

TINJAUAN PENGGUNAAN MARKA DNA UNTUK SELEKSI KETAHANAN PENYAKIT TANAMAN

Fransiska R.A. Basundari

Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Papua Barat
Jl. Base Camp, Kompleks Perkantoran Pemda Propinsi Papua Barat,
Arfai, Manokwari, 98315

ABSTRAK

Penerapan metode pemuliaan tanaman konvensional untuk perakitan gen-gen ketahanan pada genotipe tertentu akan memerlukan waktu lama. DNA berdasarkan polimorfismenya, yang disebut dengan marka DNA, dapat digunakan untuk menyeleksi sifat-sifat unggul yang diinginkan pemulia. Penanda molekuler ini menjadi komponen penting dalam program persilangan *backcross* untuk pengerucutan gen (*gene pyramiding*). Proses seleksi dengan menggunakan marka DNA ini disebut dengan *Marker-Assisted Breeding (MAB)* atau *Marker-Assisted Selection (MAS)*. *MAS* akan sangat menguntungkan bila diterapkan pada generasi awal tanaman, karena tanaman yang membawa gen-gen yang tidak diharapkan dapat dieliminasi. Proses seleksi pada tahapan bibit ini disebut dengan *Marker-Assisted Seedling Selection (MASS)*. Uji DNA melalui *MASS* akan dapat mengidentifikasi bibit-bibit tanaman yang diprediksi memiliki sifat yang diinginkan oleh pemulia sebelum ditanam di lahan. Beberapa uji DNA melalui *MASS* telah digunakan pada beberapa tanaman untuk melakukan seleksi terhadap ketahanan penyakit tertentu, diantaranya resistensi terhadap penyakit *scab* (kudis) pada tanaman apel, dan juga resistensi terhadap penyakit bercak daun (*cherry leaf spot/CLS*) pada tanaman ceri (*cherry*). Penggunaan *MASS* ini menunjukkan potensi yang sangat baik dalam meningkatkan efisiensi pengerucutan alel-alel yang tahan penyakit. Pada akhirnya, integrasi antara marka molekuler dalam program pemuliaan tanaman akan menjadi cara yang sangat baik dalam peningkatan efisiensi pengembangan kultivar untuk tanaman tahunan.

Kata kunci: marka DNA, ketahanan penyakit, *gene pyramiding*, *MAB*, *MAS*, *MASS*.

PENDAHULUAN

Peran pemuliaan tanaman dalam upaya peningkatan kualitas komoditas tanaman adalah perakitan kultivar yang memiliki kualitas tinggi seperti perbaikan terhadap warna, rasa, ketahanan penyakit dan lain-lainnya. Pemuliaan untuk perakitan tanaman yang tahan terhadap hama dan penyakit, toleran terhadap cekaman lingkungan seperti kekeringan, kadar Al, Fe tinggi sudah sering dilakukan melalui pendekatan pemuliaan konvensional (melalui persilangan, seleksi, dan mutasi) (Carsono, 2008). Pendekatan ini kadang dinilai kurang efisien untuk tanaman-tanaman yang memerlukan waktu lama untuk produksinya (menghasilkan bunga/buah). Selain itu, gen-gen yang bersifat resesif dan rendah heritabilitas/daya warisnya, yang menyebabkan proses seleksi menjadi lama, juga dinilai menjadi faktor penyebab tidak efisiennya seleksi dengan metode pemuliaan konvensional. Selain itu *screening* ketahanan masih melibatkan inokulasi buatan yang bukan hanya

membutuhkan waktu, tenaga, dan biaya besar, juga memerlukan keahlian dan pengalaman khusus. Penerapan metode konvensional untuk perakitan gen-gen ketahanan pada genotipe tertentu ini memerlukan waktu lama. Untuk mengatasi kekurangan dari metode konvensional ini, penggunaan marka DNA dinilai dapat meningkatkan efisiensi seleksinya. Dengan marka molekuler, gen yang lambat terekspresi dapat dideteksi lebih awal, tanpa inokulasi buatan.

Tulisan ini bertujuan untuk menggambarkan sejauh mana penggunaan marka DNA dalam seleksi ketahanan penyakit tanaman.

Definisi dan Jenis Marka Molekuler

Marka genetik atau marka molekuler merupakan sebuah bahan genetik yang dengan mudah teridentifikasi, biasanya berupa DNA, yang dapat digunakan dalam laboratorium untuk mengetahui bagian-bagian sel, individu, populasi, atau spesies. Penggunaan marka diawali dengan mengekstrak protein atau

senyawa kimia (untuk marka biokimia) atau DNA (untuk marka molekuler) dari jaringan tanaman (contohnya biji, daun, serbuk sari, atau jaringan kayu). Prosedur laboratorium kemudian diaplikasikan, menghasilkan representasi visual dengan teknik pewarnaan atau penandaan khusus, yang kemudian dikonversikan ke dalam data – biasanya tipe alel dan frekuensinya, atau ada tidaknya data. Marka genetik ini memungkinkan kita untuk melakukan karakterisasi keragaman genetik (USDA, 2006).

Marka molekuler merupakan alat yang sangat baik untuk pemuliaan dan ahli genetika untuk menganalisis genom tanaman. Marka molekuler dapat diartikan pula sebagai upaya untuk membedakan karakteristik tanaman pada tingkat gen. Penggunaan marka molekuler pada dasarnya untuk memonitor variasi susunan DNA di dalam spesies, serta merekayasa sumber baru variasi genetik dengan mengintroduksi karakter-karakter yang baik. Identifikasi galur-galur dengan bantuan marka molekuler juga sangat bermanfaat dalam analisis sidikjari (*fingerprinting*) karena dapat memberikan informasi untuk perencanaan program pemuliaan, terutama dalam pembentukan segregasi baru, varietas hibrida baru serta dalam menentukan tetua yang digunakan dalam memilih pasangan persilangan baru (Anonim, 2016).

Pada dasarnya, terdapat tiga jenis marka molekuler, yaitu marka morfologis, marka isozim, dan marka DNA. Marka morfologis dapat dengan mudah dikenali, seperti saat kita mengikuti pewarisan sifat dalam persilangan sesuai hukum Mendel (Weebaddee, 2013). Sedangkan marka isozim merupakan marka protein, yang merupakan produk dari gen. Isozim merupakan bentuk alternatif dari enzim yang sering berbeda dalam mobilitas elektroforetisnya namun memiliki kesamaan aktivitas enzim (Weebaddee, 2013). Marka ini telah banyak digunakan dalam analisis genetik tanaman, namun dalam perkembangannya, marka isozim masih sangat terbatas jumlahnya. Selain itu beberapa enzim tertentu dipengaruhi oleh regulasi perkembangan jaringan, yaitu hanya mengekspresikan suatu sifat pada jaringan tertentu. Kedua faktor tersebut merupakan kendala utama dalam penggunaan marka isozim dalam mengeksploitasi potensi genetik tanaman

(Hamrick dan Gode, 1989; Azrai, 2005). Marka DNA merupakan sebuah area kecil dari urutan DNA yang menunjukkan polimorfisme (karena adanya penghapusan, penyisipan, dan substitusi basa) pada individu-individu yang berbeda. Dua metode dasar untuk mendeteksi adanya polimorfisme adalah melalui *Southern Blotting* (hibridisasi asam nukelat) dan *Polymerase Chain Reaction (PCR)* (Wang, 2014). Marka DNA ini dapat menutupi kekurangan dari marka isozim, karena jumlah yang tidak terbatas dan dapat melingkupi seluruh genom tanaman, tidak dipengaruhi oleh regulasi perkembangan jaringan, sehingga dapat dideteksi pada seluruh jaringan, dan memiliki kemampuan yang sangat tinggi dalam menangkap keragaman karakter antar individu (Smith dan Smith, 1992). Proses seleksi dengan menggunakan marka DNA ini sering disebut dengan *Marker-Assisted Breeding (MAB)* atau *Marker-Assisted Selection (MAS)*.

Marker-assisted breeding (MAB) merupakan aplikasi dari bioteknologi molekuler, khususnya marka molekuler, yang dikombinasikan dengan peta tautan (*linkage maps*) dan genom tanaman, untuk memperbaiki sifat tanaman atau hewan pada langkah awal uji genetik (Basundari, 2015). Istilah ini digunakan untuk mendeskripsikan beberapa metode pemuliaan tanaman modern, termasuk *marker-assisted selection (MAS)* dan *marker-assisted seedling selection (MASS)*. Penggunaan marka molekuler untuk proses seleksi dalam pemuliaan tanaman baik untuk tetua dan bibit disebut dengan *MAS* (Peace et al., 2014), sedangkan penggunaan marka molekuler (marka DNA) untuk menyediakan informasi DNA pada tahap dini, berdasarkan potensi genetik di tingkat bibit, dengan tujuan meningkatkan efisiensi genetika dan biaya seleksi di tingkat pembibitan, disebut dengan *MASS* (Ru et al., 2015).

Konsep *MAB* pertama kali digagas oleh Smith dan Simpson (1986), dan oleh Soller dan Beckmann (1983). Mereka menyatakan bahwa seleksi menggunakan penanda yang mempunyai tautan genetik pada gen yang mempengaruhi sifat yang diinginkan akan lebih efisien dibandingkan dengan seleksi berdasarkan sifat fenotipiknya saja. Implementasi penggunaan *MAB* berdasarkan pada *linkage disequilibrium (LD)* yang ada di antara marka DNA dan gen tertentu (*quantitative trait locus; QTL*). *LD*

merupakan jarak dimana pemetaan asosiasi (association mapping) dapat digunakan dalam suatu spesies. *LD mengukur tingkat alel pada dua lokus berasosiasi mempengaruhi genotipe tertentu*

(<https://www.ndsu.edu/pubweb/~mcclean/plsc731/Linkage%20Disequilibrium%20-%20Association%20Mapping%20in%20Plants-lecture-overheads.pdf>). *LD* dapat digunakan hanya jika pengaruhnya disebabkan oleh markanya (Ben-Ari dan Lavi, 2012). Penggunaan *MAB* ini mempunyai nilai lebih untuk sifat-sifat unggulan tanaman yang diinginkan pemulia yang tidak mudah dikaji berdasarkan fenotipenya. Seleksi dengan marka molekuler ini didasarkan pada sifat genetiknya saja, tidak dipengaruhi oleh faktor lingkungan.

Meskipun marka dapat digunakan pada tahapan manapun dalam program pemuliaan tanaman, *MASS* akan sangat menguntungkan bila diterapkan pada generasi awal tanaman, karena tanaman yang membawa gen-gen yang tidak diharapkan dapat dieliminasi. Uji DNA melalui *MASS* akan dapat mengidentifikasi bibit-bibit tanaman yang diprediksi memiliki sifat yang diinginkan oleh pemulia sebelum ditanam di lahan (Edge-Garza and Peace, 2010). Informasi awal tautan antara lokus marka DNA dengan sifat tanaman akan meningkatkan efisiensi dari proses identifikasi individu tanaman yang memiliki sifat unggul. Pada akhirnya, integrasi antara marka molekuler dalam program pemuliaan tanaman akan menjadi cara yang sangat baik dalam peningkatan efisiensi pengembangan kultivar untuk tanaman tahunan (Folta and Gardiner, 2009).

Metode Pengembangan Marka DNA

Pengembangan marka DNA diawali dengan melakukan identifikasi sifat tanaman yang diinginkan (misalnya ketahanan tanaman terhadap penyakit tertentu), kemudian dilakukan pengembangan populasi tanaman yang menghasilkan segregasi gen (tetua 1 memiliki sifat unggul yang diinginkan, dan tetua 2 tidak). Langkah selanjutnya adalah mengidentifikasi kandidat marka yang tertaut dengan sifat unggul yang diinginkan, dan menyeleksi tanaman-tanaman yang membawa marka untuk dievaluasi. Jarak kandidat marka DNA dengan

gen yang mengendalikan sifat yang diinginkan dievaluasi dan diidentifikasi jumlah rekombinannya. Marka yang baik adalah yang mempunyai jarak kurang dari 5 cM (*centimorgan*) dari gennya. Langkah selanjutnya yang dilakukan adalah pengujian tanaman yang membawa gen yang diinginkan, untuk kemudian dapat dilepas produk dengan sifat unggulnya kepada masyarakat. Penggunaan marka genetik akan sangat bernilai bila karakter-karakter tanaman itu adalah multigenik, sulit untuk diseleksi pada tahapan awal persilangan, mahal dalam teknik seleksi dan penyaringannya (misalnya untuk penyakit yang disebabkan oleh nematoda), perlu dikombinasikan (*gene pyramiding*), dan karakter dikendalikan oleh gen resesif (Weebaddee, 2014).

Gene pyramiding merupakan proses pengombinasian beberapa gen unggul dari tetua menjadi sebuah genotipe tunggal untuk sifat tertentu (Collard and Mackil, 2008). *Gene pyramiding* sering diperlukan oleh pemulia tanaman untuk mengembangkan galur-galur unggul dan varietas, khususnya untuk sifat ketahanan penyakit (Huang et al., 1997; Singh et al., 2001; Luo et al., 2012). Pengerucutan dari banyak gen atau *QTLs* ini direkomendasikan karena merupakan cara strategis dalam pemuliaan tanaman untuk meningkatkan sifat-sifat yang diwariskan oleh tetuanya. *Gene pyramiding* ini dicapai dengan beberapa cara, yaitu melalui persilangan banyak tetua atau persilangan kompleks, *backcrossing* (persilangan dengan salah satu tetua), dan *recurrent selection* (metode seleksi dalam suatu putaran (siklus) perbaikan populasi, dimana individu-individu dievaluasi dan dipilih sebagai tetua untuk siklus berikutnya. Seleksi ini berdasarkan fenotipe dan genotipe keturunannya). Skema persilangan yang sesuai tergantung pada jumlah gen atau *QTLs* yang dibutuhkan untuk perbaikan sifat tanaman, jumlah tetua dan heritabilitas sifat yang diinginkan, serta faktor lainnya seperti gabungan marka-gen, waktu yang diperlukan, serta biaya (Jiang et al., 2013).

Gene pyramiding telah dilakukan pada tanaman-tanaman pangan seperti gandum, barley, dan kedelai (Richardson et al., 2006; Jiang et al., 2007a, 2007b; Li et al., 2010; Wang et al., 2012). *Gene pyramiding* juga dilakukan

dalam pengembangan kultivar yang tahan terhadap penyakit bercak daun pada padi yang disebabkan oleh *Xanthomonas oryzae pv oryzae* (Xoo) (Suh et al., 2013). Dalam dua atau tiga dekade terakhir, gen (*QTLs*) resisten dan marka yang terkait telah diidentifikasi untuk penyakit-penyakit tanaman tomat yang disebabkan oleh jamur, termasuk penyakit bercak batang *Alternaria* dan penyakit-penyakit yang disebabkan oleh *Fusarium* (Foolad dan Panthee, 2012).

Implementasi Marka DNA untuk Seleksi Ketahanan terhadap Penyakit.

Salah satu metode yang digunakan dalam pelaksanaan aplikasi MAS adalah metode *Simple Sequence Repeat* (SSR). Metode SSR merupakan salah satu teknik molekuler yang sering digunakan untuk penelitian diversitas genetik karena keakuratan informasi yang tinggi dan sangat polimorfik. Hal ini disebabkan oleh primer SSR merupakan marka ko-dominan yang dapat membedakan heterosigot dan homosigot (Vienne, 1998; Carsono et al., 2016). Menurut Robinson et al. (2004), saat ini cukup banyak marka SSR yang diduga terpaut dengan ketahanan terhadap wereng coklat, diantaranya RM586 dan RM589 yang telah teruji terpaut dengan gen *Bph3* dan *Bph4*, RM5953 terpaut dengan gen *Bph3* (Jairin et al., 2007), dan lain-lain.

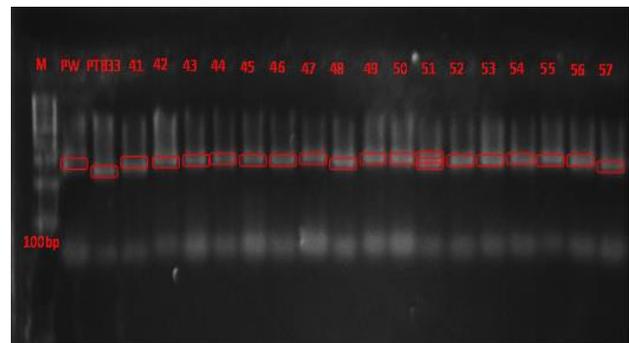
Analisis pada tahapan molekuler meliputi pembacaan pita DNA yang terbentuk dan skoring pita DNA. Untuk kegiatan seleksi marka pada tetua persilangan, seleksi dilakukan berdasarkan ukuran pita DNA (polimorfisme) yang terbentuk antara kultivar tahan PTB-33 dengan kultivar lainnya yang dijadikan tetua persilangan. Marka yang menunjukkan polimorfisme antara tetua donor dengan penerima (*recipient*) digunakan sebagai marka penyeleksi pada generasi keturunan hasil persilangan (Tabel 1). Selanjutnya dilakukan pula skoring pita DNA yang terbentuk sebagai nilai yang digunakan pada analisis korelasi untuk mengetahui hubungan antara marka yang digunakan beserta gen terkait (Tabel 1) dengan karakter fisiologis yang muncul pada tetua persilangan.

Tabel 1. Marka yang digunakan dan gen Bph yang terkait

Marka	Gen terkait	Kromosom	Sumber
RM586	Bph 3 dan bph 4	6S dan 6	Jairin et al. (2007a)
RM8213	Qbph 4 dan Bph 17(t)	4 dan 4S	Sun et al. (2005)

Sumber: Carsono et al., 2016.

Contoh hasil visualisasi dengan marka RM586 dapat dilihat pada Gambar 1. Berdasarkan visualisasi hasil SSR dengan primer RM586 yang diperoleh, dari 121 individu dalam populasi yang diuji, terdapat 58 (47,93%) genotipe dari populasi yang dievaluasi yang terdeteksi memiliki satu pita DNA dengan ukuran pita sama dengan tetua recipient (Pandan Wangi), dan terdapat pula 54 (44,63%) genotipe yang terdeteksi memiliki satu pita DNA dengan ukuran pita sama dengan tetua donor (PTB-33). Hanya 9 (7,44%) genotipe yang terdeteksi memiliki dua pita DNA hasil kombinasi dari kedua tetua persilangan (Carsono et al., 2016).

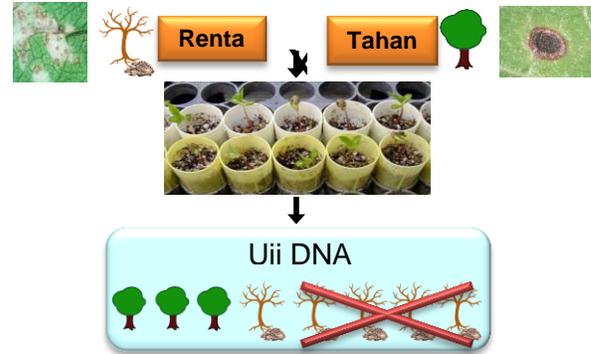


Gambar 1. Visualisasi pita DNA pada generasi F2 populasi PP-11 hasil persilangan Pandan Wangi x PTB-33 menggunakan RM586. Nomor-nomor yang tertera menunjukkan nomor genotip. M = DNA Ladder 100bp; PW = Pandan Wangi (Sumber: Carsono et al., 2016).

Pengembangan dan penggunaan marka DNA untuk seleksi ketahanan terhadap penyakit juga telah diaplikasikan pada tanaman ceri (*cherry*). MASS digunakan untuk menduga ketahanan penyakit tanaman pada tingkat bibit terhadap penyakit bercak daun (*Cherry Leaf Spot/CLS*) pada cherry (Basundari, 2015). Sumber ketahanan terhadap *CLS* telah diidentifikasi dari spesies liar *Prunus canescens* (Warthon et al., 2003). *QTL* yang mengendalikan sifat ketahanan penyakit bercak

daun yang ada di *Prunus canescens*, yaitu CLSR-G4, teridentifikasi ada pada grup tautan/linkage group 4 (LG4) pada jenis cherry manis, kemudian divalidasi pada cherry asam (Stegmeir, 2014).

Persilangan dibuat pada tahun 2013 antara individu yang membawa alel resisten dari *P. canescens* (CLSR), yaitu individu 24-32-37, dengan individu yang tidak tahan penyakit bercak daun namun memiliki sifat unggul lainnya, yaitu 27e-05-33. Empat puluh tiga anakan dihasilkan dari persilangan ini. Sampel daun dikeringkan selama 2 hari, dan kemudian diekstraksi menggunakan *silica bead method*, sesuai dengan metode yang dideskripsikan dalam Edge-Garza et al (2014). Marka *CLS028*, yang dikembangkan oleh Stegmeir et al. (2014), digunakan untuk studi ini dan dilakukan PCR. Fragment PCR kemudian dipisahkan dalam 6% *polyacrylamide gel* dan divisualisasi menggunakan *silver staining*. Dari 43 bibit yang diuji menggunakan marka *CLSR_G4*, 31 individu anakan (72%) memiliki alel resisten kemudian disimpan untuk kemudian ditanam di lapangan. Sedangkan 12 individu anakan (28%) yang tidak memiliki alel resisten dibuang. Hasil tersebut menunjukkan bahwa dengan menggunakan marka DNA akan memangkas biaya yang diperlukan untuk pemeliharaan anakan baik sebelum dipindahkan ke lapangan, ataupun selama masa produksinya dalam rangkaian tahapan program pemuliaan tanaman. Dengan penggunaan marka DNA, bibit yang tidak membawa gen yang diinginkan akan dibuang, sehingga pemulia hanya akan memelihara bibit-bibit tanaman yang diprediksi membawa gen resisten tetuanya. Selain itu, penggunaan marka akan meningkatkan efisiensi seleksi ketahanan penyakit terhadap bercak daun, dibandingkan tanpa menggunakan marka (Basundari, 2015).



(sumber: Amy Iezzoni dan Audrey M. Sebolt, 2014)

Gambar 2. Tahapan seleksi ketahanan penyakit terhadap penyakit bercak daun pada tanaman ceri (*CLS*) menggunakan marka DNA pada tahap bibit (*MASS*).

Beberapa aplikasi *MASS* telah dilaporkan pada tanaman apel, untuk menyeleksi resistensi terhadap penyakit *scab* (kudis), dan penyimpanan pascapanen yang baik (Tartarini et al., 2000 dan Edge-Garza et al., 2010). Uji DNA juga digunakan untuk mendeterminasi bibit dengan melakukan pengerucutan alel-alel yang resisten terhadap penyakit *scab* pada lokus *Rvi6* dan *Rvi4*, resisten terhadap *fire blight* pada lokus *FB-F7QTL* dan alel resisten terhadap penyakit embun pada lokus *P12*. Dalam penelitian ini dilaporkan bahwa dari dua populasi, 3 dan 5 % dari populasi bibit teridentifikasi dengan alel yang diinginkan. Individu-individu yang membawa alel yang diinginkan tersebut diseleksi untuk evaluasi lebih jauh pada buah dan sifat pohonnya. Contoh *MASS* ini menunjukkan potensi yang sangat baik dalam meningkatkan efisiensi pengerucutan alel-alel yang tahan penyakit (Kellerhals et al., 2011). Informasi tersebut menjadi data pendukung deskripsi fisik yang diperoleh dari hasil observasi langsung di lapangan.

KESIMPULAN

Upaya perakitan dan pelepasan varietas baik yang memiliki ketahanan terhadap penyakit tertentu maupun sifat-sifat unggul lainnya melalui metode pemuliaan konvensional dinilai masih kurang efektif karena memerlukan waktu yang lama, dan penggunaannya kurang sesuai untuk sifat-sifat yang heritabilitasnya rendah dan dikendalikan oleh gen-gen resesif. Penggunaan marka molekuler memiliki potensi untuk dikembangkan, terutama untuk tanaman dengan sifat-sifat tersebut. Proses identifikasi karakter ketahanan penyakit menggunakan marka molekuler dapat membuang bibit tanaman yang tidak membawa gen yang diinginkan, dan hanya akan memelihara bibit tanaman yang diprediksi membawa gen resisten tetuanya. Dengan demikian penggunaan marka DNA akan meningkatkan efisiensi seleksi dibandingkan dengan seleksi tanpa menggunakan marka DNA.

SARAN

Dari penelitian yang ada, penggunaan marka DNA terbukti dapat meningkatkan efisiensi seleksi karakter yang diinginkan oleh pemulia tanaman. Namun demikian, karena marka DNA didesain untuk suatu populasi persilangan tertentu, maka sebelum diaplikasikan sebagai marka untuk seleksi pada populasi persilangan yang lain sebaiknya dievaluasi terlebih dahulu. Evaluasi ini meliputi setiap detail langkah dalam implementasi marka DNA, termasuk komponen reaksi PCR-nya, baik konsentrasi DNA *template*, konsentrasi enzim *polymerase*, konsentrasi primer, dan siklus termalnya) untuk setiap jenis tanaman yang akan diseleksi. Selain itu, karena biaya yang masih relatif tinggi, seleksi karakter dengan marka DNA ini hendaknya digunakan pada karakter-karakter tertentu yang sulit dilakukan hanya dengan metode konvensional saja.

REFERENSI

- Anonim. 2016. Teknologi Marka Molekuler Tanaman. <http://ditjenbun.pertanian.go.id/bbpptpsu/rabaya/berita-235-teknologi-marka-molekuler-tanaman-.html>. Diunduh pada tanggal 17 November 2016.
- Azrai, M. 2005. Pemanfaatan markah molekuler dalam proses seleksi pemuliaan tanaman. *Jurnal AgroBiogen* 1(1):26-37.
- Basundari, F.R.A. 2015. Marker-assisted seedling selections in sour cherry for cherry leaf spot resistance and fruit flesh color. *Thesis*. Plant Breeding, Genetics and Biotechnology. Michigan State University.
- Ben-Ari, G., Zenvirth, D., Sherman, A., David, L., Klutstein, M., and Lavi, U., et al. (2006). Four linked genes participate in controlling sporulation efficiency in building yeast. *PloS Genetics*. 2. E195.
- Carsono, N. 2008. Peran Pemuliaan Tanaman dalam Meningkatkan Produksi Pertanian di Indonesia. Disampaikan dalam *Seminar on Agricultural Sciences: Mencari Perjalanan Revitalisasi Pertanian, Perikanan, dan Kehutanan dalam kajian terbatas bidang produksi tanaman pangan*, pada tanggal 1 Januari 2008. Tokyo.
- Carsono, N., G. I. Prayoga, N. Rostini, dan D. Dono. 2016. Seleksi berbasis marka molekuler pada padi generasi F₂ guna merakit galur padi harapan tahan wereng coklat. *Jurnal Agrikultura*. 27(1):9-15.
- Collard, B. C. Y., and Mackill, D. J. (2008). Marker-assisted selection: an approach for precision plant breeding in the twenty-first century. *Phil. Trans. R. Soc. B*. 363: 557–572.
- Edge-Garza, D. A. and Peace, C. P. (2010). Enabling marker-assisted seedling selection in the Washington apple breeding program. In Bassil, N.V. and Martin, R. (eds). Proc. International Society for Horticultural Science. *Acta Hort*. 859:369-375.
- Folta, K. M. and Gardiner, S. E. 2009. Tart Cherry Production and Utilizations. Retrieved from

- <http://www.cherrymkt.org/>.
- Foolad, M. R. & Panthee, D. R. (2012). Marker-Assisted Selection in Tomato Breeding. Critical Reviews in Plant Sciences. 31(2): 93-123. DOI: 10.1080/07352689.2011.616057.
- Gepts, P dan Hancock, J. 2006. The future of plant breeding. Crop Sci. 46:1630-1634.
- Hamrick, J. L. and M. J. W. Gode. 1989. Allozyme diversity in plants. In Brown, A. H. D., M. T. Clegg, A. L. Kahler, and B.S. Weir (Eds.). Plant Population Genetics. Breeding and Genetics Resources. Sinauer Associates, Sunderland, MA. USA. P.318-370.
- Huang, N., Angeles, E.R., Domingo, J., Magpantay, G., Singh, S., Zhang, G., Kumaravadivel, N., Bennet, J., and Khush, G.S. (1997). Pyramiding of bacterial blight resistance genes in rice: marker-assisted selection using RFLP and PCR. Theor. Appl. Genet. 95: 313-320
- Jairin, J., K. Phengrat, S. Teangdeerith, A. Vanavichit, and T. Toojinda. 2007a. Detection of brown planthopper resistance genes from different rice mapping populations in the same genomic location. Science Asia. 33:347-352.
- Jairin, J., K. Phengrat, S. Teangdeerith, A. Vanavichit, and T. Toojinda. 2007. Mapping of a broad-spectrum brown planthopper resistance gene, *Bph3*, on rice chromosome 6. Mol Breeding. 19:35-44.
- Jiang, G.-L., Shi, J., and Ward, R. W. 2007a. QTL analysis of resistance to Fusarium head blight in the novel wheat germplasm CJ 9306. I. Resistance to fungal spread. Theor. Appl. Genet. 116:3-13.
- Jiang, G.-L., Dong, Y. Shi, J., and Ward. R. W. 2007b. QTL. QTL analysis of resistance to Fusarium head blight in the novel wheat germplasm CJ 9306. II. Resistance to deoxynivalenol accumulation and grain yield loss. Theor. Appl. Genet. 115:1043-1052.
- Jiang, G.-L. 2013. Molecular Markers and Marker-Assisted Breeding in Plants, Plant Breeding from Laboratories to Fields. Prof. Sven Bode Andersen (Ed.), ISBN: 978-953-51-1090-3, InTech, DOI: 10.5772/52583. Available from: <http://www.intechopen.com/books/plant-breeding-from-laboratories-to-fields/molecular-markers-and-marker-assisted-breeding-inplants>.
- Kellerhals M, Franck L., Baumgartner I. O., Patocchi A., Frey J. E. (2011). Breeding for fire blight resistance in apple. Acta Hort. 896: 385–389.
- Li, X., Han, Y., Teng, W., Zhang, S., Yu, K., Poysa, V., Anderson, T., Ding, J., and Li, W. 2010. Pyramided QTL underlying tolerance to Phytophthora root in mega-environment from soybean cultivar ‘Conrad’ and ‘Hefeng 25’. Theor. Appl. Genet. 121: 651-658.
- Luo, Y., Sangha, J.S., Wang, S., Li, Z., Yang, J., and Yin, Z. (2012). Marker-assisted breeding of Xa4, Xa21 and Xa27 in the restorer lines of hybrid rice for broad-spectrum and enhanced disease resistance to bacterial blight. Mol. Breeding. DOI 10.1007/s11032-012-9742-7.
- Peace, C. P., Luby, J. J. & van de Weg, W. E, Bink, M. C. A. M., and Iezzoni, A. F. 2014. A strategy for developing representative germplasm sets for systematic QTL validation, demonstrated for apple, peach, and sweet cherry. Tree Genetics & Genomes. 10:1679–1694.
- Richardson, K.L., M.I. Vales, J.G. Kling, C.C. Mundt, and P.M. Hayes. (2006). Pyramiding and dissecting disease resistance QTL to barley stripe rust. Theor. Appl. Genet. 113: 485-495.
- Robinson, A. J., Love, C. G., Batley, J., Barker, G., dan Edwards, D. 2004. Simple sequence repeat marker loci discovery using ssr primer. Bioinformatics advance access. Diakses dari <http://bioinformatics.oxfordjournals.org/content/early/2004/02/12/bioinformatics.bth104.full.pdf> (diunduh pada tanggal 9 Februari 2014).
- Ru, S. and Main, D., Evans K., and Peace, C. 2015. Current applications, challenges,

- and perspectives of marker-assisted seedling selection in Rosaceae tree fruit breeding. Tree Genetics & Genomes. 11: 8. DOI 10.1007/s11295-015-0834-5.
- Singh, S., Sidhu, J.S., Huang, N., Vikal, Y., Li, Z, Brar, D.S., Dhaliwal, H.S., and Khush, G.S.,. 2001. Pyramiding three bacterial blight resistance genes (*xa5*, *xa13*, and *Xa21*) using marker-assisted selection into indica rice cultivar PR106. Theor. Appl. Genet. 102:1011-1015.
- Smith, J.S.C. and O. S. Smith. 1992. Fingerprinting crop varieties. Adv. Agron. 47:85-129.
- Soller, M. and Beckman, S. P. 1986. Genetic-polymorphism in varietal identification and genetic-improvement. Theoretical and Applied Genetics. 67:25-33.
- Stegmeir, T., Schuster M., Sebolt A., Rosyara U., Sundin, G. W., and Iezzoni, A. 2014. Cherry leaf spot resistance in cherry (*Prunus*) is associated with a quantitative trait locus on linkage group 4 inherited from *P. canescens*. Mol. Breeding. 34:927-935.
- Suh, J.-P., Jeung, J.-U., Noh, T.-H., Cho, Y.-H., Park, S.-H., Park, H.-Y., Mun-Sik Shin, M.-S., Chung-Kon Kim, C.-K., and Jena. K.-K. (2013). Development of breeding lines with three pyramided resistance genes that confer broad-spectrum bacterial blight resistance and their molecular analysis in rice. Rice. 6:5. doi:10.1186/1939-8433-6-5.
- Sun, L, C Su, C Wang, H Zhai, and J Wan. 2005. Mapping of a major resistance gene to the brown planthopper in the rice cultivar Rathu Heenati. Breeding Science. 55: 391-396.
- Tartarini S., Sansavini, S., Vinatzer B., Gennari F., Domizi C. 2000. Efficiency of marker assisted selection (MAS) for the Vf scab resistance gene. Acta Hort. 538:549-552.
- USDA, 2006. What is a Genetic Marker: Why We Care About Genetics Vol. 5. California. USA.
- Wharton, P. S., Iezzoni A., and Jones A. L. 2003. Screening cherry germplasm for resistance leaf spot. The American Phytopathological Society. 87:471-477.
- Wang, X., Jiang, G.-L., Green, M., Scott., R. A., Hyten, D. L., and Cregan, P. B. 2012. Quantitative trait locus analysis of saturated fatty acids in a population of recombinant inbred lines soybean. Mol. Breeding. 30(2): 1163-1179.
- Weebaddee, C. 2013. Molecular Markers - Introduction (disampaikan pada matakuliah Genetics. Class 31, 1 April 2013). Michigan State University, East Lansing, Michigan, Amerika Serikat.
- Weebaddee, C. 2014. Developing Markers for Qualitative and Quantitative Traits (disampaikan pada Molecular Plant Breeding Short Course, Michigan State University, 18 Agustus 2014). Michigan State University, East Lansing, Michigan, Amerika Serikat.
- Widya P., N. Carsono., S. Amien. 2014. Seleksi berbasis marka SSR untuk karakter ketahanan terhadap wereng coklat dan pengamatan fenotipik terhadap wereng coklat dan pengamatan fenotipik untuk daya hasil tinggi pada padi F₂. Agric. Sci. J. I(4): 275-285.