Jurnal Online Agroekoteknologi
E-ISSN No. 2337- 6597
Vol.8.No.1. January 2020 (2): 10- 16
DOI: 10.32734/jaet

Analisis Keragaman Genetik Klon Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) Berdasarkan Primer SSR (Simple Sequence Repeats)

Analysis of Genetic Diversity of Oil Palm Clones (Elaeis guineensis Jacq.*) Based on SSR Primer (Simple Sequence Repeats)*

Nurlisa Hani, Eva Sartini Bayu*, Revandy Iskandar Damanik
Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian Universitas Sumatera Utara, Medan 20155
**Corresponding author* : *evagirsang61@gmail.com*

ABSTRACT

SSR markers are very accurate tools for distinguishing genotypes from tissue culture, evaluating seed purity, mapping, and genotype selection for desired characters. This study aimed to analyze the genetic diversity of oil palm clones (Elaeis guineensis Jacq.*) using simple sequence repeats with FR 0802, FR 0894 and FR 1753 primers. This research was carried out in the Biotechnology Laboratory of the Faculty of Agriculture, University of Sumatra Utara. The analyzed genetic materials were 29 BTC-60 clones of palm oil DNA from PT. Socfindo. From the results of the analysis using 3 primers with 4 bands with sizes ranging between 103 bp - 500 bp and the average percentage of polymorphism 33.3%. Calculation of distance and dendogram formation using DARwin 6.0 software. The results of the analysis showed that 29 clones were divided into 3 main groups with a total molecular diversity of 55.86%, a high level of diversity stated that the occurrence of somaclonal variation. The genetic distance coefficient ranged from 0-0.91.*

Keywords: oil palm, genetic diversity, clones, SSR

ABSTRAK

Penanda marka SSR merupakan merupakan alat bantu yang sangat akurat untuk membedakan genotipe yang berasal dari hasil kultur jaringan, evaluasi kemurnian benih, pemetaan, dan seleksi genotip untuk karakter yang diinginkan. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis keragaman genetik klon kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) menggunakan marka SSR (*Simple Sequence Repeats*) dengan primer FR 0802, FR 0894 dan FR 1753. Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium Bioteknologi Fakultas Pertanian Universitas Sumatera Utara. Materi genetik yang dianalisis merupakan 29 stok DNA kelapa sawit klon BTC-60 dari PT.Socfindo. Dari hasil analisis menggunakan 3 primer di dapat 4 pita dengan ukuran berkisar anatara 103 bp – 500 bp dan rataan persentase polimorfisme 33.3%. Perhitungan jarak dan pembentukan dendogram dengan menggunakan software DARwin 6.0. Hasil analisis tersebut menunjukkan bahwa 29 klon tersebut terbagi atas 3 kelompok utama dengan total keragaman molekuler 55,86%, tingkat keragaman yang tinggi menyatakan bahwa terjadinya variasi somaklonal. Koefisien jarak genetik berkisar antara 0-0,91.

Kata Kunci : kelapa sawit, keragaman genetik, klon, SSR

PENDAHULUAN

Tanaman kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) merupakan tumbuhan tropis golongan palma yang termasuk tanaman tahunan dan habitat aslinya adalah daerah semak belukar.

Kelapa sawit yang sudah dibudidayakan terdiri dari dua jenis: *E. guineensis* dan *E. oleifera.* Jenis pertama

Jurnal Online Agroekoteknologi
E-ISSN No. 2337- 6597
Vol.8.No.1. January 2020 (2): 10- 16
DOI: 10.32734/jaet

adalah yang pertama kali yang dibudidayakan sebagai tanaman komersial. Jenis *E. oleifera* belakangan ini mulai di budidayakan untuk menambah keanekaragaman sumber daya genetik (Sibuea, 2014).

Menurut data Ditjenbun (2017), produksi kelapa sawit dari tahun 2015 sampai tahun 2017 meningkat. Pada tahun 2015, produksi kelapa sawit sebesar 31.070.015 ton/ha , pada tahun 2016 sebesar 33.229.381 ton/ha dan pada tahun 2017 sebesar 35.359.384 ton/ha. Peningkatan produksi tidak terlepas dari kegiatan pemuliaan tanaman. Salah satunya adalah kultur jaringan.

Klon kelapa sawit yang dihasilkan dari perbanyakan secara kultur jaringan yang menghasilkan banyak variasi gen yang berpengaruh terhadap pertumbuhan tanaman, baik dari segi pertumbuhan vegetatif maupun generatif. Perubahan kearah abnormalitas pada kelapa sawit pada bagian bunga dan buah yang terjadi konversi satu atau lebih primordial anter menjadi karpel dan berkembang menjadi buah mantel. Akibatnya, buah tidak terbentuk karena tandan buah dipenuhi dengan bunga jantan dan bunga bermantel sehingga mengurangi produksi (Sianipar *et al*., 2007).

Teknik kultur jaringan tidak selalu menghasilkan tanaman yang identik dengan induknya karena selama proses kultur jaringan dapat terjadi variasi fenotipik yang disebabkan oleh perubahan genetik yang disebut variasi somaklonal. Variasi somaklonal dapat berasal dari keragaman genetik eksplan yang disebabkan adanya sel-sel bermutasi maupun adanya polisomik dari jaringan tertentu (Hetharie, 2010). Kelebihan dari perbanyakan kultur jaringan yaitu dapat mempersingkat waktu dalam pelaksanaan program pemuliaan. Oleh sebab itu telah banyak diterapkan perbanyakan tanaman kelapa sawit dengan metode *in vitro* (Kiswanto *et al.*, 2008).

Penggunaan marka SSR (*Simple Sequence Repeats*) sebagai penanda untuk tanaman kelapa sawit telah dilakukan oleh Mardziah *et al* (2013) tentang pengembangan screening protocol non-radioactive pada kelapa sawit yang menyimpulkan bahwa SSR sangat sesuai untuk mengkarakterisasi keragaman genetik. Selain itu Putri *et al*, (2010) juga telah menggunakan marka SSR untuk identifikasi keragaman alel tanaman kelapa sawit pisifera. Oleh sebab itu identifikasi keragaman molekuler tanaman kelapa sawit perlu dilakukan untuk memperoleh gambaran sebaran genetik tanaman kelapa sawit Syahputra *et al*., 2017).

Penelitian ini menggunakan 3 marka SSR yang telah diurutkan dan dipetakan oleh Billotte *et al* (2005) yang diunduh dari National Center of Biotecnology Information (NCBI) menggunakan nomor aksesi yang telah diberikan oleh Billotte *et al* (2005) yang menyatakan bahwa marka yang telah digunakan merupakan marka SSR yang fungsional pada DNA kelapa sawit. Primer FR 0802 dan FR 0894 yang berasosiasi dengan penyakit *Ganoderma* Billotte *et al* (2005) dan Primer FR1753 mengenai penilaian populasi kelapa sawit di Nigeria, dan diketahui untuk mengetahui kekerabatan genetik pada 22 populasi pisifera (Putri *et al.*, 2010).

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Sumatera Utara. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan September 2018 sampai November 2018.

Bahan tanam yang digunakan dalam penelitian ini adalah stok DNA klon kelapa sawit BTC 60 hasil dari kultur jaringan sebanyak 29 sampel (C_1-C_{29}) yang dikeluarkan oleh Pusat Seleksi Bangun Bandar PT. Socfindo Desa Martebing, Kecamatan Dolok Masihul, Kabupaten Serdang Bedagai, Sumatera Utara. Kecamatan Dolok Masihul, Kabupaten Serdang Bedagai, Sumatera Utara. Bahan kimia yang digunakan adalah, *Polyvinylpolypyrolidone* (PPVP), nitrogen cair, buffer ekstraksi *cetyl*

Jurnal Online Agroekoteknologi
E-ISSN No. 2337- 6597
Vol.8.No.1. January 2020 (2): 10- 16
DOI: 10.32734/jaet

trimethylammonium bromide (CTAB), buffer ekstraksi CTAB (2 g Nacl, 5 g CTAB, 100 ml aquades), Buffer TBE, Buffer TE, KIAA (klorofom: 1 ml isoamil - alcohol), HCl , NaOH, isopropanol dingin, *ethylenediamine tetraacetic* (EDTA), *β-mercaptoethanol* 2%, etanol 70%, etanol absolute, DNA marker 100 bp Ladder, tiga primer SSR, Go taq Green Master Mix, loading dye, aquades, aquabidest, agarose.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah mortal, alu, mikropipet ukuran 1-10 µl, 20-100 µl, 100-1000 µl, tip pipet (putih, kuning dan biru), rak tube, autoklaf, watertbath, magnetic stirrer, centrifuge, freezer, computer, timbangan elektrik, vortex, cetakan agarose, tabung eppendorf 2 ml dan 1,5 ml, *chambell well* (bak elektroforesis), *power supplay*, PCR, (*Therma cycler*) *UV Transillaminator,* Gel Doc (*UV Cambrige*), pH meter, alat-alat gelas (beaker gelas, erlenmeyer dll) alat tulis, pengaduk, kamera, gunting, pinset, spatula, timbangan digital. Isolasi DNA mengunakan ß mercaptoethanol dan Polyvinilpoly pyrrolidone (PVPP) pada saat ekstraksi. Pengujian integritas DNA secara kualitatif dilakukan dengan elektroforesis gel agarose 0.8% sehingga diperoleh 29 stok DNA.

Sebanyak 3 primer marka SSR yang digunakan yaitu FR 0802, FR 0894 dan FR 1753. Proses amplifikasi Reaksi mesin PCR terdiri dari denaturasi awal pada suhu 94^{o}C selama 2 menit, kemudian diikuti oleh 35siklus denaturasi selama 1 menit, 35 siklus annealing pada suhu 52^{o}C selama 1 menit. 35 siklus eksistensi pada dilakukan dengan tahap sebagai berikut : satu siklus denaturasi awal pada suhu 94^{o}C selama suhu 72^{o}C selama 2 menit dilanjutkan dengan 1 siklus eksistensi akhir pada suhu 72^{o}C selama 5 menit Billotte *et al* (2005).

Hasil amplifikasi kemudian dilakukan dengan elektroforesis gel agarose 2.5% dalam buffer TBE selama 2 jam 70 volt, kemudian divisualisasikan dengan dengan *UVitec Cambridge.*

Profil pita diterjemahkan ke dalam data biner. Pita yang muncul diberi kode 1 (ada), dan 0 (tidak ada) kemudian dianalisis oleh software DARwin 6.0. Matriks jarak ketidaksamaan genetik untuk semua kombinasi pasangan individu dapat dilakukan dengan *Neighbour-Joining Tree* (NJtree) untuk memperoleh gambaran dari kekerabatan diantara individu-individu (Perrier dan Jacquemoud- Colled, 2009).

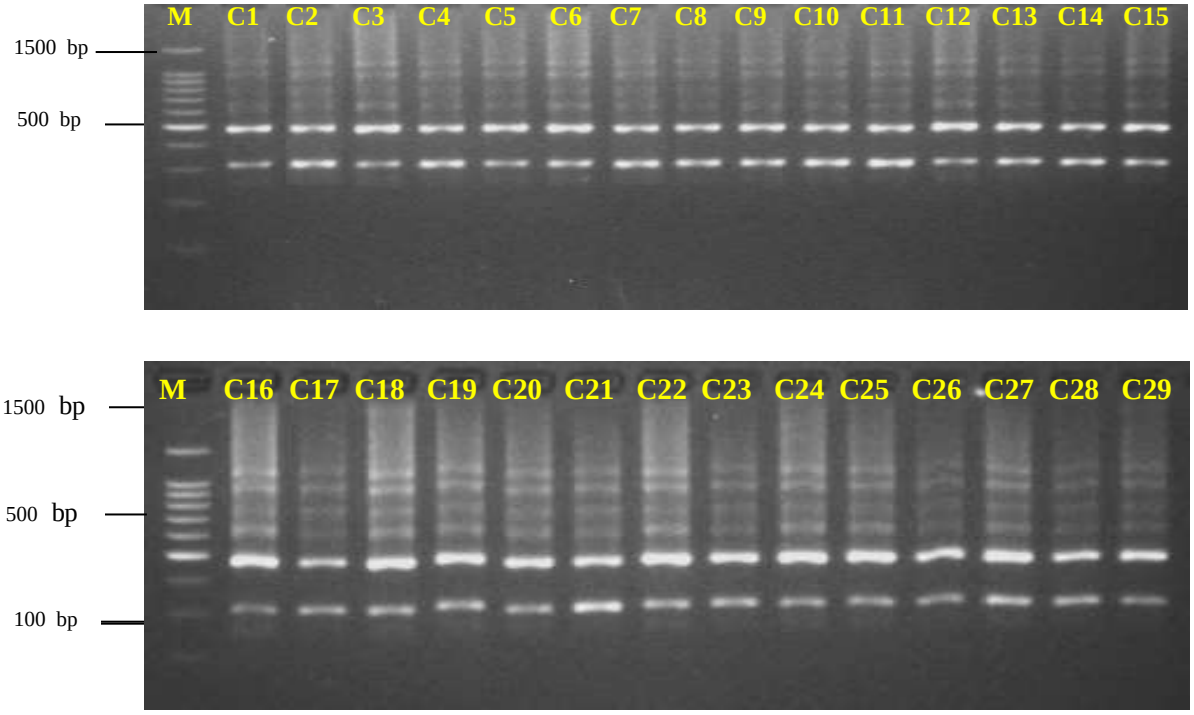
HASIL DAN PEMBAHASAN

Perbanyakan teknik kultur jaringan memiliki kekurangan yaitu berpotensi akan menghasilkan tanaman abnormal selama proses kultur jaringan dapat terjadi variasi klonal yang disebabkan oleh adanya sel-sel yang bermutasi. Hal ini sesuai dengan Hetharie (2010) yang menyatakan bahwa teknik kultur jaringan tidak selalu menghasilkan tanaman yang identik dengan induknya karena selama proses kultur jaringan dapat terjadi variasi fenotipik yang disebabkan oleh perubahan genetik yang disebut variasi somaklonal.

Tingkat keragaman molekuler berdasarkan tiga marka SSR yang diuji adalah sebesar 55,86% artinya bahwa primer SSR yang diuji dapat menunjukkan adanya perbedaan antara klon yang diuji sebesar 55,86%. Tingkat keragaman yang tinggi menyebabkan terjadinya variasi somaklonal yang berasal dari keragaman genetik eksplan yang disebabkan adanya sel-sel bermutasi maupun adanya polisomik dari jaringan tertentu. Menurut Elrod dan Satansfield (2007) menjelaskan bahwa keragaman genetik muncul disebabkan oleh adanya mekanisme mutasi, perpasangan alel secara bebas dan adanya migrasi gen dari satu tempat ke tempat lain.

Tiga primer SSR yang digunakan menunnjukkan rataan persentase polimorfisme sebesar 33,3%, yaitu masing-masing 0% untuk primer FR 0802, 0% pada primer FR 0894 dan 100% untuk primer FR1753. Putri *et al*. (2011) menyatakan bahwa tingkat polimorfisme yang didapat dari analisis marka molekuler merupakan informasi yang sangat penting bagi pemulia tanaman untuk kekayaan diversitas gen.

Jurnal Online Agroekoteknologi
E-ISSN No. 2337- 6597
Vol.8.No.1. January 2020 (2): 10- 16
DOI: 10.32734/jaet



Gambar 1. Elektroforegram amplifikasi 29 DNA Klon Kelapa Sawit BTC 60 Socfindo dengan menggunakan Primer FR 1753, Sampel C_1-C_{29} Keterangan M= *Marker Ladder* 100 bp; angka yang tertera merupakan kode sampel

Hasil elektroforesis dengan menggunakan primer FR 1753 dapat dilihat pada Gambar 1 menunjukan bahwa amplifikasi 29 klon kelapa sawit yang diuji dengan ukuran pita sekitar 327 bp -500 bp. Persentase pita polimorfis sebesar 100%. Menurut (Williams *et al*, 1990) yang menyatakan bahwa pita yang muncul memiliki ukuran basa dan intensitas yag bervariasi. Perbedaan intensitas pita DNA dipengaruhi oleh sebaran situs penempelan primer pada genom, kemurnian dan konsentrasi genom dalam reaksi. Banyaknya pita yang dihasilkan oleh setiap primer tergantung pada sebaran situs homolog pada genom. Hasil visualisasi pada primer FR1753 terdapat pita samar-samar (*blur*) dan tegas. Perbedaan intensitas pita DNA dipengaruhi oleh sebaran situs penempelan primer pada genom, kemurnian dan konsentrasi genom dalam reaksi, dan suhu denaturasi dan annealing DNA dalam mesin PCR. Menurut Apriyani (2005) intensitas pita DNA hasil amplifikasi pada setiap primer sangat dipengaruhi oleh kemurnian dan konsentrasi DNA template dan situs penempelan primer pada DNA cetakan.

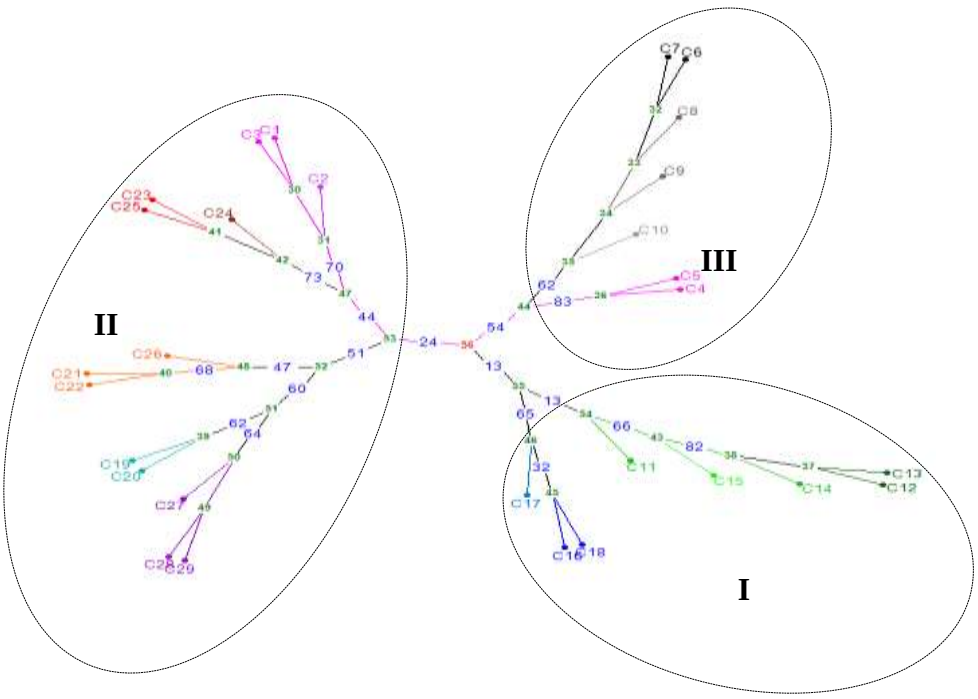
Tabel 1. Persentase pita polimorfik

No.	Nama Primer	Ukuran Pita (bp)	Σ Pita	Σ Pita Polimorfik	Σ Pita Monomorfik	% Polimorfik
1.	FR 0802	155	1	0	1	0%
2.	FR 0894	103	1	0	1	0%
3.	FR 1753	327-500	2	2	0	100%
	Total		4	2	2	100%
	Rata -rata		1,3	0,6	0,6	33,3%

Jurnal Online Agroekoteknologi
E-ISSN No. 2337- 6597
Vol.8.No.1. January 2020 (2): 10- 16
DOI: 10.32734/jaet

Hasil amplifikasi dengan menggunakan tiga primer menghasilkan jumlah pola pita sebanyak 1-2 pita DNA per primer. Ukuran pita-pita DNA yang dihasilkan bervariasi antara 103 bp sampai dengan 500 bp. Total pola pita dari ketiga primer yang tampak sebanyak 4 pita dengan pita polimorfik sebanyak 2 pita dan pita yang monomorfik sebanyak 2 pita. Persentase rata-rata pita yang polimorfik sebesar 33,3% untuk seluruh primer. Hal ini sesuai dengan pernyataan Putri (2010) bahwa marka SSR (*Simple sequence repeat*) merupakan salah satu penanda DNA yang menggunakan prinsip kerja reaksi polimerasasi berantai dengan menggunakan mesin PCR (*Polymerase Chain Reaction*). Dari setiap primer yang digunakan akan dihasilkan pita yang polimorfis yang mampu menetapkan variabilitas genetik populas.

Menggunakan data *matrix dissimilarity simple matching* dilakukan analisis untuk mendapatkan profil hubungan kekerabatan pada 29 klon kelapa sawit yang diuji. Data tersebut ditampilkan dalam bentuk *Radial Neighbour- Joining Tree*. Dari profil tersebut terdapat 3 kluster yang terbentuk, dimana kluster I terdiri dari 8 individu (C_{17}, C_{16}, C_{18}, C_{11}, C_{15}, C_{14}, C12 dan C_{13}), kelompok II terdiri dari 14 individu (C_1,C_2, C_3, C_{24}, C_{23},C_{24}, C_{25}, C_{26}, C_{21}, C_{22}, C_{19}, C_{20}, C_{27}, C_{28} dan C_{29}), kelompok III terdiri dari 7 individu (C_4, C_5, C_{10}, C_9, C_8, C_6 dan C_7). Setelah diamati dengan menggunakan 3 primer pada masing- masing individu terlihat bahwa pada kelompok I memiliki kekerabatan yang dekat atau berasal dari induk yang sama hal ini diduga bahwa kelapa sawit yang berasal dari klon pada PT. Socfindo merupakan individu yang memiliki keragaman. Hal ini sesuai dengan literatur Suryanto (2003) menyatakan bahwa keragaman genetik dapat terjadi karena adanya perubahan nukleotida penyusun DNA. Perubahan tersebut mungkin dapat memberikan pengaruh fenotipe suatu organisme yang dapat dipantau dengan mata telanjang, atau mempengaruhi reaksi individu terhadap lingkungan tertentu.



Gambar 2. Profil *Radial Neighbour- Joining Tree* (NJtree) dari 29 DNA klon kelapa sawit BTC 60 Socfindo yang dianalisis berdasarkan *matrix dissimilarity simple matching* dengan menggunakan marka SSR.

Jurnal Online Agroekoteknologi
E-ISSN No. 2337- 6597
Vol.8.No.1. January 2020 (2): 10- 16
DOI: 10.32734/jaet

Dilihat pada tabel 1 bahwa pola pita yang dihasilkan oleh 3 primer yang digunakan menghasilkan pola pita yang bervariasi. Ukuran pita-pita yang dihasilkan bervariasi antara 103 - 500 bp. Total pola pita dari ketiga primer sebanyak 4 dengan rata-rata 1,3 pita per primer. Pita polimorfik yang dihasilkan sebanyak 2 pita dan total pita monomorfik sebanyak 2 pita.

Pita-pita DNA yang kemudian diterjemahkan kedalam bentuk data binari

yaitu dengan memberi angka 1 bila terdapat pita dan angka 0 bila tidak terdapat pita. Hal ini sesuai dengan Siagian (2014) yang menyatakan bahwa data binari dari pita-pita yang telah diskoring dianalisis dengan menggunakan *software* DARwin 6.0.13 sehingga didapatkan dendogram.

Pada penelitian ini profil *Radial Neighbour- Joining Tree* (NJTree) dapat diketahui bahwa terdapat 3 kelompok utama yang terbentuk, dimana kelompok I terdiri terdiri dari 8 individu (C_{17}, C_{16}, C_{18}, C_{11},C_{15}, C_{14}, C_{12} dan C_{13}), kelompok II terdiri dari 14 individu (C_1, C_2, C_3, C_{23}, C_{24}, C_{25}, C_{26}, C_{21}, C_{22}, C_{19}, C_{20}, C_{27}, C_{28} dan C_{29}), kelompok III terdiri dari 7 individu (C_4, C_5, C_{10}, C_9, C_8, C_6 dan C_7).

Setelah diamati dengan menggunakan 3 primer profil NJTree ini menunjukkan adanya pengelompokkan yang berdasarkan *matrix dissimilarity*. Dapat dilihat ada ketidaksamaan antara kelompok I, II, dan III. Jarak genetik terjauh terdapat pada individu C_3 dengan C_{13} yaitu dengan nilai 0,9 dan jarak terdekat pada individu C_{12} dengan C_{13}. Hal ini diduga bahwa kelapa sawit yang berasal dari klon pada PT. Socfindo merupakan individu yang memiliki keragaman. Hal ini sesuai dengan Suryanto (2003) menyatakan bahwa keragaman genetik dapat terjadi karena adanya perubahan nukleotida penyusun DNA. Perubahan tersebut mungkin dapat memberikan pengaruh fenotipe suatu organisme yang dapat dipantau dengan mata telanjang, atau mempengaruhi reaksi individu terhadap lingkungan tertentu.

SIMPULAN

Pita monomorfis ditunjukkan oleh FR 0802 pada 155 bp dan FR 0894 pada 103 bp sedangkan pita polimorfis di tunjukkan oleh FR 1753 pada 327 bp dan 500 bp. Keragaman molekuler dari 29 klon tersebut sebesar 55,86% yang terbagi atas 3 kluster, dengan jarak ketidaksamaan berkisar antara 0,0 - 0,91.

DAFTAR PUSTAKA

Apriyani, S. I. 2005. Analisis Keragaman Nenas Koleksi PKBT Berdasarkan Penanda Morfologi dan Penanda RAPD. IPB, Bogor.

Billotte N N. Marseillac A M. Risterucci B. Adon P. Brotteir F C. Baurens R. Singh A. Herran H. Asmady and Billotte C. 2005. Microsatellite based high density linkage map in oil palm (Elaeis guineensis Jacq.). 110: 754–765.

Direktorat Jenderal Perkebunan. 2017. Statistik Perkebunan Indonesia 2015-2017. Direktorat Jenderal Perkebunan, Jakarta.

Elrod, S. L. dan Stansfield, W. D. 2007. *Genetika*. Jakarta: Penerbit Erlangga.

Hetharie, H. 2010. Deteksi perubahan genetik pada kelapa sawit (*Elaeis guinnensis* jacq.) abnormal dengan teknik RAPD. Jurnal Budidaya Pertanian, 6:45-50.

Kiswanto, J.H., Purwanta, B. Wijayanto. 2008.Teknologi Budidaya Kelapa Sawit. Balai Besar Pengkajian dan Pengembangan Teknologi Pertanian, Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, http://cybex.deptan.go.id

Mardziah, A. Rahimah, M., Ting, N.C. dan Rajinder, S. 2013. Development of a non-radioaktve screening protocol of various genetic backgraound of oil palm. Trans. *Malaysia Soc. Plant Physiol*. 1:135-138.

Jurnal Online Agroekoteknologi
E-ISSN No. 2337- 6597
Vol.8.No.1. January 2020 (2): 10- 16
DOI: 10.32734/jaet

Perrier, X. and J. P. Jacquemoud-Colled. 2009. DARwin Software. http://darwin.cirad.fr/darwin

Putri, L A P.2010. Pendugaan Parameter Genetik Dan Karakterisasi Molekuler Keragaman Genetik Dengan Marka Mikrosatelit (SSR) Pada Kelapa Sawit. Disertasi. Program Pascasarjana IPB. Bogor.

Putri, L.A.P., Sudarsono., Asmono. D., dan Bilotte. N. 2011. Pendugaan keragaman genetik kelapa sawit tipe dura berdasarkan marka mikrosatelit.*Prosiding Seminar Nasional Biologi*, 2:81-85.

Putri, L A P., Rivallan, R., Zulhermana, Puspitaningrum, Y., Sudarsono, Perrier, X., Asmono, D., dan Billotte, N. 2010. Alelic diversity of 22 Sampoerna Agro's oil palm pisifera based on microsatellite markers. *IOPC* Jogjakarta.

Siagian G B. 2014. Analisis Keragaman Genetik Plasma Nutfah Aren Sulawesi Tenggara dengan Menggunakan Marka RAPD. Fakultas Pertanian, USU, Medan.

Sianipar, N.F., G. A. Wattimena., H. Aswidinoor., M. Thewinadjaya., N. T. Mathius dan G. Ginting. 2007. Karakterisasi Secara Morfologi Abnormalitas Embrio Somatik Kelapa Sawit dari Eksplan Daun. Jurnal AgroBiogen. Institut Pertanian Bogor, Bogor.

Sibuea, P. 2014. Minyak Kelapa sawit, Teknologi dan Manfaatnya Untuk pangan Nutrasetikal. Erlangga. Jakarta.

Suryanto, D. 2003. Melihat Keanekaragaman Organisme Melalui Beberapa Teknik Genetika Molekuler. FMIPA USU, Medan.

Syahputra. I, Lollie A P P, dan M Basyuni. 2017. Identifikasi Keragaman Molekuler Materialgenetik Kelapa Sawit (*Elaeis Guineensis* Jacq.) Berdasarkan Marka SSR (*Simple Sequence Repeats*). Program Studi Magister Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian, USU, Medan.

Williams, J.G.K. Rubelik, A.R .Livak, J.A. Rafalski and Tingey, S.V.1990. DNA Polymorphism. Amplified by Artitrary Primers are Useful As. Genetic Markers. *Nucleic Acids Res.* 18:6531-6535.