

Pemetaan Gen Resistensi Lapangan terhadap Penyakit Hawar Daun Kentang pada Populasi F1 *Solanum tuberosum* (SH2988) x *Solanum microdontum* (MCD167)

Mapping of Field Resistance Genes to late blight in Solanum tuberosum (SH2988) x Solanum microdontum (MCD167) potato progenies

J. M. Tutupary^{1*}, Gustav A. Wattimena², Hajrial Aswidinnoor², Muladno³

Diterima 8 Januari 2004/Disetujui 30 November 2004

ABSTRACT

Potatoes can be severely affected by late blight, a fungal disease caused by *Phytophthora infestans*, which can destroy the foliage and tubers of the crop. Initial attempts to control late blight in potato deployed resistance genes (*R* genes) derived from the hexaploid *Solanum demissum* (*R1* - *R11*). However, their immunity reaction can be easily overcome by the development of new virulent factors. It is currently accepted that the most effective solution against late blight involve the use of field-resistant varieties as part of an integrated pest management strategy. Field resistance to *Phytophthora infestans* were examined in a diploid segregating potato population. The population produced crosses between *Solanum microdontum* genotype (MCD167) and *S. tuberosum* genotype (SH2988) have been assessed for resistance to *P. infestans* (late blight) in the field and proved to segregate for *P. infestans* resistance. A genetic linkage map of this population was constructed by using PCR-based CAPS markers. The result showed that one QTL on foliage resistance to late blight were linked with marker GP180 on chromosome 4 of potato in coupling phase.

Key words : CAPS markers, Field resistance, Late blight, *Phytophthora infestans*, potato, QTL.

PENDAHULUAN

Salah satu tahapan yang penting dalam pemuliaan tanaman adalah seleksi tanaman untuk mendapatkan tanaman yang memiliki gen-gen yang mengatur sifat-sifat yang diinginkan.

Seleksi biasanya dilakukan melalui pengamatan langsung fenotipe tanaman. Namun dengan kemajuan-kemajuan di bidang biologi molekuler, telah dihasilkan jenis marka baru untuk membantu pemuliaan tanaman yaitu marka molekuler atau marka DNA. Mohan *et al.* (1997) mengatakan bahwa marka molekuler memberikan keleluasaan yang besar untuk meningkatkan efisiensi pemuliaan tanaman konvensional melalui pelaksanaan seleksi tidak langsung pada sifat yang diinginkan, tetapi pada marka molekuler yang bertautan dengan sifat tersebut. Analisis tautan untuk membuat peta genetik adalah salah satu metode dasar dan sangat diperlukan dalam genetika dan pemuliaan tanaman.

Peta genetik kentang dari gen-gen resistensi terhadap hawar daun (*Phytophthora infestans*) telah dibuat oleh Leonards-Schippers *et al.* (1992), Leonards-Schippers *et al.* (1994), El-Kharbotly *et al.* (1994), El-

Kharbotly *et al.* (1996), Li *et al.* (1998), Collins *et al.* (1999), Oberhagemann *et al.* (1999), dan Sandbrink *et al.* (2000). Percobaan pemetaan membantu dalam merencanakan strategi seleksi yang dibantu oleh marka molekuler.

Sandbrink *et al.* (2000) telah melakukan analisis genetik resistensi lapangan terhadap penyakit hawar daun dengan menggunakan marka AFLP, RFLP, Mikrosatelit dan CAPS (Cleaved Amplified Polymorphic Sequence) pada populasi F1 dari hasil persilangan *Solanum microdontum* (MCD167) ($2n = 2x$) sebagai sumber gen resistensi lapangan dengan menggunakan 3 genotipe *S. tuberosum* dihaploid (SH2988, SH111 dan SH223) sebagai tetua rentan yang telah dinilai resistensinya terhadap *P. infestans* di lapangan. Populasi F1 ini digunakan karena berdasarkan hasil penelitian Colon *et al.* (1995) tetua *S. microdontum* ini heterozigot untuk gen resistensi terhadap *P. infestans*, sehingga pada F1 telah terbentuk populasi bersegregasi. Dari hasil penelitian Sandbrink *et al.* (2000) diperoleh bahwa terdapat 1 QTL mayor yang memberikan kontribusi pada resistensi yang berlokasi pada kromosom 4 dari populasi MCD167. Namun, marka yang bertautan erat dengan gen resistensi ini ternyata bertautan dalam fase

¹ Jurusan Budidaya Pertanian, Faperta, Universitas Pattimura, Ambon. E-mail: jmtutupary@yahoo.com (*Penulis: untuk korespondensi)

² Jurusan Budidaya Pertanian, Faperta, Institut Pertanian Bogor, Kampus Darmaga, Bogor 16680

³ Jurusan Ilmu Produksi Ternak, Fapet, Institut Pertanian Bogor, Kampus Darmaga, Bogor 16680

repulsion atau trans, sehingga tidak dapat digunakan secara kontinyu dalam setiap populasi persilangan berikutnya untuk mendeteksi gen resistensi. Tautan dalam fase repulsion atau trans artinya lokus marka molekuler terletak pada satu kromosom sedangkan gen resistensi terletak pada kromosom lain yang berpasangan, sedangkan terjadinya tautan dalam fase koupling atau sis bila lokus marka molekuler dan gen resistensi terletak pada kromosom yang sama. Karena itu upaya untuk mencari marka yang bertautan secara koupling dengan gen resistensi pada kromosom 4 ini perlu dilakukan.

Studi ini dilakukan dengan menggunakan 1 populasi F1 yang digunakan oleh Sandbrink *et al.* (2000) yaitu populasi hasil persilangan MCD167 dengan SH2988. Marka CAPS dengan beberapa primer yang telah diketahui terletak pada kromosom 4 tanaman kentang (Oberhagemann *et al.*, 1999; Leonards-Schippers *et al.*, 1994; Tanksley *et al.*, 1992; Gebhardt *et al.*, 1991) digunakan untuk analisis genetik ini. Marka CAPS adalah marka yang bersifat kodominan yang biasa digunakan apabila hasil amplifikasi dengan PCR adalah homomorfik, sehingga untuk memperoleh pita polimorfik, maka hasil amplifikasi tersebut perlu dipotong dengan enzim restriksi tertentu. Marka CAPS dibuat dari marka RFLP, RAPD atau AFLP dengan menggunakan genom DNA spesifik. Marka ini telah dipakai untuk menentukan lokasi yang tepat dari gen resistensi penyakit karat daun *Rph7* yang disebabkan oleh *Puccinia hordei* Oth pada barley (Graner *et al.*, 2000), dan juga untuk pemetaan gen resistensi *Mlg* terhadap cendawan biotropik *Erysiphe graminis* yang menyebabkan penyakit *powdery mildew* pada barley (Kurt *et al.*, 2001). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan marka spesifik yang bertautan dengan gen resistensi dalam fase koupling terhadap penyakit hawar daun.

BAHAN DAN METODA

Tempat dan Waktu Penelitian

Percobaan ini dilakukan di laboratorium Plant Research International (PRI), Wageningen, Belanda sejak bulan Oktober 2000 sampai Agustus 2001.

Bahan

Bahan tanaman yang digunakan adalah tetua kentang liar diploid *Solanum microdontum* aksesi BGRC 24.981 yang memiliki resistensi lapang terhadap *P. infestans*, tetua *S. tuberosum* SH2988 dihaploid berumur dalam dan rentan, dan generasi F1 hasil persilangan kedua tetua dengan populasi 46 tanaman.

Pengujian Penyakit

Uji patogenesis tanaman pada populasi ini di lapangan telah dilakukan oleh Sandbrink *et al.* (2000) dengan menggunakan ras kompleks 1.2.3.4.5.7.10.11.

Marka CAPS, Amplifikasi DNA dan Deteksi Polimorfisme

DNA genomik total dari tanaman tetua dan tanaman F1 sebagai template untuk marka CAPS telah diisolasi oleh Sandbrink *et al.* (2000). Ada 6 pasang primer yang digunakan yaitu TG123F, TG123R, TG15F, TG15R, GP180, dan MBF3. Primer TG123F, TG123R, TG15F dan TG15R merupakan primer yang baru dirancang dari genom tomat hasil RFLP dengan probe TG15 dan TG123 yang telah disisipkan pada plasmid SK' dari bakteri *E. coli*. Untuk merancang primer dari genom ini, pertama-tama dilakukan pembiakan bakteri dalam media LB_{OX} (Luria-Bertani). Selanjutnya, plasmid diambil dan dipurifikasi, kemudian diamplifikasi dengan menggunakan primer M13. Setelah itu hasil amplifikasi tadi dimurnikan sehingga hanya yang tinggal sekuens hasil amplifikasi, kemudian hasil amplifikasi tadi disekuens untuk mendapatkan urutan basa DNA. Dari hasil sekuens ini kemudian ditentukan urutan basa dari primer seperti ditunjukkan pada Tabel 1. Primer GP180 dirancang oleh Oberhagemann *et al.* (1999) berdasarkan genom kentang hasil RFLP dari probe GP180 yang dirancang oleh Gebhard *et al.* (1989), sedangkan primer MBF3 dirancang oleh Feltkamp *et al.* (1994). Volume total reaksi dalam pelaksanaan PCR adalah 20 µL yang terdiri dari 1 µL DNA (100ng/µL), 0.4 µL primer Forward, 0.4 µL primer Reverse (500 ng/µL), 0.2 µL dNTP 25 mM, 0.08 µL enzim Taq DNA polimerase (5 unit/µL), 2.0 µL 10x buffer CAPS dan 15.92 µL H₂O. PCR dilakukan dengan alat MJ Research PTC-200 yang diprogram untuk 1 menit permulaan pada suhu 94°C, kemudian 94°C selama 15 detik, 53°C selama 45 detik dan 72°C selama 3 menit untuk 35 siklus dan diakhiri selama 2 menit pada suhu 72°C dan diikuti dengan pendinginan yang diatur sampai suhu 10°C. Setelah itu hasil amplifikasi ini dielektroforesis pada 1% gel agarosa untuk mengetahui apakah pita yang dihasilkan polimorfik atau homomorfik. Apabila terjadi amplifikasi dengan pita homomorfik untuk kedua tetua dari setiap primer, maka hasil amplifikasi tersebut dipotong dengan enzim restriksi dan kemudian dielektroforesis dengan menggunakan 2% gel agarosa untuk melihat polimorfisme yaitu ada atau tidak pita spesifik untuk tetua resisten. Untuk memotong produk PCR dengan enzim restriksi, diambil 10 µL produk PCR dan ditambah 1 µL buffer CAPS, 8.5 µL H₂O kemudian ditambah dengan 0.5 µL enzim dan diletakkan didalam inkubator dengan temperatur 37°C selama 3 jam. Setelah itu, dielektroforesis kembali dan diamati pada transilluminator UV dan difoto.

Tabel 1. Sekuens primer dari marka CAPS yang digunakan dalam penelitian

Primer	Urutan Basa 5' → 3'	
	Forward	Reverse
TG123F	TGGATATCTTGCTCGCAAGG	AAAGCACGTCGTTATGGCAC
TG123R	ACGTGTTTATCACTCATCCAC	TTTTCTAGAGTTCCCTGAAGC
TG15F	ATGCAAGGAAATCAAGGGAG	CTCTCTCAACGAGAGACC
TG15R	TGTTGATAGCGGAGGAAAGG	GCGTCGAGAAAACGTTTCAG
GP180	TCCACCCCTGGATTCAAGAA	TCAAACCTCTTCACAAAGCA
MBF3	GAAGTCTGTATTTGATACG	GATCTAAATCCATAATTTTACTAG

Analisis Segregasi, Jarak Peta dan Tautan

Setelah diperoleh pita spesifik pada tetua resisten, maka pita ini dipakai untuk menilai populasi F1. Apabila terdapat pita spesifik pada setiap individu populasi F1, diberikan simbol *ab* sedangkan yang tidak ada pita spesifik diberi simbol *aa*. Kemudian analisis segregasi dilakukan dengan menggunakan Uji χ^2 , sedangkan, estimasi nilai frekuensi rekombinasi (*r*) yang merupakan jarak peta dilakukan dengan menggunakan rumus yang dikemukakan oleh Stam (2001) yaitu : $r = k/N$ dengan *k*: jumlah contoh populasi F1 rekombinan, *N*: jumlah total populasi F1. Analisis tautan diantara sifat resistensi dan marka CAPS dilakukan dengan menggunakan skor LOD dengan rumus yang dikemukakan oleh Stam (2001) :

$$\text{LOD} = a \log(a'/0.25) + b \log(b'/0.25) + c \log(c'/0.25) + d \log(d'/0.25)$$

dengan *a*: jumlah individu yang mempunyai simbol *ab* pada sifat resistensi dan *ab* pada marka CAPS, *a'*: nilai *a* per total populasi, *b*: jumlah individu yang mempunyai simbol *ab* pada sifat resistensi dan *aa* pada marka CAPS, *b'*: nilai *b* per total populasi, *c*: jumlah individu yang mempunyai simbol *aa* pada sifat resistensi dan *ab* pada marka CAPS, *c'*: nilai *c* per total populasi, *d*: jumlah individu yang mempunyai simbol *aa* pada sifat resistensi dan *aa* pada marka CAPS, *d'*: nilai *d* per total populasi. Apabila nilai LOD yang dihitung ≥ 3 , berarti terdapat tautan antar marka dengan gen resistensi (Stam 2001).

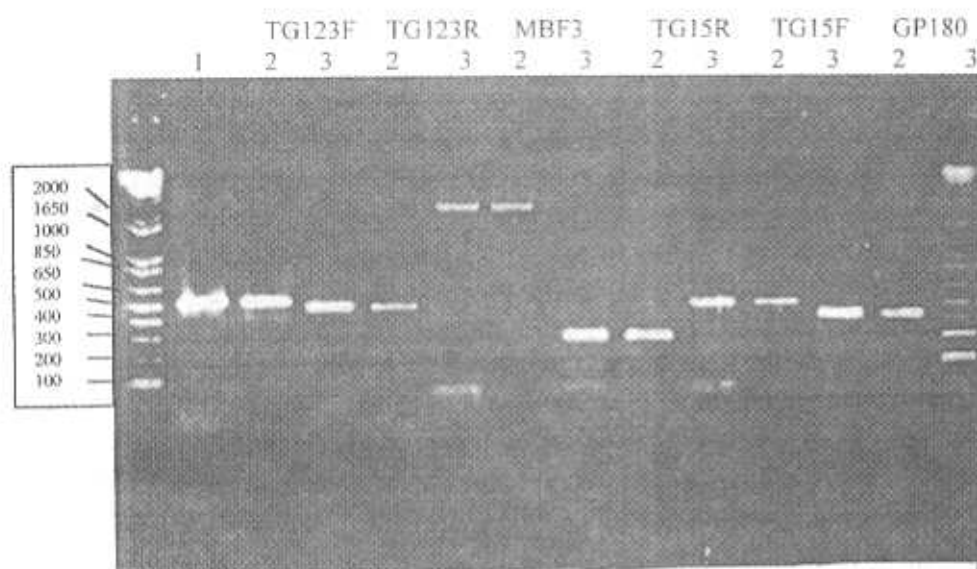
HASIL DAN PEMBAHASAN

Produk PCR dari Marka CAPS

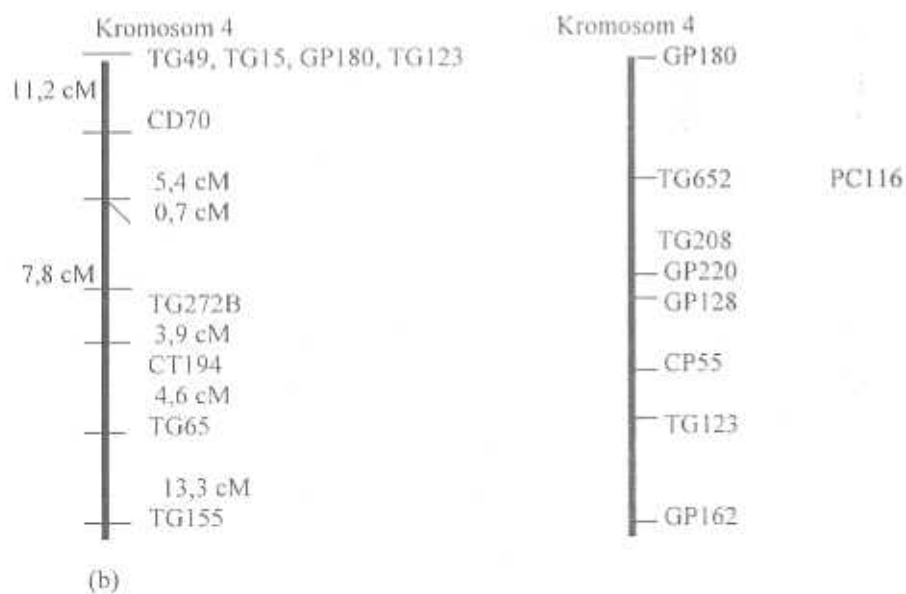
Produk PCR dari keenam primer ini pada tetua MCD167 dan tetua SH2988 dapat dilihat pada Gambar 1. Pita DNA yang diperoleh pada tetua resisten dan rentan pada semua primer adalah pita DNA tunggal yang masih homomorfik atau dengan ukuran yang sama untuk setiap primer. Antar primer terdapat perbedaan

ukuran pita terutama pada primer MBF3 yang mencapai diatas 2 kb, sedangkan primer lainnya menghasilkan pita DNA sebesar sekitar 500 pb pada primer TG123F, hampir 500 pb pada primer TG123R dan TG15F, 400 pb pada primer GP180, dan 300 pb pada primer TG15R. Namun, keempat primer yang dibuat ini tidak menghasilkan pita spesifik untuk tetua resisten walaupun telah dipotong dengan 55 enzim restriksi, sehingga tidak dapat digunakan selanjutnya untuk pemetaan gen resistensi. Apabila memperhatikan hasil penelitian pemetaan genetik yang dilakukan oleh Tanksley *et al.* (1992) dengan menggunakan populasi silang balik dari F1 hasil persilangan *S. tuberosum* x *S. berthaultii* dengan tetua *S. berthaultii*, maka ditemukan bahwa marka RFLP TG15 dan TG123 berada pada posisi yang sama dengan GP180 pada kromosom 4 kentang seperti ditunjukkan pada Gambar 2(a). Ini berarti bila marker GP180 bertautan dengan gen resistensi, maka marka TG15 dan TG123-pun seharusnya bertautan juga dengan gen resistensi. Namun berdasarkan hasil penelitian Gebhardt *et al.* (1991) yang menggunakan populasi tanaman yang berbeda yaitu populasi silang balik H82.309/5 x (H82.309/5 x H81.691/1) dari *S. tuberosum*, tampak bahwa posisi GP180 dan TG123 berbeda dengan jarak yang tidak dijelaskan dalam peta kromosom 4 seperti terlihat pada Gambar 2(b). Dengan demikian ada 2 kemungkinan yang bisa terjadi dalam studi ini yaitu apabila posisi marka dalam penelitian ini sama seperti penelitian Tanksley *et al.* (1992), itu berarti belum ditemukan enzim yang mampu menghasilkan pita spesifik untuk tetua resisten. Akan tetapi, apabila posisi marka sama seperti yang dilaporkan oleh Gebhardt *et al.* (1991), maka diduga posisi gen resistensi disebelah ujung kromosom dari marka GP180 sehingga tidak bertautan dengan marka TG123, oleh karena itu tidak ditemukan pita spesifik untuk tetua resisten.

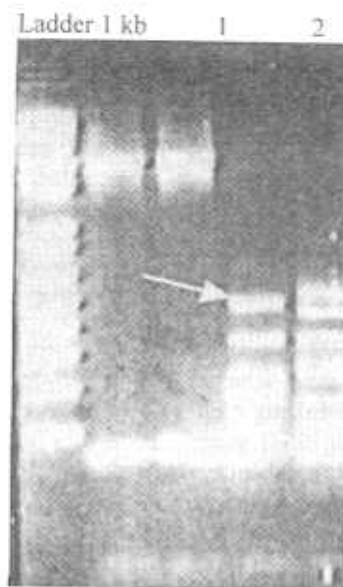
Primer yang menghasilkan pita spesifik untuk tetua resisten MCD167 adalah MBF3 setelah dipotong dengan enzim *Alu I* (Gambar 3) dan GP180 setelah dipotong dengan enzim *Acc I* (Gambar 4), dan yang bertautan dengan gen resistensi adalah GP180.



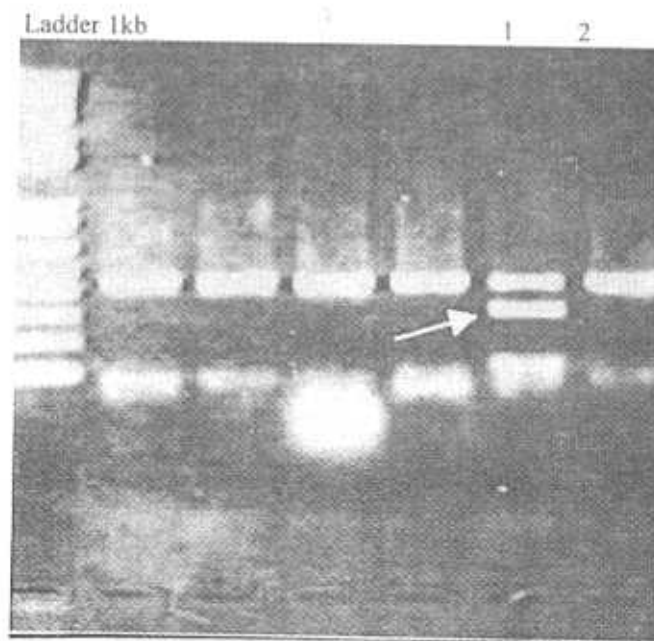
Gambar 1. Produk PCR dari 6 primer pada tetua MCD167 (nomor 2) dan tetua SH2988 (nomor 3). Nomor 1 adalah Ladder 1 kb dengan ukurannya dalam pasang basa (pb).



Gambar 2. Peta tautan RFLP pada Kentang : (a) dari Tanksley *et al.* (1992) dan (b) dari Gebhardt *et al.* (1991).



Gambar 3. Produk PCR dari tetua MCD167 (1) dan SH2988 (2) dengan marka MBF3 hasil pemotongan enzim *Alu I*. Tanda panah menunjukkan pita spesifik untuk tetua MCD167



Gambar 4. Produk PCR dari tetua MCD167 (1) dan SH2988 (2) dengan marka GP180 hasil pemotongan enzim *Acc I*. Tanda panah menunjukkan pita spesifik untuk tetua MCD167.

Analisis Segregasi

Hasil analisis segregasi menunjukkan bahwa marka MBF3 bersegregasi menurut pola Mendel ($\chi^2 = 0.1$) dengan rasio 1 : 1, demikian juga marka GP180 ($\chi^2 = 2.81$), sedangkan sifat resistensi bersegregasi juga menurut pola Mendel ($\chi^2 = 1.88$). Pola segregasi dari marka MBF3 dan GP180 ini sesuai dengan yang diharapkan karena marka merupakan lokus tunggal yang

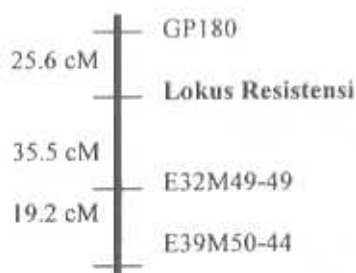
diwariskan menurut hukum Mendel. Sedangkan untuk sifat resistensi, karena sifat ini merupakan sifat kuantitatif yang dikendalikan oleh banyak gen, maka pola segregasinya tidak menurut hukum Mendel. Namun pada populasi F1 yang digunakan dalam penelitian ini ditemukan pola segregasi menurut hukum Mendel. Hal ini mungkin terjadi karena ukuran populasi F1 ini terlalu kecil hanya 46 tanaman. Hasil ini

didukung oleh hasil penelitian Sandbrink *et al.* (2000) dengan menggunakan populasi yang sama.

Analisis Tautan Genetik dan Pemetaan

Skor LOD yang diperoleh dalam analisis tautan antar marka MBF3 dan gen resistensi adalah sebesar 0.13, berarti tidak terdapat tautan antar marka tersebut dengan gen resistensi.

Marka GP180 memiliki skor LOD = 3.04 dalam analisis tautan dengan lokus resistensi. Ini menunjukkan bahwa terdapat tautan antara marka GP180 dengan lokus resistensi pada kromosom 4 dengan jarak sebesar 25.6 cM dalam fase coupling. Hasil ini didukung oleh hasil penelitian Leonards-Schippers *et al.* (1994) yang menemukan adanya tautan yang sangat erat antara marka GP180 dengan lokus resistensi lapang pada kromosom 4 dalam fase coupling pada populasi F1 persilangan antar galur kentang dihaploid P49 dan P44. Juga terdapat tautan antar gen resistensi dengan marka AFLP E32M49-49 dan E39M50-44 dari Sandbrink *et al.* (2000). Posisi marka GP180 dan kedua marka AFLP serta lokus resistensi dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Peta tautan antar lokus resistensi dengan marka GP180 dan marka AFLP E32-M49-49 dan E39M50-44

Gen resistensi ras-spesifik R2 untuk penyakit hawar daun ini juga telah dipetakan pada kromosom 4 kentang (Li *et al.*, 1998). Penelitian ini lebih memperkuat hasil penelitian Sandbrink *et al.* (2000) karena telah berhasil menemukan satu marka yang bertautan dalam fase coupling dibandingkan dengan marka yang ditemukan mereka yang bertautan dalam fase repulsion pada populasi F1 yang sama.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, kesimpulan yang dapat diambil adalah (1) Marka MBF3 dan GP180 menghasilkan pita spesifik pada tetua resisten *Solanum microdontum*, sedangkan marka TG15F, TG15R, TG123F dan TG123R tidak menghasilkan pita spesifik, (2) pola segregasi dari marka MBF3 dan GP180 sesuai dengan yang diharapkan yaitu menurut hukum Mendel

dengan rasio 1 : 1, sedangkan pola segregasi sifat resistensi pada populasi MCD167 x SH2988 tidak sesuai dengan yang diharapkan karena menurut hukum Mendel, (3) terdapat tautan genetik dalam fase kupling antar marka GP180 dengan lokus resistensi pada populasi F1 MCD167 x SH2988, (4) marka GP180 dapat digunakan untuk menentukan gen resistensi tanaman kentang terhadap *P. infestans* dengan peluang kesalahan yang kecil.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Prof. Dr. W. J. Stiekema selaku Kepala Unit Bisnis Genomik PRI (Plant Research International), Wageningen, Belanda yang telah mengizinkan penulis melakukan penelitian di laboratorium PRI. Terima kasih yang sama juga disampaikan kepada Dr. Ir. Edwin van der Vossen dan Dr. Ir. Hans Sandbrink berturut-turut selaku pembimbing penelitian dan yang memberikan bahan penelitian untuk penulis. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada Bapak Pimpinan Proyek URGE DIKTI yang telah memberikan biaya bagi penulis pertama mengikuti program Sandwich di Wageningen, Belanda.

DAFTAR PUSTAKA

Collins, A., D. Milbourne, L. Ramsay, R. Meyer, C. Chatot-Balandras, P. Oberhagemann, W. de Jong, C. Gebhardt, E. Bonnel, R. Waugh. 1999. QTL for field resistance to late blight in potato are strongly correlated with maturity and vigour. *Mol. Breed.* 5:387-398.

Colon, L.T., R.C. Jansen, D.J. Budding. 1995. Partial resistance to late blight (*Phytophthora infestans*) in hybrid progenies of four South American *Solanum* species crossed with diploid *S. tuberosum*. *Theor. Appl. Genet.* 90:691-698.

El-Kharbotly, A., C. Leonards-Schippers, D.J. Huigen, E. Jacobsen, A. Pereira, W.J. Stiekema, F. Salamini, C. Gebhardt. 1994. Segregation analysis and RFLP mapping of the R1 and R3 alleles conferring race-specific to *Phytophthora infestans* in progeny of dihaploid potato parents. *Mol. and Gen. Genet.* 242:749-754.

El-Kharbotly, A., C. Palomino-Sanchez, F. Salamini, E. Jacobsen, C. Gebhardt. 1996. R6 and R7 alleles of potato conferring race-specific resistance to *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary identified genetic loci clustering with the R3 locus on chromosome XI. *Theor. Appl. Genet.* 92: 880-884.

- Feltcamp, D., R. Masterson, J. Starke, S. Rosahl. 1994. Analysis of the involvement of *ocs*-likeZip-binding elements in the differential strength of the bidirectional *mas 1'1'* promoter. *Plant Physiol.* 105:259-268.
- Gebhardt, C., E. Ritter, T. Debener, U. Schachtschabel, B. Walkemeier, H. Uhrig, F. Salamini. 1989. RFLP analysis and linkage mapping in *Solanum tuberosum*. *Theor. Appl. Genet.* 78:65-75.
- Gebhardt, C., E. Ritter, A. Barone, T. Debener, B. Walkemeier, U. Schachtschabel, H. Kaufmann, R.D. Thompson, M.W. Bonierbale, M.W. Ganal, S.D. Tanksley, F. Salamini. 1991. RFLP maps of potato and their alignment with the homoeologous tomato genome. *Theor. Appl. Genet.* 83:49-57.
- Graner, A., S. Streng, A. Drescher, Y. Jin, I. Borovkova, B.J. Steffenson. 2000. Molecular mapping of the leaf rust resistance gene *Rph7* in barley. *Plant breeding* 119: 389-392.
- Kurt, J., R. Kolch, V. Simons, P. Schulze-Lefert. 2001. A high-resolution genetic map and a diagnostic RFLP marker for the *Mlg* resistance locus to powdery mildew in barley. *Theor. Appl. Genet.* 102: 53-60.
- Leonards-Schippers, C., W. Gieffers, F. Salamini, C. Gebhardt. 1992. The R1 gene conferring race-specific resistance to *Phytophthora infestans* in potato is located on potato chromosome V. *Mol. Gen. Genet.* 233:278-283.
- Leonards-Schippers, C., W. Gieffers, R. Schafer-Pregl, E. Ritter, S.J. Knapp, F. Salamini, C. Gebhardt. 1994. Quantitative Resistance to *Phytophthora infestans* in potato : A case study for QTL Mapping in an Allogamous plant species. *Genetics.* 137:67-77.
- Li, X., H.J. van Eck, J.N.A.M. Ruppe van der Voort, D.J. Huigen, P. Stam, E. Jacobsen. 1998. Autotetraploids and genetic mapping using common AFLP markers: the R2 allele conferring resistance to *Phytophthora infestans* mapped on potato chromosome 4. *Theor. Appl. Genet.* 96:1121-1128.
- Mohan, M., S. Nair, A. Bhagwat, T.G. Krishna, M. Yano, C.H. Bhatia, T. Sasaki. 1997. Genome mapping, molecular marker and marker-assisted selection in crop plants. *Mol. Breed.* 3:87-103.
- Oberhagemann, P., C. Chatot-Balandras, R. Schafer-Pregl, D. Wegener, C. Palomino, F. Salamini, E. Bonnel, C. Gebhardt. 1999. A genetic analysis of quantitative resistance to late blight in potato: toward marker-assisted selection. *Mol. Breed.* 5:399-415.
- Sandbrink, J.M., L.T. Colon, P.J.C.C. Walters, W.J. Stiekema. 2000. Two related genotypes of *Solanum microdontum* carry different segregating alleles for field resistance to *Phytophthora infestans*. *Mol. Breed.* 6:215-225.
- Stam, P. 2001. Linkage analysis construction of genetic maps QTL mapping. Wageningen: Biotrain.
- Tanksley, S.D., M.W. Ganal, J.P. Prince, M.C. de Vicente, M.W. Bonierbale, P. Broun, T.M. Fulton, J.J. Giovannoni, S. Grandillo, G.B. Martin, R. Messeguer, J.C. Miller, L. Miller, A.H. Paterson, O. Pineda, M.S. Roder, R.A. Wing, W. Wu, N.D. Young. 1992. High density molecular linkage maps of the tomato and potato genomes. *Genetics.* 132:1141-1160.