

## **Identifikasi Genetik Kultivar Padi Gogo dengan Menggunakan Marka RAPD**

### *Genetic Identification of Upland Rice Cultivars Using Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Markers*

**Marulak Simarmata<sup>1\*</sup> dan Rustikawati<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Bengkulu

\*:marulak\_simarmata@yahoo.com

#### **ABSTRACT**

*A research was conducted to identify the genetics of upland rice cultivars using random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers. Five out of 60 random primers that capable to amplify the most number of markers were OPE-07 (AGATGCAGCC), OPE-15 (ACGCACAACG), OPH-13 (GACGCCACAC), OPH-19 (CTGACCAGCC), and OPM-02 (ACAACGCCTC). The number of markers amplified were 5, 6, 8, 8, and 7, respectively. RAPD-PCR using these 5 primers arranged to DNA templates of 41 rice cultivars amplified 1127 RAPD markers. Polymorphic information content (PIC) of each primer were 0.79, 0.80, 0.87, 0.87, and 0.72, respectively. Cluster analysis using a UPGMA dendrogram showed that the 41 cultivars were grouped into 9 clusters with genetic similarity index more than 90 percent.*

*Key words : genetic similarity, clusters, RAPD, upland rice*

#### **ABSTRAK**

Penelitian telah dilaksanakan untuk mengidentifikasi secara genetik kultivar padi gogo dengan menggunakan marka penanda RAPD (random amplified polymorphic DNA). Lima dari 60 random primer yang dapat mengamplifikasi DNA cetakan adalah primer OPE-07 (AGATGCAGCC), OPE-15 (ACGCACAACG), OPH-13 (GACGCCACAC), OPH-19 (CTGACCAGCC), and OPM-02 (ACAACGCCTC), dengan jumlah marka masing-masing primer secara berurutan adalah 5, 6, 8, 8, dan 7. Analisis PCR-RAPD terhadap 41 DNA cetakan dari kultivar padi gogo dengan menggunakan lima primer tersebut dapat mengamplifikasi 1127 marka. Nilai PIC (polimorphic information content) secara berurutan pada masing-masing primer adalah 0.79, 0.80, 0.87, 0.87, dan 0.72. Analisis cluster yang digambarkan pada dendrogram UPGMA dapat mengelompokkan 41 kultivas menjadi 9 kluster dengan indeks kesamaan genetik > 90 percent.

*Kata kunci: kesamaan genetik, kluster, padi gogo, RAPD*

## PENDAHULUAN

Tanaman padi (*Oriza sativa* L.) termasuk dalam family *Gramineae* merupakan bahan makanan pokok di Indonesia. Mayoritas beras yang diproduksi berasal dari lahan sawah karena budidaya padi lahan kering masih sangat terbatas. Pengembangan budidaya padi lahan kering merupakan pendekatan yang tepat untuk meningkatkan produksi padi secara nasional. Teknologi budidaya padi lahan kering atau padi gogo sangat tertinggal dibandingkan dengan padi sawah, misalnya dalam hal bahan tanam, benih padi gogo yang digunakan umumnya adalah kultivar-kultivar tradisional yang diregenerasi secara tradisional oleh petani dari waktu ke waktu (Ranghunathachari *et al.*, 2000; Li-na *et al.*, 2013). Dalam penelitian terdahulu, 41 kultivar padi gogo dikoleksi di sentra produksi di wilayah provinsi Bengkulu (Simarmata, 2010). Banyaknya variasi nama kultivar di sentra-sentra produksi dimungkinkan karena petani sering memberi nama yang baru pada benih yang dibawa dari daerah lain (Chang, 1988; Ranghunathachari *et al.*, 2000; Arif *et al.*, 2005).

Satu cara pendekatan untuk mengidentifikasi keragaman nama kultivar satu spesies tanaman adalah dengan identifikasi dan analisis molekuler berbasis DNA (Mackill, 1995; Staub and Serquen, 1996). Cara analisis ini dapat digunakan untuk menjawab pertanyaan-pertanyaan yang berkaitan dengan keragaman genetik tanaman, menentukan klasifikasi dan filogeni

dalam pengelolaan plasma nutfah, dan dapat menjadi alat bantu dalam seleksi tetua untuk tujuan pemuliaan tanaman melalui penanda gen yang spesifik (Yu and Nguyen, 1994; Prasad *et al.*, 2000; and Wu *et al.*, 2006).

Teknologi marka molekuler pada tanaman berkembang cepat sejalan dengan makin banyak metode dalam menentukan marka DNA seperti marka RFLP (*restriction fragment length polymorphism*), RAPD (*randomly amplified polymorphic DNA*), AFLP (*amplified fragment length polymorphism*), STS (*sequence tagged sites*), SCARs (*sequence characterized amplified regions*), SSR (*simple sequence repeats*), dan SNP (*single nucleotide polymorphisms*) (Mackill, 1995; Staub and Serquen, 1996; Prasad *et al.*, 2000; Qian *et al.*, 2001; Nguyen *et al.*, 2012). Pemilihan marka yang akan digunakan dalam analisis molekuler perlu mempertimbangkan tujuan yang diinginkan, sumber dana dan fasilitas yang tersedia, serta kelebihan dan kekurangan masing-masing jenis marka (Williams *et al.*, 1990; Staub and Serquen, 1996).

Marka RAPD adalah marka molekuler yang sangat luas penggunaannya dimana fragmen DNA dapat diamplifikasi dari reaksi PCR dengan menggunakan hanya satu primer yang dikenal dengan primer acak (*random primer*), biasanya berukuran 10 pasangan basa (pb) (Williams *et al.*, 1990; Staub and Serquen, 1996; Prasad *et al.*, 2000). Marka RAPD dapat digunakan

untuk menentukan tingkat polimorfik suatu primer dan filogeni atau hubungan kekerabatan individu-individu yang berhubungan. Walaupun masih memiliki beberapa kelemahan karena sering tidak konsisten, tetapi studi molekuler dengan pendekatan marka RAPD relatif lebih mudah dilakukan, cepat, dan menghasilkan derajat polimorfik tinggi (Williams *et al*, 1990; Staub and Serquen, 1996). Penelitian ini bertujuan untuk identifikasi genetik berbasis marka molekuler random amplified polymorphism DNA (RAPD) terhadap 41 kultivar padi yang dikoleksi di sentra produksi padi gogo Bengkulu.

## METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi Tanaman, Universitas Bengkulu. Sumber genetik tanaman adalah 41 kultivar padi gogo dikoleksi dari sentra-sentra produksi padi gogo di wilayah provinsi Bengkulu (Tabel 1). Tahapan pelaksanaan penelitian meliputi penanaman 41 kultivar padi gogo di rumah kaca, ekstraksi DNA dari daun benih padi gogo, penapisan primer acak (random primer), amplifikasi PCR dan elektroforesis, serta analisis genetik dengan menggunakan marka RAPD.

Ekstraksi DNA dari 41 sumber genotip padi gogo (Tabel 1) dilakukan dengan menggunakan bahan-bahan dari kit-XNAP™ (dari Sigma Co). Metode ekstraksi DNA mengikuti protokol yang dianjurkan di dalam kit yang diadopsi se-

suai dengan metode ekstraksi cepat genom DNA tanaman (Wang *et al.*, 2005). DNA hasil ekstraksi dilarutkan dalam 100 µl air steril bebas ion. Sebelum analisis lebih lanjut, kuantitas dan kualitas DNA dari masing-masing hasil ekstraksi ditentukan sesuai dengan protokol Green and Sambrook (2012), yaitu dengan pembacaan absorbansi DNA menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 260 dan 280 nm.

Sejumlah 60 primer acak (dari Operon Tech.) terdiri dari OPE, OPH dan OPM masing-masing 20 primer dengan ukuran 10 pasangan basa (pb) diseleksi terlebih dahulu untuk menentukan primer yang paling tinggi tingkat polimorfik terhadap DNA tanaman padi gogo. Seleksi dilakukan dalam reaksi PCR dengan total volume reaksi 20 µl yang terdiri dari 10 µl larutan PCR-ReadyMix (campuran larutan *buffer*, *dNTPs*, dan *Taq-polymerase*), 5.0 µl DNA cetakan (dari salah satu DNA cetakan), 1.0 µl primer, dan 4 µl H<sub>2</sub>O. Untuk kontrol adalah menggunakan campuran yang sama tetapi template DNA diganti dengan H<sub>2</sub>O. Mesin termocycle untuk PCR diprogram untuk satu siklus denaturasi DNA pada suhu 94 °C selama 5 detik, 30 siklus untuk reaksi PCR terdiri dari denaturasi pada suhu 94 °C selama 5 detik, penempelan primer (*annealling*) pada suhu 45 °C selama 30 detik, dan pemanjangan pita DNA (*elongation*) pada suhu 72 °C selama satu menit; satu siklus merupakan tambahan pemanjangan pita DNA pada suhu 72 °C selama 10 menit; dan pada siklus akhir me-

Tabel 1. Sumber genetik padi gogo dan marka RAPD dengan lima primer.

No	Nomor genetik	Sumber genetik (Cultivar)	Jumlah marka RAPD					Total marka RAPD
			OPE-7	OPE-15	OPH-13	OPH-19	OPM-02	
1	G1	Situpatenggang	3	6	2	4	2	17
2	G2	Ciherang	4	5	3	8	6	26
3	G3	Limas	5	5	8	8	4	30
4	G4	Nona Cantik	4	5	8	8	5	30
5	G5	Seabun	5	5	8	8	3	29
6	G6	Klemas	5	5	8	8	3	29
7	G7	Bunga Macang	5	5	8	8	3	29
8	G8	Besar	5	5	7	8	2	27
9	G9	Mulut Harimau	4	5	8	8	4	28
10	G10	Segadang	5	5	7	8	3	28
11	G11	Halus	5	5	7	8	3	28
12	G12	Kuning	5	5	7	8	2	27
13	G13	Seblat	5	4	7	8	3	27
14	G14	Rias	5	4	7	8	1	26
15	G15	Cina	5	4	7	8	3	27
16	G16	Pulut/Ketan	3	5	3	8	2	22
17	G17	Tumbar	4	5	7	8	4	28
18	G18	Pendek	5	5	7	8	3	28
19	G19	Gunung	5	5	7	8	3	28
20	G20	Endak	5	5	8	8	2	28
21	G21	Bunder	5	5	8	8	3	29
22	G22	Grenzel	5	5	7	8	3	27
23	G24	Kancil	5	5	8	8	3	29
24	G25	Pulut Gulo	5	6	8	8	3	30
25	G26	Tambun Buih	5	5	8	8	3	29
26	G27	Ogan	5	5	8	8	3	29
27	G28	Pulut Beram	5	5	8	8	3	29
28	G29	Masak Beringin	5	5	8	8	3	29
29	G30	Siung Kancil	5	5	8	8	3	29
30	G31	Sawah Darat	5	5	8	8	3	29
31	G32	Keleng	4	5	7	5	3	24
32	G33	Abang Mumbang	4	5	7	8	3	27
33	G34	Abang Pintal	4	5	7	8	3	27
34	G35	Abang	4	5	8	8	3	28
35	G36	Sirantau	4	6	7	8	3	28
36	G37	Merah besar	4	5	7	8	3	27
37	G38	Daku	4	5	7	8	3	27
38	G39	Sedane	4	5	7	8	3	27
39	G40	Kijang	4	5	7	8	3	27
40	G41	Gemulai	4	5	7	8	3	27
41	G42	Kezones	4	5	7	8	3	27
Jumlah marka RAPD			186	205	290	320	126	1127
Polymorphism Information Content (PIC)			0.79	0.80	0.87	0.87	0.72	

sin diprogram untuk suhu 4 °C.

*Elektroforesis* hasil amplifikasi PCR dilakukan di dalam *gel agarose* 1.5% (b/v) menggunakan *buffer* TAE (*tris acetic acid*) kepekatan 1X, kemudian dialiri listrik dengan voltase konstan sebesar 100 volt selama 90 menit. Pewarnaan DNA (*staining*) pada *gel agarose* dilakukan dengan cara merendam gel dalam larutan *etidium bromide* 0.5 mg l<sup>-1</sup> selama 30 menit. Visualisasi pita DNA hasil amplifikasi PCR pada *gel* diamati di atas alat UV-*transiluminator* dan image dipotret dengan digital camera Nikon D1000. Hasil potretan berupa diamati dengan menghitung jumlah pita/marka DNA yang muncul. Seleksi ini dilakukan untuk memilih lima primer yang konsisten dengan tingkat polimorfik yang paling tinggi.

Amplifikasi PCR dengan lima primer terseleksi dilaksanakan terhadap 41 cetakan genomik DNA dari cultivar padi gogo. Total volume reaksi dalam campuran reaksi, program termocycle, *elektroforesis*, dan visualisasi *gel* sama seperti pada reaksi PCR sebelumnya, kecuali jumlah siklus mesin termocycle ditambah menjadi 45 siklus guna memperoleh jumlah amplifikasi DNA yang lebih banyak.

Pengamatan hasil amplifikasi PCR dilakukan dengan sistem skoring biner pada image hasil potretan sesuai dengan penghitungan kemunculan marka DNA. Apabila marka DNA muncul pada hasil amplifikasi PCR maka diberi skor (1), atau apabila tidak muncul diberi skor (0). Ting-

kat polimorfik marka DNA pada setiap primer dihitung dari hasil tabulasi skoring dengan formula  $PIC = 1 - \sum (P_i)^2$  (Botstein *et al.*, 1980), dimana  $PIC = Polymorphism Information Content$ ,  $P_i$  adalah proporsi populasi dengan jumlah kemunculan satu marka pada satu primer terhadap total marka pada primer yang sama.

Tabulasi pengamatan skoring juga digunakan untuk menentukan dendrogram UPGMA (*unweighted pair-group methods with arimetic means*) melalui analisis multivariate menggunakan program statistik MINITAB-15. Tabulasi data skoring biner pada pita DNA juga digunakan untuk menghitung indeks kesamaan genetik (*genetic similarity coefficient*) dengan menggunakan formula sesuai dengan Nei (1972) yaitu  $GS_{ij} = 2 N_{ij} / (N_i + N_j)$ , dimana  $GS_{ij}$  adalah *Genetic Similarity coefficient* antara sampel ke-i dan ke-j;  $N_{ij}$  adalah jumlah pita DNA yang sama pada sampel ke-i dan ke-j;  $N_i$  adalah jumlah pita DNA pada sampel ke-i; dan  $N_j$  adalah jumlah pita DNA pada sampel ke-j.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penapisan 60 random primer dari OPE, OPH dan OPM masing-masing sebanyak 20 random primer terhadap cetakan DNA padi gogo diperoleh 15 primer yang menghasilkan pita/marka DNA (Tabel 2). Lima primer yang memiliki frekuensi marka DNA tertinggi adalah OPE-07, OPE-15, OPH13, OPH-19 dan OPM-02 dengan sekuen nukleotida

Tabel 2. Marka DNA yang diamplifikasi dari 15 primer acak.

No	Nama primer	Sekuen nukleotida (5'..3')	Jumlah marka
1	OPE-07	AGATGCAGCC	5
2	OPE-08	TCACCACGGT	2
3	OPE-15	ACGCACAACC	6
4	OPE-20	AACGGTGACC	1
5	OPH-01	GGTCGGAGAA	2
6	OPH-07	CTGCATCGTG	2
7	OPH-08	GAAACACCCC	2
8	OPH-11	CTTCCGCAGT	1
9	OPH-13	GACGCCACAC	8
10	OPH-14	ACCAGGTTGG	1
11	OPH-19	CTGACCAGCC	8
12	OPM-01	GTTGGTGGCT	2
13	OPM-02	ACAACGCCTC	7
14	OPM-08	TCTGTTCCCC	1
15	OPM-20	AGGTCTTGGG	1

secara berturut-turut adalah AGATGCAGCC, ACGCACAACC, GACGCCACAC, CTGACCAGCC, dan ACAACGCCTC. Visualisasi marka DNA pada masing-masing primer menunjukkan ukuran marka DNA yang bervariasi yaitu primer OPE-07 tervisualisasi sebanyak 5 marka DNA dengan ukuran 1200, 900, 500, 400, dan 300 pasangan basa (pb); OPE-15 sebanyak 6 marka DNA dengan ukuran 800, 750, 600, 500, 400, dan 300 pb; OPH-13 sebanyak 8 marka DNA dengan ukuran 900, 800, 700, 600, 500, 400, 350, dan 280 pb; OPH-19 sebanyak 8 marka DNA dengan ukuran 1300, 1100, 900, 800, 600, 550, 500, dan 250 pb; dan OPM-02 sebanyak 7 marka dengan ukuran 1800, 1200, 900, 750, 600, 350, dan 300 pb.

Kesesuaian setiap primer yang diseleksi sangat bervariasi dan berbeda-beda untuk setiap DNA cetakan, walaupun DNA berasal dari komoditi tanaman yang sama.

Hal ini dilaporkan pada beberapa penelitian dan sudah dicoba untuk beberapa komoditi berbagai jenis padi, jagung, dan gandum (Mackill, 1995; Prasad *et al.*, 2000; Rekha *et al.*, 2011; Li-na, *et al.*, 2013; Sohrabi *et al.*, 2013). Beberapa keuntungan RAPD PCR dalam mencari marka DNA antara lain adalah karena hanya menggunakan satu primer yang disebut primer acak (*random primer*) untuk amplifikasi reaksi PCR (Williams *et al.*, 1990; Staub and Serquen, 1996; Prasad *et al.*, 2000). Marka RAPD dapat juga digunakan untuk menentukan hubungan kekerabatan individu dalam satu komoditi. Walaupun sering tidak konsisten, tetapi pendekatan marka RAPD relatif mudah dilakukan, cepat, dan menghasilkan derajat polimorfik tinggi (Williams *et al.*, 1990; Yu and Nguyen, 1994; Staub and Serquen, 1996). Marka RAPD juga dapat digunakan untuk mencari tautan marka dengan karakteristik tanaman (Prasad *et*

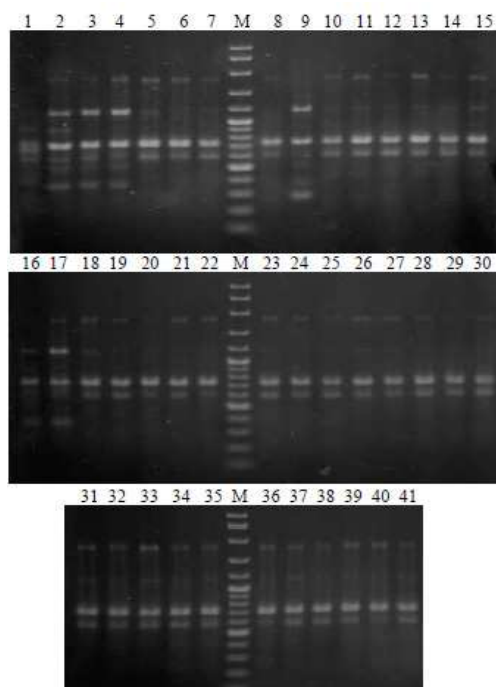


*al.*, 2000; Sohrabi *et al.*, 2013).

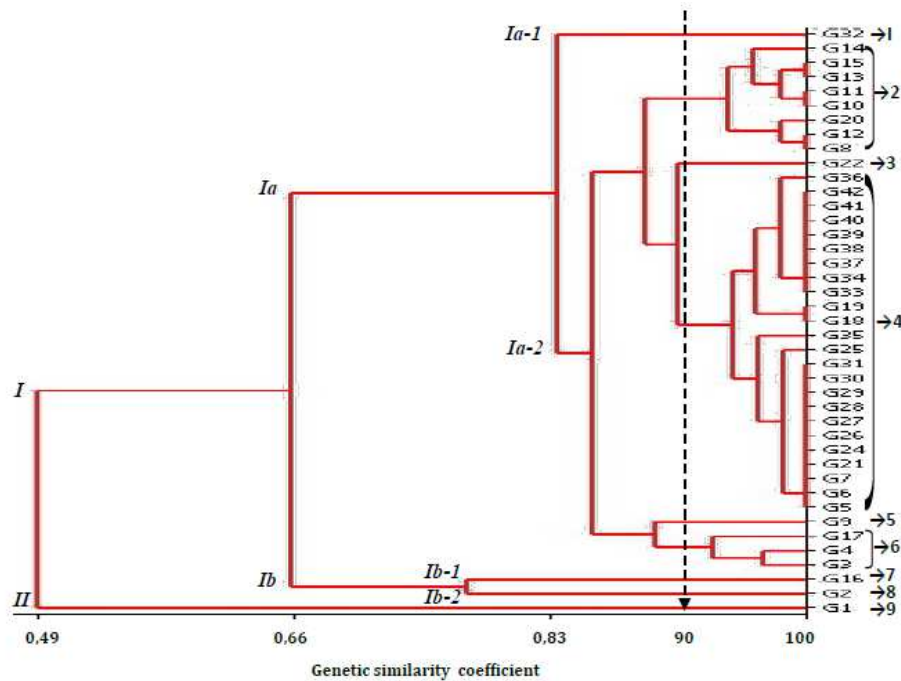
Hasil reaksi PCR-RAPD pada 41 cetakan DNA dari kultivar padi gogo yang dianalisis dengan menggunakan lima primer dapat mengamplifikasi sebanyak 1127 marka DNA (Tabel 1). Salah satu pola hasil amplifikasi PCR dengan menggunakan primer OPM-02 disajikan pada Gambar 1. Hasil tabulasi dengan skoring biner pada kemunculan marka RAPD dikomputasi menjadi jumlah marka RAPD pada setiap primer (Tabel 1). Secara horizontal pada Tabel 1, terlihat bahwa jumlah marka RAPD dari 5 primer bervariasi pada setiap individu padi gogo yaitu mulai dari 17 sampai 30 marka. Demikian juga jumlah marka DNA dan informasi tingkat polimorfik (PIC) pada setiap primer, mulai dari jumlah yang paling kecil sampai yang pa-

ling tinggi masing-masing adalah 126, 186, 205, 290, dan 320 marka RAPD; serta 0.72, 0.79, 0.80, 0.87, dan 0.87, masing-masing secara berturut-turut pada primer OPM-02, OPE-07, OPE-15, OPH-13, dan OPH-19. Perbedaan ini juga dilaporkan pada beberapa penelitian, dimana marka RAPD-PCR juga dapat menentukan tingkat polimorfik primer sebelum digunakan untuk pengujian molekuler lainnya (Staub and Serquen, 1996; Rekha *et al.*, 2011).

Hasil analisis kluster berupa dendrogram UPGMA dan hasil tabulasi data biner menunjukkan kekerabatan genetik padi gogo berdasarkan indeks kesamaan genetik (*genetic similarity indices*) (Gambar 2). Pada tingkat kesamaan 49%, genotip yang dianalisis terkluster menjadi dua yaitu kluster I dan kluster II. Pada indeks ke-



Gambar 1. Pola amplifikasi RAPD-PCR 41 kultivar padi gogo (Nomor urut 1 sampai 41) dengan primer OPM-02. M adalah tangga DNA (100 pb - 3000 pb).



Gambar 2. Dendrogram UPGMA (*unweighted pair-group methods with arimetic means*) 41 sumber genetik kultivar padi gogo.

samaan yang lebih tinggi yaitu 66 persen, kluster I terbagi lagi menjadi sub-kluster Ia dan Ib. Demikian selanjutnya sampai pada indeks kesamaan genetik 83 persen, maka sub-kluster Ia terbagi menjadi subsub-kluster Ia-1 dan Ia-2, demikian juga sub-kluster Ib menjadi subsub-kluster Ib-1 dan Ib-2. Dan apabila dikelompokkan sampai tingkat kesamaan genetik antara 90 sampai 100 persen, maka 41 kultivar padi gogo dapat dikelompokkan menjadi 9 kelompok kekerabatan (Tabel 3). Pengelompokan ini dilakukan dalam analisis genetik guna mencari kesamaan genetik (*genetic similarity*) ataupun perbedaan (*genetic distance*) pada kultivar yang sangat beragam di sentra produksi. Manfaat lebih lanjut adalah untuk para program pemuliaan dalam menca-

ri variasi tetua (Yu and Nguyen, 1994; Wu *et al.*, 2006). Untuk itulah maka analisis genetik berbasis marka DNA seperti marka RAPD sangat diperlukan untuk dapat menentukan tetua bukan saja dengan karakter morfologis tetapi juga dengan variasi genetik (Chang, 1988; Rangunatachari *et al.*, 2000; Qian *et al.*, 2001).

## KESIMPULAN

Lima primer yang konsisten polimorfik pada cultivar padi gogo dengan RAPD-PCR adalah primer OPE-07 (AGATG-CAGCC), OPE-15 (ACGCACAACG), OPH-13 (GACGCCACAC), OPH-19 (CT-GACCAGCC), dan OPM-02 (ACAACG-CCTC), masing-masing dengan 5, 6, 8, 8, dan 7 marka RAPD. Analisis PCR-RAPD



Tabel 3. Kluster 41 kultivar padi gogo berdasarkan koefisien kesamaan genetik.

Kluster (Kesamaan genetik > 0.90)	Nomor asseski kultivar padi gogo
1	G32
2	G8, G10, G11, G12, G13, G14, G15, dan G20
3	G22
4	G5, G6, G7, G18, G19, G21, G24, G25, G26, G27, G28, G29, G30, G31, G33, G34, G35, G36, G37, G38, G39, G40, G41, dan G42
5	G9
6	G3, G4, dan G17
7	G16
8	G2
9	G1

terhadap 41 DNA cetakan kultivar padi gogo dengan menggunakan lima primer tersebut dapat mengamplifikasi 1127 marka DNA. Nilai PIC (*polimorphic information content*) secara berurutan pada masing-masing primer adalah 0.79, 0.80, 0.87, 0.87, dan 0.72. Berdasarkan dendrogram UPGMA maka pada indeks kesamaan genetik > 90 percent, sebanyak 41 kultivar padi gogo dikelompokkan menjadi menjadi 9 kelompok kekerabatan genetik.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Arif, M., S. Kousar, M.A. Bajwa, A. Arif, and Y. Zafar. 2005. Genetic diversity among rice genotypes of Pakistan through random amplified polimorphic DNA (RAPD) analysis. *Pak. J. Bot.* 37(3):585-592.
- Botstein D., R.L. White, M. Skolnick, and R.W. Davis. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *Am. J. Hum. Genet.* 32:314-331.
- Chang, T.T. 1988. Taxonomic key for identifying the 22 species in the genus *Oryza*. *Int. Rice. Res. Newsletter* 13(5):4-5.
- Green, M.R. and J. Sambrook. 2012. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Fourth Edition. CSH Press. New York.
- Li-na, Z., C. Gui-lan, H. Long-zhi. 2013. Genetic diversity of rice landraces from lowland and upland accessions of China. *Rice Sci.* 20(4):259-266.
- Mackill, D.J. 1995. Classifying Japonica rice cultivars with RAPD markers. *Crop Sci.* 35:889-894.
- Nei, M., 1972. *Genetic distance between populations*. *Am. Nat.* 106: 283-292.
- Nguyen, T.T., N.M.T. Nguyen, L.H. Hoang, N. Furuya, and K. Tsuchiya. 2012. Genetic diversity in Vietnamese upland rice germplasm revealed by SSR markers. *J. Fac. Agr.* 57(2):383-391.
- Prasad, M., R.K. Varshney, J.K. Roy, H.S.

- Balyan, P.K. Gupta. 2000. The use of microsatellites for detecting DNA polymorphism, genotype identification and genetic diversity in wheat. *Theor. Appl. Genet.* 100:584-592
- Qian, W., S. Ge, D.Y. Hong. 2001. Genetic variation within and among populations of a wild rice *Oryza granulata* from China detected by RAPD and ISSR markers. *Theor. Appl. Genet.* 102:440-449.
- Ragunathachari, P., V. K. Khanna, U. S. Singh, and N. K. Singh. 2000. RAPD analysis of genetic variability in Indian scented rice germplasm (*Oryza sativa* L.). *Current Sci.* 79(7):994-998.
- Rekha, T., K.P. Martin, V.B. Sreekumar, and J. Madassery. 2011. Genetic diversity assessment of rarely cultivated traditional Indica rice (*Oryza sativa* L.) varieties. *Biotech. Res. Int.* Vol. 2011:1-7.
- Simarmata, M. 2010. Morphological description of upland rice cultivars in Bengkulu. *Akta Agrosia* 13(1):8-15.
- Sohrabi, M., M.Y. Rafii, M.M. Hanafi, and M.A. Latif. 2013. Genetic difference of Malaysian upland rice revealed by microsatellite markers. *POJ.* 6(3):175-182.
- Staub, J.E., and F.C. Serquen. 1996. Genetic markers, map construction, and their application in plant breeding. *Hort. Sci.* 31(5):729-741.
- Williams, J.G.K., A.R. Kubelik, K.J. Livak, and J.A. Ravalski. 1990. DNA polymorphisms amplified as arbitrary primers are useful genetic markers. *Nucleic Acids Res.* 18:6531-6535.
- Yu, L.X., and H.T. Nguyen. 1994. Genetic variation detected with RAPD markers among upland and lowland rice cultivars (*Oryza sativa* L.). *Theor. Appl. Genet.* 87:668-672.
- Wu, Y.J., Y. Chen, J. Wang, C.X. Zhu, and B.L. Xu. 2006. RAPD Analysis of jasmine rice-specific genome structure. *Genome* 49:716-719.
- Wang, D., K. Song, C. Kreader, S. Weber, J. Van Dinther, and R. Valdes-Camin. 2005. A High-throughput System for the Rapid Extraction of Plant Genomic DNA for Genome Mapping and Marker-assisted Breeding Studies. *J. Assoc. Lab. Autom.* 10:242-245.