Desa Sumberagung Kec. Pare Kab. Kediri, Jawa Timur. Isolasi DNA menggunakan metode *Cetyl Trimethylammonium Bromide* (CTAB) yang dimodifikasi (Doyle & Doyle, 1987). Proses amplifikasi menggunakan 1U DreamTaq DNA Polymerase (Thermo Fisher Scientific, USA) terdiri dari tahap pra-denaturasi 94°C selama 5 menit, dilanjutkan dengan denaturasi 94°C selama 30 detik, annealing 55°C selama 30 detik, dan extention 72°C dengan waktu 60 detik (untuk *Ty-1* dan *Ty-5*) dan

30 detik (untuk *Ty-6*) selama 40 siklus. Setelah itu dilanjutkan tahapan *post extention* 72°C selama 5 menit.

Analisis molekuler menggunakan 3 marka molekuler yang terkait dengan gen target *Ty* (Tabel 1). Semua penanda (marker) yang digunakan dalam penelitian ini berbasis PCR, termasuk wilayah penguatan sekuen yang ditandai (*SCAR-Sequence Characterized Amplification Region*) dan penanda urutan polimorfik terpotong (*CAPS- Sequence Characterized Amplification Region*). Setelah tahapan amplifikasi, produk PCR untuk deteksi gen *Ty-1* dan *Ty-5* perlu direstriksi menggunakan enzim yang sesuai. Produk hasil amplifikasi PCR divisualisasikan menggunakan alat Gel Logic 200 Imaging System (Kodak). Analisis molekuler antara tetua dan 122 genotip BC<sub>4</sub>F<sub>1</sub> dilakukan dengan menggunakan *XLSTAT 2000* untuk membentuk matrix *disimilarity shared allele distance* dengan koefisien *euclidean distance* sebagai pembentuk jarak genetik. Kemudian dilanjutkan dengan *clustering* untuk mengelompokkan genotip ke dalam beberapa klaster/kelompok berdasarkan kemiripan antar genotip dengan metode *Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Average* (UPGMA). Hasil *clustering* digambarkan sebagai sebuah dendogram untuk mengetahui *clustering* kemiripan diantara tetua dan genotip BC<sub>4</sub>F<sub>1</sub>.

Tabel 1. Marka molekuler yang digunakan dalam penelitian

Gen target	Marka molekuler	Enzim restriksi	Sequens primer		Chrom.	<i>Band Size</i>		Reference
			Forward (5'-3')	Reverse (5'-3')		Rentan	Tahan	
<i>Ty-1</i>	CAPS TG231	<i>Taq<sup>a</sup> I</i>	CCATCCTGATT GAAGGGAAAC AAGC	CTAGATGAAA TGTACCATGCT GCC	6	± 250 bp ± 400 bp	± 650 bp	Ji <i>et al.</i> (2007)
	SINAC1	<i>Taq<sup>a</sup> I</i>	TGCCTGGTTTC TGCTGTCA	TAAAGCTGAA GAAGGACTTA CCCT		±364 bp	±410 bp	
<i>Ty-6</i>	SSR SLM 10-46	-	TCGAGCTG	CATCTGAC	10	±220 bp	±244 bp	Kardirvel <i>et al.</i> (2012)
			GTACATAG	ACTTGGTCC				
			CTTCAT	AGAA				

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Analisis molekuler gen *Ty-1*, *Ty-5* dan *Ty-6* pada populasi BC<sub>4</sub>F<sub>1</sub>

Hasil pengujian analisis molekuler terhadap tetua dan 122 populasi BC<sub>4</sub>F<sub>1</sub> dengan teknik PCR menunjukkan bahwa semua sampel individu tanaman BC<sub>4</sub>F<sub>1</sub> tidak memiliki genotipe homozigot

tahan *Ty-1*, *Ty-5* dan *Ty-6*. Sebagian besar memiliki genotipe heterozigot *Ty1*, *Ty1/Ty6* dan homozigot rentan *Ty5* dan *Ty6*. Disamping itu, beberapa individu mengandung genotipe heterozigot *Ty5*, *Ty1/Ty5*, *Ty5/Ty6* dan *Ty1/Ty5/Ty6* serta homozigot rentan *Ty1* (Gambar 1, 2 dan 3). Jika gen telah terintegrasi dengan baik pada genom tanaman, maka gen akan lebih stabil dan dapat diwariskan pada

sebagian besar tanaman keturunannya (Christou *et al.*, 1982). Pada tanaman menyerbuk sendiri (*self-pollination*) seperti tomat, umumnya akan memiliki integrasi gen yang stabil pada generasi ke-4,

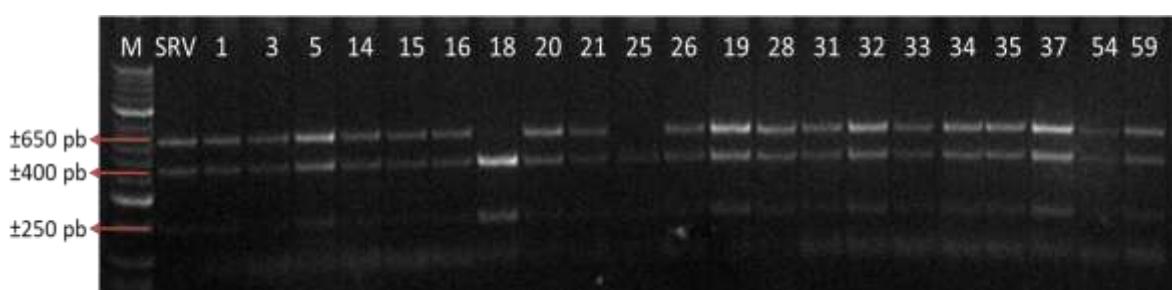
sedangkan pada tanaman menyerbuk silang baru akan terintegrasi stabil pada generasi ke-8 (Oard *et al.*, 1996).

Tabel 2. Hasil analisis PCR tetua reccurent, donor dan 122 individu BC<sub>4</sub>F<sub>1</sub>

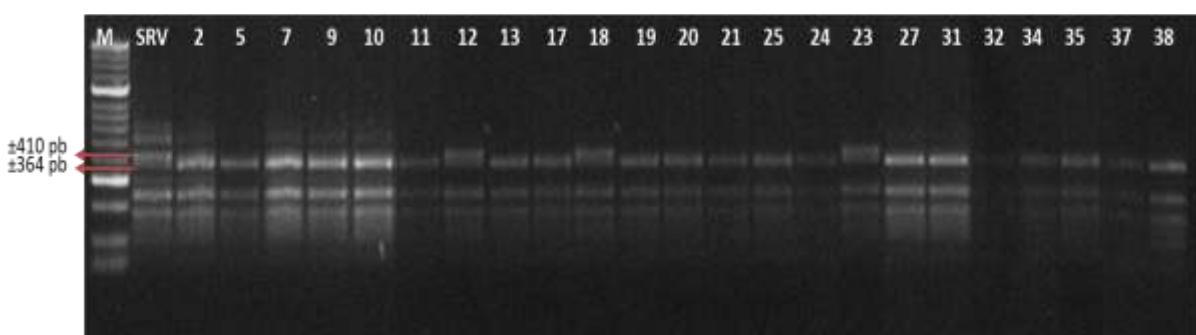
Identifikasi gen	Jumlah sampel	Jumlah sampel positif	Jumlah sampel negatif
Gen <i>Ty-1</i>	124	117 (94,4%)	7 (5,6 %)
Gen <i>Ty-5</i>	124	7 (5,6 %)	117 (94,4 %)
Gen <i>Ty-6</i>	124	45 (36,3 %)	79 (63,7 %)

Dari data Tabel 2 dan Gambar 1, 2 dan 3 menunjukkan bahwa gen *Ty-1* diwariskan lebih banyak ke dalam populasi hasil *backcrossing* ke-4 (BC<sub>4</sub>) dengan terlihat banyaknya individu (94,4%) yang positif mengandung gen *Ty-1* dibandingkan dengan keberadaan gen *Ty-5* (5,6 %) dan *Ty-6* (36,3 %). Hal itu dimungkinkan terjadi karena Gen

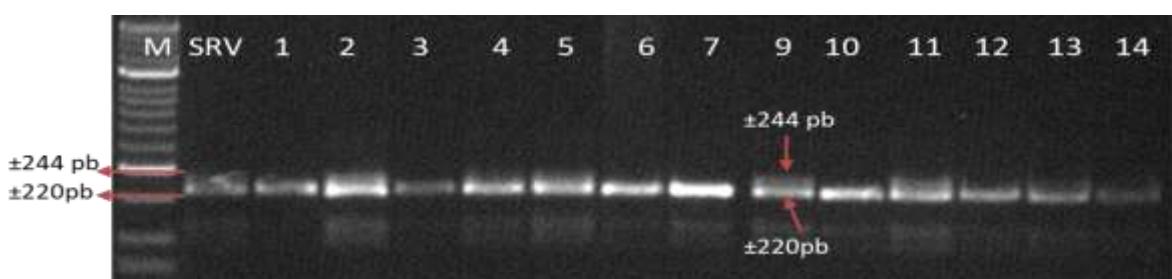
*Ty-1* pewarisannya berifat dominan dan Gen *Ty-5* bersifat secara resesif (Hutton, 2017) serta pewarisan gen *Ty-6* adalah bersifat parsial dominan (Gill *et al.*, 2019), sehingga peluang banyaknya gen *Ty-1* berada di dalam populasi BC<sub>4</sub>F<sub>1</sub> lebih tinggi dibandingkan dengan keberadaan gen *Ty-5* dan *Ty-6*.



Gambar 1. Visualisasi fragmen gen *Ty-1* hasil amplifikasi dengan primer CAPS TG231 dengan enzim restriksi *Taq*<sup>a</sup> *I* (Ji *et al.*, 2007) pada populasi BC<sub>4</sub>F<sub>1</sub>.



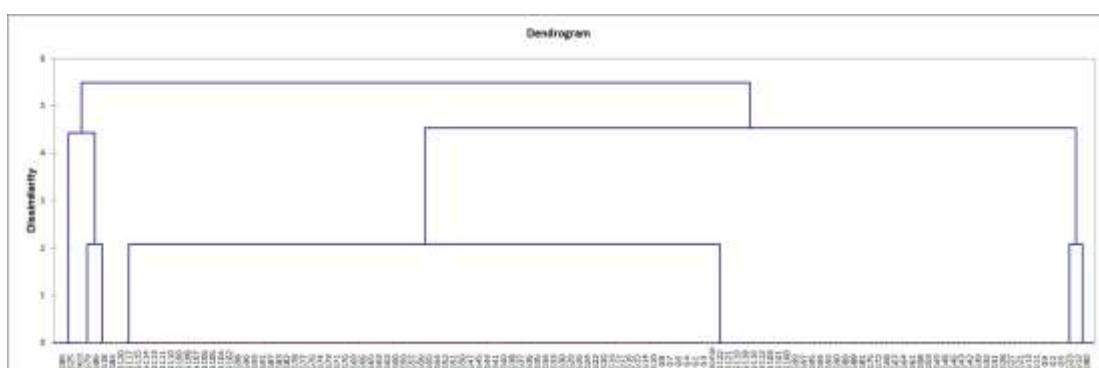
Gambar 2. Visualisasi fragmen gen *Ty-5* hasil amplifikasi dengan primer CAPS SINAC1 dengan enzim restriksi *Taq*<sup>a</sup> *I* (Anbinder *et al.*, 2009) pada populasi BC<sub>4</sub>F<sub>1</sub>.



Gambar 3. Visualisasi fragmen gen *Ty-6* hasil amplifikasi dengan primer SSR SLM10-46 (Kardirvel *et al.*, 2012) pada populasi BC<sub>4</sub>F<sub>1</sub>.

Berdasarkan hasil visualisasi fragmen gen *Ty-1* hasil amplifikasi dengan primer CAPS TG231 dengan enzim restriksi *Taq<sup>a</sup> I* (Gambar 1) menunjukkan keberadaan beberapa genotipe heterozigot *Ty-1* dari 117 genotipe yang teridentifikasi dan yang tidak memiliki gen *Ty-1* dari total 124 sampel individu yang dianalisis (Tabel 2). Berdasarkan hasil visualisasi fragmen gen *Ty-5* hasil amplifikasi dengan primer CAPS SINAC1 dengan enzim restriksi *Taq<sup>a</sup> I* (Gambar 2) menunjukkan keberadaan genotipe heterozigot *Ty-5*

dari 7 genotipe yang teridentifikasi dan yang tidak memiliki gen *Ty-5* dari total 124 sampel individu yang dianalisis (Tabel 2). Berdasarkan hasil visualisasi fragmen gen *Ty-6* hasil amplifikasi dengan primer CAPS SINAC1 dengan enzim restriksi *Taq<sup>a</sup> I* (Gambar 3) menunjukkan keberadaan genotipe heterozigot *Ty-6* dari 45 genotipe yang teridentifikasi dan yang tidak memiliki gen *Ty-6* dari total 124 sampel individu yang dianalisis (Tabel 2).



Gambar 4. Dendogram metode *Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Average* (UPGMA) berdasarkan hasil analisis marka molekuler pada 124 individu BC4F1, tetua donor dan reccurent.

Tabel 3. Kelompok klaster berdasarkan marka molekuler gen *Ty* dengan pengelompokan (*clustering*) metode UPGMA dengan jarak *Euclidean* (*Euclidean distance*) menggunakan 7 klaster

Kelompok klaster	Kelompok Gen	Genotip
1	<i>Ty-1</i> (71 genotip)	#1, #3, #4, #6, #7, #8, #10, #14, #15, #16, #17, #19, #20, #22, #24, #26, #29, #30, #33, #34, #35, #36, #37, #38, #40, #41, #44, #45, #47, #50, #51, #52, #54, #55, #56, #57, #59, #60, #62, #63, #65, #66, #69, #70, #71, #73, #74, #76, #77, #78, #82, #83, #87, #91, #91, #93, #96, #98, #102, #104, #105, #106, #107, #108, #109, #110, #111, #113, #114, #115, #117, #120
2	<i>Ty-5</i> (3 genotip)	#18, #84, #86
3	<i>Ty-1 + Ty-6</i> (43 genotip)	#2, #5, #9, #11, #13, #21, #27, #28, #31, #32, #39, #42, #43, #46, #48, #49, #53, #58, #61, #64, #67, #68, #72, #75, #81, #88, #89, #90, #92, #94, #95, #97, #99, #100, #101, #103, #112, #116, #118, #119, #121, #122, #Donor
4	<i>Ty-1 + Ty-5</i> (2 genotip)	#12, #80
5	<i>Ty-5 + Ty-6</i> (1 genotip)	#79
6	<i>Ty-1 + Ty-5 + Ty-6</i> (1 genotip)	#23
7	Tidak ada gen (3 genotip)	#25, #85, #Tetua Reccurent

#### Analisis *Clustering* atau Pengelompokan Tetua dan Individu Populasi BC4F<sub>1</sub> Berdsarkan Marka Molekuler

Berdasarkan hasil analisis *clustering* dengan menggunakan metode UPGMA (Gambar 4)

memunculkan keragaman genetik dari ukuran ketidakmiripan (*Euclidean distance*) dan terbentuk tujuh klaster berdasarkan keberadaan gen *Ty-1*, *Ty-5* dan *Ty-6* pada setiap individu populasi BC4F<sub>1</sub> dan menempati klaster yang berbeda-beda (Tabel 3).

Kelompok klaster yang hanya memiliki satu gen *Ty* berada pada klaster 1 dengan kelompok gen *Ty-1* dan klaster 2 dengan kelompok gen *Ty-5*, kemudian untuk klaster yang memiliki dua kombinasi gen *Ty* berada pada klaster 3 dengan kelompok gen *Ty1 + Ty-6*, klaster 4 dengan kelompok gen *Ty-1 + Ty-5* dan klaster 5 dengan kelompok gen *Ty-5 + Ty-6*. Sedangkan klaster dengan kombinasi tiga gen yaitu *Ty-1 + Ty-5* dan *Ty-6* berada pada klaster ke enam dan klaster yang tidak memiliki gen *Ty* berada pada klaster ke tujuh. Kover *et al* (2009) menyampaikan bahwa keragaman dapat terjadi karena penggabungan gen target yang berasal dari hasil persilangan beberapa generasi dan menghasilkan populasi heterozigot yang sangat tinggi. Suatu individu akan semakin mirip dengan individu yang lain jika posisinya semakin berdekatan, dengan kata lain jarak diantara individu genotipe akan semakin kecil ketika nilai *Euclidean distance* semakin kecil.

### SIMPULAN

Berdasarkan hasil analisis molekuler terdapat individu yang memiliki gen *Ty-1* sebanyak 117 genotip, gen *Ty-5* sebanyak 7 genotip dan gen *Ty-6* sebanyak 45 genotip dari 124 genotip yang diuji/identifikasi dan dari hasil tersebut dilakukan analisis *hierarchical clustering* metode *UPGMA* dan diperoleh tujuh klaster dengan pengukuran kemiripan jarak *Euclidean* (*Euclidean distance*). Tujuh klaster tersebut yaitu klaster 1 dengan kelompok gen *Ty-1* sebanyak 71 genotip, klaster 2 dengan kelompok gen *Ty-5* sebanyak 3 genotip, Klaster 3 dengan kelompok gen *Ty-1 + Ty-6* sebanyak 43 genotip, klaster 4 dengan kelompok gen *Ty-1 + Ty-5* sebanyak 2 genotip, klaster 5 kelompok gen *Ty-5* dan *Ty-6* sebanyak 1 genotip, klaster 6 dengan kelompok gen *Ty-1 + Ty-5 + Ty-6* sebanyak 1 genotip, dan klaster 7 dengan kelompok tidak memiliki ketiga gen sebanyak 3 genotip. Informasi pengelompokan tersebut dapat dijadikan sebagai materi tetua atau genotip harapan bagi pengembangan kegiatan pemuliaan lanjutan berikutnya.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada pimpinan manajemen PT. BISI International, Tbk yang telah memberikan beasiswa magister UNPAD 2018, pimpinan Departemen Horticulture Crop Research & Development (HCRD) serta Laboratorium of Molecular Breeding Departemen

Bioteknologi BISI International, Tbk atas bantuan kegiatan analisis molekuler.

### DAFTAR PUSTAKA

- Anbinder, I, M Reuveni, R Azari, I Paran, S Nahon, H Shlomo, L Chen, M Lapidot, and I Levin. 2009. Molecular dissection of Tomato leaf curl virusresistance in tomato line TY172 derived from *Solanum peruvianum*. Springer. Theor Appl Genet. 119(3): 519-530.
- Bennett, SJ. 1997. A phonetic analysis and lateral key of the genus *Lolium* (Graminae). Genet Resour Cop Ev. 44: 63-72.
- Christou, P, P Vain, A Kohli, M Leech, J Oard, and S Linscombe. 1992. Introduction of multiple genes into elite rice varieties: Evaluation of transgene stability, gene expression, and field performance of herbicide-resistant transgenic plants. Ann. Bot. 77: 223-235.
- Doyle, JJ, and JL Doyle. 1987. Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus. 12: 13-15.
- Fauquet, CM, and J Stanley. 2005. Revising the way we conceive and name viruses below the species level: a review of geminivirus taxonomy calls for new standardized isolate descriptors. Archives of Virology. 150: 2151-79.
- Gill, U, JW Scott, R Shekastehband, E Ogundiwin, C Schuit, DM Francis, SC Sim, H Smith, SF Hutton. 2019. *Ty-6*, a major begomovirus resistance gene on chromosome 10, is effective against Tomato yellow leaf curl virus and Tomato mottle virus. Theoretical and Applied Genetics. 132: 1543-1554.
- Grimmer, MK Boyd, LA Clarke, SM, and ND Paveley. 2015. Pyramiding of partial disease resistance genes has a predictable, but diminishing, benefit to efficacy. Plant Pathology. 64: 748-753.
- Hanson P, DM Bernacchi, S Green, SD Tanksley, V Muniyappa, AS Padmaja, HM Chen, G Kuo, D Fang, and JT Chen. 2000. Mapping a wild tomato introgression associated with Tomato yellow leaf curl virus resistance in cultivated tomato line. Journal of the American Society for Horticultural Science. 125(1): 15-20.
- Hutton, SF, JW Scott, and DJ Schuster. 2012. Recessive resistance to Tomato yellow leaf

- curl virus from the tomato cultivar Tyking is located in the same region as Ty-5 on chromosome 4. HortScience 47: 324-327.
- Hutton, SF, and JW Scott. 2014. Ty-6, a major begomovirus resistance gene located on chromosome 10. Rept. Tomato Genet. Coop. 64:14-18.
- Hutton Samuel F. and John W. Scott. 2017. Fla. 7907C: A Fla. 7907 Near-isogenic Tomato Inbred Line Containing the Begomovirus Resistance Gene, Ty-1. HORTSCIENCE 52(4):658-660.
- Ji, Y, DJ Schuster, and JW Scott. 2007. Ty-3, a begomovirus resistance locus near the Tomato yellow leaf curl virus resistance locus Ty-1 on chromosome 6 of tomato. Molecular Breeding 20: 271-284. Journal of the American Society for Horticultural Science. 134(2): 281-288.
- Kardirvel, P, RDL Pena, R Schafleirner, S Huang, S Geethanjali, L Kenyon, W Tsai, and P Hanson. 2012. Mapping of QTLs in tomato line FLA456 associated with resistance to a virus causing Tomato yellow leaf curl disease. Euphytica. 190: 297-308.
- Kover, PX, W Valdar, J Trakalo, N Scarelli, IM Ehrenreich, MD Purugganan, C Durrant, and R Mott. 2009. A multiparent advanced generation inter-cross to fine-map quantitative traits in *Arabidopsis thaliana*. PLoS Genetics. 5(7): 1-15.
- Mejia, L, RE Teni, BE Garcia, AC Fulladolsa, and L Mendez. 2010. Preliminary observations on the effectiveness of five introgressions for resistance to begomoviruses in tomatoes. Rept. Tomato Genet. Coop. 60: 41-53.
- Mohamed, EF. 2010. Interaction between some which attack tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) plant and their effect on growth yield of tomato plants. J.Am.Sci. 6: 211-320.
- Moriones, E, and NJ Castillo. 2000. Tomato yellow leaf curl virus an emerging virus complex causing epidemic worldwide. Virus Res. 71: 123-34.
- Oard, JH, SD Linscombe, MP Braverman, F Jodari, DC Blouin, M Leech, and A Kohli, P Vain, JC Cooley, and P Christou. 1996. Development, field evaluation, and agronomic performance of transgenic herbicide resistant rice. Molecular Breeding. 2: 359-368.
- Rakib, AA, MA Adhab, SAH Hamad, and SNH Diwan. 2011. Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV), identification, virus vector relationship, strains characterization and a suggestion for its control with plant extracts in Iraq. Afr.J.Agric.Res. 6: 5149-55.
- Sudiono, SH Hidayat, R Suseno, and S Sosromarsono. 2004. Penggunaan teknik PCR dan RFLP untuk deteksi dan analisis virus gemini pada tanaman tomat yang berasal dari berbagai daerah di Jawa Barat dan Lampung. J. Hama dan Penyakit Tumbuhan Tropika. 4: 89-93.
- Vidavski, F. 2007. Exploitation of resistance genes found in wild tomato species to produce resistant cultivars; pile up of resistant genes. In: Pp. 363-372. Tomato Yellow Leaf Curl Virus Disease: Management, Molecular Biology, Breeding for Resistance (H Czosnek, ed.). Springer. Dordrecht.