

# BULETIN *AgroBio*

ISSN 0853-9022

Vol. 6, No. 2, 2004

---

**JURNAL TINJAUAN ILMIAH RISET BIOLOGI DAN BIOTEKNOLOGI PERTANIAN**

---

Marka Mikrosatelit: Marka Molekuler yang Menjanjikan <b>Joko Prasetyono dan Tasliah</b> .....	41
Plasma Nutfah sebagai Sumber Gen untuk Menunjang Perbaikan Sifat dalam Perakitan Varietas Kacang Tanah <b>Sri Astuti Rais</b> ...	48
The Prospect of Indonesian Sweetpotato Germplasm Collection: The Application of RAPDs Analyses <b>Ida Hanarida, Hakim Kurniawan, and Minantyorini</b> .....	58
Strategi Pemanfaatan Bank Gen untuk Konservasi Plasma Nutfah Tanaman <b>Semuel Leunufna</b> ...	64
Prospek Pengembangan Benih Sintetik di Indonesia <b>Arief Vivi Noviati dan Ika Roostika</b> .....	72



**Penerbit**

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan  
Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian  
Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian  
Departemen Pertanian

**Alamat Penerbit**

Jalan Tentara Pelajar 3A, Bogor 16111, Indonesia

**E-mail:** borif@indo.net.id

**Telepon:** (0251) 339793, 337975

**Faksimile:** (0251) 338820

**Kala Terbit**

Dua nomor per volume

**Penanggung Jawab**

Sutrisno

Kepala Balai Besar Penelitian dan Pengembangan  
Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian

**Redaktur Teknis**

Novianti Sunarlim

M. Machmud

Ida Hanarida Somantri

**Redaktur Pelaksana**

Ida N. Orbani

---

**Buletin AgroBio** (dahulu bernama **Buletin Penelitian**) memuat artikel tinjauan ilmiah hasil riset dalam bidang biologi dan bioteknologi tanaman. Naskah (boleh ditulis dalam bahasa Indonesia atau Inggris) yang diajukan untuk diterbitkan hendaknya belum pernah dipublikasikan pada media cetak manapun dan ditulis sesuai dengan "Pedoman Bagi Penulis" (lihat sampul belakang bagian dalam). Dewan Redaksi berhak menyunting naskah tanpa mengubah isi dan makna tulisan atau menolak menerbitkan suatu naskah.

Naskah dapat bersifat tinjauan ilmiah (kritis) atau tinjauan informatif (anotasi) terhadap subjek tertentu, atau gabungan antara keduanya. Tinjauan ilmiah merupakan hasil evaluasi, sintesis, dan analisis kritis tentang riset bagi kepentingan ilmu pengetahuan dan teknologi, sedangkan tinjauan informatif merupakan hasil evaluasi bagi kepentingan pengguna.

Isi naskah dapat membahas salah satu dari butir-butir berikut, yaitu (a) status riset pada subjek tertentu, baik yang telah, sedang, maupun yang akan dikerjakan, (b) pengungkapan masalah dan pemecahannya, (c) pengembangan suatu metode atau konsepsi, dan (d) gagasan dan pendekatan yang dapat dijadikan landasan bagi suatu usulan riset. Sumber bacaan seyogyanya meliputi bahan pustaka terbitan dalam dan luar negeri yang terkini dan relevan.

---

# Marka Mikrosatelit: Marka Molekuler yang Menjanjikan

Joko Prasetyono dan Tasliah

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian

## ABSTRACT

**Microsatellite Marker: The Promising Molecular Marker.** *Joko Prasetyono and Tasliah.* Microsatellite or simple sequence repeats (SSR) or short tandem repeats (STR) containing 1-6 nucleotide repeat sequence are abundant and well distributed all along the chromosome arms (in contrast to minisatellite which are more abundant close to the telomere in human), highly polymorphic, and hypervariable. Microsatellite markers are a valuable tool for genetic analysis, genome mapping, genome selection, gene tagging, germplasm characterization, cultivar identification, etc. It have been made on many species by hybridization or based on DNA database, to prove very useful in a variety of research areas involving plant system. Automated SSR analysis are gradually replacing manual systems because reducing time consumption and more samples can be analyzed. In the future, SSR analysis will be the most popular molecular markers for any purpose on any species.

**Key words:** Microsatellite, SSR, automated system

Mikrosatelit adalah sekuen sederhana yang berulang-ulang yang melimpah dalam genom suatu spesies. Mikrosatelit memiliki pengulangan sekuen yang berurutan dua sampai 4 motif sekuen nukleotida sebagai sekuen konservatif. Marka ini sangat berguna sebagai marka genetik karena bersifat kodominan, sehingga dapat mendeteksi keragaman alel pada level yang tinggi, mudah dan ekonomis dalam pengaplikasiannya karena menggunakan proses PCR.

Bentuk pengulangan sekuen DNA sederhana yang berulang-ulang menjadikan marka mikrosatelit sering disebut *simple sequence repeat* (SSR), *short tandem repeats* (STRs) atau *simple sequence length polymorphisms* (SSLPs) yang sekarang menjadi salah satu marka paling banyak digunakan secara luas untuk pemetaan genetik, analisis keragaman genetik, dan studi evolusi (Temnykh *et al.* 2000). Marka ini muncul sebagai marka yang sangat variatif dan mudah diulang, menjadikan sangat ideal untuk pemetaan genom.

Mikrosatelit ini merupakan salah satu tipe polimorfisme yang berulang-ulang, yang biasa dikelompokkan ke dalam *simple tandem repeat polymorphism* (STRP), karena perbedaan genetik di antara molekul-molekul DNA yang mengandung sejumlah kopi sekuen DNA pendek yang diulang beberapa kali. STRP yang memiliki pengulangan 2-9 pasang basa sering disebut mikrosatelit, sedangkan STRP dengan pengulangan 10-60 pasang basa sering disebut minisatelit atau *variable number of tandem repeats* (VNTR) (Hartl dan Jones 2000). Gupta *et al.* (1996) menyebutkan mikrosatelit tersebar di seluruh genom, sedangkan minisatelit sebagian besar terpusat di dekat telomer.

Mikrosatelit kloroplas (cpSSRs) sama dengan mikrosatelit di dalam inti sel, tetapi ulangan hanya bisa 1 pasang basa (misal (T)<sub>n</sub>). Setiap spesies biasanya memiliki ciri khas dalam pengulangan sekuen sederhana ini. Misalnya pada padi sekuen mikrosatelit ini memiliki urutan dari yang terbanyak, yaitu (GA)<sub>n</sub>, (GT)<sub>n</sub>, (TTG)<sub>n</sub>, (ATT)<sub>n</sub>, (CGG)<sub>n</sub>, (TCT)<sub>n</sub>, (CAG)<sub>n</sub>, (TGG)<sub>n</sub>, (GATA)<sub>n</sub>, (ATC)<sub>n</sub>, (CTTT)<sub>n</sub>, dan (CATG)<sub>n</sub>

(McCouch *et al.* 1997). Secara umum sekuen AT paling banyak terdapat pada tanaman sedangkan AC/TG pada hewan (Morgante dan Olivieri 1993). Motif lain yang juga banyak didapatkan di dalam genom tanaman adalah (GA)<sub>n</sub>. Selain itu, motif (AAG)<sub>n</sub> dan (AAT)<sub>n</sub> merupakan motif trinukleotida yang sering ditemukan dalam genom tanaman. Pengulangan (CA)<sub>n</sub> terdapat pada genom manusia sekitar 50.000 buah, dengan n sekitar 10 sampai 60. Pengulangan tri dan tetra nukleotida juga umumnya terdapat pada genom manusia. Pengulangan motif CA juga banyak didapatkan pada mamalia, namun motif ini sangat sedikit ditemukan di dalam genom tanaman. Dilaporkan bahwa setiap 100 pasang basa DNA akan didapatkan 2-3 lokus mikrosatelit pada primata, 1,8 lokus pada yeast, dan 0,224 pada tanaman.

## FUNGSI MIKROSATELIT

Fungsi utama sekuen mikrosatelit sampai saat ini belum begitu jelas. Beberapa peneliti melaporkan bahwa sekuen mikrosatelit banyak ditemukan pada (1) ORF (*Open Reading Frame*)/tempat membukanya rantai DNA, (2) bagian atas 3' dan 5' yang tidak ditranslasikan, (3) intron-intron, dan (4) bagian antar gen. Dilaporkan bahwa sekitar 80% pengulangan nukleotida GC terjadi di dalam ekson, sedangkan AT berada di empat tempat tersebut. Cho *et al.* (2000) melaporkan bahwa dari 27 mikrosatelit yang diteliti pada genom padi, 13 di antaranya berada pada UTR (*UnTranslated Region*/daerah yang tidak ditranslasikan), 6 berada di dalam intron, dan 8 di dalam ORF. 8 marka pada ORF semuanya mengandung pengulangan GC dan menunjukkan tingkat polimorfisme yang sangat rendah. Sekuen mikrosatelit yang berada di dalam intron atau UTR memiliki variasi motif yang tinggi (paling banyak poli GA dan AT untuk motif

dua atau tiga nukleotida) dan cenderung lebih banyak polimorfik. Hal ini berarti sekuen mikrosatelit yang ditemukan di dalam ORF tidak mirip yang ditemukan di dalam gen. Sekuen mikrosatelit juga banyak ditemukan di dalam gen. Misalnya pada jagung terdapat 170 gen yang mengandung sekuen mikrosatelit. Sekuen ini menyisip di dalam gen tersebut.

Variasi mikrosatelit merupakan hasil dari perbedaan unit pengulangan. Perbedaan ini disebabkan kesalahan pada saat proses replikasi DNA; saat terjadi perpanjangan untai DNA terjadi "slip" ketika sedang mengkopi bagian-bagian pengulangan, sehingga menyebabkan pengulangan ini terjadi. Perubahan jumlah pengulangan ini bisa terjadi juga saat terjadi peristiwa pindah silang yang tidak seimbang (Robinson dan Harris 1999). Peristiwa kesalahan pada saat replikasi diperagakan pada Gambar 1.

Secara umum menurut panjang nukleotida, mikrosatelit dibagi ke dalam tiga kelompok, yang dapat dilihat dalam Tabel 1. Perkiraan awal mikrosatelit di dalam genom padi berdasarkan metode hibridisasi yang menggunakan klon-klon dari pustaka genom, ternyata ada sekitar 244.400 untuk mikrosatelit kelompok I, dan 94.460 untuk mikrosatelit kelompok II; sehingga total mikrosatelit yang terkandung dalam genom padi sekitar 118.900 (Mc Couch *et al.* 2001).

Ahli lain membagi mikrosatelit ke dalam tiga jenis, yakni *perfect repeats*, *imperfect repeats*, dan *compound repeats*. *Perfect repeats* terdiri dari sekuen dengan tanpa selang sepanjang ulangannya, *imperfect repeats* terdiri atas suatu ulangan *perfect* atau *imperfect* yang bergabung dengan ulangan sederhana sekuen lain, dan *compound repeats* terdiri atas ulangan dengan satu atau lebih selang sepanjang ulangannya. *Perfect repeats* cenderung

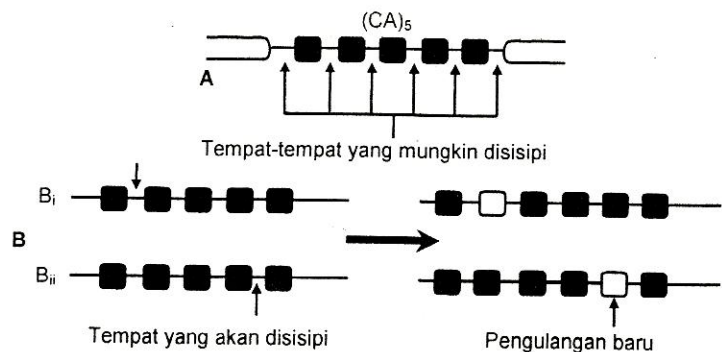
lebih polimorfik dibandingkan dengan 2 jenis mikrosatelit lainnya. Contoh pengelompokan disajikan pada Tabel 2.

**PEMBUATAN MARKA MIKROSATELIT**

Perbedaan jumlah sekuen mikrosatelit ini menjadikan dasar analisis polimorfisme dalam genom suatu organisme. Polimorfisme ini dipakai untuk mendeteksi perbedaan antar individu. Primer yang dibuat terdiri dari primer kiri dan kanan dan dipakai untuk mengamplifikasi sekuen mikrosatelit yang terdapat di antara kedua primer tersebut. Setelah dilakukan separasi dalam gel agarose atau poliakrilamid dan dilakukan pewarnaan menggunakan etidium bromida atau *silver staining* perbedaan panjang sekuen mikrosatelit ini akan kelihatan jelas.

Contoh polimorfisme antar dua individu dapat dilihat Gambar 2. Primer yang didesain untuk mendeteksi sekuen mikrosatelit merupakan primer spesifik yang hanya akan mendeteksi sekuen tersebut. Untuk menghindari kesalahan dalam amplifikasi sekuen mikrosatelit dalam DNA, suhu penempelan primer (*annealing*) dalam proses PCR biasanya menggunakan suhu yang tinggi berkisar antara 50-60°C tergantung pola nukleotida primer yang dibuat.

Metode yang digunakan untuk mendesain marka/primer mikrosatelit sangat beragam tetapi pada dasarnya terbagi pada ekstraksi DNA, pembuatan pustaka DNA, skrining pustaka berdasar sekuen mikrosatelit, pengurutan sekuen DNA klon-klon yang positif, mendesain primer, mengujikan primer dengan



A = kotak-kotak hitam adalah nukleotida CA yang berulang sampai 5 kali (CA)<sub>5</sub> dan kemungkinan tempat-tempat terjadinya slip, B = alel-alel (CA)<sub>5</sub> mendapat pengulangan, di mana dua ilustrasi menunjukkan bagaimana hasil akhir menjadi (CA)<sub>6</sub> di tempat yang berbeda

Gambar 1. Peristiwa kesalahan pada saat replikasi

Tabel 1. Pembagian kelompok mikrosatelit

Pembagian	Panjang nukleotida	Jumlah pengulangan		
		Dua (di)	Tiga	Empat
Kelompok I	≥20 nt	≥10	≥7	≥5
Kelompok II	12-20 nt	6-9	4-6	3-4
Kelompok III	6-12	3-5	2-3	2

Tabel 2. Contoh pengelompokan mikrosatelit

Kategori	Contoh
<i>Perfect repeats</i>	(CA) <sub>14</sub>
<i>Imperfect repeats</i>	TAAT(TAA) <sub>5</sub> AATATAATA
<i>Compound repeats</i>	(TA) <sub>31</sub> (CA) <sub>42</sub>



label (fluorescent atau radioaktif) maka salah satu primer harus diberi label. Produk PCR dipisahkan pada gel poliakrilamid yang memiliki resolusi tinggi, dan produk yang dihasilkan dideteksi dengan detektor fluoresent atau film X-ray (Robinson dan Harris 1999). Yang paling banyak digunakan saat ini adalah gel poliakrilamid yang terdenaturasi (poliakrilamid ditambah urea). Kelebihan gel poliakrilamid ini adalah (1) memiliki daya pisah yang sangat tinggi sehingga dapat membedakan molekul DNA dengan perbedaan ukuran sampai 1 pasang basa dan sangat efektif dalam memisahkan fragmen kecil DNA (50-500 pasang basa), (2) dapat menggunakan sampel dalam jumlah banyak, dan (3) DNA yang diambil dari gel poliakrilamid jelas kemurniannya dan dapat digunakan untuk keperluan lain (Sambrook 1989). Perlu diketahui bahwa penggunaan gel poliakrilamid dan *silver staining* sangat berbahaya karena merupakan bahan kimia beracun. Penggunaan gel agarose yang dicampur dengan superfine agarose (sejenis agarose yang memiliki titik beku rendah, misalnya MetaPhor™) juga menjadi alternatif untuk mengurangi bahaya keracunan.

Aplikasi marka mikrosatelit di bidang pemuliaan tanaman sangat banyak, di antaranya:

#### Mendeteksi Kekerabatan Tanaman

Penggunaan marka molekuler untuk mendeteksi studi kekerabatan tanaman sudah banyak dilakukan. Penggunaan marka morfologi (berdasarkan pengamatan visual) kadang sulit dilakukan untuk beberapa tanaman yang memiliki kekerabatan dekat. Marka mikrosatelit memiliki kelebihan dibandingkan marka lain karena primer yang digunakan sudah spesifik untuk spesies tertentu. Bahkan dengan penggunaan standar alel untuk lokus

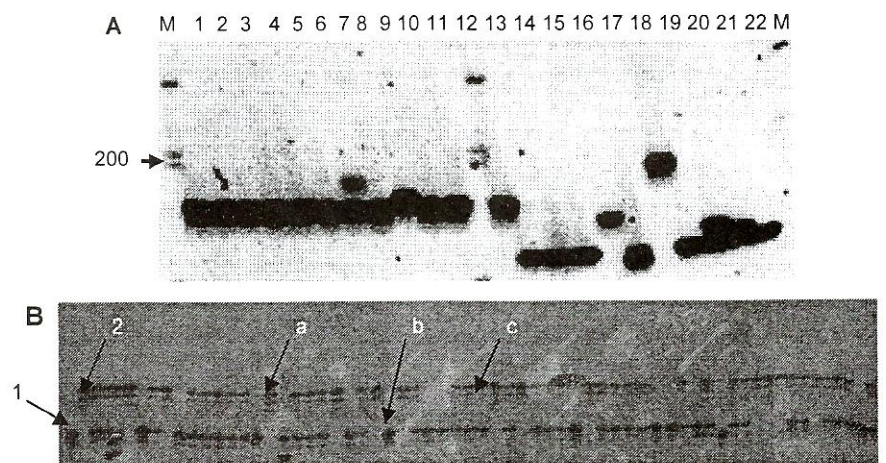
tertentu pada marka ini memungkinkan penggabungan data beberapa kelompok peneliti. Misalkan yang dilakukan oleh George *et al.* (2004) yang melakukan analisis kekerabatan untuk tanaman jagung di Asia, digunakan untuk studi kekerabatan jagung di Cina dan Indonesia. Untuk menggabungkan data kedua negara tersebut digunakan alel standar.

Maroof (1994) telah berhasil mendeteksi keragaman sejumlah lokus mikrosatelit pada barley. Yang *et al.* (1994) telah mengelompokkan 238 nomor aksesori padi ke dalam dua kelompok *indica* dan *japonica*. Garland *et al.* (1999) juga berhasil membuat peta genetik pada 43 galur-galur padi dari Australia. Teulat *et al.* (2000) dan Perera *et al.* (2000) melakukan penelitian studi keragaman genetik pada kelapa (*Cocos nucifera* L.). Contoh hasil amplifikasi menggunakan marka mikrosatelit dapat dilihat pada Gambar 3.

#### Pemetaan Gen

Penggunaan marka mikrosatelit untuk tujuan pemetaan gen sangat disukai oleh banyak peneliti. Aplikasi dengan menggunakan sistem *multiple loading* memungkinkan untuk satu kali running bisa menggunakan banyak sampel. Misalkan menggunakan sisir yang berisi 100, apabila menggunakan 4 kali loading akan bisa menampung 400 sampel. Hal ini akan mempercepat pelaksanaan penelitian. Prinsip kerja marka mikrosatelit yang berdasarkan proses PCR dan bersifat kodominan membuat marka ini sangat cocok untuk eksplorasi gen dalam genom organisme.

Beberapa hasil penelitian pemetaan gen yang telah dipublikasikan misalnya telah berhasil dipetakan gen-gen *Adh 1*, *gpc 1*, *Pdk 1*, dan *Tpi* pada jagung dengan menggunakan primer mikrosatelit motif CT (Senior dan Heun, 1993). Bligh *et al.* (1995) berhasil memetakan gen *waxy* pada padi, Septiningsih *et al.* (2003) telah berhasil memetakan beberapa komponen hasil



1 = Dupa, 2 = ITA131, a = pita seperti tetua ITA131, b = pita seperti tetua Dupa, c = pita seperti kedua tetua (heterosigot)

- A. Genotipe-genotipe terong (*Solanum melongena*) yang diamplifikasi menggunakan primer mikrosatelit EM114 pada gel poliakrilamid 5% (Nunome *et al.* 2003)  
 B. Hasil amplifikasi 94 galur F2 (Dupa x ITA131) menggunakan primer CT 106a (=RM 216) pada gel poliakrilamid 5% (Prasetyono *et al.* 2003)

**Gambar 3.** Contoh hasil amplifikasi menggunakan primer mikrosatelit yang dipisahkan pada gel poliakrilamid

(misal tinggi tanaman, umur berbunga, jumlah gabah isi, dan lain-lain) pada *O. rufipogon*.

**Marker Assisted Selection (MAS)**

Salah satu kebutuhan dasar di dalam program pemuliaan tanaman adalah bagaimana cara menyeleksi tanaman dalam jumlah sangat banyak dalam waktu yang singkat dan pada fase awal pertumbuhan. Apabila hanya berdasarkan seleksi fenotipik saja kadang-kadang sulit dilakukan karena sangat dipengaruhi lingkungan. Selain itu, untuk tanaman tahunan seleksi pada tahap pembibitan akan sangat menekan biaya produksi di masa mendatang.

Penggunaan marka mikrosatelit untuk tujuan MAS ini akan sangat efektif karena waktu yang diperlukan untuk analisis relatif cepat. DNA yang dibutuhkan juga sangat sedikit. Apalagi dengan adanya mesin ekstraksi DNA, proses isolasi DNA bukan lagi menjadi kendala. Permasalahan waktu analisis ini menjadi sangat penting ketika seorang pemulia harus secepatnya memilih tanaman sebagai bahan persilangan pada waktu yang pendek. Penggunaan marka mikrosatelit akan membantu program seleksi tanaman dengan cepat dan akurat.

Perbedaan marka mikrosatelit dibandingkan dengan marka-marka lain yang sudah ada dapat dilihat dalam Tabel 4.

Aplikasi marka mikrosatelit tidak hanya terbatas pada tiga contoh di atas tetapi pada perkembangan selanjutnya bisa digunakan untuk keperluan lain, misalnya untuk mendeteksi mutasi suatu spesies, studi evolusi, program padi hibrida, perbandingan genom antar spesies, studi kemurnian benih, dan lain-lain. Kelimpahan sekuen mikrosatelit dalam genom suatu spesies menjadikan marka ini sangat efektif sebagai salah satu marka pilihan untuk keperluan genetika atau pemuliaan.

**OTOMATISASI ANALISIS MIKROSATELIT**

Dengan penggunaan primer yang berlabel pelaksanaan analisis mikrosatelit menjadi sangat mudah. Metode ini punya banyak kelebihan dibandingkan dengan metode pewarnaan silver. Waktu pelaksanaan menjadi lebih singkat karena tidak membutuhkan poliakrilamid dan *silver staining*. Produk PCR yang dihasilkan tinggal dimasukkan ke dalam mesin (*automatic sequencer*) dan kita tinggal menunggu hasil melalui layar komputer. Keuntungan lain dengan sistem ini adalah (1) jumlah sampel yang dideteksi menjadi lebih banyak karena satu sumur bisa mendeteksi banyak primer (menggunakan warna yang berbeda beda), (2) pita-pita yang dihasilkan menjadi akurat karena

akan lebih jelas dan posisinya akan dapat dideteksi secara tepat (penggunaan *internal size standard* membantu dalam melihat posisi pita secara tepat). Kadang-kadang posisi pita ini sangat sulit dideteksi apabila terjadi *smiling band*. Dengan *internal size standard* secara otomatis pita-pita yang bengkok akan diluruskan di dalam komputer, (3) mengurangi kebutuhan volume reaksi PCR, yang tentu saja akan mengurangi biaya (Mc couch *et al.* 2001; Coburn *et al.* 2002). Penggunaan semi-otomatisasi untuk deteksi DNA pertama kali dilaporkan oleh Carrano pada tahun 1989. Setelah itu, banyak sekali publikasi yang menggunakan metode ini. Untuk negara maju metode ini sangat bermanfaat karena dapat menghemat waktu deteksi, walaupun *input* yang harus dikeluarkan lebih besar dibandingkan dengan cara biasa. Bredemeijer *et al.* (1998) telah melaporkan penggunaan metode ini pada tomat dengan hasil yang baik.

Penggunaan metode mutakhir ini semakin berkembang dengan hadirnya mesin-mesin yang dirancang khusus. Misalnya CEQ-8000 dari perusahaan Beckman, ABI PRISM® Genetic Analyzer dari Applied Biosystems, ALF-Express dari Amersham, dan produk-produk lainnya. Pemakaian sistem otomatisasi ke depan akan semakin ber-

**Tabel 4.** Perbandingan marka RFLP, RAPD, AFLP, dan mikrosatelit

Karakter	RFLP	RAPD	Mikrosatelit	AFLP
Prinsip dasar	Hibridisasi blot DNA	Amplifikasi PCR menggunakan primer acak	Amplifikasi PCR pada lokus mikrosatelit	Amplifikasi PCR menggunakan primer acak yang terseleksi
Lokus	Kodominan	Dominan	Kodominan	Dominan
Jumlah DNA yang dibutuhkan	5-10 µg	10-25 ng	10-100 ng	50-100 ng
Dibutuhkan informasi sekuen	Tidak	Tidak	Ya	Tidak
Cara Deteksi	Autoradiografi, labelling biotin	Etidium bromida	Etidium bromida; <i>silver staining</i> , fluorescen	<i>Silver staining</i> , fluorescen
Daya ulang	Tinggi	Rendah	Tinggi	Tinggi
Lokus spesifik	Ya	Tidak	Ya	Tidak
Tingkat kesulitan	Tinggi	Rendah	Rendah	Sedang
Biaya operasional	Tinggi	Rendah	Tinggi	Tinggi
Waktu pelaksanaan	Lama	Cepat	Sedang	Lama
Skoring data	Mudah	Agak sulit	Mudah	Sulit
Otomatisasi	Tidak bisa	Tidak bisa	Bisa	Bisa

kembang pesat seiring dengan kebutuhan analisis DNA yang semakin banyak.

### KESIMPULAN

Marka mikrosatelit merupakan salah satu marka molekuler yang sangat populer karena sangat variatif dalam genom suatu spesies, sangat berlimpah, stabil, dan mudah diaplikasikan. Penggunaan marka mikrosatelit sangat menunjang perkembangan studi genetika dan program pemuliaan. Otomatisasi analisis mikrosatelit akan mempercepat perkembangan penelitian menggunakan marka ini.

### DAFTAR PUSTAKA

- Akagi, H., Y. Yokozeki, A. Inagaki, and T. Fujimura. 1996. Microsatellite DNA markers for rice chromosomes. *Theor. App. Gen.* 93:1071-1077.
- Akaya, M.S., A.A. Bhagwat, and P.B. Cregan. 1992. Length polymorphisms of simple sequence repeat DNA in soybean. *Genetics Society of America*. p. 1131-1140.
- Becker, J. and M. Heun. 1995. Barley microsatellites: Allele variation and mapping. *Plant Molecular Biology* 27:835-845.
- Bligh, H.F.J., R.I. Till, and C.A. Jones. 1995. A microsatellite sequence closely linked to the waxy gene of *Oryza sativa*. *Euphytica* 86:83-85.
- Bredemeijer, G.M., P. Arens, D. Wouters, D. Visser, and B. Vosman. 1998. The use of semi-automated fluorescent microsatellite analysis for tomato cultivar identification. *Theor. App. Gen.* 97:584-590.
- Bredemeijer, G.M.M., R.J. Cooke, M.W. Ganai, R. Peters, P. Isaac, Y. Noordijk, S. Rendell, J. Jackson, M.S. Roder, K. Wendehake, M. Dijcks, M. Amelaine, V. Wickaert, L. Bertrand, and B. Vosman. 2002. Construction and testing of a microsatellite database containing more than 500 tomato varieties. *Theor. App. Gen.* 105:1019-1026.
- Chen, X., S. Temnykh, Y. Cu, F.G. Cho, and S.R. McCouch. 1997. Development of a microsatellite framework map providing genome wide coverage in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor. App. Gen.* 95:553-567.
- Cho, Y.G., T. Ishii, S. Temnykh, X. Chen, L. Lipovich, S.R. McCouch, W.D. Park, N. Ayres, and S. Cartinhour. 2000. Diversity of microsatellites derived from genomic and gene bank sequences in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor. App. Gen.* 100:713-722.
- Coburn, J.R., S.V. Temnykh, E.M. Paul, and S.R. McCouch. 2002. Design and application of microsatellite marker panels for semi-automated genotyping of rice (*Oryza sativa* L.). *Crop Sci.* 49:2092-2099.
- Crouch, H.K., J.H. Crouch, R.L. Jarret, P.B. Cregan, and R. Ortiz. 1998. Cell biology and molecular genetics. *Crop Sci.* 38:211-217.
- Dietrich, W.F., J.C. Miller, R.G. Steen, M. Merchant, D. Damron, R. Nahf, A. Gross, D.C. Joyce, M. Wessel, R.D. Dredge, A. Marquis, L.D. Stein, N. Goodman, D.C. Page, and E.S. Lander. 1994. A genetic map of the mouse with 4,006 simple sequence length polymorphisms. *Nature Genetics* 7:220-225.
- Garland, S.H., L. Lewin, M. Abedinia, R. Henry, and A. Blakeney. 1999. The use of microsatellite polymorphisms for the identification of Australian breeding lines of rice (*Oryza sativa* L.). *Euphytica* 108:53-63.
- George, M.L.C., E. Regalado, W. Li, M. Cao, M. Dahlan, M. Pabendon, M.L. Warburton, X. Xianchan, and D. Hoisington. 2004. Molecular characterization of Asian maize inbred lines by multiple laboratories. *Theor. App. Gen.* 109:80-91.
- Gupta, P.K., H.S. Balyan, P.C. Sharma, and B. Ramesh. 1996. Microsatellites in plants: A new class of molecular markers. *Current Science* 70(1):45-54.
- Hartl, D.L. and E.W. Jones. 2000. *Genetics, analysis of genes and genomes*. Jones and Bartlett publishers. Fifth edition. p. xxi + 858.
- He, C., V. Poysa, and K. Yu. 2003. Development and characterization of simple sequence repeat (SSR) markers and their use in determining relationships among *Lycopersicon esculentum* cultivars. *Theor. App. Gen.* 106:363-373.
- Hopkins, M.S., A.M. Casa, T. Wang, S.E. Mitchell, R.E. Dean, G.D. Kochert, and S. Kresovich. 1999. Discovery and characterization of polymorphic simple sequence repeats (SSRs) in peanut. *Crop Sci.* 39:1243-1247.
- Lee, J.M., S.H. Nahm, Y.M. Kim, and B.D. Kim. 2004. Characterization and molecular genetic mapping of microsatellite loci in pepper. *Theor. App. Gen.* 108:619-627.
- Maroof, M.A.S., R.M. Biyashev, G.P. Yang, Q. Zhang, and R.W. Allard. 1994. Extraordinary polymorphic microsatellite DNA in barley: species diversity, chromosomal locations, and population dynamics. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 91:5466-5470.
- McCouch, S.R., X. Chen, O. Panaud, S. Temnykh, Y. Xu, Y.G. Cho, N. Huang, T. Ishii, and M. Blair. 1997. Microsatellite marker development, mapping, and applications in rice genetics and breeding. *Plant Mol. Biol.* 35:89-99.
- McCouch, S.R., S. Temnykh, A. Lukashova, J. Coburn, G. DeClerck, S. Cartinhour, S. Harrington, M. Thomson, E. Septiningsih, M. Semon, P. Moncada, and J. Li. 2001. Microsatellite markers in rice: abundance, diversity, and applications. In Khush, G.S., D.S. Brar, and B. Hardy. (Eds.). *Rice Genetics IV*. IRRI. Philippines. p. 117-133.
- Morgante, M. and A.M. Olivieri. 1993. PCR-amplified microsatellites as markers in plant genetics. *The Plant Journal* 3(1):175-182.
- Nunome, T., K. Suwabe, H. Iketani, and M. Hirai. 2003. Identification and characterization of microsatellites in eggplant. *Plant Breeding* 122:256-262.
- Perera, L., J.R. Russell, J. Provan, and W. Powell. 2000. Use of microsatellite DNA markers to investigate the level of genetic diversity and population genetic structure of coco-

- nut (*Cocos nucifera* L.). Genome 43:15-21.
- Prasetyono, J., Tasliah, H. Aswidinnoor, dan S. Moeljopawiro. 2003.** Identifikasi marka mikrosatelit yang terpaut dengan sifat toleransi terhadap keracunan aluminium pada padi persilangan Dupa x ITA131. Jurnal Bioteknologi Pertanian. 8(2):35-45.
- Rajora, O.P., M.H. Rahman, S. Dayanandan, and A. Mosseler. 2001.** Isolation, characterization, inheritance and linkage of microsatellite DNA markers in white spruce (*Picea galuca*) and their usefulness in other spruce species. Mol. Gen. Genet. 264:871-882.
- Rivera, R., K.J. Edwards, J.H.A. Barker, G.M. Arnold, G. Ayad, T. Hodgkin, and A. Karp. 1999.** Isolation and characterization of polymorphic microsatellites in *Cocos nucifera* L. Genome 42:668-675.
- Robinson J.P. and S.A. Harris. 1999.** Amplified fragment length polymorphisms and microsatellites: A phylogenetic perspective. In Gillet, E.M. (Ed.). Which DNA markers for which purpose? <http://webdoc.subgwdg.de/ebook/y/1999/whichmarker/index.htm>
- Sambrook, J., E.F. Fritsch, and T. Maniatis. 1989.** Molecular cloning. A Laboratory Manual. Spring Harbor Laboratory Press.
- Scott, K.D., P. Eggler, G. Seaton, M. Rossetto, E.M. Ablett, L.S. Lee, and R.J. Henry. 2000.** Analysis of SSRs derived grape ESTs. Theor. App. Gen. 100:723-726.
- Senior, M.L. and M. Heun. 1993.** Mapping maize microsatellites and polymerase chain reaction confirmation of the targeted repeats using a CT primer. Genome 36:884-889.
- Septiningsih, E.M., J. Prasetyono, E. Lubis, T.H. Tai, T. Tjubaryat, S. Moeljopawiro, and S.R. McCouch. 2003.** Identification of quantitative trait loci for yield and yield components in an advanced backcross population derived from the *Oryza sativa* variety IR64 and the wild relative *O. rufipogon*. Theor. App. Gen. 107: 1419-1432.
- Temnykh, S., W.D. Park, N. Ayres, S. Cartinhour, N. Hanck, L. Lipovich, Y.G. Cho, T. Ishii, and S.R. McCouch. 2000.** Mapping and genome organization of microsatellite sequences in rice (*Oryza sativa* L.). Theor. App. Gen. 100: 697-712.
- Yang, G.P., M.A.S. Maroof, C.G. Xu, Q. Zhang, and R.M. Biyashev. 1994.** Comparative analysis of microsatellite DNA polymorphism in landraces and cultivars of rice. Mol. Gen. Genet. 245:187-194.
-