

**Keragaman Genetik Kacang Bogor (*Vigna subterranea* L. Verdc.)  
Berdasarkan Marka SSR (*Simple Sequence Repeat*)**

***Genetic Diversity of Bambara Groundnut (*Vigna subterranea* L. Verdc.)  
Based on SSR (*Simple Sequence Repeat*) Markers***

**Zikril Illahi<sup>1</sup>, Ni Made Armini Wiendi<sup>2</sup>, dan Sudarsono<sup>2\*</sup>**

<sup>1</sup>Program Studi Pemuliaan dan Bioteknologi Tanaman, Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor

<sup>2</sup>Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor  
(Bogor Agricultural University), Jl. Meranti, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680, Indonesia

Diterima 25 Agustus 2015/Disetujui 17 Desember 2015

**ABSTRACT**

*Bambara groundnut (*Vigna subterranea* L. Verdc.) is an important underutilized legume crop in Indonesia. The aim of this research is to study genetic diversity of bambara groundnut from Sukabumi and Sumedang, West Java, Indonesia. This study used 107 bambara groundnut accessions, which consisted of 57 accessions from Sukabumi and 50 accessions from Sumedang. We use five simple sequence repeat (SSR) to analyze the accessions. Totally nine alleles were detected, with a mean of 1.8 alleles per locus. Allelic and gene diversities were higher in Sumedang (1.8 alleles per locus and 0.119) than in Sukabumi population (1.4 alleles per locus and 0.020), respectively. We constructed a phylogenetic tree by Neighbor-Joining analysis based on genetic distances ( $D_A$ ) and showed the tree divided bambara groundnut accessions into two broad groups according to the origin of samples (Sukabumi and Sumedang). Results from the phylogenetic tree are in line with those from the population structure analysis.*

*Keywords: allele diversity, bambara groundnut, genetic distance, under utilized legume*

**ABSTRAK**

*Kacang bogor (*Vigna subterranea* L. Verdc.) adalah tanaman legume penting yang kurang diperhatikan di Indonesia. Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan informasi tentang keragaman genetik kacang bogor asal daerah Sukabumi dan Sumedang, Jawa Barat, Indonesia. Penelitian ini menggunakan 107 aksesi kacang bogor, yang terdiri atas 57 aksesi asal Sukabumi dan 50 aksesi asal Sumedang yang dianalisis menggunakan 5 marka SSR. Jumlah alel total yang terdeteksi yaitu sembilan alel dengan rata-rata 1.8 alel per lokus. Sebaran alel dan keragaman genetik aksesi kacang bogor daerah Sumedang lebih tinggi daripada daerah Sukabumi dengan 1.8 dan 1.4 alel per lokus, serta 0.119 dan 0.020, berturut-turut. Pohon filogenetik hasil analisis neighbor-joining berdasarkan data jarak genetik ( $D_A$ ) menunjukkan bahwa aksesi kacang bogor terbagi ke dalam dua kelompok utama berdasarkan daerah asal (Sukabumi dan Sumedang). Hasil ini sejalan dengan analisis program Structure.*

*Kata kunci: alel, jarak genetik, kacang bogor, Sukabumi, Sumedang*

**PENDAHULUAN**

Kacang bogor atau *Bambara groundnut* (*Vigna subterranea* L. Verdc.) adalah salah satu kacang-kacangan yang belum terlalu banyak diusahakan di Indonesia. Kacang ini berasal dari daerah Bambara di kawasan Afrika Barat yang telah menyebar di kawasan Asia seperti Indonesia, Malaysia, Philipina dan Thailand. Kacang bogor berpotensi menjadi bahan pangan alternatif di Indonesia sebagai sumber protein dan karbohidrat. Biji kering kacang bogor mengandung 19% protein, 63% karbohidrat, dan 6.5% lemak

serta mengandung zat besi 59 mg, kalium 1240 mg, posfor 296 mg, sodium 3.7 mg, dan kalsium 78 mg (Suwanprasert *et al.*, 2006; Ijarotimi dan Esho, 2009). Protein kacang bogor mengandung asam amino esensial yaitu *lysine* (6.8%) dan *methionine* (1.3%) (Ellah dan Singh, 2008; Okpuzor *et al.*, 2010).

Budidaya kacang bogor yang dilakukan di sentra produksi di Indonesia masih menggunakan populasi campuran (kulit biji hitam, merah, dan krem). Produktivitas tanaman cukup baik pada tanah yang miskin hara dengan curah hujan yang rendah, yaitu 0.5 sampai 0.8 ton ha<sup>-1</sup>, dapat tumbuh tanpa pemberian pupuk organik dan pupuk kimiawi, tumbuh baik pada tanah masam namun kurang baik pada tanah berkapur (Mkandawire, 2007). Tanaman ini mampu

\* Penulis untuk korespondensi. e-mail: s\_sudarsono@ymail.com

menghasilkan 4 ton ha<sup>-1</sup> biji kering pada kondisi lingkungan tumbuh yang optimal (Kouassi dan Zoro-Bi, 2009).

Produktivitas tanaman kacang bogor di Indonesia cukup tinggi. Hasil penelitian Redjeki (2003) menunjukkan bahwa populasi campuran menghasilkan biji kering 2 ton ha<sup>-1</sup>, populasi hitam 0.9 ton ha<sup>-1</sup>, sedangkan populasi merah dan krem menghasilkan 1 ton ha<sup>-1</sup>. Perbedaan karakter pada sifat fenotipe seperti warna biji, warna bunga, habitat tumbuh, atau sifat kuantitatif agronomi seperti potensi hasil, ketahanan terhadap kekeringan, dan serangan hama dan penyakit menunjukkan adanya perbedaan sifat genetik (Rao, 2004).

Perbedaan sifat genetik dapat dideteksi menggunakan marka molekuler berbasis DNA. Marka molekuler menawarkan sejumlah manfaat dibanding marka morfologis antara lain sifatnya stabil dan dapat dideteksi pada semua jaringan tanaman, semua tahap pertumbuhan dan perkembangan tanpa dipengaruhi oleh lingkungan, pleiotropik dan epistasi, serta perbedaan genetik dapat diketahui sejak awal pertumbuhan (Agarwal *et al.*, 2008). Marka molekuler merupakan salah satu pendekatan yang dapat digunakan untuk mengetahui adanya keragaman genetik (*genetic diversity*), dan hubungan kekerabatan (*genetic distance*) dalam suatu populasi. Ini merupakan salah satu teknik yang dapat meningkatkan efisiensi program pemuliaan.

Keuntungan lain dari marka molekuler adalah dapat mencerminkan perubahan pada tingkat DNA, sehingga menunjukkan keakuratan jarak genetik yang sesungguhnya antar individu dibandingkan dengan marka morfologi. Perkembangan teknologi di bidang molekuler dewasa ini antara lain *Restriction Fragment Length Polymorphism* (RFLP), *Random Amplified Polymorphism DNA* (RAPD), *Amplified Fragment Length Polymorphism* (AFLP), *Simple Sequence Repeats* (SSR), dan *Single nucleotide polymorphism* (SNP) (Gupta *et al.*, 2001).

Dewasa ini, marka molekuler telah banyak dimanfaatkan untuk mengidentifikasi keragaman genetik pada berbagai jenis tanaman, di antaranya penggunaan marka RAPD pada tanaman jarak pagar (Surahman *et al.*, 2009) dan kacang bogor (Rungnoi *et al.*, 2012), marka AFLP pada tanaman pisang (Opara *et al.*, 2010), serta marka SSR pada tanaman kacang bogor (Basu *et al.*, 2007; Somta *et al.*, 2011; Siise dan Massawe, 2012) dan kacang tanah (Yi *et al.*, 2011). Publikasi ilmiah tentang keragaman genetik kacang bogor secara molekuler di Indonesia belum ada, terutama informasi keragaman genetik kacang bogor asal Sukabumi dan Sumedang berdasarkan marka SSR.

Marka SSR memiliki keuntungan antara lain tingkat polimorfik yang tinggi, lokus yang spesifik, mudah diperbanyak, hanya membutuhkan sedikit DNA, tersebar pada genom, tingkat keterulangan yang tinggi, dan yang terpenting bersifat *co-dominan* (Kalia *et al.* 2011). Oleh karena itu, marka SSR sangat potensial untuk dikembangkan sebagai marka molekuler terutama untuk keperluan identifikasi dan studi keragaman genetik. Tujuan dari penelitian ini adalah memperoleh informasi keragaman genetik tanaman kacang bogor asal Sukabumi dan Sumedang berdasarkan marka SSR.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan pada September 2014 sampai dengan April 2015 di Laboratorium Biologi Molekuler Tanaman, Departemen Agronomi dan Hortikultura, Institut Pertanian Bogor.

### *Bahan Tanaman dan Ekstraksi DNA*

Bahan penelitian yang digunakan adalah 107 aksesori kacang bogor yang terdiri dari 57 aksesori asal Sukabumi (22 SKC = Sukabumi biji coklat dan 35 SKH = Sukabumi biji hitam) dan 50 aksesori asal Sumedang (32 SMP = Sumedang biji putih dan 18 SMH = Sumedang biji hitam) yang diekstraksi mengikuti metode CTAB (*Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide*) yang dimodifikasi oleh Das *et al.* (2009). Bagian tanaman yang digunakan untuk ekstraksi DNA adalah daun muda dari tanaman yang berumur 1 bulan. Berat daun yang diekstraksi sebanyak 0.5 g.

### *Analisis Marka SSR*

Marka SSR yang digunakan yaitu 5 pasang primer (Tabel 1) yang dikembangkan oleh Basu *et al.*, (2007). Amplifikasi PCR mengikuti prosedur yang dimodifikasi oleh Somta *et al.*, (2008). Volume mix PCR 12.5 µl dengan komposisi 6.25 µl Master mix KAPPA 2x, 1.0 µl masing-masing primer 2.5 µM (primer *forward* dan *reverse*), 2 µl (20 ng) DNA genom, dan 2.25 µl ddH<sub>2</sub>O. Proses PCR dilakukan dengan mesin PCR Biored T100. Kondisi PCR sebagai berikut: denaturasi awal pada 94 °C selama 3 menit; selanjutnya diulang sebanyak 35 siklus dengan kondisi 94 °C selama 15 detik; 52-60 °C (sesuai T<sub>m</sub> primer) selama 30 detik; 72 °C selama 1 detik; diakhiri dengan ekstensi akhir pada suhu 72 °C selama 7 menit. Hasil PCR dicek pada agarose 1% dengan 100 volt selama 30 menit. Produk PCR dipisahkan pada 6% gel poliakrilamid (akrilamid: bise akrilamid, 19:1 w/v) dengan 7 mol L<sup>-1</sup> urea dan 1x bufer SB untuk analisis keragaman dan polimorfisme primer SSR. Elektroforesis dijalankan dengan tegangan 60 W selama 1.5 jam menggunakan elektroforesis vertikal (Bio-Rad, Hercules, California). DNA marker yang digunakan adalah 100 bp (*vivantis*) untuk menentukan ukuran produk PCR. Produk PCR divisualisasikan dengan pewarnaan perak nitrat. Ketika primer tidak menghasilkan produk amplifikasi, PCR diulang kembali untuk mengkonfirmasi hasil negatif tersebut.

### *Analisis Data SSR*

Jumlah alel (N<sub>a</sub>), heterozigositas yang diharapkan (H<sub>o</sub>), keragaman genetik (heterozigositas yang diamati = H<sub>e</sub>) dan *polymorphic information content* (PIC) dihitung dengan program Cervus 2.0 (Marshall, 1998). Analisis pengelompokan data matriks (*cluster analysis*) dan pembuatan pohon filogenetik menggunakan metode *neighbor-joining analysis* berdasarkan jarak genetik dengan program *Dissimilarity Analysis and Representation for*

Tabel 1. Sekuens primer SSR yang digunakan dalam amplifikasi DNA genom kacang bogor

Kode primer		Sekuens 5'-3'	Ta	Motif ulangan	Size PCR (bp)
mBamCo17	Forward	AACCTGAGAGAAGCGCGTAGAGAA	58	(GA) <sub>12</sub>	150
	Reverse	GGCTCCCTTCTAAGCAGCAGAACT			
mBam2Co33	Forward	ATGTTCTTCGTCCTTTTCTCAGC	55	(CT) <sub>16</sub> (CT) <sub>16</sub> (CA) <sub>9</sub>	213
	Reverse	AAAACAATCTCTGCCCCAAAAAGA			
mBam3Co07	Forward	GTCATAGGAAAGGACCAGTTTCTC	55	(CT) <sub>22</sub>	254
	Reverse	GGGTTAGTGATAATAAATGGGTGTG			
mBam2Co80	Forward	GAGTCCAATAACTGCTCCCGTTTG	59	(GT) <sub>16</sub> (GA) <sub>14</sub>	199
	Reverse	ACGGCAAGCCCTAACTCTTCATTT			
mBam2Co13	Forward	TTGACACCGCCATCATGAGA	52	(TC) <sub>9</sub> (CA) <sub>12</sub>	211
	Reverse	AGCATTCAGGATTTGGGAGGA			

Sumber: Somta *et al.*, 2011

*windows* (DARwin) versi 6.0.8 (Perrier dan Jacquemoud-Collet, 2006). Analisis sebaran aksesi dan heterozigositas alel dihitung dengan program GenAlEx 6.5 (Peakall dan Smouse, 2012). Program Structure versi 2.3.4 (Pritchard *et al.*, 2007) digunakan untuk menguji kebenaran hipotesis tentang pengelompokan aksesi sebanyak 4 kelompok (K=1-4). Program dijalankan dengan periode *burn-in* sebanyak 100,000 dan 500,000 ulangan *Markov Chain Monte Carlo* (MCMC) (Siise dan Massawe, 2012).

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### *Polymorphisme Marka SSR*

Hasil analisis Cervus menunjukkan bahwa jumlah alel (Na) yang dihasilkan dari lima lokus SSR yaitu 1-3 alel dengan rata-rata 1.8 alel per lokus (Tabel 2). Sebaran alel kacang bogor pada populasi asal Sukabumi lebih rendah yaitu 1-2 alel dibandingkan dengan sebaran alel kacang bogor pada populasi asal Sumedang yaitu 1-3 alel. Jumlah alel yang dihasilkan tidak jauh berbeda dari penelitian Siise dan Massawe (2012) yang menghasilkan 1-2 alel dengan rata-rata 1.1 alel per lokus, namun lebih rendah dari penelitian Somta *et al.* (2011) yang mampu mengasilkan 4-10 alel dengan rata-rata 7.75 alel per lokus.

Hasil analisis lima pasang primer kacang bogor berdasarkan program cervus didapatkan hanya primer BamCo80 yang bersifat polimorfik dan informatif karena lokus ini menghasilkan nilai (H<sub>E</sub>) dan PIC tertinggi yaitu 0.539 dan 0.453, sedangkan primer lainnya memiliki nilai (H<sub>E</sub>) dan PIC yang sangat rendah (Tabel 2). Semakin tinggi nilai (H<sub>E</sub>) maupun PIC yang didapatkan, maka semakin informatif primer tersebut dalam membedakan individu antar genotipe dalam populasi. Menurut Boer (2007), nilai H<sub>E</sub> yang tinggi mengindikasikan keragaman yang tinggi pada lokus tersebut. Selanjutnya, Sajib *et al.* (2012) menyatakan bahwa nilai PIC adalah ukuran polimorfisme suatu lokus antar genotipe dengan menggunakan informasi jumlah alel.

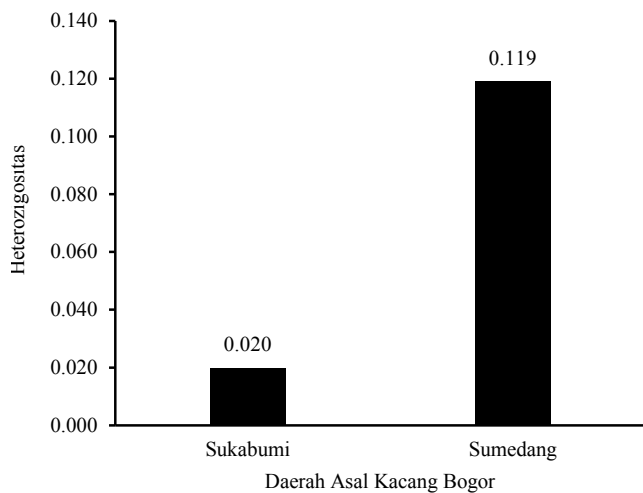
#### *Keragaman Genetik Kacang Bogor Asal Sukabumi dan Sumedang*

Hasil analisis GenAlEx menunjukkan bahwa keragaman genetik (H<sub>E</sub>) aksesi kacang bogor pada populasi Sukabumi (0.020) lebih rendah dibandingkan dengan populasi Sumedang (0.119) (Gambar 1). Hal ini sejalan dengan morfologi warna kulit biji kacang bogor. Di daerah Sukabumi warna kulit biji kacang bogor relatif lebih sedikit variasinya yaitu warna coklat dan hitam sedangkan di

Tabel 2. Hasil analisis Cervus terhadap 107 aksesi kacang bogor

Lokus	Ukuran alel (bp)	Na	Ne	H(E)	PIC
mBam2Co33	213	3	1.059	0.057	0.056
mBam2Co80	199	3	1.547	0.539	0.453
mBam2Co13	211	1	1.000	0.000	0.000
mBamCo17	150	1	1.000	0.000	0.000
mBam3Co07	254	1	1.000	0.000	0.000

Keterangan: Na = Jumlah alel, Ne = Alel efektif, H<sub>O</sub> = Observed Heterozygosity, H<sub>E</sub> = Expected Heterozygosity, PIC = Polymorphic Information Content



Gambar 1. Tingkat keragaman genetik kacang bogor pada populasi Sukabumi dan Sumedang. Heterozigositas = Nilai keragaman genetik aksesori kacang bogor pada masing-masing populasi

daerah Sumedang warna biji kacang bogor lebih bervariasi yaitu warna krem, coklat, hitam keunguan dan hitam. Selain itu, rendahnya keragaman kacang bogor di Indonesia diduga karena kacang bogor yang berkembang di Indonesia berasal dari material yang sama (introduksi dari satu negara). Redjeki (2003) menyatakan bahwa, kacang bogor yang berkembang di Indonesia berasal dari Afrika Barat.

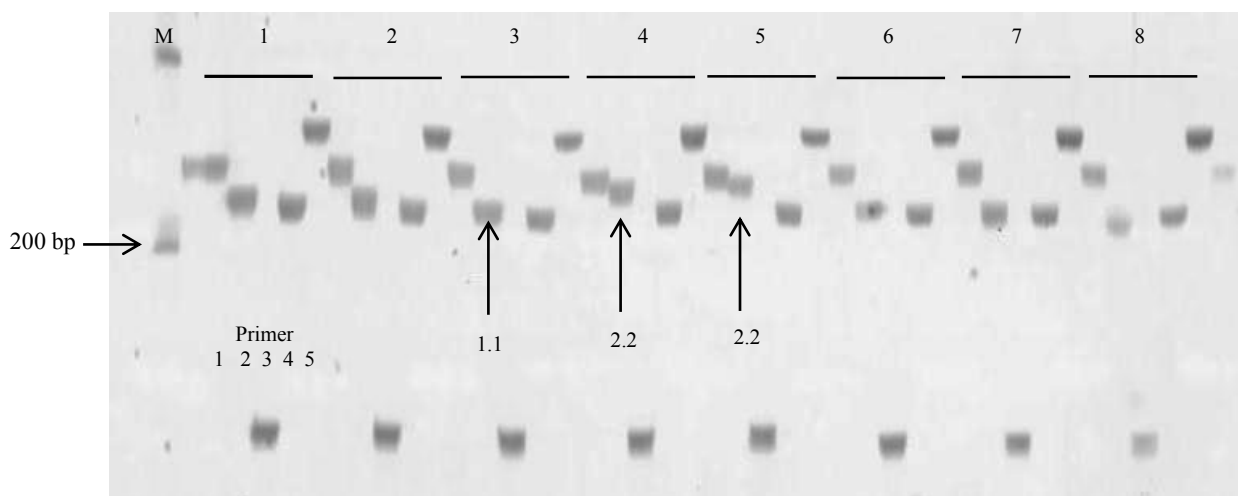
Berdasarkan hasil visualisasi PCR pada poliakrilamid gel vertikal (Gambar 2) diketahui bahwa alel yang dihasilkan bersifat homozigot. Hal ini diduga karena susunan genetik tanaman kacang bogor bersifat homozigot. Tanaman kacang bogor merupakan tanaman menyerbuk sendiri dengan masa reseptif anter dan stigma terjadi pada hari yang sama (Basu *et al.*, 2007). Posisi anter tanaman kacang bogor berada lebih tinggi daripada posisi stigma, sehingga penyerbukan sendiri akan lebih besar terjadi daripada penyerbukan silang (Massawe *et al.*, 2004).

### Principal Coordinate Analysis

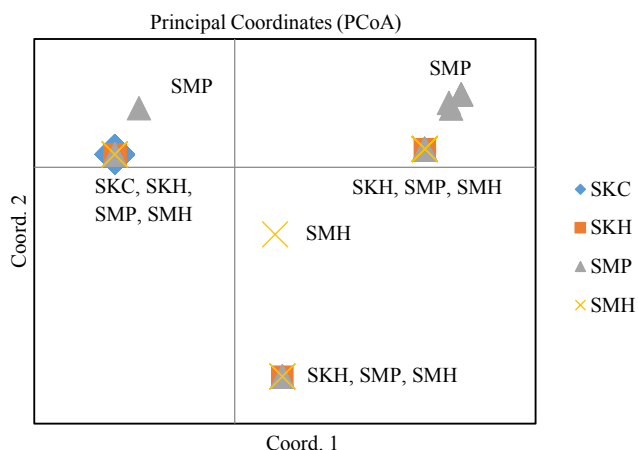
Berdasarkan data jarak genetik, dengan menggunakan metode *principal coordinate analysis* (PCoA) diketahui bahwa aksesori kacang bogor menyebar pada tiga kuadran dan mengelompok menjadi 2 kelompok utama (Gambar 3). Pola penyebaran aksesori sangat bergantung pada polimorfik data skoring. Semakin polimorfik data skoring, maka sebaran aksesori akan lebih menyebar. Beberapa aksesori menumpuk pada satu titik koordinat (SKC, SKH, SMP, dan SMH) sehingga aksesori SKC tidak terlihat pada Gambar 3. Hal ini disebabkan karena data skoring aksesori tersebut untuk kelima lokus yang dianalisis sama atau monomorfik (skor 1-1). Walaupun demikian, ada beberapa aksesori SKH, SMP dan SMH yang menyebar pada beberapa titik koordinat. Hal ini disebabkan karena data skoring aksesori tersebut berbeda atau polimorfik dengan aksesori yang lainnya (skor 2-2 atau 3-3).

### Neighbor-Joining Analysis

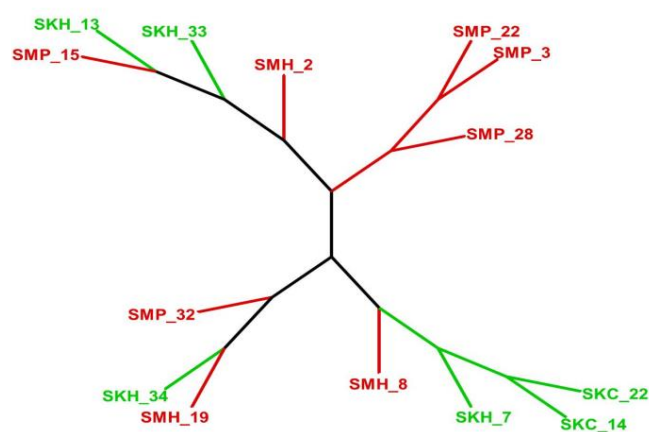
Pohon filogenetik dibuat dengan menggunakan metode *neighbor-joining analysis* berdasarkan data jarak genetik ( $D_A$ ) yang diwakili oleh beberapa aksesori yang memiliki skoring yang berbeda. Hasil analisis didapatkan dua kelompok utama, dan terlihat aksesori mengelompok berdasarkan daerah asal masing-masing aksesori. Aksesori dengan kode SKC dan SKH yang berasal dari Sukabumi mengelompok menjadi satu, begitu juga dengan aksesori SMP dan SMH yang berasal dari Sumedang juga mengelompok sendiri (Gambar 4). Beberapa aksesori kacang bogor asal Sukabumi (SKC atau SKH) berada di dalam kelompok Sumedang. Begitu juga sebaliknya, terdapat beberapa aksesori Sumedang (SMP atau SMH) berada di dalam kelompok Sukabumi. Hal ini mengindikasikan bahwa ada beberapa aksesori yang secara genetik sama walaupun daerah asal aksesori tersebut berbeda. Aksesori yang sama secara genetik ini diduga berasal dari tanaman induk yang sama dan menyebar ke daerah yang berbeda melalui petani.



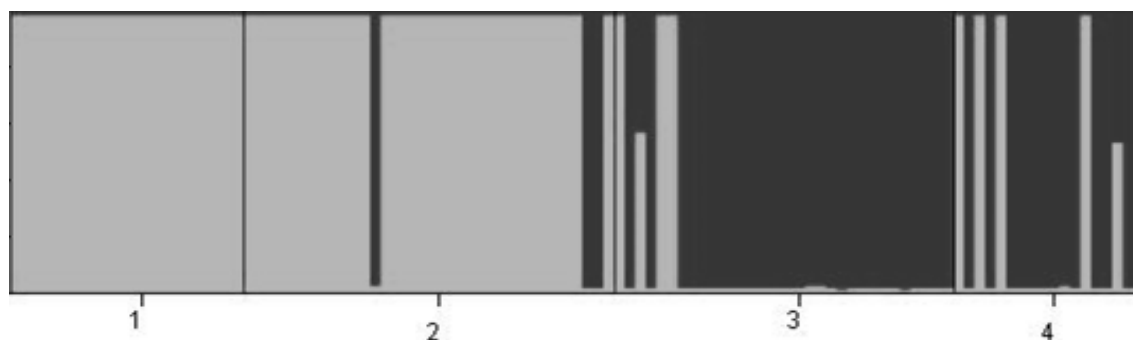
Gambar 2. Visualisasi elektroforesis gel poliakrilamid vertikal aksesori kacang bogor dengan 5 primer SSR. M = Marker 100 bp, 1-8 = nomor aksesori



Gambar 3. Sebaran aksesi kacang bogor berdasarkan *principal coordinates analysis* (PCoA). Aksesi kacang bogor asal Sukabumi (SKC dan SKH), Aksesi kacang bogor asal Sumedang (SMP dan SMH)



Gambar 4. Pohon filogenetik perwakilan aksesi kacang bogor berdasarkan jarak genetik ( $D_4$ ) menggunakan metode *neighbor-joining analysis* pada program DARwin versi 6.0.8



Gambar 5. Struktur populasi 107 aksesi kacang bogor asal Sukabumi dan Sumedang dengan delta K = 2, terbagi menjadi dua kelompok. Warna abu-abu = Aksesi asal Sukabumi dan warna hitam = aksesi asal Sumedang. 1 = Sukabumi coklat, 2 = Sukabumi hitam, 3 = Sumedang putih, dan 4 = Sumedang hitam

### Struktur Populasi

Hasil analisis menggunakan program Structure 2.3.4 menunjukkan bahwa aksesi dikelompokkan menjadi dua kelompok yaitu kelompok I (SKC dan SKH) yang berasal dari daerah Sukabumi dan kelompok II (SMP dan SMH) yang berasal dari daerah Sumedang (Gambar 5). Pengolahan data dengan program Structure bertujuan untuk melihat jumlah populasi dasar dan menguji hipotesis pengelompokan aksesi yang dianalisis. Hasil analisis menggunakan program Structure sejalan dengan hasil DARwin yang sama-sama mengelompokkan aksesi menjadi dua kelompok utama berdasarkan daerah asal.

Penelitian marka SSR ini menunjukkan dengan jelas bahwa, aksesi kacang bogor mengelompok berdasarkan daerah asal. Massawe *et al.* (2003) juga mendapatkan cara pengelompokan yang sama terhadap aksesi kacang bogor berdasarkan analisis menggunakan marka RAPD. Namun, hasil penelitian Yang *et al.* (2006) tidak menemukan pengelompokan aksesi kacang bogor berdasarkan daerah asal, tetapi berdasarkan marka yang berkaitan dengan karakter morfologi menggunakan marka DArT.

### KESIMPULAN

Primer BamCo80 lebih polimorfik dan informatif dari primer lainnya dengan nilai PIC tertinggi yaitu 0.453. Keragaman genetik populasi kacang bogor di daerah Sukabumi lebih rendah ( $H_E = 0.020$ ) dibandingkan dengan keragaman genetik kacang bogor di daerah Sumedang ( $H_E = 0.119$ ). Berdasarkan jarak genetik, kacang bogor dikelompokkan menjadi dua kelompok berdasarkan daerah asal masing-masing aksesi yaitu Sukabumi dan Sumedang.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Indonesia untuk Beasiswa Unggulan.

### DAFTAR PUSTAKA

Agarwal, M., N. Shrivastava, H. Padh. 2008. Advances in molecular marker techniques and their applications in plant sciences. *Plant Cell Rep.* 27:617-631.

- Basu, S., J.A. Roberts, S.N. Azam-Ali, S. Mayes. 2007. Bambara groundnut. p. 159–173. In C. Kole (Ed.). Genome Mapping and Molecular Breeding in Plants. Volume 3: Pulses, Sugar and Tuber Crops. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Pennsylvania, USA.
- Boer, D. 2007. Keragaman dan struktur genetik populasi jati Sulawesi Tenggara berdasarkan marka mikrosatelit. Disertasi. Sekolah Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Das, B.K., R.C. Jena, K.C. Samal. 2009. Optimization of DNA isolation and PCR protocol for RAPD analysis of banana/plantain (*Musa* spp.). Int. J. Agric. Sci. 1:21-25.
- Ellah, M.M., A. Singh. 2008. Bambara groundnut (*Vigna subterranea* [L.] Verdc.) yield as influenced by phosphorus and cultivars in the semi-arid savanna of Nigeria. J. Plant Sci. 3:176-181.
- Gupta, P.K., J.K. Roy, M. Prasad. 2001. Single nucleotide polymorphisms: A new paradigm for molecular marker technology and DNA polymorphism detection with emphasis on their use in plants. Current Sci. 80:524-535.
- Ijarotimi, O.S., T.R. Esho. 2009. Comparison of nutritional composition and anti-nutrient status of fermented, germinated and roasted bambara groundnut seeds (*Vigna subterranea* [L.] Verdc.). Brit. Food J. 111:376-386.
- Kalia, R.K., M.K. Rai, S. Kalia, R. Singh, A.K. Dhawan. 2011. Microsatellite markers: an overview of the recent progress in plants. Euphytica 177:309-334.
- Kouassi, N.J., I.A. Zoro-Bi. 2010. Effect of sowing density and seedbed typed on yield and yield components in bambara groundnut (*Vigna subterranea* [L.] Verdc.) in woodland savannas of Côte d'Ivoire. Expl. Agric. 46:99-110.
- Marshall, T.C., J. Slate, L.E.B. Kruuk, J.M. Pemberton. 1998. Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations. Mol. Ecol. 7:639-655.
- Massawe, F.J., J.A. Roberts, S.N. Azam-Ali, M.R. Davey. 2003. Genetic diversity in Bambara groundnut (*Vigna subterranea* [L.] Verdc.) landraces assessed by Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) marker. Genet. Resour. Crop Evol. 50:737-741.
- Mkandawire, C.H. 2007. Review of bambara groundnut production in sub-Saharan Africa. Agric. J. 2:464-70.
- Okpuzor, J., H.A. Ogbunugafor, U. Okafor, M.O. Sofidiya. 2010. Identification of protein types in Bambara nut seeds: Perspectives for dietary protein supply in developing countries. EXCLI Journal 9:17-28.
- Olukolu, B.A., S. Mayes, F. Stadler, N.Q. Ng, I. Fawole, D. Dominique, S.N. Azam-Ali, A.G. Abbott, C. Kole. 2012. Genetic diversity in Bambara groundnut (*Vigna subterranea* [L.] Verdc.) as revealed by phenotypic descriptors and DArT marker analysis. Genet. Resour. Crop Evol. 59:347-358.
- Opara, U.L., D. Jacobson, N.A. Al-Saady. 2010. Analysis of genetic diversity in banana cultivars (*Musa cvs.*) from the South of Oman using AFLP markers and classification by phylogenetic, hierarchical clustering and principal component analyses. J Zhejiang Univ Sci. 11:332-341.
- Peakall, R., P.E. Smouse. 2012. GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research - an update. Bioinformatics. 28:2537-2539.
- Perrier, X., J.P. Jacquemoud-Collet. 2006. DARwin 6 software: Version 6.0.8, available from <http://darwin.cirad.fr/darwin/DocDARwin6.pdf> [12 Juni 2015].
- Pritchard, J.K., X. Wen, D. Falush. 2007. Documentation for STRUCTURE software: Version 2.3.4, available from <http://pritch.bsd.uchicago.edu/software/structure.2.3.4/readme.pdf> [15 Juni 2015].
- Rao, N.K. 2004. Plant genetic resources: Advancing conservation and use through biotechnology. African J. Biotech. 3:13-145.
- Redjeki, E.S. 2003. Pengaruh seleksi galur murni pada populasi campuran terhadap hasil tanaman kacang bogor (*Vigna subterranea* [L.] Verdc.). Agrofis. 3:97-105.
- Rungnoi, O., J. Suwanprasert, P. Somta, P. Srinives. 2012. Molecular genetic diversity of Bambara groundnut (*Vigna subterranea* [L.] Verdc.) revealed by RAPD and ISSR marker analysis. SABRAO J. Breed. Genet. 44:87-101.
- Sajib, A.M., M.M. Hosain, A.T.M.J. Moznas, H. Hosain, M.M. Islam, M.S. Ali, S.H. Prodhan. 2012. SSR marker-based molecular characterization and genetic diversity analysis of aromatic landraces of rice (*Oryza sativa* L.). J. BioSci. Biotech. 1:107-116.
- Siise, A., F.J. Massawe. 2012. Microsatellites based marker molecular analysis of Ghanian Bambara groundnut (*Vigna subterranea* [L.] Verdc.) landraces alongside morphological characterization. Genet. Resour. Crop Evol. 60:777-787.

- Somta, P., S. Chankaew, O. Rungnoi, P. Srinives. 2011. Genetic diversity of the Bambara groundnut (*Vigna subterranea* [L.] Verdc.) as assessed by SSR markers. *Genome* 54:898-910.
- Somta, P., W. Musch, B. Kongsamai, S. Chanprame, S. Nakasathien, T. Toojinda, W. Sorajjapinun, W. Seehalak, S. Tragoonrung, P. Srinives. 2008. New microsatellite markers isolated from mungbean (*Vigna radiata* L. Wilczek). *Mol. Ecol. Resour.* 8: 1155-1157.
- Surahman, M., E. Santosa, F.N. Nisya. 2009. Karakterisasi dan analisis gerombol plasma nutfah jarak pagar Indonesia dan beberapa negara lain menggunakan marka morfologi dan molekuler. *J. Agron. Indonesia* 37:256-264.
- Suwanprasert, J., T. Toojinda, P. Srivines, S. Chanprame. 2006. Hybridization technique for bambara groundnut. *Breeding Science* 56:125-129.
- Yi, J.Y., G.A. Lee, J.R. Lee, M.C. Lee, M.J. Kang, H.J. Baek, C.K. Kim. 2011. Genetic diversity assessment and phylogenetic analysis of peanut (*Arachis hypogaea* L.) in RDA genebank collection using SSRs. *Korean J. Plant Resour.* 24: 272-279.
- Yang, S., W. Pang, G. Ash, J. Harpe, J. Carling, P. Wenzel, E. Huttner, X. Zong, A. Kilian. 2006. Low level of genetic diversity in cultivated pigeonpea compared to its wild relatives revealed by diversity arrays technology. *Theor. Appl. Genet.* 113:585-595.