**IDENTIFIKASI KLON JATI (*Tectona grandis* Linn F.) MENGGUNAKAN
PENANDA SCAR (*Sequence Characterized Amplified Region*)
*Identification of Teak (*Tectona grandis* Linn F.) Clones Using SCAR
(Sequence Characterized Amplified Region) Markers***

Vivi Yuskianti

Balai Besar Penelitian Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Hutan
Jl. Palagan Tentara Pelajar Km. 15, Purwobinangun, Pakem, Sleman, Yogyakarta 55582
Telp. (0274) 895954, 896080, Fax. (0274) 896080

ABSTRACT

An easy, cheap and accurate identification method is needed to ensure the identity of teak clones used in plantation. Molecular markers offer an alternative technique for clonal identification. One such method is SCAR markers. Seventy teak clones of which 20 clones were produced by tissue cultures and claimed to be originated from the same parent, and 50 clones from buddings were used as materials. Analysis was conducted using 6 highly polymorphic SCAR primers. The results showed that 20 teak clones originated from tissue cultures clustered into 3 groups, whereas the rest 50 samples from buddings clustered into 4 groups. SCAR markers were able to differentiate the identity of these clones. These SCAR markers can be applied to prove the claim about the identity of clones in the market and to avoid labeling errors in the field for vegetatively propagated plants.

Key Words : Teak, clone, identification, SCAR markers

ABSTRAK

Metode identifikasi yang mudah dan murah dengan akurasi yang tinggi sangat diperlukan untuk menjamin keakuratan identitas klon jati yang akan digunakan untuk penanaman. Penanda molekuler menawarkan beberapa alternatif yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi klon jati. Salah satu metode yang dapat digunakan untuk identifikasi klon jati adalah penanda SCAR. Sebanyak 70 klon jati yaitu 20 klon hasil kultur jaringan yang dibeli dari pasaran dan diklaim berasal dari tetua yang sama dan 50 klon merupakan hasil perbanyakan secara vegetatif di lapangan digunakan sebagai material untuk penelitian ini. Analisis dilakukan menggunakan enam SCAR primer. Hasil penelitian menunjukkan bahwa 20 klon jati hasil kultur jaringan terbagi menjadi 3 grup/kelompok genetik, sedangkan 50 klon jati hasil perbanyakan vegetatif di lapangan terbagi menjadi 4 group/kelompok genetik. Ini menunjukkan bahwa penanda SCAR dapat membedakan identitas genetik klon-klon jati yang ada. Metode ini dapat digunakan sebagai alternatif untuk membuktikan klaim penjual tentang identitas klon-klon jati yang banyak beredar di masyarakat dan juga dapat digunakan untuk menghindari terjadi kesalahan pelabelan di lapangan pada cara perbanyakan secara vegetatif.

Kata Kunci : Jati, klon, identifikasi, penanda SCAR

I. PENDAHULUAN

Jati merupakan tanaman yang mempunyai nilai ekonomi tinggi dan banyak dibudidayakan di masyarakat. Perbanyakan secara vegetatif, misalnya menggunakan okulasi dan stek, memungkinkan terjadi kesalahan pada saat pelabelan karena adanya kesalahan manusia (*human error*). Selain itu, sekarang ini di kalangan masyarakat juga banyak beredar jati-jati hasil kultur jaringan dengan identitas genetik yang tidak jelas. Kondisi tersebut rawan terhadap kesalahan dan penipuan. Oleh karena itu dibutuhkan metode identifikasi yang secara akurat dapat memberikan informasi tentang identitas genetik klon jati yang akan digunakan untuk penanaman.

Metode identifikasi secara molekuler menggunakan antara lain penanda RAPD (Narayanan *et al.*, 2007; Watanabe *et al.*, 2004), AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*) (Shrestha *et al.*, 2005) dan *microsatellite* (Fofana *et al.*, 2008) telah digunakan untuk identifikasi jati. Tetapi berbagai kendala seperti biaya yang tinggi, adanya pengaruh lingkungan dan kesulitan untuk menginterpretasikan datanya membatasi penggunaan metode tersebut. Penanda SCAR (*Sequence Characterized Amplified Region*) (Paran dan Michelmore, 1993) menawarkan keunggulan untuk identifikasi karena primer spesifiknya hanya mengamplifikasi satu lokus sehingga prosedurnya lebih mudah dan bersifat stabil, biaya yang lebih rendah dan data yang dihasilkan juga lebih sederhana sehingga lebih mudah untuk diinterpretasikan. Metode SCAR merupakan pengembangan lebih lanjut dari metode RAPD (William *et al.*, 1990) dimana hanya spesifik lokus yang didapat dari metode RAPD, diklon, sekuen dan

kemudian hasil sekuensingnya digunakan untuk membuat primer yang spesifik ke lokus tersebut.

Penanda SCAR telah banyak digunakan untuk berbagai tujuan. SCAR telah menjadi metode identifikasi yang mudah, murah dan dapat dipercaya untuk identifikasi *olive-tree* (Bautista *et al.*, 2002; Busconi *et al.*, 2006) dan *grapevine* (*Vitis vinifera* L.) (Vidal *et al.*, 2000); sebagai cara yang efisien untuk kualitas kontrol dan untuk pencegahan terjadinya penipuan pada aprikot (*Prunus armeniaca*) (Mariniello *et al.*, 2002) dan juga sebagai alat untuk mendiagnosis hibrida pada *Pinus* (Weng *et al.*, 1998) dan *Acacia* (Huang *et al.*, 2005). Selain itu, SCAR juga telah digunakan sebagai penanda untuk seleksi (*marker-assisted selection*) berbagai penyakit tanaman. SCAR telah dikembangkan untuk mendeteksi ketahanan terhadap penyakit *common bacterial blight* pada *common beans* (Yu *et al.*, 2000), ketahanan terhadap Potato Virus Y (PVY) pada cabe (*Capsicum annuum* L.) (Arnedo-Andres *et al.*, 2002), ketahanan terhadap *root-knot nematodes* pada Plum (*Prunus cerasifera*) (Lecoals *et al.*, 2004), gen ketahanan terhadap apel *scab*, Vf (Huaracha *et al.*, 2004), dan untuk deteksi *Trichoderma atroviride* 11 (Hermosa *et al.*, 2001).

Penanda SCAR untuk identifikasi klon jati telah berhasil dibuat di Universitas Kyushu Jepang (data tidak dipublikasikan). Sebanyak 16 SCAR primer telah berhasil dikembangkan dan beberapa primer terbukti mempunyai tingkat keragaman yang tinggi dan mampu secara efektif membedakan klon jati yang diuji (Rimbawanto *et al.*, 2002).

II. BAHAN DAN METODE

A. Bahan

Ada dua jenis bahan yang digunakan sebagai materi penelitian. Yang pertama adalah klon jati hasil kultur jaringan yang dibeli secara komersial sebanyak 20 klon, sedangkan yang kedua adalah klon jati hasil perbanyakan vegetatif dari tetua yang tidak diketahui asal usulnya dan kemudian diperbanyak oleh perusahaan komersial sebanyak 50 klon. Penjual bibit kultur jaringan menjamin bahwa bibit tersebut berasal dari tetua yang sama dari klon jati Jawa.

B. Metode

Ekstraksi genomik DNA dilakukan dengan menggunakan modifikasi metode CTAB (Shiraishi dan Watanabe, 1995). Pelaksanaan ekstraksi meliputi: menimbang daun sebanyak 50-70 mg dan dimasukkan ke dalam *microtube* 1,5 ml. Ke dalam *microtube* kemudian dimasukkan 1,5 ml larutan *buffer* ekstraksi (150 μ l Tris HCl pH 9, 420 μ l 5 M NaCl, 60 μ l 0,5 M EDTA, 300 μ l 10% CTAB dan 7,5 μ l 2-Merchapt-ethanol). Daun kemudian dihancurkan menggunakan homogenizer (Mini Beadbeater 8) selama 5-10 menit sampai daun menjadi halus. Selanjutnya larutan *buffer* dan daun tersebut diinkubasi dan dikocok pada suhu 65° C selama 60 menit. Sebanyak 1 ml larutan bagian atas kemudian dipindahkan ke dalam *microtube* 1,5 ml yang baru, ditambahkan 800 μ l chloroform kemudian diputar selama 20 menit dan disentrifugasi dengan kecepatan 12.000 rpm selama 10 menit. Kemudian larutan yang mengandung DNA tanaman sebanyak 700 μ l dipindahkan ke *microtube* baru dan ditambahkan 700 μ l chloroform untuk kemudian diputar kembali selama 20

menit agar homogen, setelah itu disentrifugasi dengan kecepatan 12.000 rpm selama 10 menit.

Larutan diambil kembali sebanyak 600 μ l dan dipindahkan ke dalam *microtube* baru, ditambahkan 20 μ l NaOAc dan 650 μ l iso-propanol dan dihomogenkan selama 10 menit. Larutan tersebut kemudian disentrifugasi pada 15.000 rpm selama 5 menit sehingga didapatkan endapan/*pellet* di dasar *microtube*. Larutan 70% ethanol kemudian ditambahkan ke dalam *microtube* untuk mencuci dinding tabung kemudian disentrifugasi pada 15.000 rpm selama 5 menit. Pencucian dilakukan sebanyak dua kali, kemudian dikeringkan dengan desikator selama 3 menit. *Pellet* DNA dilarutkan dengan 300 μ l psd H₂O dan DNA siap untuk digunakan.

Sebanyak 4 μ l larutan DNA dengan konsentrasi 2,5 ng/ μ l untuk setiap sampel kemudian dilanjutkan ke proses PCR (*Polymerase Chain Reaction*). PCR dilakukan menggunakan 6 SCAR primer (Tabel 1). Reaksi PCR menggunakan 200 μ M dNTP, 0,5 μ M primer, 10 x PCR *buffer*, 1,5 mM MgCl₂ dan 0,5 unit Platinum Taq DNA polymerase (Invitrogen). Proses PCR dilakukan menggunakan Gene Amp PCR 9700 (*Applied Biosystem*) selama 30 detik pada suhu 94° C. Selanjutnya setiap siklus diberi perlakuan suhu 94° C (30 detik) untuk denaturasi DNA, 65° C (30 detik) untuk pemasangan primer pada rantai DNA dan 72° C (60 detik) untuk pemanjangan rantai DNA. Hal ini berulang sebanyak 30 siklus, kemudian terakhir pada suhu 72° C selama 5 menit.

Elektroforesis dilakukan menggunakan 2% agarose gel dan visualisasi fragmen dilakukan menggunakan Gel-Doc (Bio-Rad). Data yang dihasilkan berupa fragmen dalam bentuk data

biner (1/0) yaitu 1 = ada fragmen dan 0 = tidak ada fragmen. Karena data yang dihasilkan bersifat sederhana dan dapat dengan mudah diinterpretasikan maka analisis data dapat dilakukan dengan cara manual yaitu dengan cara mencocokkan pola fragmen yang dihasilkan dari tiap primer.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

1. Pola Pengelompokan klon jati secara umum

Pada tahap awal ingin diketahui apakah ada kesamaan genetik antara klon jati hasil kultur jaringan yang dibeli secara komersial dengan anakan hasil perbanyakan secara vegetatif dari lapangan. Hal tersebut berguna untuk mengetahui apakah ada salah satu tetua yang digunakan untuk perbanyakan vegetatif di lapangan juga digunakan oleh penjual sebagai salah satu indukan tetua di kultur jaringan. Hasil penelitian menggunakan penanda SCAR menunjukkan tidak ada kesamaan genetik antara klon jati hasil kultur jaringan dan klon jati hasil perbanyakan vegetatif di lapangan. Klon yang berasal dari kultur jaringan maupun perbanyakan vegetatif

mempunyai pola pengelompokan masing-masing (Tabel 2 dan Tabel 3).

2. Pola Pengelompokan klon jati hasil kultur jaringan

Analisis pada klon jati dari kultur jaringan menunjukkan bahwa keenam SCAR primer menghasilkan pola pita yang beragam (Gambar 1). Klaim penjual yang mengatakan bahwa semua klon jati hasil kultur jaringan berasal dari tetua yang sama, ternyata hasil analisis menggunakan penanda SCAR menunjukkan hasil yang berbeda. Klon-klon jati hasil kultur jaringan mengelompok menjadi 3 kelompok (Tabel 2). Hasil tersebut membuktikan bahwa klaim penjual yang mengatakan bahwa tetua klon jati hasil kultur jaringan berasal dari tetua yang sama yang artinya berasal dari satu tetua cukup diragukan karena data molekuler menunjukkan bahwa kemungkinan besar klon-klon jati hasil kultur jaringan tersebut berasal dari 3 tetua karena terjadi 3 pengelompokan pada semua sampel yang diuji.

3. Pola Pengelompokan klon jati hasil perbanyakan secara vegetatif

Sedangkan hasil analisis penanda SCAR pada klon jati hasil perbanyakan secara vegetatif

Tabel 1. Enam SCAR primer yang digunakan untuk analisis klon jati

No	Nama primer	Sekuen basa (5' → 3')	Ukuran fragmen (bp)
1.	T044U T044L	AAG TCA CTA ACT AGT CTA TAA TGA CTC TGT TCG AAA GTT TGT GAA TGA GTT CGA CTA GC	150
2.	T048U T048L	TGC TCC GTC TCG TAG ATT TAA TTT TAT G TCT GGA ACT TGA GTG GAG AGA TTA GG	230, 270
3.	T050U T050L	GGT TTT CFG AGT CCC ACT TGT CG CAT TTC TCT TGT CTA TGT CTC TCC AGG	350
4.	T061U T061L	ACT TTC CTT TTC ATA TAG ACA CGT TG G TAT TCT CTC CTA CAG ACA TTG TGT TTC C	500
5.	T066U T066L	TAT TTG GCA AAA AGA GGA ATT GTA ACT C ACC GGA ACT ACG CAT CAG ATT G	320
6.	T085U T085L	CAT TTT AGA GAT GAT AAT AGT CAA TGG ATG G TTC AAC ACT CCT GAC TTC TTC GG	500, 850

Gambar 1. Hasil amplifikasi menggunakan primer T061. Angka di atas gambar menunjukkan individu klon yang digunakan. L = Ladder

Tabel 2. Pola pengelompokan klon jati hasil kultur jaringan

Grup	Klon jati hasil kultur jaringan	Kode Genetik
1	1, 2, 3, 4, 5, 6, 11, 12, 14, 15, 17	A
2	7, 8, 9, 10, 13, 16, 18, 19	B
3	20	C

Tabel 3. Pola pengelompokan pada klon jati anakan dari lapangan

Grup	Klon Anakan	Kode Genetik
1	B1, B4, B11, B18, B24, B33, B36, B39, B44, B45, B46, B47, B48, B50	D
2	B2, B3, B6, B7, B8, B9, B10, B12, B13, B14, B15, B16, B17, B23, B25, B26, B27, B28, B29, B30, B31, B32, B34, B35, B37, B38, B40, B41, B42, B43, B49	E
3	B5	F
4	B19, B20, B21, B22	G

dari lapangan menunjukkan adanya pengelompokan pada sampel yang diuji. Klon jati tersebut terbagi menjadi 4 kelompok/grup besar (Tabel 3). Adanya pengelompokan tersebut menunjukkan bahwa kemungkinan besar klon-klon jati hasil perbanyakan vegetatif yang ada di lapangan berasal dari 4 tetua yang berbeda.

B. Pembahasan

Perbanyakan secara vegetatif pada jati umumnya menggunakan teknik okulasi yang digabung dengan teknik stek. Kedua teknik ini digunakan karena sistem perbanyakan menggunakan batang yang sudah tua akan mempunyai tingkat kegagalan yang tinggi sehingga dibutuhkan cara yang dapat secara efektif memper-

banyak pohon jati yang berkualitas. Alternatifnya ialah dengan cara perbanyakan menggunakan batang muda/fase juvenil. Teknik okulasi melibatkan bahan tanaman yang berasal dari dua individu yang berbeda, yang pertama berfungsi sebagai batang bawah yang mempunyai sistem perakaran yang baik sedangkan yang kedua adalah mata tunas dari pohon jati yang mempunyai sifat unggul. Mata tunas dari bibit yang berkualitas baik tersebut kemudian ditempelkan ke batang bawah sehingga diharapkan akan tumbuh jati dengan batang bawah yang baik dan tunas dari bibit yang berkualitas unggul. Tunas yang tumbuh tersebut setelah cukup besar kemudian bisa dipotong dan dijadikan bahan stek

atau langsung dapat digunakan sebagai bahan tanam. Sistem perbanyakan tersebut dapat mengakibatkan terjadi kesalahan pelabelan karena dalam kondisi tertentu ada kemungkinan bahwa yang akhirnya tumbuh menjadi besar dan dijadikan sebagai sumber stek dan bahan tanaman adalah tunas yang tumbuh dari batang bawah, bukan hasil dari okulasi. Kesalahan pelabelan ini dapat menjadi fatal dan pada akhirnya akan sangat berpengaruh pada kualitas dan kuantitas jati yang dihasilkan.

Keakuratan penanda SCAR yang dikembangkan untuk klon jati juga telah digunakan untuk klon jati yang ditanam di Pusat Penelitian dan Pengembangan Jati Perhutani Cepu, Jawa Tengah (Rimbawanto *et al.*, 2002). Sebanyak 10 klon dengan 10 ramet tiap klon diuji menggunakan 11 primer SCAR. Penanda SCAR yang digunakan dapat secara akurat membedakan identitas klon-klon jati yang dihasilkan. Hasil pendataan label jati yang ada di lapangan kemudian dicek silang (*cross-check*) dengan data hasil dari molekuler dan menunjukkan adanya kesalahan pelabelan pada klon-klon yang ada di lapangan. Identifikasi klon jati secara molekuler ini dapat menghindarkan kesalahan pelabelan di lapangan dan jati dengan kualitas dan kuantitas yang baik diharapkan dapat diproduksi.

Secara umum, tingkat kepercayaan hasil analisis secara molekuler dibatasi oleh jumlah sampel yang akan diuji, asal-usul sampel yang digunakan untuk analisis dan juga jumlah primer yang diuji. Primer yang digunakan untuk analisis juga sangat dipengaruhi oleh keragaman sampel awal yang digunakan untuk membuat/mendesain primer tersebut. Apabila sampel yang digunakan berasal dari populasi yang beragam dan cukup

mewakili semua populasi jati yang ada di Indonesia ataupun di dunia maka hasil analisis yang dihasilkan akan mempunyai tingkat kepercayaan yang lebih tinggi dibandingkan sampel dari populasi yang terbatas. Penanda SCAR yang digunakan dalam penelitian ini dikembangkan khusus untuk identifikasi klon jati karena materi yang dipakai untuk skrining fragmen di penanda RAPD berasal dari berbagai populasi di Jawa yang ditanam di kebun pangkas milik Pusat Penelitian dan Pengembangan Jati Perhutani Cepu, Jawa Tengah (Widyatmoko, *personal communication*). Dengan basis keragaman genetik yang ada saat pengembangan primer penanda SCAR ini terutama karena materi yang diklaim oleh penjual bibit hasil kultur jaringan dikatakan berasal dari Jawa maka penanda SCAR ini mempunyai kemampuan yang menyakinkan untuk dapat membedakan klon-klon jati yang ada. Hasil pengujian menunjukkan bahwa tetua yang digunakan sebagai sumber perbanyakan pada klon-klon jati hasil kultur jaringan berasal dari 3 tetua yang berbeda. Hasil ini bertentangan dengan klaim penjual yang mengatakan bahwa tetua klon jati kultur jaringan berasal dari satu tetua. Sedangkan hasil analisis pada klon jati hasil perbanyakan secara vegetatif dari lapangan menunjukkan adanya 4 tetua yang digunakan sebagai induk/tetua untuk klon-klon jati tersebut.

IV. KESIMPULAN

Sebanyak 70 sampel yang berasal dari 20 klon jati hasil kultur jaringan dan 50 klon jati hasil perbanyakan vegetatif di lapangan menunjukkan bahwa tidak ada kesamaan genetik

antara klon jati hasil kultur jaringan dan hasil perbanyakan vegetatif di lapangan. Setiap jenis sampel mempunyai pola pengelompokan masing-masing. Dua puluh klon jati hasil kultur jaringan terbagi menjadi 3 grup/kelompok genetik, sedangkan ke 50 klon jati hasil perbanyakan vegetatif di lapangan terbagi menjadi 4 group/kelompok genetik. Ini menunjukkan bahwa metode SCAR dapat membedakan identitas genetik klon-klon jati yang ada. Metode ini dapat digunakan sebagai alat untuk membuktikan klaim penjual tentang identitas klon-klon jati yang banyak beredar di masyarakat dan juga dapat digunakan untuk menghindari terjadi kesalahan pelabelan di lapangan pada cara perbanyakan secara vegetatif.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih diberikan kepada PT. Haraka Kitri Endah yang telah membantu menyediakan materi penelitian. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Dr. Anto Rimbawanto dan Dr. AYPBC Widyatmoko dari Balai Besar Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Hutan Yogyakarta atas semua saran dan komentarnya untuk perbaikan tulisan ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Arnedo-Andres, M.S., Gil-Ortega, R., Luis-Arteaga, M. and Hormaza, J.I. 2002. Development of RAPD and SCAR markers linked to the Pvr4 locus for resistance to PVY in pepper (*Capsicum annuum* L.). *Theoretical Applied Genetics* **105**:1067-1074
- Bautista, R., Crespillo, R., Canovas, F.M and Claros, M.G. 2002. Identification of olive-tree cultivars with SCAR markers. *Euphytica* **129**:33-41
- Busconi, M., Sebastiani, L and Fogher, C. 2006. Development of SCAR markers for germplasm characterisation in olive tree (*Olea europea* L.). *Molecular Breeding* **17**:59-68
- Fofana, I.J., Ofori, D., Poitel, M. and Verhaegen, D. 2008. Diversity and genetic structure of teak (*Tectona grandis* L.f) in its natural range using DNA microsatellite markers. *New Forests* **37** (2):175-195
- Hermosa, M. R., Grondona, I., Diaz-Minguez, J.M., Iturriaga, E.A., and Monte, E. 2001. Development of a strain-specific SCAR marker for the detection of *Trichoderma atroviride* 11, a biological control agent against soilborne fungal plant pathogens. *Curr. Genet.* **38**:343-350
- Huang, F., Widyatmoko, A.Y.P.B.C., Zhang, B.X. and Shiraisi, S. 2005. A diagnosis of *Acacia* hybrids between *A. mangium* and *A. auriculiformis* using codominant SCAR (Sequence Characterized Amplified Region) markers. *Journal of Japanese Forest Society* **87** (2):149-152
- Huaracha, E.M., Xu, M.L., Gasic, K., Pauwels, E., Van Den Putte, A., Keulemans, J.W. and Korban, S.S. 2004. Phenotypic reaction and Genetic Analysis using AFLP-derived SCARs for resistance to apple scab. *J. Phytopathology* **152**:260-266
- Lecoals A-C., Bergognoux, V., Rubio-Cabetas, M-J., Bosselut, N., Voisi, R., Poessel, J-L.,

- Faurobert, M., Bonnet, A., Salesses, G., Dirlewanger, E., and Esmenjaud, D. 2004. Marker-assisted selection for the wide-spectrum resistance to root-knot nematodes conferred by the Ma gene from myrobalan plum (*Prunus cerasifera*) in interspecific *Prunus* material. *Molecular Breeding* **13**:113-124
- Mariniello, L., Sommella, M.G., Sorrentino, A., Forlani, M. and Porta, R. 2002. Identification of *Prunus armeniaca* cultivars by RAPD and SCAR markers. *Biotechnology Letters* **24**:749-755
- Narayanan, C., Wali, S.A., Shukla, N., Kumar, R., Mandal, A.K., and Ansari, S.A. 2007. RAPD and ISSR markers for molecular characterization of teak (*Tectona grandis*) plus trees. *Journal of Tropical Forest Science* **19** (4):218-225
- Paran, I., and Michelmore, R.W. 1993. Development of reliable PCR-based markers linked to downy mildew resistance genes in lettuce. *Theoretical Applied Genetics* **85**:985-993
- Rimbawanto, A., Isoda, K. and Suharyanto. 2002. Clonal identification of teak using SCAR markers. In Anto Rimbawanto dan Mudji Susanto (Eds). Proceedings of Advances in genetic improvement of tropical tree species, Yogyakarta-Indonesia, 1-3 Oktober 2002. pp 77-80
- Shrestha, M. K., Volkaert, H. and Van Derstraeten, D. 2005. Assessment of genetic diversity in *Tectona grandis* using amplified fragment length polymorphism markers. *Canadian Journal of Forest Research* **35** (4):1017-1022
- Shiraishi, S. and Watanabe, A. 1995. Identification of chloroplast genome between *Pinus densiflora* Sieb. et Zucc and *P. thunbergii* Parl. based on polymorphisms in *rbcL* gene. *Journal of Japanese Forest Society* **77**:429-436
- Vidal, J.R., Delavault, P., Coarer, M., and Defontaine, A. 2000. Design of grapevine (*Vitis vinifera* L.) cultivar-specific SCAR primers for PCR fingerprinting. *Theor Appl Genet* **101**:1194-1201
- Watanabe, A., Widayatmoko, A., Rimbawanto, A., and Shiraishi, S. 2004. Discrimination of teak (*Tectona grandis*) plus trees using selected random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers. *Journal of Tropical Forest Science*
- Weng, C., Kubisiak, T.L., and Stine, M. 1998. SCAR markers in a longleaf pine x slash pine F1 family. *Forest Genetics* **5**(4):239-247
- William, J. G., Kubelik, A. R., Livak, K. J., Rafalski, J. A., and Tingey, S. V. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research* **18**:6531-6535.
- Yu K., Park, S.J., and Poysa, V. 2000. Marker-assisted selection of common beans for resistance to common bacterial blight: efficacy and economics. *Plant Breeding* **119**:411-415.