

**KERAGAMAN MOLEKULER PURING (*Codiaeum variegatum* (L.) Rumph. ex
A. Juss) DENGAN PENANDA RAPD**

**(MOLECULAR DIVERSITY OF GARDEN CROTON (*Codiaeum variegatum* (L.)
Rumph. ex A. Juss) BASED ON RAPD MARKER**

Monika Andreastuti K¹, Aziz Purwantoro², Rudi Hari Murti²

Intisari

Tanaman puring (*Codiaeum variegatum* (L.) Rumph. ex A. Juss) adalah tanaman hias yang memiliki nilai jual tinggi. Tanaman puring juga memiliki manfaat sebagai tanaman berkhasiat obat dan dapat menyerap unsur timah hitam yang berasal dari sisa pembakaran bahan bakar kendaraan bermotor (2,05 mg/l). Bentuk, warna, dan corak daun tanaman puring sangat beragam. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui besarnya keragaman genetik, menghitung jarak genetik, dan menduga adanya alel spesifik pada tanaman puring. Sampel DNA diekstraksi dari daun 20 kultivar tanaman puring. Metode PCR menggunakan 10 primer yaitu OPA-02, OPA-03, OPA-14, OPA-16, OPA-18, OPA-20, OPB-08, OPB-19, OPD-05, dan OPH-18. Hasil amplifikasi menunjukkan tingkat polimorfisme yang cukup tinggi. Persentase lokus polimorfik dan nilai heterosigositas harapan (H_e) paling tinggi ditunjukkan oleh kultivar tanaman puring dengan daun yang berwarna kombinasi hijau-merah yaitu 56,60% dan 0,190. Kultivar yang berlabel H1 dengan HK1 memiliki hubungan kekerabatan paling dekat diantara kultivar lain, sedangkan kultivar yang berlabel HK3 dengan HKM5 dan kultivar berlabel HK5 dengan HKM4 memiliki hubungan kekerabatan paling jauh diantara kultivar lain. Hasil dari dendogram UPGMA dan PCoA (*Principal Coordinates Analysis*) menempatkan 20 kultivar kedalam 2 klaster dan salah satu klaster ditempati oleh kultivar dengan daun yang berwarna kombinasi hijau-kuning-merah. Dari seluruh kelompok warna pada sampel, alel spesifik yang dapat terdeteksi pada satu kelompok/populasi warna hanya terdapat pada kelompok HKM yaitu pada OPD 05⁻¹⁴⁰⁰ dan OPH 18⁻³⁰⁰.

Kata kunci: *Codiaeum variegatum*, penanda RAPD, keragaman genetic, hubungan kekerabatan.

Abstract

Croton (Codiaeum variegatum (L.) Rumph. ex A. Juss) is an ornamental plant that has a high economic value. Croton also has benefits as medicinal plants and can absorb lead elements derived from combustion of fuel in motor vehicles (2,05 mg / l). Croton's leaf shape, color, and pattern have high diversity. This research aims to determine the genetic diversity, calculate genetic distance, and to look for a specific allele at croton. DNA samples was extracted from the leaves of 20 cultivars of croton. PCR method were applied by 10 primer OPA-02, OPA-03, OPA-14, OPA-16, OPA-18, OPA-20, OPB-08, OPB-19, OPD-05, and OPH-18. The results showed a fairly high degree of polymorphism. The highest percentage of polymorphic loci and expected heterozygosity value indicated by croton cultivars with leaves of green-red color combination that are 56,60% and 0,19, respectively the cultivars which labeled with H1 and HK1 have the closest

¹ Alumni Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

² Fakultas Pertanian Univesitas Gadjah Mada, Yogyakarta

relationship among the other cultivars, whereas cultivars which labeled with HK3 and HKM5 also HK5 and HKM4 have the furthest relationship among the other cultivars. The results from UPGMA dendrogram and PCoA (Principal Coordinates Analysis) put 20 cultivars into two clusters and one cluster occupied by cultivars with leaves of green-yellow-red color combination. The specific alleles that can be detected from tricolours group are OPD 05⁻¹⁴⁰⁰ and OPH 18⁻³⁰⁰.

Keywords: *Codiaeum variegatum*, RAPD marker, genetic diversity, genetic relationship.

PENDAHULUAN

Keanekaragaman puring dapat dilihat dari daunnya yang memiliki warna bermacam-macam dan bentuk yang sangat variatif. Selain dapat dimanfaatkan sebagai tanaman hias, puring juga memiliki kegunaan sebagai tanaman obat. Sejak puluhan tahun silam tanaman puring digunakan sebagai obat tradisional di daerah Pasifik Selatan (keulauan Fiji, Hawaii dan Papua Nugini) dan beberapa daerah di Bangladesh untuk mengatasi demam, flu, penyakit kulit, diare yang disebabkan oleh *entamoeba histolyca*, hingga penyakit menular seksual (*gonorrhoea* dan *syphilis*) (Robert *et al.*, 1988; Cambie dan Ash, 1994; Moundipa *et al.*, 2005; WHO, 2009; Mollick *et al.*, 2010; Safoon *et al.*, 2014). Agar memaksimalkan potensi tanaman puring, kita harus lebih mengenal karakteristik dan keragaman jenis puring.

Bentuk dan warna yang beragam dari tanaman puring menyulitkan ahli botani dalam melakukan klasifikasi. Warna dan corak yang beragam membuat tanaman puring terlihat berbeda meskipun memiliki bentuk yang mirip, akan tetapi pengelompokan warna bisa dibuat menjadi lebih sederhana adalah dengan mengelompokkannya kedalam tiga warna pokok yang dipengaruhi tiga pigmen utama pada tanaman yaitu warna hijau, warna merah, dan warna kuning. Warna hijau dipilih karena pada daun terdapat klorofil yang memberikan warna hijau, selain klorofil tanaman puring juga mengandung antosianin dalam bentuk flavonoid yang memberikan warna merah dan karotenoid yang memberikan warna kuning.

Salah satu metode untuk melakukan analisis keragaman genetik adalah dengan menggunakan penanda *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD). RAPD merupakan penanda dominan yang mampu membedakan dua jenis genotipe yaitu dominan (homozigot dominan dan heterozigot) dan homozigot resesif (Williams *et al.*, 1990). Karakter dominan ditunjukkan dengan munculnya pita pada gel agarosa sedangkan karakter resesif ditunjukkan dengan ketidak-

munculan pita pada gel agarosa. Penanda RAPD tidak dipengaruhi oleh lingkungan tumbuh dan fase perkembangan tanaman

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Genetika dan Pemuliaan Tanaman, Fakultas Pertanian UGM untuk pengujian molekuler. Penelitian dilakukan pada tanggal 21 Juli 2014 hingga 8 September 2014.

Bahan yang akan dianalisis adalah sampel daun yang dipetik dari 20 tanaman puring berbeda dengan 4 macam komposisi warna yang berbeda.

No.	Kultivar	Kelompok Warna	Kode
1	<i>C. variegatum</i> 'punctatum aureum'	Hijau	H1
2	<i>C. variegatum</i> 'Ovafolium I'	Hijau	H2
3	<i>C. variegatum</i> 'Ovafolium I'	Hijau	H3
4	<i>C. variegatum</i> 'Sunray'	Hijau	H4
5	<i>C. variegatum</i> 'Excellent'	Hijau	H5
6	<i>C. variegatum</i> 'Gold Dust'	Hijau-Kuning	HK1
7	Puring Parang/Lidah/Merak	Hijau-Kuning	HK2
8	<i>C. variegatum</i> 'Tilapia yellow'	Hijau-Kuning	HK3
9	Puring Samurai	Hijau-Kuning	HK4
10	<i>C. variegatum</i> 'Dreadlocks'	Hijau-Kuning	HK5
11	<i>C. variegatum</i> 'Thai Hybrid'	Hijau-Merah	HM1
12	<i>C. variegatum</i> 'Undulatum'	Hijau-Merah	HM2
13	<i>C. variegatum</i> 'Elaine'	Hijau-Merah	HM3
14	<i>C. variegatum</i> 'Undulatum'	Hijau-Merah	HM4
15	Puring Samurai	Hijau-Merah	HM5
16	Puring Samurai	Hijau-Kuning-Merah	HKM1
17	<i>C. variegatum</i> 'Imperialis'	Hijau-Kuning-Merah	HKM2
18	Puring Bali	Hijau-Kuning-Merah	HKM3
19	<i>C. variegatum</i> 'Craigii'	Hijau-Kuning-Merah	HKM4
20	<i>C. variegatum</i> 'Nevilliae'	Hijau-Kuning-Merah	HKM5

Adapun tahapan yang dilakukan yaitu bermula dengan pengekstrakan DNA dari daun segar dengan metode Doyle dan Doyle yang dimodifikasi (Stewart dan Neal, 1996). Sampel daun sebanyak 0,1 gram digerus dan diberi 800 µl larutan *buffer* CTAB yang telah ditambahkan dengan 1% *mercaptoethanol* dan diinkubasi pada suhu 65°C selama 30 menit. Campuran hasil gerusan diinkubasi pada suhu 65°C selama 60 menit. Tiap sampel ditambahkan 500 µl campuran 24 *chloroform*: 1 isoamil alkohol (CIAA), divortex selama 5 menit, disentrifuse 15 menit pada 12.000 rpm. Supernatan diambil dan ditambah

sodium asetat 3M sebanyak 1/10 dari volume supernatan tersebut. Setelah itu ditambahkan isopropanol dingin sebanyak 2/3 volume total (supernatan + sodium asetat) isopropanol dingin sebanyak 2/3 volume total (supernatan + sodium asetat), didiamkan dalam *freezer* selama 1-24 jam setelah itu disentrifuse 12.000 rpm, 10 menit. Endapan DNA dicuci dengan 500 µl etanol 70%, kemudian disentrifuse 5 menit pada 12.000 rpm. Endapan DNA dikeringkan kemudian dilarutkan dalam 50µl ddH₂O. Hasil disimpan dalam lemari pendingin pada suhu 4°C. Hasil purifikasi dikuantifikasi dan didelusi sampai konsentrasi 2,5 ng DNA/µl sesuai dengan kebutuhan PCR. Ada sepuluh primer yang digunakan dalam reaksi PCR yaitu OPA-02, OPA-03, OPA-14, OPA-16, OPA-18, OPA-20, OPB-08, OPB-19, OPD-05, dan OPH-18. Setiap reaksi PCR terdiri dari 5 µl PCR *mix* Go Taq® Green (*Promega*), 0,25 µl primer (*Sigma-Proligo*), 2 µl DNA genom sebagai templat, dan 2,25 µl air bebas nuklease. Amplifikasi DNA dilakukan dengan *PCR BOECO*. Pemanasan pertama dilakukan pada suhu 94°C selama 1 menit, diikuti oleh 45 siklus dengan suhu dan waktu pada setiap siklus adalah denaturasi suhu 94°C selama 30 detik, penempelan suhu 38°C selama 30 detik, dan pemanjangan suhu 72°C selama 1 menit 30 detik. Siklus terakhir diikuti oleh pemanjangan akhir pada suhu 72°C selama 7 menit.

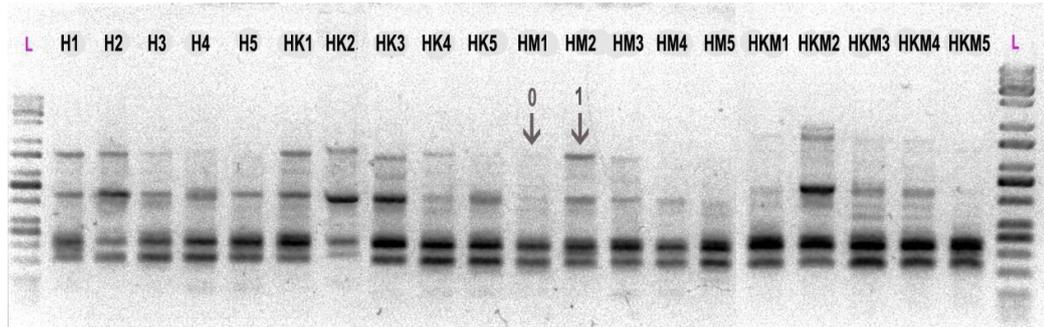
DNA hasil PCR kemudian dielektroforesis menggunakan 1% agarosa didalam tangki elektroforesis yang berisi TBE buffer pH 8 dengan tegangan 100 volt selama 50 menit. Hasil kemudian divisualisasi dengan sinar UV dan didokumentasikan menggunakan kamera digital.

Data biner diperoleh dengan melakukan skoring terhadap pita pada gel agarosa. Pita diberi skor 1 atau tanpa pita diberi skor 0 pada setiap lokus polimorfik. Data tersebut digunakan untuk menghitung keragaman genetik (*genetic diversity*) dan jarak genetik (*genetic distance*) berdasarkan *Nei's Gene Diversity* (1973) dan *Nei's Original Measure of Genetic Distance* (1972) diantara individu dan populasi yang kemudian dilengkapi dengan analisis gerombol yang diwujudkan dalam dendogram UPGMA.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Keragaman Genetik dan Hubungan Genetik 20 sampel Tanaman Puring

Data biner diperoleh dengan melakukan skoring pada hasil amplifikasi, angka 1 diberikan pada lokus yang muncul pita dan angka 0 diberikan pada lokus yang tidak muncul pita pada setiap panjang basa (bp) seperti yang tertera pada gambar 1.



Gambar 1. Hasil amplifikasi DNA puring menggunakan primer OPA-02 (L = ladder)

Hasil skoring seperti yang dicontohkan (Gambar 1) kemudian diolah menggunakan aplikasi GenALEx v6 (Peakall and Smouse, 2005) sehingga didapat persentase lokus polimorfik (PLP) antar populasi yang tersaji pada tabel 2.

Tabel 2. Persentase lokus polimorfik dari 10 primer pada 20 sampel

Populasi (@5 sampel/populasi)	Jumlah Lokus Monomorfik	Jumlah Lokus Polimorfik	Total Jumlah Lokus	PLP
Hijau	65	41	106	38,68%
Hijau-Kuning	51	55	106	51,89%
Hijau-Merah	46	60	106	56,60%
Hijau-Kuning-Merah	56	50	106	47,17%

Keterangan: PLP = Persentase Locus Polimorfik

Persentase lokus polimorfik tertinggi ada pada sampel dengan kelompok warna hijau-merah (*bicolor*) sebesar 56,60% dan persentase terendah ada pada sampel dengan kelompok warna hijau (*monocolor*) sebesar 38,68% (Tabel 2). Perbedaan persentase lokus polimorfik disebabkan oleh dua hal yaitu adanya pengaruh mutasi yang terjadi secara alami dan perkawinan acak karena tanaman puring merupakan tanaman menyerbuk silang.

Heterozigositas harapan atau *Expected Heterozygosity* (H_e) merupakan ukuran yang umum digunakan untuk menyatakan variasi genetik. Selain heterozigositas harapan (H_e), parameter lain yang dilihat dari variasi dalam suatu populasi yaitu *Number of Effective Alleles* (N_e) merupakan jumlah alel yang efektif/sama, dan *Number of Alleles* (N_a) adalah jumlah alel yang diamati. Ketiga parameter tersebut dapat kita lihat pada tabel 3.

Tabel 3. Rata-rata jumlah alel yang diamati (N_a), rata-rata jumlah alel efektif (N_e), dan rata-rata heterozigositas harapan (H_e)

Pop		N	N_a	N_e	H_e
Hijau (H)	Rata-rata	5,000	0,962	1,226	0,133
	Galat	0,000	0,088	0,033	0,018
Hijau-Kuning (HK)	Rata-rata	5,000	1,198	1,297	0,177
	Galat	0,000	0,087	0,035	0,019
Hijau-Merah (HM)	Rata-rata	5,000	1,255	1,314	0,190
	Galat	0,000	0,088	0,034	0,018
Hijau-Kuning-Merah (HKM)	Rata-rata	5,000	1,085	1,228	0,143
	Galat	0,000	0,09	0,030	0,017
Total	Rata-rata	5,000	1,125	1,226	0,161
	Galat	0,000	0,044	0,017	0,009

Jumlah alel teramati dari sampel daun puring kelompok warna hijau (*monocolor*) adalah yang paling sedikit dibandingkan puring dari kelompok warna lain yang digunakan sebagai sampel seperti yang tertera pada tabel 3 bahwa nilai N_a pada populasi puring berdaun hijau memiliki nilai sebesar 0,962 dan dibawah rata-rata nilai N_a seluruh sampel. Sampel daun puring kelompok warna hijau-kuning dan hijau-merah (*bicolor*) memiliki nilai N_a diatas rata-rata, sehingga dapat diartikan bahwa pada penelitian ini diantara seluruh kombinasi warna, puring dengan dua kombinasi warna daun memiliki jumlah alel teramati paling banyak. Begitu pula pada nilai N_e dan H_e . Nilai N_e pada puring dengan dua kombinasi warna daun (*bicolor*) memiliki nilai diatas rata-rata dan pada kelompok warna hijau-merah nilai N_e menunjukkan angka paling tinggi. Nilai N_a , N_e dan H_e yang tinggi memperlihatkan bahwa kelompok warna hijau-merah memiliki tingkat keragaman genetik paling tinggi diantara kelompok warna lain. Namun, apabila data heterozigositas harapan (H_e) dilihat secara menyeluruh tampak bahwa angka-angka yang tertera pada tabel memiliki nilai yang nyaris sama besar atau memiliki selisih angka sangat kecil, dapat diartikan

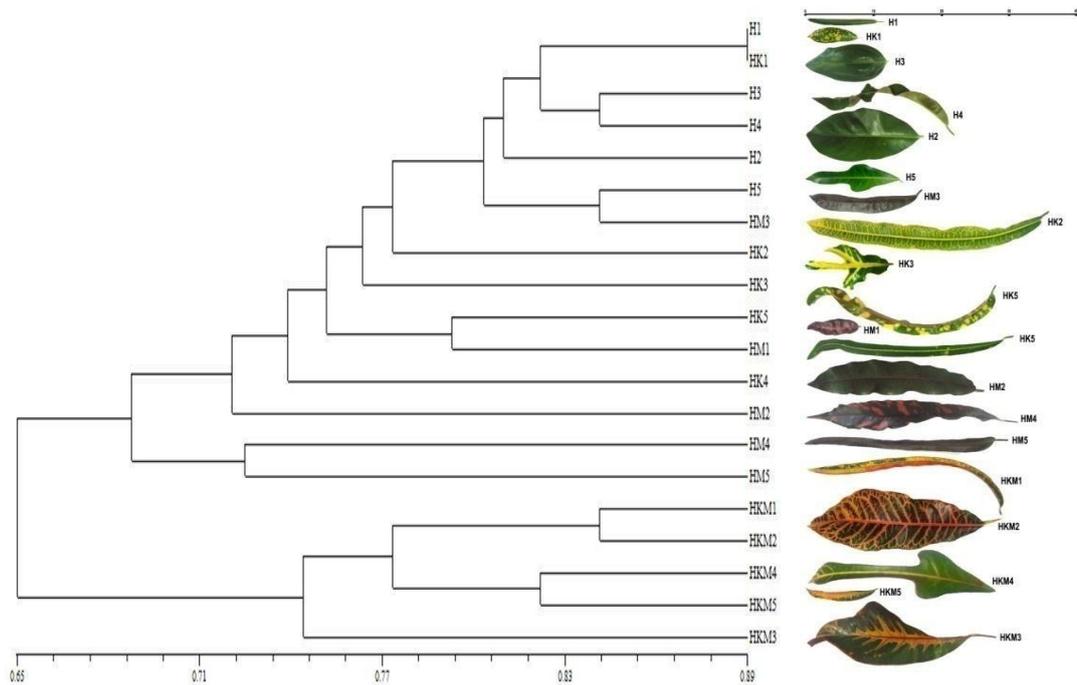
bahwa tanaman puring memang memiliki keragaman yang tinggi tetapi bersifat keragaman diantara kultivar.

Hubungan kekerabatan genetik antarindividu dari populasi dapat diukur dengan jarak genetik (*genetic distance*). Jarak genetik menggambarkan derajat kesamaan diantara dua individu atau kelompok individu baik pada tingkatan populasi maupun spesies (Lowe *et al.*, 2004). Hasil perhitungan jarak genetik menggunakan aplikasi GenALEx v6 tersaji pada tabel 4.

Tabel 4. Jarak genetik (*genetic distance*) antar sampel

	H1	H2	H3	H4	H5	HK1	HK2	HK3	HK4	HK5	HM1	HM2	HM3	HM4	HM5	HKM1	HKM2	HKM3	HKM4	HKM5	
H1	0																				
H2	0,20	0																			
H3	0,20	0,18	0																		
H4	0,21	0,21	0,17	0																	
H5	0,21	0,23	0,21	0,18	0																
HK1	0,12	0,22	0,16	0,19	0,19	0															
HK2	0,22	0,22	0,24	0,25	0,27	0,20	0														
HK3	0,26	0,22	0,28	0,27	0,21	0,24	0,30	0													
HK4	0,27	0,33	0,25	0,24	0,24	0,23	0,35	0,33	0												
HK5	0,25	0,25	0,29	0,24	0,24	0,25	0,29	0,25	0,28	0											
HM1	0,29	0,27	0,25	0,24	0,28	0,27	0,33	0,29	0,26	0,22	0										
HM2	0,30	0,30	0,30	0,25	0,31	0,28	0,30	0,30	0,29	0,37	0,29	0									
HM3	0,22	0,22	0,24	0,19	0,17	0,20	0,28	0,22	0,25	0,21	0,23	0,24	0								
HM4	0,32	0,32	0,26	0,29	0,29	0,26	0,28	0,30	0,33	0,41	0,35	0,30	0,30	0							
HM5	0,41	0,39	0,33	0,28	0,30	0,35	0,41	0,35	0,30	0,38	0,34	0,35	0,33	0,29	0						
HKM1	0,27	0,35	0,27	0,26	0,34	0,25	0,31	0,37	0,28	0,36	0,32	0,33	0,27	0,29	0,32	0					
HKM2	0,34	0,36	0,36	0,33	0,37	0,28	0,30	0,36	0,37	0,39	0,39	0,36	0,30	0,34	0,37	0,17	0				
HKM3	0,41	0,43	0,39	0,42	0,40	0,39	0,43	0,37	0,42	0,46	0,40	0,41	0,41	0,35	0,42	0,28	0,31	0			
HKM4	0,40	0,38	0,32	0,35	0,41	0,36	0,36	0,40	0,39	0,49	0,39	0,38	0,40	0,30	0,33	0,23	0,28	0,21	0		
HKM5	0,41	0,43	0,39	0,36	0,40	0,39	0,43	0,49	0,40	0,44	0,34	0,35	0,37	0,39	0,34	0,20	0,25	0,28	0,19	0	

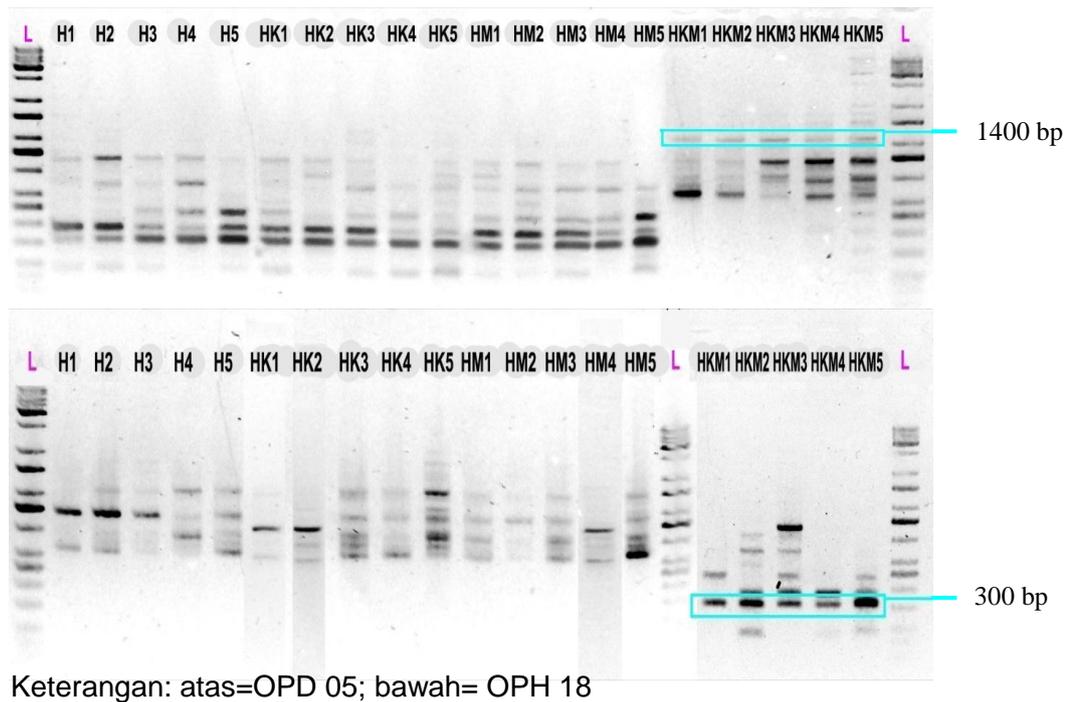
Data jarak genetik dalam bentuk matriks segitiga yang tersaji memperlihatkan bahwa jarak genetik terkecil ada pada angka 0,12 yaitu antara sampel berlabel H1 dengan HK1, sedangkan jarak genetik terbesar ada pada angka 0,49 yaitu antara sampel berlabel HK3 dengan HKM5 dan sampel berlabel HK5 dengan HKM4 (Tabel 4). Semakin besar nilainya maka semakin jauh jarak genetik antara dua kultivar tersebut.



Dendrogram membagi kedua puluh kultivar puring menjadi dua klaster besar (Gambar 2). Klaster pertama terdiri dari kultivar dengan warna daun hijau (H1-H5), warna hijau-kuning (HK1-HK5), dan warna hijau-merah (HM1-HM5) dengan kesamaan genetik sebesar 69%. Klaster kedua memiliki anggota dimana semua merupakan kultivar dengan warna daun hijau-kuning-merah (HKM) dengan kesamaan genetik sebesar 74%, hal ini dapat diartikan bahwa kultivar puring berdaun hijau-kuning-merah (HKM)/*multicolor* mengelompok kedalam satu klaster. Dendrogram juga menunjukkan bahwa kultivar dengan label H1 memiliki jarak genetik yang sangat dekat dengan kultivar berlabel HK1 dengan kesamaan genetik sebesar 88%. Hasil ini mirip dengan penelitian sebelumnya oleh Deng *et al.* (2010) dengan menggunakan penanda AFLP menempatkan kultivar 'Punctatum' (H1) dan 'Gold Dust' (HK1) dalam satu klaster

Alel-alel Spesifik

Dari seluruh kelompok warna pada sampel, alel yang dapat terdeteksi pada satu kelompok/populasi warna hanya terdapat pada kelompok HKM yaitu pada OPD 05-¹⁴⁰⁰ dan OPH 18-³⁰⁰.



KESIMPULAN

1. Keragaman genetik paling besar terdapat pada kultivar puring kelompok warna hijau-merah dengan Persentase Lokus Polimorfik (PLP) sebesar 56,60%; Heterozigositas harapan (*Expected Heterozigositas*) sebesar 0,19 ; dan Jumlah alel yang diamati (*Number of Alleles*) sebesar 1,255.
2. Kultivar puring yang memiliki hubungan genetik paling dekat diantara kedua puluh sampel adalah kultivar H1 dengan kultivar HK1 dengan nilai jarak genetik 0,12. Sedangkan hubungan genetik paling jauh kultivar HK3 dengan HKM5 dan HK5 dengan HKM4 dengan nilai jarak genetik 0,49.
3. Alel spesifik yang ditemukan terdeteksi pada kultivar kelompok warna hijau- kuning-merah (HKM) adalah OPD 05-1400 dan OPH 18-300.

DAFTAR PUSTAKA

- Cambie, R. C dan J. Ash. 1994. *Fijian Medicinal Plants*. CSIRO. Australia.
- Deng, M., Chen, J., Henny, R.J, dan Li Q. 2010b. Genetic Relationships of *Codiaeum variegatum* Cultivars Analyzed by Amplified Fragment Length Polymorphism Markers. *HortScience* 45, 868–874.
- Lowe A., S. Haris, dan P. Ashton. 2004. *Ecological Genetis: Design, Anlysis, and Application*. Blackwell Publishing. United Kingdom.

- Mollick A. H, S. Hossan, A. K. Paul, M. Taufiq-Ur-Rahman, R. Jahan, dan M. Rahmatullah. 2010. A Comparative Analysis of Medicinal Plants Used by Folk Medicinal Healers in Three Districts of Bangladesh and Inquiry as to Mode of Selection of Medicinal Plants. *Ethnobotany Research & Applications* 8:195-218.
- Moundipa, P. F, K. G. M. Flore, C. F. B. Bilong, dan I. Bruchhaus. 2005. In Vitro Amoebicidal Activity of Some Medicinal Plants of The Bamun Region (Cameroon). *Afr. J. Trad. CAM* (2005) 2 (2): 113 – 121.
- Nei, M. 1972. Genetic Distance Between Populations. *American Naturalist* 106: 283- 292.
- Nei, M. 1973. Analysis of Gene Diversity In Subdivided Population. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 70: 3321-23.
- Peakall, R. dan P.E. Smouse. 2005. *GenAIEx: Genetik Analysis in Excel*. Population Genetics software for teaching and research. Australian Antional University, Canberra, Australia.
- Robert, A., L. Shorley, dan A. Leslie. 1988. The Palauan and Yap Medicinal Plant Studies of Masayoshi Okabe. *ATOLL Res. Bull.*, No. 317.
- Safoon, N., R. Uddin, N. Subhan, H. Hossain, H. M. Reza. and A. Alam. 2014. In Vitro Anti-oxidant Activity and HPLC-DAD System Based Phenolic Content Analysis of *Codiaeum variegatum* Found in Bangladesh. *Adv Pharm Bull*, 2014, 4 (Suppl 2): 533-541.
- Stewart dan Neal, C. Jr. 1996. Rapid DNA Extraction from Plants. Chapter III. WHO Regional Publication. 2009. Medicinal Plants in Papua New Guinea. WHO Press. Geneva.
- Williams, J.G.K., A. R. Kubelik, K. J. Livak, J. A. Rafalski, dan S. V. Tingey. 1990. DNA Polymorphisms Amplified by Arbitrary Primers Are Useful As Genetic Markers. *Nucleic Acids Res* 18: 6531-6535