

# Diversitas Genetik dan Hubungan Kekerbatan Kambing Lokal Indonesia Menggunakan Marker DNA Mikrosatelit

M. SYAMSUL ARIFIN ZEIN<sup>1</sup>, S. SULANDARI<sup>1</sup>, MULADNO<sup>2</sup>, SUBANDRIYO<sup>3</sup> dan RIWANTORO<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Pusat Penelitian Biologi LIPI

<sup>2</sup>Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor, Bogor

<sup>3</sup>Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan, Kementerian Pertanian

<sup>4</sup>Direktorat Jendral Peternakan, Kementerian Pertanian

(Diterima 20 September 2011; disetujui 15 Desember 2011)

## ABSTRACT

ZEIN, M.S.A., S. SULANDARI, MULADNO, SUBANDRIYO and RIWANTORO. 2012. Genetic diversity and phylogenetic relationship of Indonesian Local goats using microsatellite DNA markers. *JITV* 17(1): 25-35.

Genetic diversity is important information in the process of conservation and sustainable utilization of animal genetic resources. Thirteen microsatellite markers were used to estimate the degree of genetic diversity on five Indonesian local goats. Results showed the highest average allele diversity present in the locus MAF70 ( $5.6 \pm 2.9$ ), and the lowest was in the locus MAF035 ( $1.6 \pm 0.6$ ), the average number of alleles per locus was  $6 \pm 2.3$ . The lowest average alleles diversity present was in the Gembrong goat ( $2.2 \pm 1.1$ ) and the highest was in the Jawarandu goat ( $4.9 \pm 2.2$ ). There is a unique alleles at loci MCM527 and present in all Indonesian local goat with the highest allele frequency on Peranakan Etawa (37.2%) and lowest in Gembrong goat (7.9%).  $H_0$  ranged from  $0.372 \pm 0.173$  (Gembrong) to  $0.540 \pm 0.204$  (Peranakan Etawa), and  $H_E$  ranging from  $0.249 \pm 0.196$  (Gembrong) to  $0.540 \pm 0.212$  (Peranakan Etawa). The genetic differentiation for inbreeding among population ( $F_{IS}$ ), within population ( $F_{IT}$ ), and average genetic differentiation ( $F_{ST}$ ) were 0.0208, 0.1532 and 0.1352, respectively. Locus ILSTS029, BMS1494, MAF035 and INRA0132 had a low PIC value ( $PIC < 0.25$ ), locus SRCRSP3, OARFCB20, ILSTS005, SPS113, MCM527, and ETH10 provide moderate ( $PIC = 0.25$  to  $0.5$ ), and locus CSRD247, MAF70, and ILSTS11 had high value  $PIC > 0.5$ . Phylogenetic relationship was consistent with the history of its development based on Kacang goat except was for Gembrong Goat. This research information can be used for conservation strategies and breeding programs on each population of Indonesian local goat.

**Key Words:** Local Goat, Indonesia, Microsatellites, Genetic Diversity, PIC

## ABSTRAK

ZEIN, M.S.A., S. SULANDARI, MULADNO, SUBANDRIYO dan RIWANTORO. 2012. Diversitas genetik dan hubungan kekerabatan kambing lokal Indonesia menggunakan marker DNA mikrosatelit. *JITV* 17(1): 25-35.

Keragaman genetik merupakan informasi penting dalam proses pelestarian dan pemanfaatan sumberdaya genetik ternak secara berkesinambungan. Tiga belas marker mikrosatelit digunakan untuk menduga derajat keragaman genetik pada lima kambing lokal Indonesia. Hasil analisis menunjukkan rata-rata alel tertinggi terdapat pada lokus MAF70 ( $5,6 \pm 2,9$ ), rata-rata alel paling rendah pada lokus MAF035 ( $1,6 \pm 0,6$ ), jumlah rata-rata alel setiap lokus adalah  $6 \pm 2,3$ , dan rata-rata jumlah alel kambing Gembrong paling rendah ( $2,2 \pm 1,1$ ) dan kambing Jawarandu tertinggi ( $4,9 \pm 2,2$ ). Terdapat alel unik pada lokus MCM527 dan terdapat pada semua kambing lokal Indonesia dengan frekuensi alel yang paling tinggi pada Peranakan Etawa (37,2%) dan paling rendah pada kambing Gembrong (7,9%).  $H_0$  berkisar antara  $0,372 \pm 0,173$  (Gembrong) hingga  $0,540 \pm 0,204$  (Peranakan Etawa), dan  $H_e$  berkisar  $0,249 \pm 0,196$  (Gembrong) hingga  $0,540 \pm 0,212$  (Peranakan Etawa). Analisis F statistik meliputi laju inbreeding antar populasi ( $F_{IS}$ ): 0,0208, laju *inbreeding* dalam populasi ( $F_{IT}$ ): 0,1532 dan rataan diferensiasi genetik ( $F_{ST}$ ): 0,1352. Lokus ILSTS029, BMS1494, MAF035 dan INRA0132 mempunyai nilai PIC yang rendah ( $PIC < 0,25$ ), lokus SRCRSP3, OARFCB20, ILSTS005, SPS113, MCM527, dan ETH10 memberikan informasi PIC yang moderat ( $PIC = 0,25-0,5$ ), dan lokus CSRD247, MAF70, dan ILSTS11 mempunyai nilai PIC yang tinggi yaitu  $PIC > 0,5$ . Hubungan kekerabatan konsisten dengan sejarah perkembangannya, yaitu berbasis kambing Kacang kecuali pada kambing Gembrong. Informasi penelitian ini dapat digunakan dalam strategi konservasi dan program pengembangbiakan pada masing-masing populasi kambing lokal Indonesia.

**Kata Kunci:** Kambing Lokal, Indonesia, Mikrosatelit, Diversitas Genetik, PIC

## PENDAHULUAN

Kambing lokal Indonesia memiliki peran besar dalam meningkatkan penghasilan petani pedesaan di Indonesia. Kambing paling banyak dijumpai di Indonesia adalah kambing Kacang dan kambing Peranakan Etawa (SODIQ dan TAWFIK, 2003). Kambing Kacang yang pertama kali dikembangkan di Indonesia memiliki bentuk tubuh kecil dan memiliki daerah sebaran luas di Indonesia. Kambing Kacang banyak disilangkan dengan kambing yang didatangkan dari negara lain. Hasil persilangan kambing tersebut adalah (i) Kambing Peranakan Etawa sebagai hasil persilangan antara kambing Etawa (India) dengan kambing Kacang, tampilannya mirip kambing Etawa, (ii) kambing Jawarandu sebagai hasil persilangan antara kambing Peranakan Etawa dengan kambing Kacang dan tampilannya lebih mirip kambing Kacang, dan (iii) kambing Kosta sebagai hasil persilangan antara kambing Kacang dengan kambing impor (Khasmir/Angora/Etawa). Selain itu ada Kambing Gembrong yang dapat dijumpai di Kabupaten Karangasem, Bali, dan asal usul kambing ini belum ada referensi yang menyebutkan dengan jelas.

Keanekaragaman genetik ternak sangat penting dalam mempertahankan populasi sejak masa lalu, masa kini, dan masa depan. Pemeliharaan keanekaragaman genetik adalah kunci bagi kelangsungan hidup jangka panjang dari spesies (HALL dan BRADLEY, 1995). Oleh sebab itu, diversitas genetik merupakan salah satu informasi penting dalam serangkaian proses awal mengevaluasi potensi genetik ternak untuk kepentingan pengembangan, pemanfaatan, dan konservasi secara berkelanjutan. Diversitas genetik dalam suatu populasi dapat terdeteksi apabila satu atau lebih lokus bersifat polimorfik. Hal ini disebabkan oleh adanya mutasi basa tunggal atau fragmen DNA dalam lokus tersebut. Mutasi pada suatu populasi sering disebabkan karena *genetic drift* atau seleksi (NEI dan KUMAR, 2000).

Mikrosatelit adalah penanda DNA yang populer karena polimorfik dan mudah dianalisis. Oleh sebab itu, marker mikrosatelit yang telah dikenal sebagai penanda DNA sering disebut sebagai *simple sequence repeats* (SSRs), *short tandem repeats* (STRs), atau *variable number tandem repeats* (VNTR). Marker tersebut digunakan dalam berbagai aplikasi seperti *linkage analysis*, *paternity testing*, populasi, dan evolusi genetik (ELLEGREN *et al.*, 1997). Selain itu, marker mikrosatelit merupakan alat utama yang digunakan dalam melakukan evaluasi hubungan kekerabatan diantara bangsa (BUCHANAN *et al.*, 1994).

Melakukan karakterisasi genetik sangat penting karena setiap bangsa mempunyai gen-gen kombinasi yang unik karena proses adaptasi ke beberapa lingkungan yang berbeda (PONZONI, 1997). Kombinasi

ini dapat dibagi menjadi banyak populasi bangsa yang sulit untuk dibentuk lagi. Selain itu, keragaman genetik terbentuk dari suatu proses dalam populasi yang mempunyai pengaruh terhadap pemanfaatan ternak dikemudian hari. Berdasarkan fenomena ini, studi karakterisasi molekuler pada kambing lokal Indonesia perlu dilakukan. Sebagai salah satu sumber daya hayati Indonesia yang memiliki prospek bagi kebanyakan petani pedesaan di Indonesia, kambing lokal Indonesia perlu dievaluasi dengan menggunakan berbagai marker DNA sebagai dasar pertimbangan dalam program pengembangan. Hasil penelitian dengan marker mikrosatelit ini diharapkan dapat menjadi salah satu acuan dalam proses pengembangan dan pemanfaatan kambing sebagai salah satu sumber daya hayati Indonesia.

## MATERI DAN METODE

Material DNA yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 171 sampel darah yang diperoleh dari 5 kambing lokal di Indonesia, yaitu Peranakan Etawa (33 individu), Kacang (40 individu), Jawarandu (39 individu), Kosta (40 individu) dan Gembrong (19 individu). Koleksi material DNA kambing Peranakan Etawa di Kecamatan Kaligesing, Kabupaten Purworejo; Jawarandu di Kabupaten Banyumas; Kosta dan Kacang di Kabupaten Pandeglang, Propinsi Banten, dan Kambing Gembrong di Kabupaten Karangasem, Propinsi Bali.

Sampel darah dikoleksi dan diawetkan dengan menggunakan *magic buffer* berisi komponen antikoagulan, anti jamur, dan anti bakteri. Sampel darah dicampur larutan pengawet dengan perbandingan 1:1. Kandungan DNA akan tetap stabil sekitar satu tahun pada suhu kamar. Kegiatan ekstraksi DNA dilakukan dengan metode *salting out*. Teknik ini ramah lingkungan karena tidak menggunakan fenol dalam proses pembersihan molekul nukleotida dan digunakan secara terbatas di Laboratorium ILRI (International Livestock Research Institute). Proses ekstraksi DNA, yaitu mengambil campuran sampel darah yang telah diawetkan dengan *magic buffer* sebanyak 700 µL kemudian ditambah air dengan volume yang sama divortex hingga homogen dan disentrifus 10.000 rpm. Supernatan dibuang, selanjutnya penghancuran protein dilakukan dengan ditambah bufer lisis dan enzim proteinase K. Proses berikutnya dilakukan pencucian dengan kloroform dan alkohol seperti metode yang dilakukan SAMBROOK *et al.* (1989). Kegiatan ekstraksi DNA dilakukan di Laboratorium Genetika, Bidang Zoologi, Pusat Penelitian Biologi LIPI. PCR dan analisis fragmen mikrosatelit dilakukan di Laboratorium ILRI di Nairobi, Kenya.

**Genotyping mikrosatelit**

Tiga belas dari 30 marker mikrosatelit khusus ternak kambing yang direkomendasikan ISAG/FAO (2004), yaitu ILSTS029, BMS1494, MAF035, SRCRSP3, OARFCB20, ILSTS005, SPS113, CSRD247, INRA0132, MCM527, MAF70, ILSTS11, dan ETH10. Informasi secara lengkap 13 marker mikrosatelit ini dapat dilihat pada Tabel 1.

Reaksi PCR sebanyak 10 µL terdiri dari 4 ng/µL sampel DNA, primer maju dan balik masing-masing 4 ng/µL, 1xPCR bufer, MgCl<sub>2</sub> (Tabel 1), 0,125 mM dNTPs, 0.03 U/µL Taq DNA polymerase, dan dH<sub>2</sub>O.

Kondisi PCR meliputi denaturasi awal pada suhu 95°C selama 5 menit, kemudian dilanjutkan 35 siklus, yaitu denaturasi pada suhu 95°C selama 30 detik, suhu penempelan primer (Tabel 1) selama 1 menit dan suhu pemanjangan pada 72°C selama 1 menit, setelah itu suhu akhir pemanjangan pada 72°C selama 10 menit. Visualisasi produk PCR dilihat melalui elektroforesis dengan menggunakan 2% gel agarose dengan Et-Br dalam 1xTAE bufer pada 100Volt selama 30 menit. Jika amplifikasi fragmen mikrosatelit berhasil, maka analisis selanjutnya menggunakan mesin DNA sekuenser.

**Table 1.** Sekuen, pewarna, dan suhu penempelan primer yang digunakan untuk amplifikasi fragmen DNA mikrosatelit yang direkomendasi ISAG/FAO (2004)

Marker	Sekuen 5' → 3' Primer maju ( <i>forward</i> ) dan primer balik ( <i>reverse</i> )	Pewarna	Suhu penempelan primer	MgCl <sub>2</sub>	Kisaran panjang urutan DNA (bp)
ILSTS029	F"TGTTTTGATGGAACACAG" R"TGATTTAGACCAGGGTTGG"	Ned (kuning)	55°C	2.0 mM	135-185
BMS1494	F"TCTGGAGCTTGCAAAGACC" R"AATGGATGACTCCTGGATGG"	6Fam (biru)	55°C	2.0 mM	235-300
MAF035	F"TCAAGAATTTTGGAGCACAATTCTGG" R"AGTTACAAATGCAAGCATACTGG"	Pet (merah)	55°C	2.0 mM	90-130
SRCRSP3	F"CGGGGATCTGTTCTATGAAC" R"TGATTAGCTGGCTGAATGTCC"	Ned (kuning)	55°C	2.0 mM	95-135
OARFCB20	F"GGAAAACCCCATATATACCTATAC" R"AAATGTGTTAAGATTCCATACATGTG"	6Fam (biru)	55°C	2.0 mM	80-130
ILSTS005	F"GGAAGCAATGAAATCTATAGCC" R"TGTTCTGTGAGTTTGTAAGC"	6Fam (biru)	55°C	2.0 mM	160-230
SPS113	F"CCTCCACACAGGCTTCTCTGACTT" R"CCTAACTTGCTTGAGTTATTGCC"	Pet (merah)	58 °C	2.0 mM	125-170
CSRD247	F"GGACTTGCCAGAACTCTGCAAT" R"CACTGTGGTTTGTATTAGTCAGG"	Vic (hijau)	58 °C	2.0 mM	210-260
INRA0132	F"AACATTTTCAGCTGATGGTGGC" R"TTCTGTTTTGAGTGGTAAGCTG"	6Fam (biru)	58 °C	1.5 mM	125-175
MCM527	F"GTCCATTGCCTCAAATCAATTC" R"AAACCACTTGACTACTCCCAA"	Ned (kuning)	58 °C	2.0 mM	155-195
MAF70	F"CACGGAGTCACAAAGAGTCAGACC" R"GCAGGACTCTACGGGGCCTTTGC"	Pet (merah)	65 °C	2.0 mM	120-190
ILSTS11	F"GCTTGCTACATGGAAAGTGC" R"AAACCACTTGACTACTCCCAA"	6Fam (biru)	58 °C	2.0 mM	250-300
ETH10	F"GTTTCAGGACTGGCCCTGCTAACA" R"CCTCCAGCCACTTTCTCTTCTC"	Vic (hijau)	53 °C	1.5 mM	190-220

Analisis fragmen mikrosatelit dengan menggunakan mesin DNA sekuenser sebagai berikut: (a) menyiapkan larutan yang terdiri dari 0,25 µL Liz standard, 7,75 µL formamide dan 1 µL masing-masing produk PCR (4 sampel) yang berbeda label pewarnanya dicampur homogen dalam satu tabung PCR. (b) Sentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 2 menit pada temperatur 4°C. (c) Denaturasi pada suhu 94°C selama 5 menit, kemudian langsung didinginkan di kotak es dan dibiarkan selama sekitar 5 menit. (d) Analisis fragmen mikrosatelit dengan menggunakan mesin ABI3130XL *automated capillary DNA sequencer* (Applied Biosystems, USA). Editing hasil grafik fragmen mikrosatelit DNA dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak GenMapper Versi 4.0.

### Analisis statistik

Determinasi variasi genetik dalam populasi kambing meliputi frekuensi alel yang dihitung sebagai berikut:

$$x_i = \frac{2n_{ij} + n_i}{2n}$$

Keterangan:

$n$  = jumlah individu dalam populasi sampel

$n_i$  = jumlah homozigot untuk alel  $i$

$n_{ij}$  = jumlah heterozigot

Sedangkan rata-rata jumlah alel per lokus, jumlah alel per populasi, heterozigositas diamati ( $H_o$ ), heterozigositas diharap ( $H_e$ ), dan rekonstruksi pohon filogeni menggunakan jarak Nei's standard dihitung menggunakan perangkat lunak *Arlequin versi 3.5.1.2* (EXCOFFIER dan LISCKER, 2010). Nilai *Polymorphism Information Content* (PIC) dengan rumus BOTSTEIN *et al.* (1980):

$$PIC = 1 - \left( \sum_{i=1}^n p_i^2 \right) - \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n 2p_i^2 p_j^2$$

diimplementasikan dengan menggunakan perangkat lunak *excel microsatellite tool kit*.  $F$  statistik ( $F_{IS}$ ,  $F_{IT}$ ,  $F_{ST}$ ) dikalkulasi dengan menggunakan perangkat lunak GENEPOP versi 3.2. (RAYMOND dan ROUSSET, 2001).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Variasi genetik

Variasi genetik pada lokus mikrosatelit dihitung dengan menggunakan frekuensi genotipe dan frekuensi alel antara individu-individu kambing yang dianalisis. Frekuensi genotipe adalah proporsi individu-individu yang dimiliki masing-masing genotipe, dimana deskripsi frekuensi gen melibatkan identifikasi alel pada setiap lokus yang dianalisis dan penghitungan proporsi dari tipe alel yang berbeda. Pada Tabel 2 diperlihatkan

distribusi frekuensi alel dengan menggunakan 13 marker mikrosatelit pada 5 bangsa kambing Indonesia.

Hasil pengamatan rata-rata jumlah alel pada kambing lokal Indonesia berturut-turut dari tertinggi hingga terendah yaitu pada lokus MAF70 ada 9 alel (140-158 bp) rata-rata  $5,6 \pm 2,8$ ; CSRD247 ada 9 alel (218-246 bp) rata-rata  $5 \pm 2,8$ ; ILSTS11 ada 6 alel (269-281 bp) rata-rata  $4,6 \pm 1,7$ ; MCM527 ada 7 alel (154-170 bp) rata-rata  $4 \pm 1,6$ ; ILSTS029 ada 10 alel (151-181 bp) rata-rata  $3,8 \pm 2,2$ ; SRCRSP3 ada 6 alel (111-125 bp) rata-rata  $3,8 \pm 1,3$ ; SPS113 ada 6 alel (141-151 bp) rata-rata  $3,6 \pm 1,7$ ; ETH10 ada 5 alel (201-211 bp) rata-rata  $3,2 \pm 0,8$ ; OARFCB20 ada 5 alel (95-105 bp) rata-rata  $3,0 \pm 1,4$ ; ILSTS005 ada 4 alel (176-184 bp) rata-rata  $3,0 \pm 0,7$ ; BMS1494 ada 4 alel (254-278 bp) rata-rata  $2,4 \pm 1,1$ ; INRA132 ada 5 alel (139-153 bp) rata-rata  $2,0 \pm 1,0$ ; dan yang paling rendah pada lokus MAF035 ada 2 alel (105-107 bp) rata-rata  $1,6 \pm 0,5$ . Total terdapat 78 alel yang teridentifikasi dalam penelitian ini, sehingga rata-rata alel setiap lokus adalah  $6,0 \pm 2,3$  alel. Informasi ukuran alel pada masing-masing lokus dapat dilihat pada Tabel 2, sedangkan jumlah alel pada masing-masing lokus dan bangsa kambing lokal Indonesia secara lengkap dapat dilihat pada Tabel 3.

Satu alel unik diketemukan dari lokus MCM527 dengan ukuran 154 bp dan terdapat di lima kambing lokal Indonesia. Frekuensi tertinggi alel tersebut pada kambing Peranakan Etawa 36,36%, kemudian berurutan Jawarandu 27,50%, Kosta 21,25%, Kacang 8,97%, dan Gembrong 7,89%. Ukuran alel dari lokus lainnya masih berada dikisaran yang dilaporkan ISAG/FAO (2004).

Jika dilihat berdasarkan bangsa kambing, rata-rata jumlah alel berkisar antara  $2,2 \pm 1,1$  hingga  $4,9 \pm 2,2$ . Kambing Jawarandu memiliki jumlah rata-rata alel tertinggi dan kambing Gembrong memiliki rata-rata jumlah alel terendah dengan urutan sebagai berikut: kambing Jawarandu ( $4,9 \pm 2,2$ ), Peranakan Etawa ( $4,8 \pm 1,7$ ), Kacang ( $3,1 \pm 1,2$ ), Kosta ( $2,5 \pm 1,3$ ), dan Gembrong ( $2,2 \pm 1,1$ ) (Tabel 3). Variabilitas jumlah alel tampaknya mencerminkan diversitas genetik dari populasi kambing. Populasi kambing Gembrong dan Kosta memiliki jumlah alel rendah. Kambing Gembrong hanya tersisa di sekitar Kabupaten Karangasem (Propinsi Bali) dan Kosta hanya ada di pesisir utara Kabupaten Pandeglang (Propinsi Banten). Populasi kecil cenderung terjadi silang dalam karena terbatasnya jumlah individu dalam proses perkawinan.

Variabilitas genetik juga ditentukan oleh nilai rata-rata  $H_o$  dan  $H_e$ . Rata-rata  $H_o$  berkisar antara  $0,372 \pm 0,173$  (Gembrong) hingga  $0,540 \pm 0,204$  (Peranakan Etawa), sedangkan rata-rata  $H_e$  berkisar  $0,249 \pm 0,196$  (Gembrong) hingga  $0,540 \pm 0,212$  (Peranakan Etawa). FAN *et al.* (2008) melaporkan  $H_o$  pada kambing China berkisar  $0,294-0,785$  dan  $H_e$  sekitar  $0,403$  sampai  $0,848$ , menggunakan 17 marker mikrosatelit yang direkomendasikan ISAG/FAO (2004).

**Tabel 2.** Distribusi frekuensi alel untuk 13 lokus mikrosatelit pada 5 populasi kambing lokal Indonesia

Lokus	Bangsa kambing lokal Indonesia				
	ETG	JAW	KAC	KOS	GEM
ILSTS029					
151	86,49	88,75	81,25	82,50	81,58
153	1,35	0,00	0,0	0,0	0,0
161	8,11	3,75	0,0	0,0	0,0
163	0,0	1,25	17,50	0,0	0,0
165	0,0	1,25	0,0	0,0	0,0
167	1,35	0,00	0,0	0,0	0,0
169	1,35	1,25	0,0	0,0	0,0
177	1,35	2,50	1,25	0,0	18,42
179	0,00	0,00	0,0	17,50	0,0
181	0,00	1,25	0,0	0,0	0,0
BMS1494					
254	4,55	10,94	0,0	0,0	0,0
270	4,55	0,00	0,0	0,0	0,0
274	4,55	14,06	5,13	0,0	18,42
278	86,36	75,00	94,87	100,00	81,58
MAF035					
105	74,36	76,25	100,00	100,00	84,21
107	25,64	23,75	0,0	0,0	15,79
SRCRSP3					
111	4,41	0,00	2,50	0,0	0,0
115	1,47	2,63	0,0	0,0	0,0
119	19,12	7,89	20,00	13,75	11,11
121	54,41	77,63	77,50	86,25	72,22
123	20,59	10,53	0,0	0,0	13,89
125	0,00	1,32	0,0	0,0	2,78
OARFCB20					
94	5,00	0,00	0,0	0,0	0,0
95	26,25	20,00	0,0	0,0	0,0
96	7,50	2,50	2,50	0,0	0,0
97	25,00	27,50	32,50	45,00	5,56
98	2,50	0,00	2,50	0,0	0,0
99	25,00	45,00	62,50	55,00	94,44
103	2,50	0,00	0,0	0,0	0,0
105	6,25	5,00	0,0	0,0	0,0
ILSTS005					
176	13,16	12,50	21,25	1,25	5,26
178	1,32	0,00	0,0	0,0	0,0
180	81,58	81,25	72,50	98,75	78,95
182	3,95	6,25	5,00	0,0	13,16
184	0,0	0,00	1,25	0,0	2,63
SPS113					
141	30,88	43,59	57,50	36,25	100,00
143	29,41	29,49	36,25	45,00	0,0
145	26,47	17,95	3,75	0,0	0,0
147	7,35	7,69	1,25	0,0	0,0
149	5,88	0,00	0,0	18,75	0,0
151	0,00	1,28	1,25	0,0	0,0

**Tabel 2.** Lanjutan

Lokus	Bangsa kambing lokal Indonesia				
	ETG	JAW	KAC	KOS	GEM
<b>CSRD247</b>					
218	2,78	5,00	23,75	0,0	0,0
230	2,78	0,00	0,0	6,58	0,0
232	37,50	27,50	5,00	31,58	0,0
234	1,39	8,75	20,00	21,05	0,0
236	5,56	2,50	0,0	0,0	0,0
238	0,00	1,25	0,0	0,0	0,0
240	9,72	6,25	11,25	0,0	0,0
242	40,28	46,25	40,00	40,79	100,00
246	0,00	2,50	0,0	0,0	0,0
<b>INRA0132</b>					
139	86,36	92,31	98,72	100,00	100,00
141	0,00	5,13	0,0	0,0	0,0
143	1,52	0,00	1,28	0,0	0,0
147	0,00	2,56	0,0	0,0	0,0
153	12,12	0,00	0,0	0,0	0,0
<b>MCM527</b>					
154	37,18	27,50	11,25	21,25	7,89
156	14,10	52,50	67,50	78,75	50,00
158	0,0	0,00	0,0	0,0	34,21
164	1,28	1,25	21,25	0,0	0,0
166	1,28	1,25	0,0	0,0	0,0
168	37,18	17,50	0,0	0,0	7,89
169	7,69	0,0	0,0	0,0	0,0
170	1,28	0,0	0,0	0,0	0,0
<b>MAF70</b>					
140	21,79	21,25	0,0	3,75	0,0
144	8,97	2,50	0,0	1,25	0,0
146	5,13	12,50	7,50	8,75	76,32
148	1,28	1,25	0,0	0,0	0,0
150	33,33	38,75	80,00	73,75	23,68
152	12,82	7,50	0,0	0,0	0,0
154	7,69	3,75	11,25	0,0	0,0
156	8,97	11,25	1,25	12,50	0,0
158	0,0	1,25	0,0	0,0	0,0
<b>ILSTS11</b>					
268	2,50	0,0	0,0	0,0	0,0
269	3,75	1,28	7,50	3,75	0,0
270	1,25	0,0	0,0	0,0	0,0
271	5,00	17,95	10,00	3,75	81,58
274	5,00	0,0	0,0	0,0	0,0
275	6,25	12,82	5,00	38,75	0,0
276	7,50	0,0	2,50	0,0	0,0
277	35,00	53,85	61,25	53,75	18,42
279	15,00	7,69	13,75	0,0	0,0
280	3,75	0,00	0,00	0,0	0,0
281	12,50	6,41	0,00	0,0	0,0
282	2,50	0,0	0,00	0,0	0,0

**Tabel 2.** Lanjutan

Lokus	Bangsa kambing lokal Indonesia				
	ETG	JAW	KAC	KOS	GEM
ETH10					
201	0,0	0,0	0,00	0,0	5,26
205	0,0	0,0	2,50	10,26	0,0
207	42,50	74,36	93,75	83,33	94,74
208	5,00	0,0	0,00	0,0	0,0
209	46,25	21,79	2,50	5,13	0,0
210	5,00	0,0	0,00	0,0	0,0
211	1,25	3,85	1,25	1,28	0,0

ETG = Peranakan Etawa; JAW = Jawarandu; KAC = Kacang; KOS = Kosta; GEM = Gembrong

Ketersediaan nilai-nilai  $H_o$  dan  $H_e$  adalah penting dalam analisis keragaman populasi. MACHADO *et al.* (2003) menyatakan bahwa jika nilai  $H_o$  lebih rendah dari  $H_e$ , menunjukkan telah terjadi perkawinan dalam kelompok (*endogamy degree*) sebagai hasil dari proses seleksi intensif. HARTL dan CLARK (1997) menyatakan bahwa nilai  $H_o$  dan  $H_e$  juga dapat digunakan sebagai sarana untuk menyimpulkan perkawinan ternak dalam populasi. MOIOLI *et al.* (2004), secara umum nilai  $H_e$  merupakan indikator penanda baik dalam menjelaskan keragaman genetik populasi ternak. Jika diperhatikan pendapat ini maka populasi kambing Peranakan Etawa

dan Jawarandu memiliki nilai  $H_e$  lebih tinggi dari  $H_o$ , sedangkan kambing Kacang, Kosta, dan Gembrong memiliki nilai  $H_e$  lebih rendah dari  $H_o$  (Tabel 4). Berarti diversitas genetik populasi kambing Peranakan Etawa dan Jawarandu lebih tinggi dari kambing Kacang, Kosta, dan Gembrong.

Analisis F statistik ( $F_{IS}$ ,  $F_{IT}$  dan  $F_{ST}$ ) diuraikan sebagai berikut: laju *inbreeding* antar populasi ( $F_{IS}$ ) adalah 0,0208 (2,08%) dan dalam populasi ( $F_{IT}$ ) adalah 0,1532 (15,32%). Hal ini berarti laju nilai *inbreeding* dalam populasi bangsa Kambing lebih tinggi dari laju nilai *inbreeding* antar populasi, namun demikian secara

**Tabel 3.** Jumlah alel pada masing-masing lokus dan bangsa kambing lokal Indonesia

Lokus	Bangsa kambing lokal Indonesia					Rata-rata	SD	Total jumlah alel
	ETG	JAW	KAC	KOS	GEM			
ILSTS029	5	7	3	2	2	3,8	2,2	10
BMS1494	4	3	2	1	2	2,4	1,1	4
MAF035	2	2	1	1	2	1,6	0,5	2
SRCRSP3	5	5	3	2	4	3,8	1,3	6
OARFCB20	5	4	2	2	2	3,0	1,4	5
ILSTS005	3	3	3	2	4	3,0	0,7	4
SPS113	5	5	4	3	1	3,6	1,7	6
CSRD247	7	8	5	4	1	5,0	2,8	9
INRA0132	3	3	2	1	1	2,0	1,0	5
MCM527	6	5	3	2	4	4,0	1,6	7
MAF70	8	9	4	5	2	5,6	2,8	9
ILSTS11	6	6	5	4	2	4,6	1,7	6
ETH10	3	3	4	4	2	3,2	0,8	5
Rata-rata	4,8 ± 1,7	4,9 ± 2,2	3,1 ± 1,2	2,5 ± 1,3	2,2 ± 1,1			6,0 ± 2,3

ETG = Peranakan Etawa; JAW = Jawarandu; KAC = Kacang; KOS = Kosta; GEM = Gembrong

**Tabel 4.** Rata-rata dan standar deviasi heterozigositas diamati ( $H_o$ ) dan diharap ( $H_e$ )

Bangsa	Jumlah sampel	Rata-rata $H_o$	Rata-rata $H_e$
ETG	33	0,512 ± 0,204	0,540 ± 0,212
JAW	40	0,463 ± 0,207	0,491 ± 0,207
KAC	39	0,379 ± 0,208	0,345 ± 0,225
KOS	40	0,395 ± 0,214	0,309 ± 0,250
GEM	19	0,372 ± 0,173	0,249 ± 0,196

ETG = Peranakan Etawa; JAW = Jawarandu; KAC = Kacang; KOS = Kosta; GEM = Gembrong

umum masih relatif rendah. Sedangkan diferensiasi genetik ( $F_{ST}$ ) antar populasi adalah 0,1352 (13,52%) (Tabel 5). Jika dibandingkan dengan kambing China mempunyai diferensiasi genetik rata-rata yang lebih baik, yaitu  $F_{ST}$  5,4% (LI dan VALENTINI, 2004), dan hampir sama jika dibandingkan dengan kambing di Asia Tenggara yang mempunyai nilai  $F_{ST}$  = 14,3% (BARKER *et al.*, 2001).

**Tabel 5.** Hasil F statistik 13 lokus marker mikrosatelit dari populasi kambing lokal Indonesia

Lokus	$F_{IS}$	$F_{IT}$	$F_{ST}$
ILSTS029	-0,0062	0,0522	0,0580
BMS1494	0,0360	0,1065	0,0732
MAF035	0,0036	0,1511	0,1480
SRCRSP3	0,0201	0,0647	0,0455
OARFCB20	0,0147	0,1304	0,1174
ILSTS005	-0,0760	-0,0193	0,0527
SPS11	0,0533	0,1765	0,1301
CSRD247	-0,0208	0,0994	0,1177
INRA0132	0,1862	0,2384	0,0641
MCM527	0,0206	0,2089	0,1922
MAF70	0,0972	0,2714	0,1930
ILSTS11	-0,0008	0,1664	0,1671
ETH10	0,0260	0,2262	0,2056
Rata-rata	0,0208	0,1532	0,1352

$F_{IS}$  = laju *inbreeding* antar populasi  
 $F_{IT}$  = laju *inbreeding* dalam populasi  
 $F_{ST}$  = diferensiasi genetik

Perhitungan indeks fiksasi dalam hal penurunan proporsi genotipe heterozigot seperti yang dirumuskan oleh WRIGHT (1965), yaitu tidak mempertimbangkan efek sampling dan tidak dimaksudkan untuk diterapkan pada kasus dengan lokus ganda (*multiple loci*). Tetapi NEI (1987) mendefinisikan koefisien diferensiasi gen atau dikenal dengan sebutan  $G_{ST}$ , dengan mempertimbangkan selain estimasi indeks dari sampel

gen dan frekuensi genotipe, juga melihat efek dari perbedaan ukuran sampel. Jadi perhitungan dengan  $G_{ST}$  adalah lebih terkoreksi dibandingkan dengan  $F_{ST}$  saja. Berdasar hal tersebut maka pada penelitian ini perhitungan  $G_{ST}$  juga dilakukan.

Hasil perhitungan rata-rata nilai  $G_{ST}$  (Tabel 6) adalah sebagai berikut:  $H_s = 0,387$ ,  $H_t = 0,447$ , dan  $D_{ST} = 0,060$ , dan  $G_{ST} = D_{ST}/H_t = (H_t - H_s)/H_t = 0,134$  (13,4%). Hasil penelitian di beberapa negara menunjukkan rata-rata koefisien diferensiasi gen ( $G_{ST}$ ) kambing di China  $G_{ST} = 5,7\%$  (FAN *et al.*, 2008), kambing China  $G_{ST} = 3,0\%$  (LI *et al.*, 2008), kambing India  $G_{ST} = 8,0\%$  (ROUT *et al.*, 2008), kambing Eropa  $G_{ST} = 6,9\%$  (CANON *et al.*, 2006), dan kambing Swiss  $G_{ST} = 17,0\%$  (SAITBEKOVA *et al.*, 1999). IAMARTINO *et al.* (2005)

**Tabel 6.** Diferensiasi genetik pada 13 lokus dari 5 bangsa kambing lokal Indonesia

Lokus	$H_s$	$H_t$	$D_{ST}$	$G_{ST}$
ILSTS029	0,276	0,290	0,014	0,048
BMS1494	0,217	0,229	0,012	0,052
MAF035	0,208	0,232	0,024	0,103
SRCRSP3	0,415	0,428	0,014	0,032
OARFCB20	0,497	0,571	0,074	0,130
ILSTS005	0,294	0,305	0,011	0,037
SPS113	0,524	0,619	0,094	0,153
CSRD247	0,564	0,653	0,089	0,136
INRA0132	0,085	0,090	0,005	0,054
MCM527	0,547	0,652	0,105	0,161
MAF70	0,547	0,652	0,139	0,201
ILSTS11	0,571	0,701	0,131	0,186
ETH10	0,290	0,356	0,066	0,185
Rata-rata	0,387	0,447	0,060	0,134

$H_s$  = harapan heterosigorisitas dalam populasi  
 $H_t$  = harapan heterosigorisitas total  
 $D_{ST}$  = keragaman antar populasi  
 $G_{ST}$  = koefisien diferensiasi gen



mengatakan bahwa nilai  $G_{ST}$  tergantung marker mikrosatelit yang digunakan. Penelitian kambing ini menggunakan marker mikrosatelit yang direkomendasi ISAG/FAO (2004). Hasil perbandingan ini menunjukkan bahwa keragaman genetik kambing Indonesia masih berada pada kisaran kambing di beberapa negara Asia dan Eropa.

Informasi ini merupakan sinyal yang kuat bahwa koefisien diferensiasi genetik sebagai indikator penting dalam menjaga sumber daya hayati ternak dalam usaha pengembangan peternakan secara berkesinambungan. Li *et al.* (2008) menyatakan bahwa keberadaan *gene pool* yang besar sangat penting dan memiliki potensi pada preservasi dan pengembangan ternak dengan sistem produksi secara berkesinambungan. Pengetahuan yang komprehensif tentang variabilitas genetik merupakan langkah awal yang penting dalam konservasi dan eksploitasi biodiversitas ternak. PIC (*Polymorphism Information Content*) (Tabel 7) pada masing-masing lokus dan populasi bangsa kambing Indonesia, yaitu kambing Etawa, Jawarandu, Kacang, Kosta, dan Gembrong berkisar antara 0,076 (INRA0132) dan 0,540 (ILSTS11). Nilai PIC dikatakan mempunyai informasi tinggi jika nilai PIC > 0,5, mempunyai informasi cukup jika nilai PIC 0,25-0,5, dan rendah jika nilai PIC < 0,25 (BOTSTEIN *et al.*, 1980). Jika dilihat dari parameter ini, maka lokus ILSTS029, BMS1494, MAF035 dan INRA0132 mempunyai nilai PIC yang rendah (PIC < 0,25), pada lokus SRCRSP3, OARFCB20, ILSTS005, SPS113,

MCM527, dan ETH10 telah memberikan informasi cukup (PIC = 0,25-0,5) dan pada lokus CSRD247, MAF70, dan ILSTS11 yang mempunyai nilai informasi tinggi yaitu PIC > 0,5 pada kambing lokal Indonesia. Kambing di Iran dengan menggunakan 13 marker mikrosatelit menunjukkan nilai PIC tinggi berkisar antara 0,767-0,688 (MAHMOUDI *et al.*, 2010), dan pada kambing di China nilai PIC antara 0,322 (MAF035) dan 0,848 (ILSTS097) (FAN *et al.*, 2008).

#### Jarak genetik dan hubungan kekeluargaan kambing Indonesia

Konstruksi pohon filogenik sangat tergantung tipe populasi ternak dan jumlah marker yang digunakan dalam analisa populasi ternak (TAKEZAKI dan NEI, 1996). Identitas genetik dan standar jarak genetik dikalkulasi pada 5 kambing lokal Indonesia dimana jarak genetik antara kambing Kacang dengan Peranakan Etawa ( $D = 0,1523$ ), Kacang dengan Jawarandu ( $D = 0,0543$ ), Kacang dengan Kosta ( $D = 0,0389$ ), Kacang dengan Gembrong ( $D = 0,1655$ ) (Tabel 8). Hasil dari pohon filogenetik menunjukkan bahwa bangsa kambing lokal Indonesia yang berbasis kambing Kacang menunjukkan jarak genetik dekat dan membentuk satu kluster. Bangsa kambing yang tidak mengandung darah kambing Kacang, yaitu kambing Gembrong mempunyai jarak genetik yang paling jauh dan membentuk kluster tersendiri seperti yang ditunjukkan dalam pohon filogenik (Gambar 1).

**Tabel 7.** *Polymorphism Information Content* (PIC) pada masing-masing lokus dari bangsa kambing lokal Indonesia

Lokus	Bangsa kambing lokal Indonesia					PIC
	ETG	JAW	KAC	KOS	GEM	
ILSTS029	0,234	0,206	0,268	0,247	0,255	0,242
BMS1494	0,239	0,370	0,093	0,000	0,255	0,191
MAF035	0,309	0,297	0,000	0,000	0,230	0,167
SRCRSP3	0,571	0,357	0,310	0,209	0,412	0,372
OARFCB20	0,763	0,624	0,419	0,373	0,099	0,455
ILSTS005	0,290	0,294	0,376	0,024	0,330	0,263
SPS113	0,691	0,630	0,448	0,554	0,000	0,465
CSR247	0,629	0,654	0,685	0,626	0,000	0,519
INRA0132	0,217	0,139	0,025	0,000	0,000	0,076
MCM527	0,644	0,554	0,433	0,279	0,553	0,493
MAF70	0,775	0,740	0,318	0,404	0,296	0,507
ILSTS11	0,804	0,615	0,558	0,469	0,255	0,540
ETH10	0,519	0,344	0,117	0,274	0,095	0,270

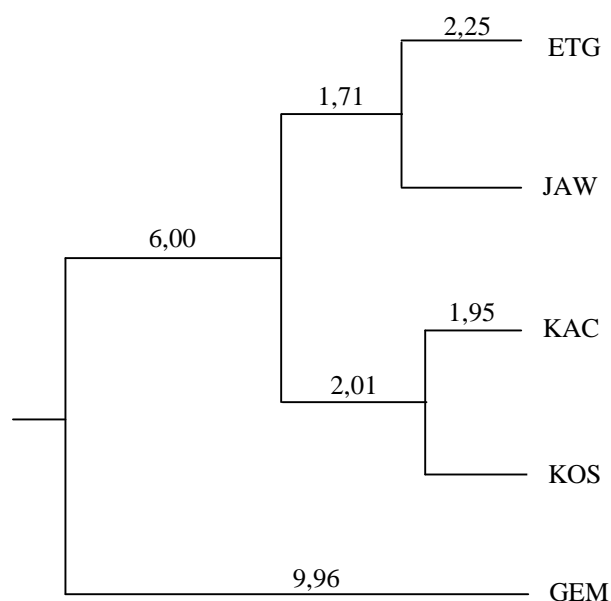
ETG = Peranakan Etawa; JAW = Jawarandu; KAC = Kacang; KOS = Kosta; GEM = Gembrong

**Tabel 8.** Identitas genetik (I) dan jarak genetik (D)

Bangsa	ETG	JAW	KAC	KOS	GEM
ETG	****	0,9560	0,8587	0,8767	0,7654
JAW	0,0450	****	0,9472	0,9542	0,8658
KAC	0,1523	0,0543	****	0,9618	0,8475
KOS	0,1316	0,0468	0,0389	****	0,8131
GEM	0,2673	0,1441	0,1655	0,2069	****

Identitas genetik (di atas diagonal) dan jarak genetik (di bawah diagonal).

ETG = Peranakan Etawa; JAW = Jawarandu; KAC = Kacang; KOS = Kosta; GEM = Gembrong



**Gambar 1.** Pohon filogenik dari 5 kambing lokal Indonesia dengan menggunakan jarak genetik Nei's (1987)

Secara genetik, kambing lokal Indonesia sudah menunjukkan garis keturunan yang berbeda. Hal demikian maka kegiatan pengembangan kambing lokal Indonesia harus berbasis pada perlindungan kemurnian bangsa kambing lokal Indonesia yang telah terbentuk dari hasil pengembangan dimasa lalu. Kuantitas dan kualitas populasi ditingkatkan dengan membentuk *gene pool* yang besar dan didukung keragaman genetik yang tinggi dalam usaha pemanfaatan ternak secara berkesinambungan.

### KESIMPULAN

Penelitian ini telah memperlihatkan hasil analisis mikrosatelit dimana telah memberikan gambaran keragaman genetik dari perhitungan jumlah alel, heterozigositas, diferensiasi genetik pada masing-masing lokus, bangsa kambing, dan populasi. Nilai laju *inbreeding* dalam dan antar populasi juga diperlihatkan

serta dibandingkan terhadap beberapa populasi kambing dari berbagai negara sehingga dapat diketahui posisi dari keadaan populasi kambing Indonesia. Selain itu, hasil analisis PIC telah memberi masukan untuk penggunaan marker mikrosatelit untuk penelitian lanjutan pada populasi bangsa kambing yang lebih luas. Analisis filogeni dari bangsa kambing lokal Indonesia telah memberi petunjuk perkembangan pembentukan bangsa kambing Indonesia di masa lalu dan perlu dipertahankan serta dikembangkan pada masing-masing bangsa kambing tersebut dalam pemanfaatan ternak secara berkesinambungan.

### DAFTAR PUSTAKA

- BARKER, J.S.F., S.G. TAN, S.S. MOORE, T.K. MUKHERJEE, J.L. MATHESON and O.S. SELVARAJ. 2001. Genetic variation within and relationship among population of Asian goats (*Capra hircus*). *J. Anim. Breed. Genet.* 118: 213-233.

- BOTSTEIN, D., R.L. WHITE, M. SKOLNICK and R.W. DAVIS. 1980. Construction of a genetic linkage in man using restriction fragment length polymorphisms. *Am. J. Human Genet.* 32: 314-331.
- BUCHANAN, F.C., L.J. ADAMS, R.P. LITTLEJOHN, J.F. MADDOX and A.M. CRAWFORD. 1994. Determination of evolutionary relationships among sheep breeds using microsatellites. *Genomic* 22: 397-403.
- CANON, J., D. GARCIA, M.A. GARCIA-ATANCE, G. OBEXER-RUFF, J.A. LENSTRA, P. AJMONE-MARSAM and S. DUNNER. 2006. Geographical partitioning of goat diversity I Europe and the Middle East. *Anim. Genet.* 37: 327-334.
- ELLEGREN, H., S. MOORE, N. ROBINSON, K. BYRNE, W. WARD and B.C. SHELDON. 1997. Microsatellite evolution-a reciprocal study of repeat lengths at homologous loci in cattle and sheep. *Mol. Biol. Evol.* 14: 854-860.
- EXCOFFIER, L. and H. LISCHER. 2010. Arlequin ver.3.5.1.2. An Integrated Software Package for Population Genetics Data Analysis. Institute of Ecology and Evolution, University of Berne, Switzerland.
- FAN, B., J.L. HAN, S.L. CHEN, D.N. MBURU, O. HANOTTE, Q.K. CHEN, S.H. ZHAO and K. LI. 2008. Individual-breed assignments in caprine populations using microsatellite DNA analysis. *Small Rum. Res.* 75: 154-161.
- GOUDET, J. 2002. Fstat ver. 2.9.3.2. Institute of Ecology. Switzerland.
- HALL, S.J.G. and D.G. BRADLEY. 1995. Conserving livestock breed biodiversity. *Trends Ecol. Evol.* 10: 267-270.
- HARTL, D.L. and A.G. CLARK. 1997. Principle of Population Genetic. Sinauer Associates, Sunderland, MA.
- IAMARTINO, D., A. BRUZZONE, A. LANZA, M. BLASI and F. PILLA. 2005. Genetic diversity of Southern Italian goat population assessed by microsatellite marker. *Small Rum. Res.* 57: 249-255.
- ISAG/FAO. 2004. Measurement of Domestic Animal Diversity (MoDAD) Recommended Microsatellites Markers. Secondary Guidelines, For development of National Farm Animal Genetic Resources Management Plans. New Microsatellite Marker Set-recommendations of Joint ISAG/FAO Standing Committee. Rome, Italy.
- MAHMOUDI, B., M. BAYAT, R. SADEGHI, BABAYEV and H. ABDOLLAHI. 2010. Genetic diversity among three goat population assessed by microsatellite DNA marker in Iran. *Global Vet.* 4: 118-124.
- MACHADO, M.A., I. SCHUSTER, M.L. MARTINEZ and A.L. CAMPOS. 2003. Genetic diversity of four cattle breeds using microsatellite markers. *Rev. Bras. Zool.* 32: 93-98.
- MOIOLI, B., F. NAPOLITANO and G. CATILLO. 2004. Genetic diversity between Piedmontese, Maremmana, and Podolica cattle breeds. *J. Hered.* 95: 250-256.
- NEI, M. 1987. Molecular Evolutionary Genetics. Columbia University Press, New York, USA.
- NEI, M. and S. KUMAR. 2000. Molecular Evolution and Phylogenetics. Oxford University Press.
- LI, J.Y., H. CHEN, X.L. LAN, X.J. KONG and L.J. MIN. 2008. Genetic diversity of five Chinese goat breeds assessed by microsatellite markers. *Czech J. Anim. Sci.* 53: 315-319.
- LI, X.L. and A. VALENTINI. 2004. Genetic diversity of Chinese indigenous goat breed based on microsatellite markers. *J. Anim. Breed. Genet.* 121: 350-355.
- PONZONI, R.W. 1997. Genetic resources and conservation. In: PIPER, L. and A. RUVINSKY (Eds) The Genetics of Sheep. CAB International, New York, USA. pp. 437-469.
- ROUT, P.K., M.J. JOSHI, A. MANDAL, D. LALOE, L. SINGH and K. THANGARAJ. 2008. Microsatellites-base phylogeny of Indian domestic goats. *BMC Genet.* 9: 1-11.
- SAITBEKOVA, N., C. GAILLARD, G.O. RUFF and G. DOLF. 1999. Genetic diversity in Swiss goat breeds based on microsatellite analysis. *Anim. Genet.* 30: 36-41.
- SAMBROOK, J., E.F. FRITSCH and T. MANIATIS. 1989. Molecular Cloning, A Laboratory manual. 2<sup>nd</sup> Edition. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Harbor.
- SODIQ, A. and E.S. TAWFIK. 2003. The role and breeds, management systems, productivity and development strategies of goats in Indonesia: A review. *J. Agric. Dev. Tropics Subtropics* 104: 71-89.
- TAKEZAKI, N. and M. NEI. 1996. Genetic distances and reconstruction of phylogenetic trees from microsatellite DNA. *Genetic* 144: 389-399.
- WRIGHT, S. 1965. The interpretation of population structure by F statistics with special regard to systems of mating. *Evolution* 19: 395-420.