

## Identificación de cultivares de tomate con resistencia a begomovirus utilizando marcadores moleculares tipo SCAR y CAPS

Aragón O Erwin,\* Rojas Aldo, Laguna Tomas. \*Autor para correspondencia.

Instituto Nicaragüense de Tecnología Agropecuaria. Colonia Centroamérica, Contiguo al Distrito 5, Policía Nacional-Apartado Postal 1247, Managua, Nicaragua. e-mail: earagon17@hotmail.com

### RESUMEN

El *Virus del encrespamiento amarillo del tomate (TYLCV)* es un begomovirus transmitido por la mosca blanca (*Bemisia tabaci* Genn.) y es uno de los principales factores que limita la producción de tomate en áreas tropicales y subtropicales del mundo. Se han descrito los genes *Ty-1*, *Ty-2* y *Ty-3* relacionados con la resistencia a begomovirus y estos son empleados en los programas de mejoramiento genético en tomate. El presente trabajo se enfocó en identificar cultivares de tomate con genes de resistencias a begomovirus. Se evaluaron 22 accesiones colectadas en seis regiones nicaragüenses y 10 cultivares procedentes de Taiwán, tres cultivares de Cuba y una variedad comercial. Se utilizaron siete marcadores moleculares ligados a los genes de resistencia. Para el gen *Ty-1* se utilizaron dos marcadores tipo CAPS y para el gen *Ty-2*, se empleó un marcador tipo SCAR (diferente tamaño) y un marcador tipo CAP. Para el gen *Ty-3* se usaron tres marcadores tipo SCAR (uno tipo presencia/ausencia y dos de diferentes tamaño). Se lograron identificar únicamente seis cultivares introducidos de Taiwán con la presencia del gen *Ty-1*, no así en los colectados en fincas de productores. En el caso del gen *Ty-2*, con el marcador SCAR se lograron identificar nueve cultivares procedentes de Taiwán con el gen de resistencia, pero de los colectados a nivel nacional únicamente un genotipo presentó el mismo gen, la misma respuesta se encontró para el marcador CAPS con los cultivares introducidos, no así para los colectados a nivel nacional, el cual logró identificar dos cultivares con presencia del mismo gen. Para el gen *Ty-3*, únicamente siete cultivares procedentes de Taiwán presentaron el gen, no así los cultivares nacionales, que no presentaron el gen.

Palabras clave: CAPS, Genes de Resistencia, Genotipo, SCAR, TYLCV.

## Identification of tomato cultivars resistant to Begomovirus using molecular markers SCAR and CAPS types

### ABSTRACT

Tomato Yellow leaf curl virus (TYLCV) is a Begomovirus transmitted by whitefly (*Bemisia tabaci* Genn.) and it is one of the main factors limiting tomato production in tropical and subtropical areas of the world. Nowadays, the genes *Ty-1*, *Ty-2* and *Ty-3* has been describes as associated to begomovirus resistance and it have been used in tomato breeding programs. This study focused on identifying tomato cultivars with resistance genes to begomovirus. Twenty two accessions collected in six Nicaraguans regions, 10 cultivars from Taiwan, three cultivars from Cuba and a commercial variety were evaluated. Seven molecular markers linked to the resistance genes were used. For the *Ty-1* gene two CAPS markers were used and for the *Ty-2* gene, a SCAR marker (different sizes) and a CAP marker was used. For the *Ty-3* gene three types of SCAR markers (one type presence / absence and two different sizes) were used. Just six cultivars introduced from Taiwan were identified with the *Ty-1* gene, but not in the collected on-farm. In the case of *Ty-2* gene with the SCAR marker it was able to identify nine cultivars from Taiwan with the resistance gene, but only one genotype collected nationally showed the same gene. The same response was found for CAPS marker with introduced cultivars, but not for the collected nationally, where two cultivars were identified with the presence of the same gene. For the *Ty-3* gene, just seven cultivars from Taiwan had the gene, not national cultivars, which did not show the gene.

Key word: CAPS, Genotype, Resistance Gene, SCAR, TYLCV

### INTRODUCCIÓN

La productividad del cultivo de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) se ve limitada por la incidencia de microorganismos fitopatógenos, siendo el *Virus del encrespamiento amarillo de la hoja del tomate (TYLCV)* uno de los patógenos

más agresivos para la hortaliza a nivel mundial (Dueñas *et al.*, 2001).

Una alternativa para contrarrestar estas enfermedades, es la búsqueda de fuentes de resistencia a estos patógenos, para su incorporación en las variedades comerciales (Morales, 2000).

Hasta la fecha se han identificado tres genes relacionados con la resistencia al TYLCVes, estas son: *Ty-1*, *Ty-2* y *Ty-3*.

- El gen *Ty-1*, fue el primer gen mapeado y presenta una mayor dominancia incompleta. Fue introgresado del tomate silvestre *Solanum chilense* LA1969 y mapeado en el cromosoma 6 (Zamir *et al.*, 1994).

- El gen *Ty-2*, fue introgresado del tomate silvestre *S. habrochaites* y mapeado en el brazo largo del cromosoma 11 (Hanson *et al.*, 2000).

- El gen *Ty-3* el cual fue mapeado en el brazo largo del cromosoma 6 (Jensen *et al.*, 2007).

Este gen fue derivado de *S. chilense* (LA2779 y LA1932), *S. habrochaites*, *S. peruvianum*, y está asociado a la resistencia y/o tolerancia al *Virus del encrespamiento amarillo del tomate* (TYLCV) y *Virus del mosaico del tomate* (ToMoV).

Con el avance de las técnicas moleculares, se han desarrollado marcadores moleculares tipo

CAPS (del inglés, *Cleaved amplified polymorphic sequences*) y SCAR (del inglés, *Sequence characterized amplified regions*) que permiten la identificación y selección de cultivares de tomate con la presencia de estos genes, que pueden ser usados en programas de mejoramiento genético. El presente trabajo tuvo como objetivo identificar genes de resistencia en cultivares de tomate procedentes de Nicaragua, Taiwán y Cuba, para su empleo en programas de mejoramiento genético.

## MATERIALES Y MÉTODOS

*Extracción de ácido desoxirribonucleico (ADN) y condiciones de reacción en cadena de la polimerasa (PCR)*

Se tomó aproximadamente 1 cm<sup>2</sup> de hoja de cada material vegetal (Tabla 1 y 2). Para la extracción de ADN de las muestras en estudio se usó el protocolo CTAB (Doyle y Doyle, 1990). El ADN se resuspendió en 100 µl de tampón TE y se mantuvo a -20°C hasta su uso.

Tabla 1. Descripción de cultivares de tomate (*Lycopersicon esculentum*) introducidos en Nicaragua.

No. de entrada	Genotipo	Procedencia	Características
1m	CLN3125F2-21-4-13-1-0	*AVRDC -Taiwán	Genes de resistencia <i>Ty-3</i> , <i>Ty-2</i> , TMV, BW. Fruto: Oblongo, mediano color uniforme
2m	CLN3125F2-21-4-13-14-0	AVRDC -Taiwán	Genes de resistencia <i>Ty-3</i> , <i>Ty-2</i> , TMV, BW. Fruto: cuadrado, mediano color verde
3m	CLN3125F2-21-27-15-0	AVRDC -Taiwán	Genes de resistencia <i>Ty-3</i> , <i>Ty-2</i> , TMV, BW. Fruto: cuadrado, mediano color verde
4m	CLN3070F1-10-88-8-13-0	AVRDC -Taiwán	Genes de resistencia <i>Ty-3</i> , <i>Ty-2</i> , TMV, BW. Fruto: cuadrado, mediano color uniforme
5m	CLN3078F1-12-6-25-8-4-0	AVRDC -Taiwán	Genes de resistencia <i>Ty-3</i> , TMV, BW. Fruto: Oblongo, mediano color uniforme
6m	CLN3022F2-37-8-1 (L1)	AVRDC -Taiwán	Genes de resistencia <i>Ty-2</i> , <i>Ty-3</i> Fruto: redondo, mediano color uniforme
7m	CLN3022F2-37-29-8-0 (L2)	AVRDC -Taiwán	Genes de resistencia: <i>Ty-1</i> <i>Ty-3</i> , Fruto uniforme
8m	CLN3022F2-138-6-2-0 (L4)	AVRDC -Taiwán	Genes de resistencia: <i>Ty-1</i> <i>Ty-2</i> , Fruto uniforme
9m	CLN3022F2-138-6-7-0 (L5)	AVRDC -Taiwán	Genes de resistencia: <i>Ty-1</i> <i>Ty-3</i> , Fruto uniforme
10m	Mara	**INCA-Cuba	Resistente a Bacteriosis
11m	Mariela	Cuba	Resistente a Bacteriosis
12m	Amalia	Cuba	Resistente a Bacteriosis
13m	Variedad comercial Butter	EEUU	Susceptible
14m	INTA Valle de Sebaco	AVRDC -Taiwán	Resistente a Begomovirus

\*convenio de colaboración entre INTA y el AVRDC-Taiwán

\*\*Colaboración con Dr. C. Carlos Moya López. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA, CUBA).

Tabla 2. Descripción de cultivares de tomate (*Lycopersicon esculentum*) colectados en Nicaragua.

No. de entrada	Genotipo	Procedencia
1s**	Tipo criollo	Sabana 1, Estelí
2s**	Tipo criollo	Sabana 2, Estelí
3s**	Tipo criollo	Matiguas, Matagalpa
4s**	Tipo criollo	Matiguas, Matagalpa
5s**	Tipo criollo	San Rafael del Norte, Jinotega
6s**	Tipo criollo	El Pescador, Estelí
7s**	Tipo criollo	Estelí
8s**	Tipo criollo	El Jícara, Nueva Segovia
9s**	Tipo criollo	El Jícara, Nueva Segovia
10s**	Tipo criollo	El Recreo, RAAS
11.1s**	Tipo criollo	San Isidro, Matagalpa
11.2s**	Tipo criollo	San Isidro, Matagalpa
12s**	Tipo criollo	La concordia, Matagalpa
13.1s*	Tipo criollo	Somotillo, Chinandega
13.2*s	Tipo criollo	Somotillo, Chinandega
14s*	Tipo criollo	Somotillo, Chinandega
15s*	Tipo criollo	Somotillo, Chinandega
16s*	Tipo criollo	Somotillo, Chinandega
17s*	Tipo criollo	Somotillo, Chinandega
18s*	Tipo criollo	Somotillo, Chinandega
19s*	Tipo criollo	Somotillo, Chinandega
20s*	Tipo criollo	Estelí

No Disponible (N.D)

\*colectado por M.Sc. Álvaro Benavides

\*\*Colectado por M.Sc. Tomas Laguna, INTA- Valle de Sebaco

#### Condiciones para PCR

Se utilizaron siete marcadores moleculares, los cuales se describen en la tabla 3.

Para el marcador REX-1, asociado al gen *Ty-1*, se usaron las condiciones de PCR descrita por Pérez de Castro *et al.* (2007), que consisten en: 30 ciclos de 94°C por 30 s, 55°C por 30 s y 72°C por 1 min, seguido por un paso de extensión de 72°C por 10 min. Luego, el producto de PCR se incubó a 65°C por dos horas con la enzima de restricción TAqI. Finalmente, el producto PCR se incubó a 65°C por dos horas con la enzima de restricción TAqI.

Las condiciones de PCR para los marcadores asociados al gen *Ty-2*, se establecieron según el

protocolo descrito por García *et al.* (2007) que consiste en 94°C por 5 min, 35 ciclos de 94°C por 30s, 55°C por 1 min y 72°C por 2 min, seguidos de un paso de extensión de 5 min a 72°C.

Para los marcadores asociados al gen *Ty-3*, se empleó el protocolo descrito por Jesen *et al.* (2007) de 94°C por 3 min 35 ciclos de 94°C por 30s, 50-60°C por 45 segundos dependiendo del marcador, y 72°C por 1 min seguidos de un paso de extensión de 10 min a 72°C.

En el caso del marcador FLU-W25, se usó el programa de PCR descrito por Salus *et al.* (2007) de 94°C por 3 min, 34 ciclos de 94°C por 30 s, 53°C por 1 min, 72°C por 1 min, seguido por un paso de extensión de 10 min.

Tabla 3. Descripción de marcadores moleculares usados para la identificación de fenotipos de tomate resistentes al TYLCV.

Marcador	Gen asociado	Secuencia del marcador	Tipo de marcador	Referencia
Rex-1	<i>Ty-1</i>	F: TCGGAGCCTTGGTCTGAATT R: ATGCCAGAGATGATTCGTGA	CAPS ( <i>TaqI</i> )	Williamson <i>et al.</i> (1994) en Pérez de Castro <i>et al.</i> (2007)
TG231	<i>Ty-1</i>	F: CCATCCTGATTGAAGGGAAACAAGC R: CTAGATGAAATGTACCATGCTGCCC	CAPS ( <i>TaqI</i> )	Ji <i>et al.</i> (2007)
T0302	<i>Ty-2</i>	F: GGCTCATCCTGAAGCTGATAGCGC T0302R: AGTGTACATCCTTGCCATTGACT	SCAR (diferente tamaño)	García <i>et al.</i> (2007)
TG-105A	<i>Ty-2</i>	F: CTTCAGAATTCCTGTTTTAGTCAGTTGAACC R: ATGTCACATTTGTTGCTTGGACCATCC	CAPS ( <i>TaqI</i> )	García <i>et al.</i> (2007)
FLU-W25	<i>Ty-3</i>	F: AAGTGTGCATATACATCATAKTCACC R: CCATATATAACCTCTGTTTCTATTTTCGAC	SCAR (diferente tamaño)	Salus <i>et al.</i> (2007)
P6-25	<i>Ty-3</i>	F: GGTAGTGAAATGATGCTGCTC R: GCTCTGCCTATTGTCCCATATAAACC	SCAR (diferente tamaño)	Jensen <i>et al.</i> (2007)
P169	<i>Ty-3</i>	F: CGTAGGCTGATAGTGTTCCTTTCC R: ACGGTTGGACGATGTGGAT	SCAR (presencia/ ausencia)	Ji <i>et al.</i> (2007)

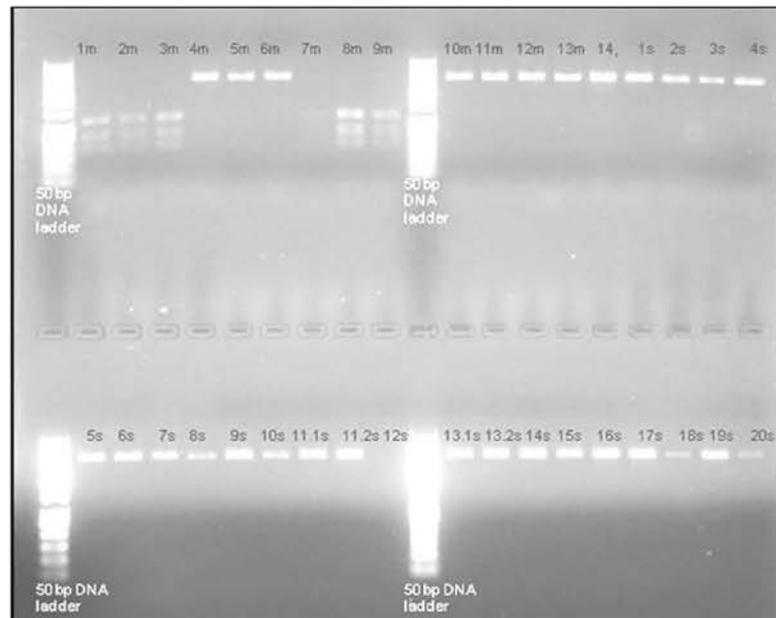


Figura 1. Electroforesis en gel de agarosa al 1.5% de los productos amplificados por el marcador REX-1 con digestión enzimática en diferentes genotipos de tomate introducidos o colectados en Nicaragua.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Gen *Ty-1*

Con el empleo del REX-1, se observó la presencia de un alelo de 750 pb (Figura 1) en todos los cultivares analizados. Sin embargo, una vez realizada la digestión enzimática, se observó que los cultivares 1m, 2m, 3m, 7m,

8m y 9m presentaron tres alelos que se ubicaron en un rango de 150 a 350 pb, no así el resto de cultivares que presentaron un alelo de 750 pb. De acuerdo con Pérez de Castro *et al.* (2007) y García *et al.* (2007), el marcador REX-1 presenta estos tres alelos cuando un genotipo posee resistencia a TYLCV. Estos seis cultivares fueron obtenidos por mejoramiento en AVRDC e introducido dicho gen.

En estudios previos, se ha determinado que el gen *Ty-1* presenta un efecto de dominancia incompleta y que la mayoría de los cultivares comerciales de tomate con resistencia a TYLCV, poseen dicho gen (Pérez de Castro *et al.*, 2007).

Se comprobó que para el marcador TG231, este gen (Figura 2), presentó un alelo

homocigoto de 750 pb, para todos los cultivares, una vez realizada la digestión enzimática (Figura 3). Los cultivares 1m, 2m, 3m, 7m, 8m y 9m con presencia del gen *Ty-1* conservaron el mismo alelo, no así el resto de los cultivares que presentaron un alelo diferente con un aproximado de 450 pb.

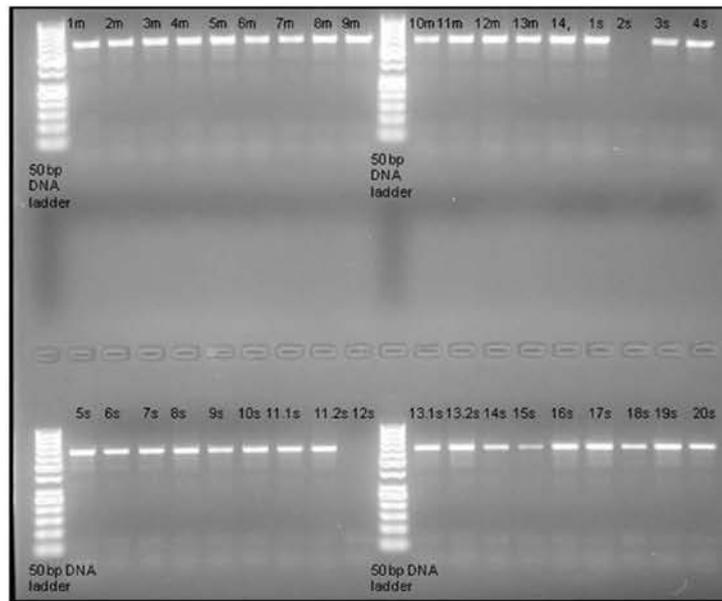


Figura 2. Electroforesis en gel de agarosa al 1.5% de productos amplificados por el marcador TG-231 en diferentes cultivares de tomate introducidos o cultivados en Nicaragua.

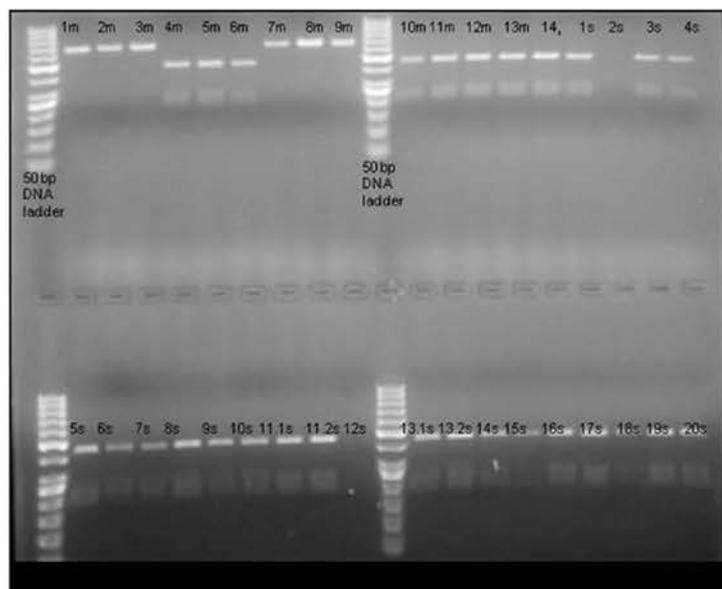


Figura 3. Electroforesis en gel de agarosa al 1.5% de productos amplificados por el marcador TG-231 con digestión enzimática en diferentes cultivares de tomate introducidos o cultivados en Nicaragua.

### Gen *Ty-2*

Con el marcador T0302 (Figura 4), de las líneas introducidas de Taiwán, únicamente la accesión 7m no presentó el alelo ligado a resistencia. Las demás líneas presentaron un alelo homocigoto con 950 pb. De los cultivares colectados en Nicaragua, solo el 11.1 s presentó dos alelos, incluyendo el alelo de resistencia a begomovirus (950 pb). En estudios previos, García *et al.* (2007), informaron que para el marcador T0302, alelos de 950 pb para las líneas resistentes a begomovirus (H24 y *S. habrochaites* LA0386). En el mismo estudio, se hace referencia al híbrido TyQueen, como resistente, con un perfil heterocigoto con dos alelos, incluyendo el alelo con 950 pb.

Se ha descrito que el gen *Ty-2* está ligado a la resistencia o tolerancia *TYLCV*. Fue introgresado de *S. habrochaites*, a través del uso de marcadores RFLP en el cromosoma 11, entre el marcador TG36 (84 cM) y TG393 (103 cM) en la línea H24 (Hanson *et al.*, 2000). En el AVRCD se está

incorporando el alelo *Ty-2* a las nuevas líneas comerciales de tomate. El gen *Ty-2*, es efectivo contra algunas formas monopartitas de geminivirus, no así contra los bipartitas que prevalecen en América y parte de Asia (AVRDC, 2005).

Por otra parte, con el marcador TG-105A (Figura 5), se encontró un alelo homocigoto para todos los cultivares evaluados. Sin embargo, con digestión enzimática del producto amplificado (Figura 6), se apreció que dos cultivares colectados en Nicaragua (11.1 s y 11.2 s) poseían un alelo de 350 pb, que coincidió con el encontrado en los cultivares con resistencia a *TYLCV* proveniente de Taiwán. De acuerdo con García *et al.* (2007), el marcador T0302 es más preciso que TG-105A al identificar el gen *Ty-2*. Esto se debe a que el marcador TG-105A puede erróneamente identificar el gen *I2*, asociado a la resistencia a *Fusarium*, dado a que ambos genes se encuentran en el cromosoma 11 con una distancia de 1.5 cM entre ambos, por lo cual, se podría implicar la presencia del gen *I2* en el genotipo 11.2 s.

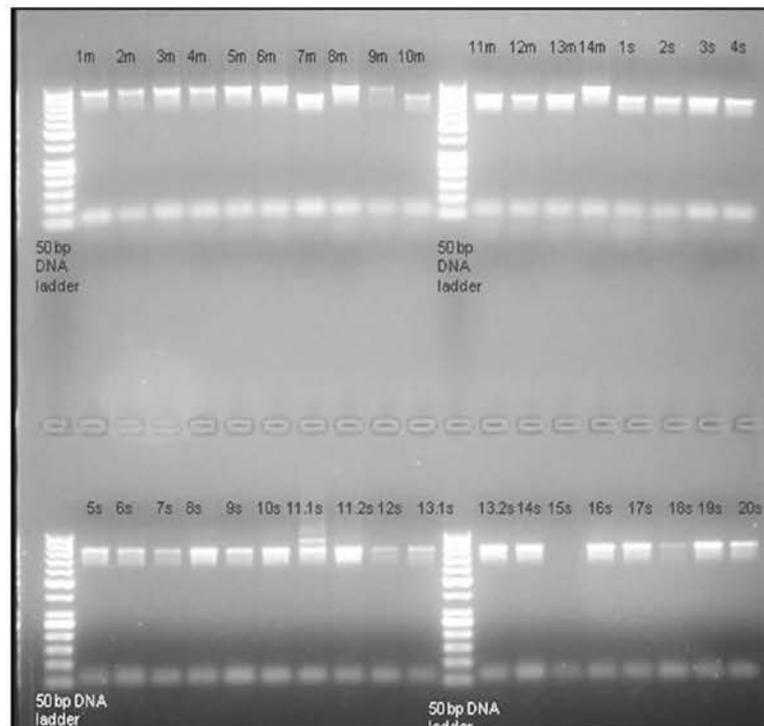


Figura 4. Electroforesis en gel de agarosa al 1.5% de productos amplificados por el marcador T0302 en diferentes cultivares de tomate introducidos o cultivados en Nicaragua.

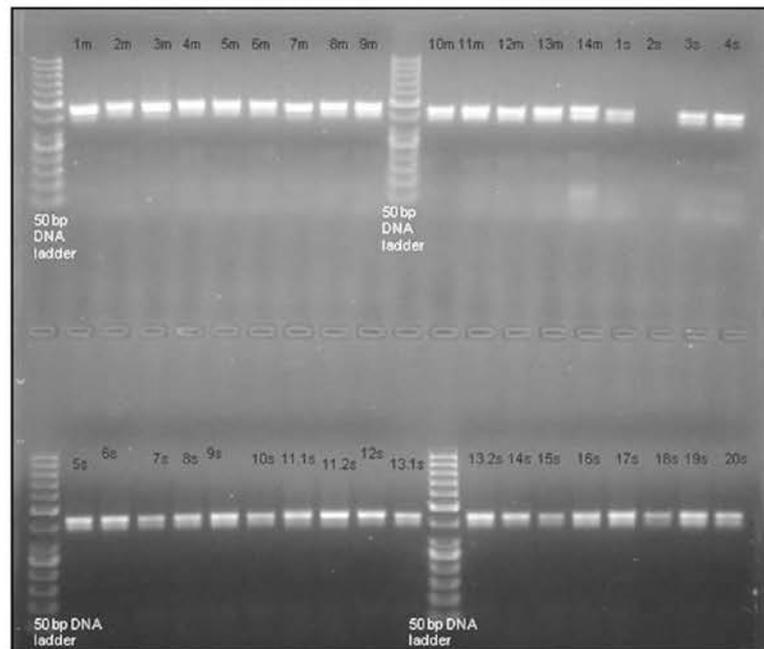


Figura 5. Electroforesis en gel de agarosa al 1.5% de productos amplificados por el marcador TG-105A en diferentes cultivares de tomate introducidos o cultivados en Nicaragua.

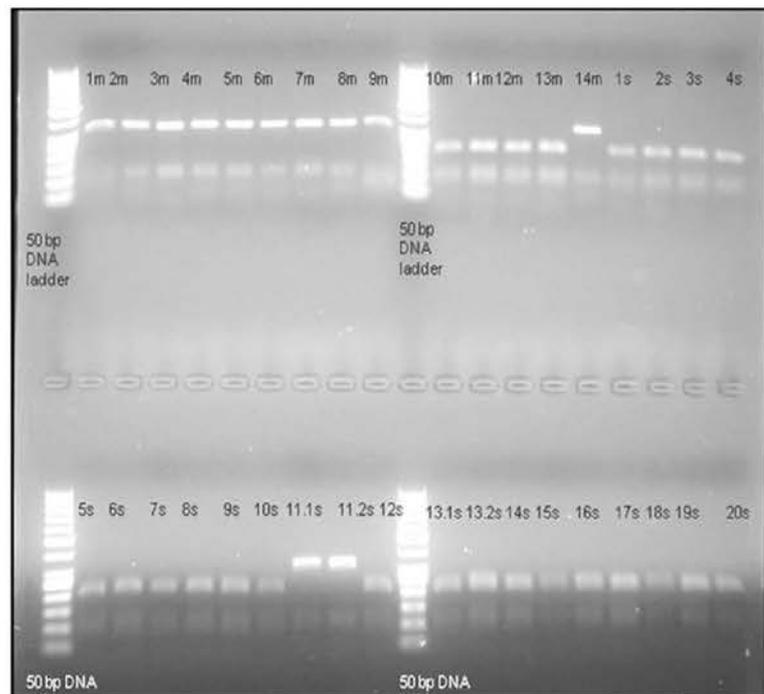


Figura 6. Electroforesis en gel de agarosa al 1.5% de productos amplificados por el marcador TG-105A con digestión enzimática en diferentes cultivares de tomate introducidos o cultivados en Nicaragua.

**Gen Ty-3**

Para la identificación del gen Ty3, con el marcador FLU-W25 (Figura 8), se obtuvieron dos tipos de alelos, con 650 pb para los

cultivares 1m, 3m, 4m, 5m, 6m y 7m y 500 pb para el resto. Resultados presentados por Salus *et al.* (2007), para cultivares resistentes (Gh25, 228-1 y Gc43) mostraron el alelo de resistencia con 600 pb.

El gen *Ty-3*, fue mapeado en los intervalos 20 cM y 27 cM del cromosoma 6, el cual es uno de los principales locus, responsable de la resistencia a *TYLCV*. Al mismo tiempo, contribuye a una resistencia parcial al *ToMoV* (Jensen *et al.*, 2007).

El marcador P169 (Figura 9) es del tipo presencia/ausencia. De los materiales mejorados

únicamente CLN3070F1-10-88-8-13-0 (Procedente de Taiwán), AMALIA (Procedente de Cuba) y BUTTER no presentaron presencia del gen *Ty-3* para este marcador. En este caso, se observó la poca efectividad de este marcador para detectar dicho gen. En cuanto a los materiales vegetales colectados en las diferentes regiones de Nicaragua, no se presentó el alelo de resistencia.

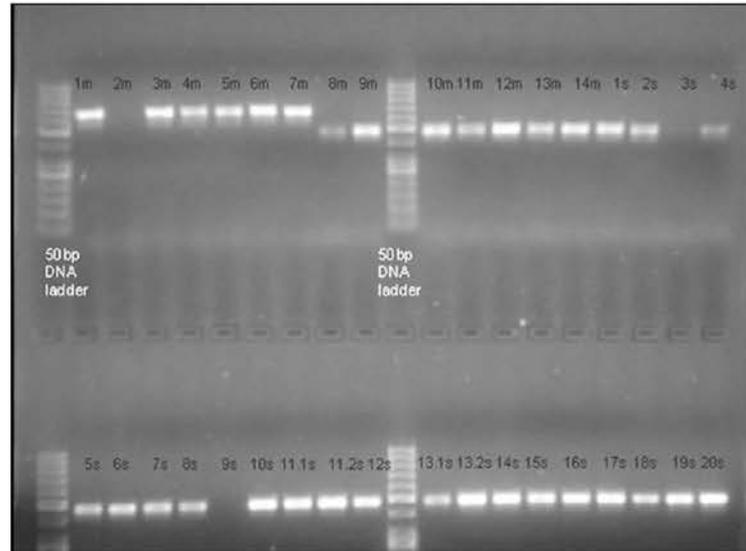


Figura 7. Electroforesis en gel de agarosa al 1.5% de productos amplificados por el marcador FLUW-25 en diferentes cultivares de tomate introducidos o cultivados en Nicaragua.

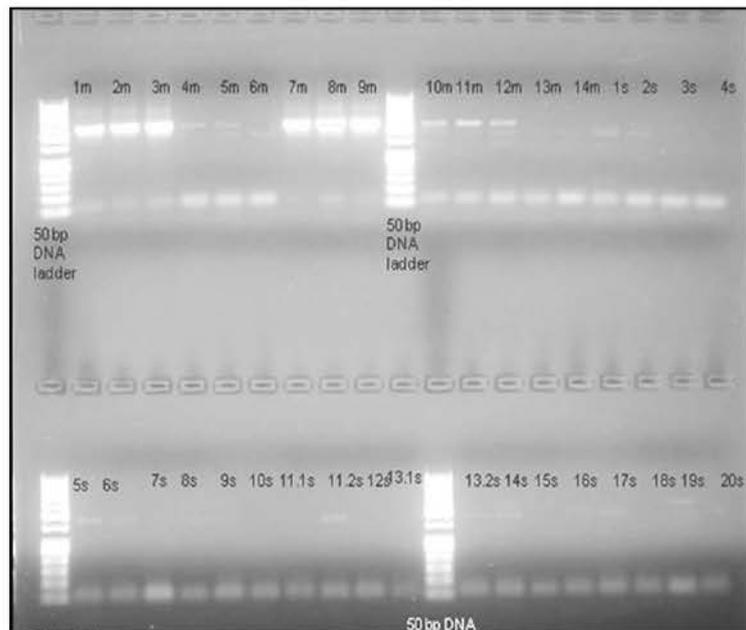


Figura 8. Electroforesis en gel de agarosa al 1.5% de productos amplificados por el marcador P169 en diferentes cultivares de tomate introducidos o cultivados en Nicaragua.

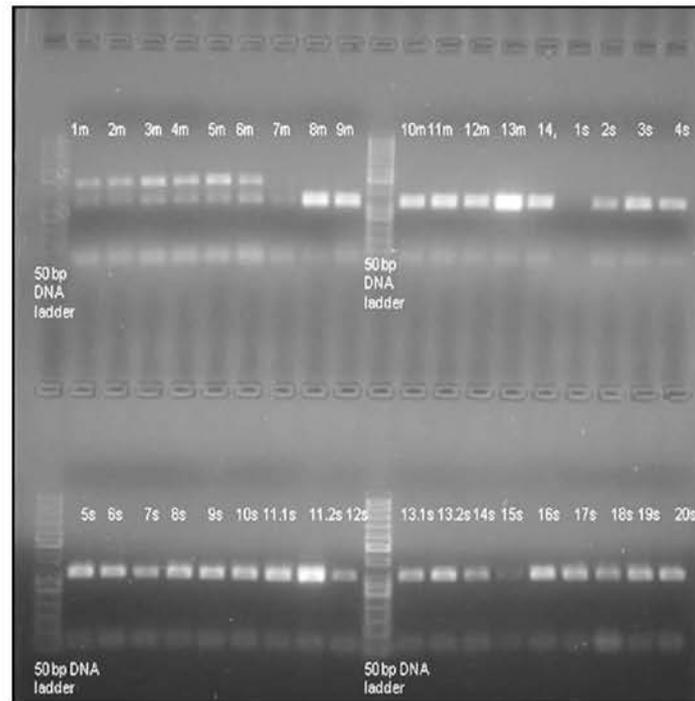


Figura 9. Electroforesis en gel de agarosa al 1.5% de productos amplificados por el marcador P6-25 en diferentes cultivares de tomate introducidos o cultivados en Nicaragua.

Con el marcador P6-25 (Figura 9), los materiales vegetales mejorados 1m, 2m, 3m, 4m, 5m, 6m y 7m se comportaron con un perfil heterocigoto, en el cual, el alelo con la presencia del gen tuvo un tamaño de 450 pb aproximadamente. Los demás fueron homocigotos, sin presencia del alelo con un tamaño aproximado 320 pb. Datos similares presentaron Jensen *et al.* (2007), para el mismo marcador.

## CONCLUSIONES

El uso marcadores tipo de SCAR y CAPS para selección asistida en programa de mejoramiento genético, permitió encontrar cultivares (con procedencia del AVRDC de Taiwán, Cuba y Nicaragua) con presencia y ausencia de los genes *Ty1*, *Ty2* y *Ty3*, que confieren resistencia a *TYLCV*, los cuales podrían ser incluidos como parentales en programas de mejora genética del cultivo de tomate.

## AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo fue realizado gracias al apoyo financiero del programa Fontagro, así

como al apoyo brindado por el laboratorio de virología del CIAT-Colombia.

## REFERENCIAS

AVRDC.Report (2005) [En línea] En: [http://www.avrdc.org/publications/annual\\_report/AR\\_2005/AR2005%5B1%5Dweb.pdf](http://www.avrdc.org/publications/annual_report/AR_2005/AR2005%5B1%5Dweb.pdf). Consultado 23/06/2010

Doyle, JF, Doyle JL (1990) Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus 12: 13–15

Dueñas, F, Martínez Y, Álvarez C, Moya C, Arias PY (2009) Identificación de los genes *TY-2* y *TY-3* de resistencia a Begomovirus y su grado de homocigosis en nuevas accesiones de tomate. Cultivos Tropicales 30: 61-64

García, BE, Graham E, Jenson KS, Hanson P, Mejía L, Maxwell DP (2007) Co-dominant SCAR marker for detection of the begomovirus-resistance *Ty-2* locus derived from *Solanum habrochaites* in tomato germplasm. TGC Report 57: 21-24

Hanson, PM, Bernacchi D, Green S, Tanksley SD, Muniyappa V, Padmaja AS, HueiMei C, Kuo G, Fang D, JetTzu (2000) Mapping a wild tomato introgression associated with tomato yellow leaf curl virus resistance in a cultivated tomato line.

Journal American Society of Horticulture and Science 125: 15-20

Jensen, KS, Van Betteray B, Smeets J, Ji Y, Scott LW, Mejía L, Havey MJ, Maxwell DP (2007) Co-dominant SCAR Marker, P6-25, for Detection of the *ty-3*, *Ty-3*, and *Ty-3a* alleles at 25 cM of Chromosome 6 of Tomato [En línea] En: <http://www.plantpath.wisc.edu/GeminivirusResistantTomatoes/Markers/MAS-Protocols/Ty3a-allele.pdf>. Consultado 24/06/2010

Morales, FJ (2000) El mosaico dorado y otras enfermedades del frijol común causadas por geminivirus transmitidos por mosca blanca en la América Latina. CIAT, Cali, Colombia, 169 p

Pérez de Castro, A, Blanca JM, Diez MJ, Nuez F (2007) Identification of a CAPS marker tightly linked to the Tomato yellow leaf curl disease resistance gene *Ty-1* in tomato. European Journal of Plant Pathology 117: 347-356

Pérez de Castro, A, Diez MJ, Nuez F (2007) Inheritance of tomato yellow leaf curl virus resistance derived from *Solanum pimpinellifolium* UPV 16991. Plant Disease 91: 879-885

Salus, MS, Martin ChT, Maxwell DP (2007) PCR protocol for the co-dominant SCAR marker, FLUW-25, for detection of the introgression at 25 cM (*Ty-3* locus) of chromosome 6 [En línea] En: <http://www.plantpath.wisc.edu/GeminivirusResistantTomatoes/Markers/MAS-Protocols/FLUW-25FR.pdf>. Consultado 24/06/2010

Zamir, D, Ekstein-Michelson I, Zakay Y, Navot N, Zeidan M, Sarfatti M, Eshed Y, Harel E, Pleban T, van-Oss H, Kedar N, Rabinowitch HD, Czosnek H (1994) Mapping and introgression of a *tomato yellow leaf curl virus* tolerance gene, *Ty-1*. Theoretical and Applied Genetics 88: 141-146

Recibido: 16-12-2011

Aceptado: 1-12-12