

Teknologi Genetik Molekul Menggunakan Penanda DNA Dengan Fokus Kepada Mangga Harumanis di Perlis: Satu Ulasan

Ahmad Mukhlis Abdul Rahman^{1*}, Zarina Zakaria^{1,2}, Amin Rukaini Mustafa^{1,2}, Adilah Ayoib¹, Sharifah Azzuwani Syed Intan³, Mohd Azinuddin Ahmad Mokhtar⁴

¹Faculty of Chemical Engineering & Technology, Universiti Malaysia Perlis, Jejawi,
02600, Perlis, Malaysia

²Centre of Excellence for Biomass Utilization (COEBU), Universiti Malaysia Perlis,
Jejawi, 02600, Perlis, Malaysia

³Perlis State Department of Agriculture, Bukit Temiang Agricultural Complex, Km 11,
Jalan Kaki Bukit, 02400, Perlis, Malaysia

⁴Planting Material Research Department, FGV R&D Sdn. Bhd., FGV Innovation Centre
(Biotechnology), PT23417 Lengkok Teknologi, 71760 Bandar Enstek, Negeri Sembilan,
Malaysia

Corresponding author: mukhlis@unimap.edu.my

ABSTRAK

Harumanis adalah varieti mangga yang sangat terkenal di Malaysia dan menjadi ikon negeri Perlis, serta mendapat harga yang lebih tinggi di pasaran berbanding mangga lain. Fenomena ini menyebabkan berlakunya penipuan dengan menggantikan mangga Harumanis dengan varieti lain yang mempunyai morfologi hampir serupa. Tambahan pula, variasi fenotip untuk varieti yang sama menyukarkan pengawalan kualiti buah. Kekurangan data genetik yang menyeluruh menjadi masalah utama dalam pemilihan benih berkualiti. Teknologi genetik molekul dan penanda DNA menawarkan penyelesaian berkesan kerana ia dapat membezakan maklumat genetik tanpa dipengaruhi oleh faktor persekitaran. Ulasan ini dihasilkan melalui kaedah kajian kepustakaan yang merujuk kepada kajian-kajian lepas berkenaan penggunaan teknologi genetik molekul serta penanda DNA kloroplas, CDDP dan SSR terhadap mangga Harumanis yang ditanam di Perlis. Produk PCR kloroplas berukuran 400 hingga 800 bp dengan julat Kandungan Maklumat Polimorfisme (PIC) SSR dan CDDP antara 0.16 hingga 0.61 menunjukkan potensinya dalam analisis variasi genetik mangga. Dapatan ulasan ini penting sebagai asas dalam merangka kajian susulan yang dapat memperbaiki kaedah pengenalpastian dan pemilihan benih atau pokok induk, serta meningkatkan kualiti buah ini, khususnya di Perlis.

Kata kunci: DNA Kloroplas, *Mangifera indica*, Harumanis, Penanda DNA CDDP, Penanda DNA SSR

1.0 PENGENALAN

Mangga (*Mangifera indica* L.) merupakan buah tropika yang sangat digemari oleh orang ramai, hanya boleh diperolehi pada musim tertentu berdasarkan kepada jenis varietinya. Walau bagaimanapun, penanam mangga terpaksa berhadapan dengan beberapa cabaran, antaranya pengurusan lepas tuai, perubahan iklim, serangan perosak dan penyakit, perbezaan kandungan bahan kering semasa penuaian, kepelbagaian genetik dalam varieti, serta kekurangan pengetahuan genetik yang sistematik (Kadam *et al.*, 2022; Asare-Nuamah *et al.*, 2022; Trisnaningih *et al.*, 2022; Freitas *et al.*, 2022; Begum *et al.*, 2014; Yusuf *et al.*, 2018a). Harumanis adalah salah satu varieti mangga yang amat popular dan digemari ramai kerana cirinya yang unik seperti kurang serat, aroma yang menyenangkan, dan rasa yang manis (Yusuf *et al.*, 2018a; Rosidah *et al.*, 2010), iaitu tahap kemanisan buah apabila sesuai dimakan adalah melebihi 16 % Brix.

Pokok Harumanis terkenal sebagai pokok yang sensitif kerana ianya memerlukan musim kering yang panjang untuk merangsang penghasilan bunga dan buah yang berkualiti, sangat sesuai dengan cuaca di negeri Perlis. Mangga Harumanis telah menjadi salah satu tanaman pilihan di Perlis untuk dikomersialkan pada skala besar, sekaligus menjadi sumber pendapatan yang berpotensi dalam pembangunan ekonomi. Namun, bekalan yang terhad berikutan sifatnya yang sensitif terhadap cuaca dan bermusim telah mendorong berlakunya penipuan dalam penjualan dengan menggantikan Harumanis dengan varieti lain yang lebih murah seperti Thong Dam dan Susu kerana mempunyai morfologi hampir serupa (Rahman *et al.*, 2024; Zakaria *et al.*, 2018).

Variasi fenotip untuk varieti mangga yang sama telah menyukarkan pengenaltian sesuatu varieti tersebut (Begum *et al.*, 2013). Selain pergantungan kepada morfologi, kurangnya profil genetik turut menjadi cabaran dalam memilih baka yang berkualiti untuk program pembiakbakaan. Profil genetik yang komprehensif diperlukan untuk proses pemilihan baka yang unggul, dapat mengoptimumkan kualiti dan kuantiti buah yang dihasilkan serta bertindak sebagai kaedah alternatif bagi pengenalan varieti.

Profil genetik berdasarkan teknologi penanda DNA menawarkan kaedah yang berkesan untuk menangani perkara ini. Penanda molekul DNA adalah jujukan DNA pada kedudukan tertentu dalam kromosom yang digunakan untuk mengesan dan membezakan maklumat genetik antara individu atau spesies, serta mempunyai kelebihan seperti bilangannya yang tidak terhad, tidak terjejas oleh keadaan persekitaran, dan diwarisi secara mudah (Schulman, 2007; Karihaloo, 2015). Hingga kini, perbandingan secara sistematik menggunakan penanda DNA untuk membezakan antara varieti Harumanis dan bukan Harumanis masih belum mencukupi.

Ulasan ini akan memberi tumpuan kepada aplikasi teknologi genetik molekul dan penanda DNA dalam usaha untuk mendapatkan maklumat genetik yang holistik bagi sampel Harumanis di Perlis. Aplikasi penanda DNA adalah kaedah pemilihan genetik yang lebih efisien dalam pembiakbakaan varieti Harumanis, mempercepatkan proses penghasilan pokok berkualiti tinggi dan meningkatkan produktiviti serta kualiti hasil. Profil genetik Harumanis yang lengkap penting dalam penghasilan cap jari DNA yang khusus bagi mangga Harumanis.

Ulasan ini juga diharap dapat menjadi bahan rujukan kepada pemegang taruh dalam aspek aplikasi teknologi genetik molekul dan penanda DNA khususnya untuk Harumanis di Perlis di samping berpontesi besar untuk aplikasi lain pada masa hadapan. Kajian ini menilai literatur sedia ada berkaitan dengan penggunaan teknologi genetik molekul untuk tujuan perbandingan genetik bagi populasi mangga Harumanis di Perlis dengan memberi fokus kepada penanda DNA kloroplas, Polimorfisme Terbitan DNA Terpelihara (CDDP), dan Ulangan Jujukan Ringkas (SSR). Kajian lanjutan turut dicadangkan bagi memurnikan penemuan sedia ada serta melengkapkan data genetik yang masih terhad seterusnya berpotensi mempengaruhi kaedah pemilihan benih Harumanis yang berkualiti dan unggul dalam usaha untuk meningkatkan kualiti serta kuantiti buah.

2.0 TEKNOLOGI GENETIK MOLEKUL DAN PENANDA DNA

Teknologi genetik molekul dan penanda DNA telah membawa perubahan besar dalam industri pertanian apabila analisis dan manipulasi maklumat genetik dapat dilakukan secara mendalam. Penanda molekul adalah serpihan DNA unik, yang boleh dikesan daripada keseluruhan genom serta memainkan peranan penting dalam menandakan lokasi gen tertentu serta mempunyai ciri pewarisan yang khusus. Gabungan pembangunan penanda molekul dengan teknologi berkapasiti tinggi membolehkan kita memahami struktur genom tanaman dengan lebih baik, meningkatkan kualiti dan kuantiti hasil tanaman, serta membangunkan varieti yang lebih rintang penyakit dan perubahan iklim (Jayakumar & Pandey, 2024).

Inovasi dalam tindakbalas rantai polimerase (PCR) oleh Kary Mullis pada tahun 1983 telah memudahkan analisis variasi genetik dalam tumbuhan dengan membolehkan penciptaan penanda DNA yang canggih dan mempunyai tahap keboleholangan yang tinggi (Miah *et al.*, 2013). Penanda isozim biokimia dan DNA telah digunakan untuk menilai kepelbagaian genetik, menyelidik struktur populasi, meneroka hubungan filogenetik, mengenal pasti pelbagai kultivar, dan membina peta pautan genetik melibatkan pelbagai spesies tumbuhan (Isshiki *et al.*, 1992; Nongdam & Nirmala, 2007; Zarei & Erfani-Moghadam, 2021). Walau bagaimanapun, penanda DNA secara amnya dianggap lebih berkesan dan menguntungkan berbanding isozim kerana keabundannya, keupayaannya untuk menunjukkan pola pewarisan dominan dan kodominan, serta penglibatan urutan yang diekspresikan dan tidak diekspresikan yang spesifik kepada lokus gen masing-masing (Kumar *et al.*, 2020).

Penggunaan penanda DNA berasaskan tindakbalas rantai polimerase (PCR) telah menjadi kaedah rutin dalam analisis genomik tumbuhan. Teknik PCR membolehkan penggandaan DNA bagi segmen tertentu genom dilakukan dengan menggunakan primer oligonukleotida yang direka secara khusus. Proses PCR melibatkan beberapa langkah utama iaitu penyahasli, penyepuhlindapan dan pemanjangan yang dilakukan dalam mesin pengitar terma. Ini diikuti dengan teknik elektroforesis gel dan penjujukan DNA untuk memisahkan

dan menjujuk urutan nukleotida bagi segmen DNA yang terhasil dengan tepat. Polimorfisme merujuk kepada variasi genetik antara individu dalam populasi yang biasanya disebabkan oleh mutasi titik, perubahan struktur DNA seperti penyisipan, penghapusan, atau kesilapan yang terjadi semasa proses replikasi DNA (Selvakumari *et al.*, 2017).

Penanda molekul yang menunjukkan perbezaan genotip dikenali sebagai penanda polimorfik, manakala penanda yang tidak membezakan genotip dipanggil monomorfik. Penanda DNA yang ideal seharusnya meliputi seluruh genom, mudah diuji, kos efektif, boleh digunakan dalam pelbagai ujian, bersifat kodominan dan polimorfik.

Artikel ini akan memberi tumpuan kepada kaedah identifikasi menggunakan penanda DNA universal berdasarkan lokus kloroplas, penanda SSR dan penanda CDDP. Penanda DNA kloroplas yang selalu digunakan adalah lokus trnL-F dan trnR-N, dalam mengkaji hubungan filogenetik, variasi genetik serta identiti genetik varieti mangga, termasuk Harumanis. Penanda SSR pula membezakan individu melalui variasi urutan berulang pendek, manakala penanda CDDP mengenal pasti variasi dalam urutan DNA terpelihara.

3.0 PENANDA DNA UNIVERSAL BERDASARKAN LOKUS PADA KLOROPLAS BAGI HARUMANIS DI PERLIS

Kloroplas memainkan peranan penting dalam fotosintesis, penetapan karbon, serta dalam sintesis kanji, asid lemak, dan asid amino bagi tumbuhan. Selain itu, kloroplas mengatur tindak balas metabolik dan laluan pengeluaran tenaga untuk kelangsungan hidup dan produktiviti tumbuhan. Purata kadar evolusi bagi DNA kloroplas adalah empat kali lebih perlahan berbanding DNA nuklear dalam tumbuhan (Curtis & Clegg, 1984).

Kadar mutasi bagi kawasan salinan tunggal kecil (SSC) dan salinan tunggal besar (LSC) kebiasaannya adalah lebih cepat berbanding dengan kawasan pengulangan terbalik (IR) (Curtis & Clegg, 1984; De Las Rivas, Lozano, & Ortiz, 2002). Genom kloroplas telah banyak digunakan dalam analisis filogenetik serta pembangunan penanda molekul bagi spesies tumbuhan. Penanda molekul ini boleh mengesahkan dan mengenalpasti taksonomi tumbuhan. Ini terbukti apabila gen *matK* dan *rbcL* pada genom kloroplas digunakan sebagai pengekodan

DNA universal bagi tumbuhan (Dong *et al.*, 2012). Jadual 1 menunjukkan maklumat berkaitan aplikasi penanda DNA kloroplas yang pernah dijalankan bagi sampel Harumanis di Perlis.

Lokus *trnL-trnF* telah lama diiktiraf sebagai salah satu ampikon plastid universal yang penting dalam kajian sistematik tumbuhan dan filogeografi (Hollingsworth *et al.*, 2011; Fazekas *et al.*, 2008). Sejak 1990-an, lokus ini telah digunakan secara meluas kerana potensinya dalam menyediakan data penting untuk kajian genetik molekul (Hollingsworth *et al.*, 2011; Fazekas *et al.*, 2008). Lokus ini, yang terletak dalam kawasan salinan tunggal besar genom kloroplas, walaupun mempunyai kadar perubahan molekul yang perlahan, dianggap berkesan sebagai penanda disebabkan oleh tapak-tapak terpelihara yang dimilikinya (Park *et al.*, 2017). Oleh itu, ia merupakan alat yang berguna dalam kajian taksonomi pada tahap yang lebih tinggi (Kress & Erickson, 2008; Chase *et al.*, 2007). Primer yang berkesan telah dibangunkan untuk 19 spesies yang diuji, termasuk alga, bryofit, pteridofit, gimnosperma, dan angiosperma (Taberlet *et al.*, 1991).

Lokus *trnR-trnN*, yang disasarkan oleh penanda *cp104*, terletak dalam pengulangan terbalik (IR) genom kloroplas (Yang *et al.*, 2015). Penanda ini berfungsi dengan berkesan untuk membezakan antara monokot dan dikot. Sampel organisma monokot menghasilkan jalur konsisten sepanjang 400 bp, manakala dikot menghasilkan jalur yang lebih besar daripada 400 bp. Polimorfisme panjang jalur yang diperhatikan menunjukkan bahawa lokus *trnR-trnN* mungkin memainkan peranan penting dalam perkembangan berbeza antara kedua-dua kumpulan ini, sekali gus menekankan kepentingannya dalam kajian perbezaan perkembangan dalam genom kloroplas. Ujian terhadap 14 spesies berbeza (18 sampel) menunjukkan bahawa penanda *cp104* secara konsisten menghasilkan polimorfisme panjang jalur, serta mengesahkan keberkesanannya untuk mengenalpastian spesies (Yang *et al.*, 2015). Secara keseluruhan, lokus *trnR-trnN* mempunyai potensi besar untuk diskriminasi varieti dan analisis filogenetik, terutamanya dalam konteks pengelasan tumbuhan.

3.1 Identifikasi genetik bagi mangga Harumanis berdasarkan lokus *trnL-F* di Perlis

Salah satu kajian awal yang pernah dilaporkan berkaitan identifikasi genetik mangga Harumanis di negeri Perlis melibatkan urutan DNA kloroplas bagi lokus trnL-F (Rahman *et al.*, 2018). Objektif kajian ini adalah untuk mengamplifikasi dan menjujuk lokus trnL-F mangga Harumanis dari Perlis serta dibandingkan dengan pengkalan data dalam GeneBank. Sampel daun Harumanis digunakan untuk pengekstrakan DNA sebelum lokus trnL-F diamplifikasikan menggunakan kaedah PCR (Rahman *et al.*, 2018). Segmen DNA terhasil dari PCR diuji menggunakan kaedah gel elektroforesis, dituliskan serta diikuti dengan penjujukan dan carian BLAST berdasarkan pengkalan data GeneBank.

Rajah 1 menunjukkan proses pengenpastian mangga Harumanis di Perlis menggunakan penanda DNA kloroplas melalui prosedur asas seperti pengekstrakan DNA, amplifikasi PCR dan analisis urutan DNA. PCR menggunakan primer trnL-F menghasilkan jalur DNA tunggal berukuran antara 400 hingga 500 bp, yang bersesuaian dengan hasil kajian terdahulu bagi spesies lain, *Pergularia daemia* dan *Mangifera indica*, L. var *totupura* (Raghavamma *et al.*, 2013; Sankar *et al.*, 2011). Perbezaan kecil yang berlaku dalam saiz produk PCR biasanya dipengaruhi oleh faktor varieti, lokasi dan memerlukan kajian lanjutan.

Produk PCR kemudian diujuk dan dianalisis menggunakan Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) di Genbank, NCBI, dengan panjang urutan sekitar 390 bp, menyamai dengan kajian terdahulu dalam organisma *Pergularia daemia* (390 bp) Raghavamma *et al.*, 2013) dan *Mangifera* dari Sumatera (313 bp) (Rahman *et al.*, 2020). Analisis BLAST menunjukkan bahawa sampel tersebut ialah *Mangifera indica* dengan persamaan 100% terhadap urutan kloroplas trnL-F. Penemuan ini mengesahkan kesahihan kaedah pengenpastian genetik dan menyediakan asas penting untuk kajian lanjut variasi genetik mangga Harumanis. Ia juga membuka peluang untuk meneroka kawasan lain dalam genom bagi memahami variasi genetik Harumanis secara lebih mendalam.



Rajah 1 Proses pengenalpastian mangga Harumanis di Perlis menggunakan penanda DNA kloroplas melalui pengekstrakan DNA, amplifikasi PCR, dan analisis urutan DNA.

Jadual 1 Analisis Lokus DNA trnL-F dan trnR-N dalam Mangga Harumanis

Kriteria	Lokus trnL-F (Rahman <i>et al.</i> , 2018)	Lokus trnL-F (Rahman <i>et al.</i> , 2020)	Lokus trnR-N (Rahman <i>et al.</i> , 2020)
Fokus Kajian	Menganalisa lokus trnL-F sebagai kajian bagi pengecaman genetik di peringkat genus dan spesies bagi mangga Harumanis	Menganalisa lokus trnL-F dari pelbagai ladang, berdasarkan kajian oleh Rahman <i>et al.</i> , 2018 [30] untuk pengecaman genetik bagi mangga Harumanis	Mengenal pasti penanda genetik dalam lokus trnR-N untuk pembangunan pengecapjarian genetik Harumanis
Sumber Sampel	Daun pokok buah mangga Harumanis dari ladang di Universiti Malaysia Perlis	Daun pokok buah mangga Harumanis yang dikumpulkan dari lima ladang di Perlis: Chelong Balik Bukit, Paya Kelubi, Alor Ara Timur, Ladang Harumanis Santan, dan Sanglang	Daun pokok buah mangga Harumanis yang dikumpulkan dari lima ladang di Perlis: Chelong Balik Bukit, Paya Kelubi, Alor Ara Timur, Ladang Harumanis Santan, dan Sanglang
Kaedah Pengekstrakan DNA	Kaedah pengekstrakan DNA CTAB	Kaedah pengekstrakan DNA CTAB	Kaedah pengekstrakan DNA CTAB
Primer Digunakan	trnL-F3, trnL-F4 [30]	trnL-F3, trnL-F4 [30, 34]	cp104-F, cp104-R [34, 29]
Saiz Produk PCR	400–500 bp	400–500 bp	700–800 bp
Teknik Analisais	Kaedah PCR dan analisis jujukan <i>in silico</i>	Kaedah PCR dan analisis jujukan <i>in silico</i>	Kaedah PCR, penjujukan DNA, dan analisis jujukan <i>in silico</i> menggunakan BLAST
Keputusan	Jujukan segmen trnL-F menunjukkan 99% identiti kepada <i>Mangifera indica</i> dan kultivar yang berkait rapat seperti Tommy dan Arunika	Jujukan segmen trnL-F menunjukkan 99% identiti kepada <i>Mangifera indica</i> dan kultivar yang berkait rapat seperti Tommy dan Arunika	Jujukan segmen trnR-N menunjukkan persamaan dengan dua akses <i>Mangifera indica</i> sahaja, kurang informatif untuk membezakan antara dua varieti

Kepentingan	Boleh digunakan sebagai pengecaman genetik pada peringkat genus dan spesies bagi <i>Mangifera indica</i>	Boleh digunakan sebagai pengecaman genetik <i>Mangifera indica</i> dan varieti mangga yang berkait rapat melalui DNA kloroplas, dengan sumber sampel yang berbeza	trnR-N berpotensi sebagai calon kawasan untuk pembangunan cap jari genetik Harumanis, walaupun kurang informatif berbanding trnL-F
--------------------	--	---	--

3.2 Identifikasi Genetik Susulan dalam Mangga Harumanis Berdasarkan Kawasan DNA

trnL-F dan trnR-N bagi ladang berbeza di Perlis

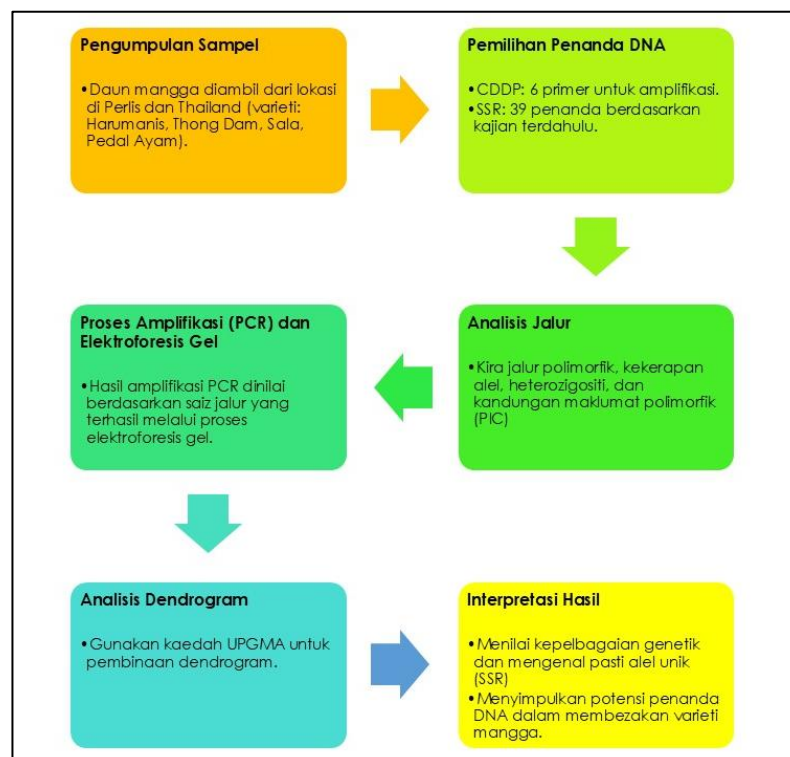
Kajian mengenai penanda kloroplas juga telah dijalankan terhadap dua kawasan sasaran iaitu trnL-F dan trnR-N ke atas sampel Harumanis dari beberapa ladang terpilih di Perlis. Sampel yang terlibat adalah dari tiga kawasan di Perlis, iaitu Arau, Kangar, dan Padang Besar merangkumi lima lokasi ladang terpilih. PCR digunakan untuk mengamplifikasi kawasan sasaran, diikuti dengan penjujukan DNA serta analisis *in-silico* bagi kawasan trnL-F dan trnR-N (Rahman *et al.*, 2020). Urutan DNA yang diperoleh dibandingkan dengan GeneBank menggunakan algoritma BLAST, dan urutan ini akan disimpan dalam GenBank, NCBI.

Kajian menunjukkan kualiti DNA yang terhasil adalah dalam keadaan baik apabila dirawat dengan RNase. Produk amplifikasi PCR menggunakan primer trnR-N menghasilkan jalur DNA dengan saiz antara 700 bp hingga 800 bp. Saiz ini bersamaan dengan kajian lain yang dilaporkan terhadap *Arachis hypogaea*, *Vigna radiata*, *Glycine max*, dan *Vigna unguiculata* menggunakan pasangan primer yang sama (Yang *et al.*, 2015). Produk amplifikasi PCR menggunakan primer trnL-F pula menunjukkan jalur dalam julat 400 bp hingga 500 bp, dengan semua sampel menghasilkan jalur yang terang dan jelas. Kajian ini selaras dengan kajian lain pada *Pergularia daemia* dan *Mangifera indica* yang turut menghasilkan saiz produk PCR antara 350 bp hingga 550 bp (Rahman *et al.*, 2018; Raghavamma *et al.*, 2013; Sankar *et al.*, 2011). Semua urutan DNA dikenal pasti dengan carian BLAST berdasarkan pengkalan data GenBank. Hasil carian BLAST menunjukkan bahawa urutan kawasan trnR-N dan trnL-F sepadan dengan *Mangifera indica* dengan keserupaan urutan 99%. Selain itu, urutan trnL-F juga sepadan 99% dengan beberapa varieti mangga khusus seperti Tommy dan Arunika. Walau bagaimanapun, urutan trnR-N kurang informatif kerana hanya dua varieti mangga dikenal pasti pada ketika itu (Rahman *et al.*, 2020).

4.0 MANGGA HARUMANIS DAN KAJIAN PENANDA DNA CDDP DAN SSR DI PERLIS

Penanda molekul seperti CDDP (Polimorfisme Terbitan DNA Terpelihara) dan SSR (Jujukan Ulangan Ringkas) boleh memainkan peranan penting dalam bidang pertanian moden. Penanda CDDP memanfaatkan variasi genetik yang terpelihara untuk mengesan perbezaan pada jujukan DNA, manakala penanda SSR digunakan untuk mengenal pasti polimorfisme di kawasan jujukan berulang pendek dalam genom. Penanda DNA berpotensi digunakan secara berkesan dalam membezakan varieti tanaman, membantu dalam mengenal pasti ciri-ciri genetik yang penting bagi peningkatan hasil dan kerintangan terhadap penyakit. Rajah 2 menunjukkan carta alir proses pengenaltastian dan analisis genetik mangga Harumanis menggunakan penanda DNA CDDP dan SSR di Perlis. Carta alir ini merangkumi keseluruhan proses, termasuk pengumpulan sampel daun mangga dari pelbagai lokasi, pemilihan dan amplifikasi penanda DNA, analisis data genetik menggunakan kaedah UPGMA untuk pembinaan dendrogram, serta interpretasi hasil bagi menilai kepelbagaian genetik dan mengenal pasti alel unik dalam pelbagai varieti mangga.

CDDP menggunakan primer untuk amplifikasi segmen DNA terpelihara, membolehkan pengenalan polimorfisme dalam kawasan yang stabil, tetapi memerlukan pengoptimuman kaedah PCR. Sebaliknya, SSR melibatkan amplifikasi kawasan yang berjujukan ulangan pendek dapat memberikan maklumat mengenai variasi genetik dengan resolusi yang tinggi dan sesuai untuk pelbagai spesies. Kedua-dua teknik ini berguna untuk analisis variasi genetik, serta mempunyai kelebihan dan kekurangan masing-masing. Jadual 2 menunjukkan Analisis Penanda DNA SSR dan CDDP bagi Mangga Harumanis di Perlis.



Rajah 2 Proses Pengenalpastian dan Analisis Genetik Mangga Harumanis Menggunakan Penanda DNA CDDP dan SSR di Perlis.

Jadual 2 Analisis Penanda DNA SSR dan CDDP bagi Mangga Harumanis di Perlis dengan varieti yang bermorfologi hampir serupa.

Ciri	Penanda DNA SSR (Yusuf <i>et al.</i> , 2019)	Penanda DNA CDDP (Rahman <i>et al.</i> , 2024)
Varieti Mangga yang Dikaji	Harumanis, Tong Dam, Sala, Pedal Ayam	Harumanis, Tong Dam, Susu
Bilangan Penanda/Primer	39 penanda SSR, 17 dipilih untuk analisa lanjutan	6 primer CDDP yang mensasarkan gen (WRKY, ERF, MADS, KNOX)
Julat Kandungan Maklumat Polimorfisme (PIC)	0.16 (MIAC 4) hingga 0.61 (LMMA 10)	0.16 hingga 0.44 (WRKY-R1 menunjukkan tertinggi pada 0.44)
Bilangan Alel / Lokus yang Dikesan	2–4 alel per lokus (purata 2.65 alel/lokus)	6–15 lokus per primer (purata 8 lokus per primer)
Polimorfisme	Daripada 443 produk amplifikasi: 216 (48.76%) adalah polimorfik, 224 monomorfik, dan 3 amplifikasi unik	Primer WRKY-R1 menunjukkan 100% polimorfisme, primer lain polimorfik sederhana

Ciri	Penanda DNA SSR (Yusuf <i>et al.</i> , 2019)	Penanda DNA CDDP (Rahman <i>et al.</i> , 2024)
Keberkesanan Pembezaan	Berkesan untuk membezakan kultivar mangga, <i>terutamanya</i> dalam mengenal pasti Harumanis menggunakan penanda SSR yang sangat polimorfik seperti SSR 7 dan LMMA 10	Berkesan, dengan primer WRKY-R1 menunjukkan 100% polimorfisme, membezakan Harumanis, Tong Dam, dan Susu dengan jelas
Kepelbagaian Genetik/Pengelompokan	Dendrogram UPGMA menunjukkan kumpulan yang jelas bagi Harumanis berbanding Tong Dam, Sala, dan Pedal Ayam, menunjukkan kemungkinan persamaan intra-varieti	Dendrogram UPGMA membentuk empat kelompok, memisahkan Harumanis, Tong Dam, dan Susu dengan jelas berdasarkan data genetik

4.1 Analisis Penanda Ulangan Jujukan Ringkas (SSR) bagi Harumanis di Perlis

SSRs, atau mikrosatelit, merupakan penanda DNA yang terdiri daripada motif ulangan pendek dengan variasi jumlah ulangan pada lokus tertentu (Coutinho *et al.*, 2018). Penanda ini menawarkan beberapa kelebihan termasuk kebolehulangan yang tinggi. SSR juga bersifat polimorfik, membolehkan pengesanan variasi alel walaupun antara varieti yang berkait rapat. Penanda ini adalah kodominan dan terdapat banyak di seluruh genom eukariot (Tautz *et al.*, 1989). SSRs telah berjaya digunakan dalam pelbagai aplikasi genetik termasuk menilai kepelbagaian genetik dalam kultivar *Chrysanthemum morifolium*, pengesanan mutasi dalam nenas, serta pemilihan dan pembiakan varieti baru (Feng *et al.*, 2016; Feng *et al.*, 2013; Yang *et al.*, 2018; Kimaro *et al.*, 2020). Penanda ini juga digunakan untuk mengenal pasti genotip spesies sitrus di Tunisia dan analisis kepelbagaian genetik spesies *Lathyrus* dan *Lactuca indica* (Romdhane *et al.*, 2016; Rahman *et al.*, 2022; Oliya *et al.*, 2018). Selain itu, kajian lepas juga mendapati tahap polimorfisme alel yang tinggi dalam 353 akses *Solanum tuberosum* menggunakan 25 penanda SSR (Bhardwaj *et al.*, 2023). Namun, pembangunan penanda SSR

adalah kompleks dan mahal serta memerlukan maklumat urutan untuk mereka set primer yang spesifik.

Harumanis diuji menggunakan penanda Jujukan Ulangan Ringkas (SSR) untuk menilai kepelbagaian genetik dengan sampel bukan Harumanis, termasuk mangga Thong Dam, Sala dan Pedal Ayam dari lokasi yang berlainan (Rahman *et al.*, 2024). Pengumpulan setiap sampel daun mangga dilakukan di lokasi yang berbeza yang kebanyakannya di Perlis, Malaysia (Chelong Balik Bukit, Paya Kelubi, Alor Ara Timur, Santan, Simpang Empat), serta di Thailand (Pattani). Sebanyak 39 penanda SSR telah dipilih berdasarkan kajian terdahulu (Begum *et al.*, 2013; Viruel *et al.*, 2005; Ravishankar *et al.*, 2011; Shamili *et al.*, 2012; Kumar *et al.*, 2013; Dillon *et al.*, 2013; Tsai *et al.*, 2013).

Data daripada kajian ini digunakan untuk mengira kekerapan alel utama (MAF), bilangan alel, kepelbagaian genetik, heterozigositi jangkaan, heterozigositi, kandungan maklumat polimorfik (PIC), dan pekali pembiakbakaan menggunakan perisian Power Marker versi 3.0 (Liu *et al.*, 2005). Kandungan maklumat polimorfik dikira berdasarkan formula Botstein *et al.* (1980). Dendrogram yang telah dihasilkan adalah berdasarkan SSR menggunakan kaedah UPGMA dengan 1000 bootstrapping menggunakan perisian PAST versi 3.23. Sebanyak 39 pasangan primer SSR digunakan untuk saringan awal, dan hanya 17 primer terpilih untuk analisis lanjutan. Primer yang tidak berkesan dikecualikan kerana kemungkinan disebabkan oleh kehadiran intron, kurangnya kespesifikan primer, variasi motif pengulangan, atau kesilapan pemasangan (Varshney *et al.*, 2005). Penggunaan 17 primer telah menghasilkan 443 produk amplifikasi dengan 216 (48.76%) adalah polimorfik, 224 monomorfik dan tiga amplifikasi yang unik. Saiz produk PCR terhasil antara 100 hingga 650 bp dengan primer LMMA11 menghasilkan saiz terbesar manakala MiSHRS-18, SSR 8, dan MIAC-5 menghasilkan saiz terkecil. Bilangan alel adalah di antara 2 hingga 4, dengan purata bilangan alel per primer sebanyak 2.65. Tiga alel unik dikesan merangkumi varieti Pedal Ayam (PA1) yang menunjukkan alel 300 bp pada lokus MMICIR008, Sala (SGS1) menghasilkan alel 160 bp dan 360 bp pada lokus SSR 8 dan LMMA 4. Alel unik ini berpotensi digunakan untuk membezakan genotip Harumanis daripada Pedal Ayam dan Sala.

Frekuensi alel adalah antara 0.38 hingga 0.91, dengan purata 0.63. Manakala, Nilai Kandungan Maklumat Polimorfik (PIC) adalah antara 0.16 hingga 0.61, yang menunjukkan

tahap polimorfisme di setiap lokus. Heterozigositi yang diperhatikan (H_o) adalah antara 0.00 hingga 1.00, manakala heterozigositi jangkakan (H_e) tertinggi terdapat pada primer LMMA 10 (0.67), diikuti MIAC 5 (0.66) dan SSR 7 (0.62) (Yusuf *et al.*, 2019). Analisis menunjukkan persamaan genetik yang tinggi antara sampel Harumanis dengan kesemua sampel dan dikelompokkan dalam satu kumpulan yang sama, manakala enam mangga bukan Harumanis dikelompokkan dalam kumpulan yang lain. Hasil kajian ini menunjukkan bahawa penanda SSR mampu untuk membezakan kultivar dan tidak hanya berdasarkan lokasi (Honsho *et al.*, 2005; Eiadthong *et al.*, 1999). Perbezaan kumpulan ini mencadangkan bahawa kultivar yang berbeza mempunyai komponen genom yang berbeza, manakala kumpulan Harumanis menunjukkan komponen genom yang sama walaupun berasal dari pokok induk lain, kerana aksesori tidak dibahagikan mengikut lokasi tetapi mengikut kultivar (Yusuf *et al.*, 2019; Begum *et al.*, 2013). Analisis ini juga menunjukkan keupayaan 17 penanda SSR dalam membezakan sampel Harumanis dengan sampel kawalan yang lain.

4.2 Analisis Penanda DNA Polimorfisme Terbitan DNA Terpelihara (CDDP) bagi Harumanis di Perlis

Penanda CDDP diperoleh daripada gen tumbuhan yang telah dikaji secara menyeluruh dan responsif terhadap tekanan biotik serta abiotik, serta proses perkembangan (Collard & Mackill, 2009). Pendekatan ini menghasilkan penanda berfungsi yang berkait rapat dengan fenotip tertentu. Penanda ini menunjukkan polimorfisme panjang dalam kawasan DNA terpelihara, dengan lokasi penggandaan yang sama tetapi berbeza dalam taburan genom (Bilčíková *et al.*, 2021). Kajian menunjukkan kepelbagaian genetik dipengaruhi oleh jarak geografi dan pertukaran gen antara kumpulan tumbuhan serta jantina di pelbagai persekitaran (Haffar *et al.*, 2022). Penanda CDDP telah berjaya digunakan untuk menilai kepelbagaian genetik dalam pelbagai spesies tumbuhan, *menyumbang* kepada usaha pemuliharaan genetik, pemuliharaan in-situ dan ex-situ, serta pengenalan kultivar (Poczai *et al.*, 2013; Liu *et al.*, 2020; Amiteye, 2021). Kelebihan penanda ini termasuk kemudahan penggunaan, kos rendah, dan polimorfisme yang kaya, yang boleh digunakan untuk menghasilkan penanda ciri yang didasarkan (Jiang *et al.*, 2015).

Harumanis di Perlis turut diuji menggunakan penanda CDDP untuk menilai polimorfisme genetik dan potensinya untuk membezakan mangga Harumanis dan bukan Harumanis serta dua varieti mangga lain iaitu Susu dan Thong Dam (Rahman *et al.*, 2024). Enam primer CDDP digunakan untuk mengamplifikasi empat kawasan gen (WRKY, ERF, MADS dan KNOX) bagi kesemua sampel mangga yang diuji. Kaedah PCR dan elektroforesis gel dilaksanakan untuk mendapatkan corak jalur DNA bagi proses penilaian jalur dengan menggunakan koefisien Jaccard. Selepas itu, dendrogram dibina berdasarkan Pengelompokan Berpasangan Tanpa Wajaran dengan Purata Aritmetik (UPGMA). Parameter kritikal primer CDDP seperti bilangan jalur polimorfik dan kuasa penyelesaian (R_p) dikira berdasarkan kajian terdahulu. Penanda CDDP menghasilkan sekitar 6 ke 15 lokus dengan purata 8 lokus bagi setiap primer.

Peratusan polimorfisme tertinggi yang direkodkan ialah 100%, dihasilkan oleh primer CDDP WRKY-R1, yang berperanan dalam tindak balas tekanan biotik dan abiotik serta terlibat dalam proses perkembangan fisiologi (Jiang *et al.*, 2015). Sebaliknya, primer CDDP MADS-1 mencatatkan peratusan polimorfisme yang paling rendah iaitu 66.67%. Gen MADS diketahui terlibat dalam proses pembentukan bunga dan perkembangan awal buah (Elitzur *et al.*, 2010). Kesemua primer CDDP yang diuji menunjukkan potensi yang tinggi dalam penilaian polimorfisme genetik untuk varieti mangga Harumanis, Thong Dam, dan Susu.

Peratusan polimorfisme kajian ini lebih tinggi berbanding beberapa kajian lain seperti *Vitis vinifera* L. (11% hingga 33%) dan varieti gandum (Hamidi & Keshavarzi, 2014; Aljuaid *et al.*, 2022). Purata kandungan maklumat polimorfik (PIC) adalah 0.32 dengan nilai tertinggi oleh primer WRKY-F1 (0.44) dan terendah oleh primer WRKY-R1 (0.25). Dapatan ini selari dengan kajian polimorfisme genetik *Quercus infectoria* Oliv (Ahmed *et al.*, 2022). Purata kuasa penyelesaian (R_p) adalah 6.17 dengan primer WRKY-F1 mencatatkan nilai tertinggi dan MADS-1 menghasilkan nilai terendah, menunjukkan keupayaan primer CDDP dalam membezakan pelbagai genotip.

Matriks jarak yang dikira menggunakan koefisien Jaccard berdasarkan jalur yang diperoleh dengan penanda CDDP menunjukkan bahawa dendrogram UPGMA mengelompokkan sampel kepada empat kumpulan utama yang menggambarkan kepelbagaian dan hubungan antara sampel-sampel tersebut (Rahman *et al.*, 2024). Kumpulan-kumpulan ini kemudiannya dibahagikan kepada klad-klad tambahan. Semua varieti mangga yang digunakan

dalam kajian ini membentuk kumpulan eksklusif masing-masing, tanpa sebarang kumpulan yang mengandungi lebih daripada satu varieti yang dikaji. Kumpulan 1 dan Kumpulan 2 mengandungi sampel Harumanis. Kumpulan 3 dan Kumpulan 4 mengandungi sampel bukan Harumanis, dengan Kumpulan 3 terdiri daripada sampel mangga Sala dan Kumpulan 4 terdiri daripada sampel mangga Thong Dam. Kajian ini menunjukkan bahawa penanda CDDP boleh digunakan dalam penentuan genotip mangga, analisis kepelbagaian genetik, serta menyediakan asas yang kukuh untuk kajian lanjutan dalam pemilihan baka dan pembiakan varieti mangga yang lebih baik.

5.0 PENANDA DNA ALTERNATIF

Berikut adalah beberapa penanda DNA alternatif yang boleh dipertimbangkan untuk kajian susulan, selain dari penanda DNA yang telah dibincangkan sebelumnya. Salah satu penanda DNA yang sering digunakan ialah Amplifikasi Polimorfik Rawak (RAPD). Teknik ini merupakan salah satu penanda generasi awal yang menggunakan primer pendek untuk mengamplifikasikan serpihan DNA secara rawak, menjadikannya satu kaedah yang pantas dan berpatutan untuk menilai kepelbagaian genetik dalam spesies tumbuhan (Williams *et al.*, 1990; Ruiz-Chután *et al.*, 2019; Moghadam *et al.*, 2021). Sebagai contoh, kajian oleh Bibi *et al.* (2015) menggunakan primer RAPD untuk menentukan varieti biji rami (linseed) serta maklumat kepelbagaian genetik yang berkaitan. Namun begitu, penanda ini mempunyai kebolehulangan yang rendah serta polimorfisme yang terhad, yang boleh menghalang penggunaannya dalam pemilihan berasaskan penanda (Ben-Ari & Lavi, 2012). Walaupun RAPD berguna untuk penilaian awal, penyelidik perlu berhati-hati dalam menginterpretasi keputusan yang diperoleh.

Teknik Polimorfisme Panjang Serpihan Sekatan (RFLP) pula berfungsi dengan kaedah memotong DNA menggunakan enzim sekatan menghasilkan serpihan dengan panjang yang berbeza (Miller & Tanksley, 1990; Mondin *et al.*, 2009). RFLP dikenali kerana memberikan hasil yang konsisten serta menunjukkan pewarisan kodominan, yang memudahkan perkongsian maklumat dan sangat berguna dalam pemetaan genom serta kajian genetik tumbuhan (Mir *et al.*, 2013; Cui *et al.*, 1995; Maizura *et al.*, 2006). Walau bagaimanapun, keperluan untuk jumlah DNA yang besar dan masa pemprosesan yang panjang merupakan kelemahan yang mungkin membataskan penggunaannya (Amom & Nongdam, 2017). Oleh itu,

walaupun RFLP menyediakan data yang boleh dipercayai, namun terdapat limitasi dalam aspek praktikal untuk aplikasi di lapangan.

Amplifikasi Polimorfisme Panjang Serpihan (AFLP), merupakan pilihan popular dalam penyelidikan kepelbagaian genetik kerana sensitiviti dan kebolehulangannya yang tinggi (Vos *et al.*, 1995). Teknik ini tidak memerlukan pengetahuan mengenai urutan DNA yang mendalam (Brugmans *et al.*, 2003; Ganapathy *et al.*, 2011), menjadikannya lebih fleksibel dalam penggunaannya. Dalam kajian oleh Al-Nadabi *et al.* (2018), AFLP digunakan untuk membezakan pelbagai kultivar sitrus, menunjukkan potensi yang tinggi dalam kajian varieti. Namun, kompleksiti hasilnya boleh menyukarkan analisis yang jelas, memerlukan penyelidikan untuk mengaplikasikan metodologi analisis yang lebih teliti.

Polimorfisme Kotak CAAT (CBDP) memberi tumpuan kepada urutan kotak CAAT dalam promotor tumbuhan, membantu dalam pengenalan kultivar dan pemetaan genetik (Singh *et al.*, 2014). Kaedah ini mudah dibangunkan dan menghasilkan profil yang konsisten dalam penilaian kepelbagaian genetik (Tomar & Malik, 2016; Ahmed *et al.*, 2021). Namun begitu, CBDP mungkin menunjukkan kuasa diskriminasi yang rendah (Fabriki-Ourang & Karimi, 2019), yang boleh membataskan keupayaannya dalam aplikasi tertentu.

Penanda Amplifikasi Berkenaan Urutan (SRAP) mengamplifikasikan kawasan pengekodan yang menunjukkan variasi ketara (Zhou & Zhang, 2011). Teknik ini menjadikannya berguna untuk meneroka kepelbagaian genetik dalam tumbuhan (Zhou *et al.*, 2021; Zheng, *et al.*, 2017). Walau bagaimanapun, hasilnya mungkin dipengaruhi oleh tekanan pemilihan yang wujud (Roberts & Wolfe, 2014), memerlukan pemahaman mendalam mengenai interaksi genetik dan persekitaran.

Penanda Sasaran Kod Permulaan (SCoT) mengambil pendekatan dengan memberi tumpuan kepada kawasan terpelihara berhampiran kod permulaan, memberikan penilaian kepelbagaian genetik yang boleh dipercayai (Collard & Mackill, 2009).

Ia digunakan untuk mengenal pasti kultivar mangga (Luo *et al.*, 2010) dan untuk menilai variasi dalam spesies lain (Zhang *et al.*, 2015; Satya *et al.*, 2015; Shavrukov *et al.*, 2016). Penanda DNA alternatif yang lain adalah Penanda Pengulangan Jujukan Antara-Sederhana (ISSR). ISSR ialah teknik berasaskan PCR yang mengamplifikasi segmen DNA antara kawasan mikrosatelit dengan menggunakan primer sepanjang 16–25 bp, membolehkan

amplifikasi pelbagai lokus. Penanda ISSR ini mempunyai persamaan dengan RAPD tetapi menawarkan kebolehulangan yang lebih tinggi kerana suhu penyambungan yang lebih tinggi. Selain itu, analisis ISSR biasanya lebih kos efektif berbanding AFLP. Kaedah ini secara meluas digunakan dalam kajian kepelbagaian genetik, filogenetik, pemetaan genetik, dan biologi evolusi bagi pelbagai jenis spesies tumbuhan (Nurhasanah *et al.*, 2023).

6.0 KESIMPULAN

Harumanis, sebagai buah yang sensitif kepada persekitaran, memerlukan musim kering yang panjang untuk berbunga dan berbuah dengan baik, dan ini sangat sesuai dengan cuaca di Perlis. Tanaman ini menjadi salah satu produk komersial yang telah membantu meningkatkan penjaan ekonomi di negeri Perlis, khususnya dalam kalangan para petani dan usahawan kecil-kecilan. Terdapat kajian berkaitan morfologi dan genetik mangga Harumanis di negeri Perlis yang telah dilaksanakan untuk memastikan kelestarian varieti ini (Yusuf *et al.*, 2018a; Rahman *et al.*, 2024; Rahman *et al.*, 2018; Rahman *et al.*, 2020; Yusuf *et al.*, 2018b; Yusuf *et al.*, 2020). Kajian asas genetik molekul telah mengesahkan potensi penggunaan penanda DNA kloroplas seperti *trnL-F* dan *trnR-N*, bersama penanda CDDP dan SSR, dalam menganalisis dan membezakan genetik serta polimorfisme antara varieti Harumanis yang khusus di Perlis dan varieti bukan Harumanis. Penanda DNA kloroplas memainkan peranan penting dalam menentukan hubungan filogenetik dan struktur genetik tanaman. Penanda CDDP menawarkan informasi mendalam mengenai polimorfisme genetik pada tahap yang lebih terperinci. Teknologi SSR pula memberikan resolusi yang tinggi dalam mengesan variasi genetik antara varieti yang berbeza dan juga dalam kalangan varieti yang sama. Maklumat yang diperolehi daripada kajian-kajian ini adalah penting untuk pembangunan pencapjarian DNA Harumanis serta menyediakan asas untuk identifikasi dan pengesanan varieti yang lebih tepat.

Walau bagaimanapun, masih terdapat beberapa kekurangan yang perlu ditangani. Kajian ini hanya melibatkan beberapa penanda genetik tertentu, dan ia mungkin tidak merungkai secara keseluruhan variasi genetik yang ada dalam varieti mangga.

Penemuan awal yang diperolehi memerlukan kajian lanjutan yang melibatkan lebih banyak penanda genetik dan populasi sampel yang lebih luas dari pelbagai lokasi geografi

untuk mengesahkan ketepatan dan keberkesanan penanda dalam proses pembezaan varieti. Selain itu, kajian terhadap interaksi genetik antara varieti dan bagaimana faktor persekitaran mempengaruhi variasi genetik juga penting bagi memberikan gambaran yang lebih komprehensif. Kajian susulan harus memberi tumpuan kepada pemurnian cap jari DNA Harumanis khususnya di negeri Perlis dengan menggabungkan data genomik berskala besar, serta mengaplikasikan alat diagnostik molekul yang lebih canggih untuk identifikasi varieti yang lebih cepat dan tepat. Ini juga akan membuka ruang untuk penerokaan lebih mendalam dalam penambahbaikan varieti, dengan matlamat meningkatkan daya tahan, kualiti, dan hasil tanaman.

RUJUKAN

- Ahmed, A.A., Qadir, S.A., & Tahir, A.R.N. 2022. CDDP and ISSR markers-assisted diversity and structure analysis in Iraqi Mazu (*Quercus infectoria infectoria* Oliv.) accessions. *All Life*. 15(1), 247–261. <https://doi.org/10.1080/26895293.2022.2042401>
- Ahmed, D.A., Tahir, N.A., Salih, S.H., & Talebi, R. 2021. Genome diversity and population structure analysis of Iranian landrace and improved barley (*Hordeum vulgare* L.) genotypes using arbitrary functional gene-based molecular markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 68: 1045–1060. <https://doi.org/10.1007/s10722-020-01047-7>
- Aljuaid, B.S., Ismail, A., Attia, O., & Dessoky, E.D.S. 2022. Genetic stability of in vitro propagated grapevine (*Vitis vinifera* L.) cv. Al-Bayadi. *Journal of Agriculture and Crops*. 8(1), 12–19. <https://doi.org/10.32861/jac.81.12.19>
- Al-Nadabi, H., Khan, M., Al-Yahyai, R.A., & Al-Sadi, A.M. 2018. AFLP fingerprinting analysis of citrus cultivars and wild accessions from Oman suggests the presence of six distinct cultivars. *Agriculture/Pol'nohospodárstvo*, 64: 173–182. <https://doi.org/10.2478/agri-2018-0016>
- Amiteye, S. 2021. Basic concepts and methodologies of DNA marker systems in plant molecular breeding. *Heliyon*, 7, e08093. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e08093>
- Amom, T., & Nongdam, P. 2017. The use of molecular marker methods in plants: A review. *International Journal of Current Research and Review*, 9: 1–7.
- Asare-Nuamah, P., Antwi-Agyei, P., and Dick-Sagoe, C. 2022. Mitigating the risks of climate variability and change on mango seedlings in Ghana: Evidence from mango seedlings producers in the Yilo Krobo Municipality. *Environmental Challenges*. 8: 100594. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envc.2022.100594>
- Begum, H., Reddy, M. T., Malathi, S., Reddy, B. P., Narshimulu, G., Nagaraju, J., & Siddiq, E. A. 2014. Morphological and microsatellite analysis of intravarietal variability in ‘Cherukuram’ cultivar of mango (*Mangifera indica* L.). *Jordan Journal of Agricultural Sciences*, 10(3), 452-466. <https://doi.org/10.24102/ijafr.v3i2.498>
- Begum, H., Reddy, M. T., Malathi, S., Reddy, B. P., Narshimulu, G., Nagaraju, J., & Siddiq, E. A. (2013). Morphological and microsatellite analysis of intravarietal heterogeneity

- in 'Beneshan' mango (*Mangifera indica* L.). *International Journal of Agricultural and Food Research*, 3(2), 1–18.
- Ben-Ari, G., & Lavi, U. 2012. Marker-assisted selection in plant breeding. In *Plant Biotechnology and Agriculture*. Academic Press: Cambridge, MA, USA, pp. 163.
- Bhardwaj, V., Kumar, A., Sharma, S., Singh, B., Sood, S., Dipta, B., Singh, R., Siddappa, S., Thakur, A. K., Dalamu, D., et al. 2023. Analysis of genetic diversity, population structure, and association mapping for late blight resistance in potato (*Solanum tuberosum* L.) accessions using SSR markers. *Agronomy*, 13(2), 294. <https://doi.org/10.3390/agronomy13020294>
- Bibi, T., Mustafa, H.S.B., Hasan, E.U., Rauf, S., Mahmood, T., & Ali, Q. 2015. Analysis of genetic diversity in linseed using molecular markers. *Life Sciences Journal*, 12, 28–37 <https://doi.org/10.1021/acsagascitech.1c00182>
- Bilčíková, J., Farkasová, S., & Žiarovská, J. 2021. Genetic variability of commercially important apple varieties (*Malus x domestica* Borkh.) assessed by CDDP markers. *Acta Fytotechnica et Zootechnica*, 24(1), 21–26. <https://doi.org/10.1007/s00468-021-02203-9>
- Botstein, D., White, R. L., Skolnick, M., & Davis, R. W. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American Journal of Human Genetics*. 32(3), 314–331.
- Brugmans, B., van der Hulst, R.G., Visser, R.G., Lindhout, P., & van Eck, H.J. 2003. A new and versatile method for the successful conversion of AFLP™ markers into simple single locus markers. *Nucleic Acids Research*, 31: e55. <https://doi.org/10.1093/nar/gng055>
- Chase, M. W., Cowan, R. S., Hollingsworth, P. M., Van Den Berg, C., Madriñán, S., Petersen, G., Seberg, O., Jørgensen, T., Cameron, K. M., Carine, M., et al. 2007. A proposal for a standardised protocol to barcode all land plants. *Taxon*, 56(2), 295–299. <https://doi.org/10.2307/25065735>

- Collard, B.C., & Mackill, D.J. 2009. Start codon targeted (SCoT) polymorphism: A simple, novel DNA marker technique for generating gene-targeted markers in plants. *Plant Molecular Biology Reporter*, 27, 86–93. <https://doi.org/10.1007/s11105-008-0060-5>
- Collard, B.C.Y., & Mackill, D.J. 2009. Conserved DNA-derived polymorphism (CDDP): A simple and novel method for generating DNA markers in plants. *Plant Molecular Biology Reporter*, 27(4), 558–562. <https://doi.org/10.1007/s11105-009-0118-z>
- Coutinho, J. P., Carvalho, A., Martín, A., & Lima-Brito, J. 2018. Molecular characterization of Fagaceae species using inter-primer binding site (iPBS) markers. *Molecular Biology Reports*, 45(1), 133–142. <https://doi.org/10.1007/s11033-017-4137-0>
- Cui, Y.X., Xu, G.W., Magill, C.W., Schertz, K.F., & Hart, G.E. 1995. RFLP-based assay of *Sorghum bicolor* (L.) Moench genetic diversity. *Theoretical and Applied Genetics*, 90: 787–796. <https://doi.org/10.1007/BF00222013>
- Curtis, S. E., & Clegg, M. T. 1984. Molecular evolution of plant genes and genomes. *Molecular Biology and Evolution*, 1(4), 291–301. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040319>
- De Las Rivas, J., Lozano, J. J., & Ortiz, A. R. 2002. Comparative analysis of chloroplast genomes: Functional annotation, genome-based phylogeny, and deduced evolutionary patterns. *Genome Research*, 12(4), 567–583. <https://doi.org/10.1101/gr.209402>
- Dillon, N. L., Bally, I. S. E., Wright, C. L., Hucks, L., Innes, D. J., & Dietzgen, R. G. 2013. Genetic diversity of the Australian National Mango Genebank. *Scientia Horticulturae*. 150, 213–226. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2012.11.003>
- Dong, W., Liu, J., Yu, J., Wang, L., & Zhou, S. 2012. Highly variable chloroplast markers for evaluating plant phylogeny at low taxonomic levels and for DNA barcoding. *PLoS One*, 7(4), e35071. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0035071>
- Eiadthong, W., Yonemori, K., Sugiura, A., Utsunomiya, N., & Subhadrabandhu, S. 1999. Identification of mango cultivars of Thailand and evaluation of their genetic variation

- using the amplified fragment by simple sequence repeat anchored primers. *Scientia Horticulturae*. 82(1/2), 57–66. [https://doi.org/10.1016/s0304-4238\(99\)00036-9](https://doi.org/10.1016/s0304-4238(99)00036-9)
- Elitzur, T., Vrebalov, J., Giovannoni, J.J., Goldschmidt, E.E., & Friedman, H. 2010. The regulation of MADS-box gene expression during ripening of banana and their regulatory interaction with ethylene. *Journal of Experimental Botany*. 61(5), 1523–1535. <https://doi.org/10.1093/jxb/erq017>
- Fabriki-Ourang, S., & Karimi, H. 2019. Assessment of genetic diversity and relationships among *Salvia* species using gene-targeted CAAT box-derived polymorphism markers. *Journal of Genetics*, 98: 75. <https://doi.org/10.1007/s12041-019-1121-2>
- Fazekas, A. J., Burgess, K. S., Kesanakurti, P. R., Graham, S. W., Newmaster, S. G., Husband, B. C., Percy, D. M., Hajibabaei, M., & Barrett, S. C. H. 2008. Multiple multilocus DNA barcodes from the plastid genome discriminate plant species equally well. *PLoS ONE*, 3(7), e2802. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0002802>
- Feng, S., He, R., Lu, J., Jiang, M., Shen, X., Jiang, Y., Wang, Z., & Wang, H. 2016. Development of SSR markers and assessment of genetic diversity in medicinal *Chrysanthemum morifolium* cultivars. *Frontiers in Genetics*, 7, 113. <https://doi.org/10.3389/fgene.2016.00113>
- Feng, S., Tong, H., Chen, Y., Wang, J., Chen, Y., Sun, G., He, J., & Wu, Y. 2013. Development of pineapple microsatellite markers and germplasm genetic diversity analysis. *BioMed Research International*, 2013, 317912. <https://doi.org/10.1155/2013/317912>
- Fitmawati, M. R., Ningrum, R., Mahatma, & Suzanti, F. 2018. Phylogenetic study of genus *Mangifera* in Southern Sumatera based on DNA sequences of the internal transcribed spacer (ITS) region. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 197, 012013. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/197/1/012013>
- Freitas, S.T.de, Guimarães, Í.T., Vilvert, J.C., Amaral, M.H.P.do, Brehete, J.K., and Biasoto, A.C.T. 2022. Mango dry matter content at harvest to achieve high consumer quality of different cultivars in different growing seasons. *Postharvest Biology and Technology*. 189: 111917. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2022.111917>

- Ganapathy, K.N., Gnanesh, B.N., Byre Gowda, M., Venkatesha, S.C., Gomashe, S.S., & Channamallikarjuna, V. 2011. AFLP analysis in pigeonpea (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) revealed close relationship of cultivated genotypes with some of its wild relatives. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 58: 837–847. <https://doi.org/10.1007/s10722-010-9621-1>
- Haffar, S., Baraket, G., Usai, G., Aounallah, A., Ben Mustapha, S., Ben Abdelkrim, A., & Salhi Hannachi, A. 2022. Conserved DNA-derived polymorphism as a useful molecular marker to explore genetic diversity and relationships of wild and cultivated Tunisian figs (*Ficus carica* L.). *Trees*, 36(3), 723–735. <https://doi.org/10.1007/s00468-021-02203-9>
- Hamidi, H., Talebi, R., & Keshavarzi, F. 2014. Comparative efficiency of functional gene-based markers, Start Codon Targeted Polymorphism (SCoT) and Conserved DNA-derived Polymorphism (CDDP) with ISSR markers for diagnostic fingerprinting in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Cereal Research Communications*. 42(4), 558–567. <https://doi.org/10.1556/CRC.2014.0010>
- Hollingsworth, P. M., Graham, S. W., & Little, D. P. 2011. Choosing and using a plant DNA barcode. *PLoS ONE*, 6(5), e19254. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0019254>
- Honsho, C., Nishiyama, K., Eiadthong, S., & Yonemori, K. 2005. Isolation and characterization of new microsatellite markers in mango (*Mangifera indica* L.). *Molecular Ecology Notes*. 5, 152–154. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2004.00866.x>
- Isshiki, S., Okubo, H., & Fujieda, K. 1992. Isozyme variation in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, 61(3), 595–601. <https://doi.org/10.2503/jjshs.61.595>

- Jayakumar Nair, R., & Pandey, M. K. 2024. Role of molecular markers in crop breeding: A review. *Agricultural Reviews*, 45(1), 52-59. <https://doi.org/10.18805/ag.R-2322>
- Jiang, W., Wu, J., Zhang, Y., Yin, L., & Lu, J. 2015. Isolation of a WRKY30 gene from *Muscadinia rotundifolia* (Michx) and validation of its function under biotic and abiotic stresses. *Protoplasma*. 252, 1361–1374. <https://doi.org/10.1007/s00709-015-0769-6>
- Kadam, J. A., Shimpi, S. B., Biradar, R. P. and Chate, S. V. 2022. Review on Post-Harvest Diseases and Management of Mango Fruits. *Journal of Plant Pathology Microbiology*, 13(9), 635.
- Karihaloo, J. L. 2015. DNA fingerprinting techniques for plant identification. In B. Bahadur, M. Venkat Rajam, L. Sahijram, & K. Krishnamurthy (Eds.), *Plant biology and biotechnology* (pp. 129-148). Springer. https://doi.org/10.1007/978-81-322-2283-5_9
- Kimaro, D., Melis, R., Sibiya, J., Shimelis, H., & Shayanowako, A. 2020. Analysis of genetic diversity and population structure of pigeonpea [*Cajanus cajan* (L.) Millsp] accessions using SSR markers. *Plants*, 9(12), 1643. <https://doi.org/10.3390/plants9121643>
- Kress, W. J., & Erickson, D. L. 2007. A two-locus global DNA barcode for land plants: The coding *rbcL* gene complements the non-coding *trnH-psbA* spacer region. *PLoS ONE*, 2(6), e508. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0000508>
- Kumar, A., Shahina, P. S., Singh, R. S., & Singh, D. N. 2020. Prospect of molecular markers in precision plant breeding. In *Recent Advances in Chemical Sciences and Biotechnology*, New Delhi Publishers, New Delhi, India, pp. 131–142
- Kumar, M., Ponnuswami, V., Nagarajan, P., Jeyakumar, P., & Senthil, N. 2013. Molecular characterization of ten mango cultivars using simple sequence repeat (SSR) markers. *African Journal of Biotechnology*. 12(47), 6568–6573. <https://doi.org/10.5897/AJB2013.12797>
- Liu, H., Zang, F., Wu, Q., Ma, Y., Zheng, Y., & Zang, D. 2020. Genetic diversity and population structure of the endangered plant *Salix taishanensis* based on CDDP

- markers. *Global Ecology and Conservation*, 24, e01242.
<https://doi.org/10.1016/j.gecco.2020.e01242>
- Liu, K., & Muse, S. V. 2005. PowerMaker: An integrated analysis environment for genetic marker analysis. *Bioinformatics*, 21(9), 2128–2129.
<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bti282>
- Luo, C., He, X.H., Chen, H., Ou, S.J., & Gao, M.P. 2010. Analysis of diversity and relationships among mango cultivars using Start Codon Targeted (SCoT) markers. *Biochemical Systematics and Ecology*, 38, 1176–1184.
<https://doi.org/10.1016/j.bse.2010.11.004>
- Maizura, I., Rajanaidu, N., Zakri, A.H., & Cheah, S.C. 2006. Assessment of genetic diversity in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) using Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP). *Genetic Resources and Crop Evolution*, 53: 187–195.
<https://doi.org/10.1007/s10722-004-0587-3>
- Miah, G., Rafii, M. Y., Ismail, M. R., Puteh, A. B., Rahim, H. A., Islam, K. N., & Latif, M. A. 2013. A review of microsatellite markers and their applications in rice breeding programs to improve blast disease resistance. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(11), 22499–22528. <https://doi.org/10.3390/ijms141122499>
- Miller, J.C., & Tanksley, S.D. 1990. RFLP analysis of phylogenetic relationships and genetic variation in the genus *Lycopersicon*. *Theoretical and Applied Genetics*, 80: 437–448.
<https://doi.org/10.1007/BF00226743>
- Mir, R.R., Hiremath, P.J., Riera-Lizarazu, O., & Varshney, R.K. 2013. Evolving molecular marker technologies in plants: From RFLPs to GBS. In *Diagnostics in Plant Breeding*; Springer: Dordrecht, The Netherlands, pp. 229–247.
- Mondini, L., Arshiya, N., & Pagnotta, M.A. 2009. Assessing plant genetic diversity by molecular tools. *Diversity*, 1: 19–35. <https://doi.org/10.3390/d1010019>
- Mortazavi Moghadam, F.A., Qaderi, A., & Sharifi-Sirchi, G.R. 2021. Evaluation of genetic diversity of 17 populations (*Lepidium sativum* L.) collected from different regions of

- Iran by RAPD marker. *ACS Agric. Sci. Technol.*, 1(3): 684–690.
<https://doi.org/10.1093/nar/18.22.6531>
- Nongdam, P., & Nirmala, C. 2007. Genetic variability in four species of *Cymbidium* based on isozyme markers. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 13(1), 65–68.
- Nurhasanah, H., Hindersah, R., Suganda, T., Concibido, V., Sundari, & Karuniawan, A. 2023. The first report on the application of ISSR markers in genetic variance detection among butterfly pea (*Clitoria ternatea* L.) accession in North Maluku Province, Indonesia. *Horticulturae*, 9, 1059. <https://doi.org/10.3390/horticulturae9091059>
- Oliya, B. K., Kim, M. Y., & Lee, S. H. 2018. Development of genic-SSR markers and genetic diversity of Indian lettuce (*Lactuca indica* L.) in South Korea. *Genes & Genomics*, 40(6), 615–623. <https://doi.org/10.1007/s13258-018-0663-z>
- Park, E., Kim, J., & Lee, H. 2017. Plant DNA barcoding system for forensic application. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series*, 6, e282–e283. <https://doi.org/10.1016/j.fsigss.2017.09.222>
- Poczai, P., Varga, I., Laos, M., Cseh, A., Bell, N., Valkonen, J.P., & Hyvönen, J. 2013. Advances in plant gene-targeted and functional markers: A review. *Plant Methods*, 9(6), 1–16. <https://doi.org/10.1186/1746-4811-9-6>
- Raghavamma, S. T. V., Rao, N. R., Rao, K. R. S., & Develarao, G. 2013. Molecular identification of *Pergularia daemia* (Forssk.) Chiov. using trnL intron-trnL-F chloroplast genome. *International Journal of Applied and Pure Biological Sciences*. 2(2), 1–10. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.5081.9923>
- Rahman, A. M. A., Sabri, S. F. M., Yusuf, A., Zakaria, A., & Kumar, S. V. 2020. Chloroplast DNA sequence of trnR-N and trnL-F regions in ‘Harumanis’ Mango from different orchards in Perlis, Malaysia. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*. 932, 012028. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/932/1/012028>

- Rahman, A. M. A., Zakaria, Z., Aziz, N. A., Xuan, K. H., Rahman, K. H. A., Mohtar, J. A., Intan, S. A. S., Mokhtar, M. A. A., Gaši, F., Pilav, A., and Çakmak, E. 2024. Genetic polymorphism and cluster analyses based on the conserved DNA-derived polymorphism markers in the selected Harumanis and non-Harumanis mango varieties. *Food Research*. 8(5): 33-43. [https://doi.org/10.26656/fr.2017.8\(5\).294](https://doi.org/10.26656/fr.2017.8(5).294)
- Rahman, A. M. A., Zakaria, Z., Wahab, Z., Kumar, S. V., & Leman, N. 2018. DNA sequences of the chloroplast trnL-F locus in Harumanis mango. *AIP Conference Proceedings*, 2030(1), 020133. <https://doi.org/10.1063/1.5066774>
- Rahman, M. M., Quddus, M. R., Ali, M. O., Liu, R., Li, M., Yan, X., Li, G., Ji, Y., Hossain, M. M., Wang, C., et al. 2022. Genetic diversity of *Lathyrus* sp. collected from different geographical regions. *Molecular Biology Reports*, 49(2), 519–529. <https://doi.org/10.1007/s11033-021-07004-9>
- Ravishankar, K. V., Mani, B. H. R., Anand, L., & Dinesh, M. R. 2011. Development of new microsatellite markers from mango (*Mangifera indica*) and cross-species amplification. *American Journal of Botany*. 98(4), e96–e99. <https://doi.org/10.3732/ajb.1000263>
- Robarts, D.W., & Wolfe, A.D. 2014. Sequence-related amplified polymorphism (SRAP) markers: A potential resource for studies in plant molecular biology. *Applied Plant Science*, 2: 1400017. <https://doi.org/10.3732/apps.1400017>
- Romdhane, M. B., Riahi, L., Selmi, A., & Zoghلامي, N. 2016. Patterns of genetic structure and evidence of gene flow among Tunisian Citrus species based on informative nSSR markers. *Comptes Rendus Biologies*, 339(8-9), 371–377. <https://doi.org/10.1016/j.crv.2016.07.002>
- Rosidah, M., Faridah, H., Jamaliah, M. Y., and Norzaidi, M. D. 2010. Examining market accessibility of Malaysia's Harumanis mango in Japan: Challenges and potentials. *Business Strategy Series*, 11(1), 3–12.
- Ruiz-Chután, J.A., Salava, J., Janovská, D., Žiarovská, J., Kalousová, M., & Fernández, E. 2019. Assessment of genetic diversity in *Sorghum bicolor* using RAPD markers. *Genetika*, 51(4): 789–803. <https://doi.org/10.2298/GENSR1903789R>

- Sankar, J., Rosaiah, G., Kurapati, R. K., & Pinnamaneni, R. 2011. Molecular identification of Mango, *Mangifera indica* L. var. totupura. *Bioinformation*. 2(10), 405–409. <https://doi.org/10.6026/97320630005405>
- Satya, P., Karan, M., Jana, S., Mitra, S., Sharma, A., Karmakar, P.G., & Ray, D.P. 2015. Start codon targeted (SCoT) polymorphism reveals genetic diversity in wild and domesticated populations of ramie (*Boehmeria nivea* L. Gaudich.), a premium textile fiber producing species. *Meta Gene*, 3, 62–70 <https://doi.org/10.1016/j.mgene.2015.01.003>
- Schulman, A. H. 2007. Molecular markers to assess genetic diversity. *Euphytica*, 158, 313–321. <https://doi.org/10.1007/s10681-006-9282-5>
- Selvakumari, E., Jenifer, J., & Priyadharshini, S. 2017. Application of DNA fingerprinting for plant identification. *Journal of Academic and Industrial Research*, 5(10), 149-151.
- Shamili, M., Fatahi, R., & Hormaza, J. I. 2012. Characterization and evaluation of genetic diversity of Iranian mango (*Mangifera indica* L., Anacardiaceae) genotypes using microsatellites. *Scientia Horticulturae*. 148, 230–234. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2012.09.031>
- Shavrukov, Y.N. 2016. CAPS markers in plant biology. *Russian Journal of Genetics: Applied Research*, 6(3), 279–287. <http://dx.doi.org/10.1134/S2079059716030114>
- Singh, A.K., Rana, M.K., Singh, S., Kumar, S., Kumar, R., & Singh, R. 2014. CAAT box-derived polymorphism (CBDP): A novel promoter-targeted molecular marker for plants. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*, 23: 175–183. <https://doi.org/10.1007/s13562-014-0232-2>
- Taberlet, P., Gielly, L., Pautou, G., & Bouvet, J. 1991. Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. *Plant Molecular Biology*, 17(1), 1105–1109. <https://doi.org/10.1007/BF00009504>

- Tautz, D. 1989. Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. *Nucleic Acids Research*, 17(16), 6463–6471. <https://doi.org/10.1093/nar/17.16.6463>
- Tomar, P., & Malik, C.P. 2016. Genetic diversity assessment in *Trachyspermum ammi* L. Sprague using CDDP and CBDP markers. *Journal of Plant Science Research*, 32: 27.
- Trisnaningsih, U., Suwanto, S., Suprayogi, S., and Sakhidin, S. 2022. Mango types evaluation in fruit flies attack rate (*Bactrocera dorsalis*) at mango production centers in three districts of West Java Province. *Technium Biochemical Medicine*. 3(4): 7590. <https://doi.org/10.47577/biochemmed.v3i4.7590>
- Tsai, C.-C., Chen, Y.-K. H., Chen, W., Weng, I. S., Tsai, C. M., & Lee, S. R. 2013. Cultivar identification and genetic relationship of mango (*Mangifera indica*) in Taiwan using 37 SSR markers. *Scientia Horticulturae*. 164, 196–201. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2013.09.037>
- Varshney, R. K., Graner, A., & Sorrells, M. E. 2005. Genic microsatellite markers in plants: Features and applications. *Trends in Biotechnology*. 23(1), 48–55. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2004.11.005>
- Viruel, M. A., Escribano, P., Barbieri, M., Ferri, M., & Hormaza, J. I. 2005. Fingerprinting, embryo type, and geographic differentiation in mango (*Mangifera indica* L., Anacardiaceae) with microsatellites. *Molecular Breeding*. 15(4), 383–393. <http://dx.doi.org/10.1007/s11032-004-7982-x>
- Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., Van de Lee, T., Hornes, M., Friters, A., Pot, J., Paleman, J., Kuiper, M., & et al. 1995. AFLP: A new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research*, 23: 4407–4414. <https://doi.org/10.1093/nar/23.21.4407>
- Williams, J.G., Kubelik, A.R., Livak, K.J., Rafalski, J.A., & Tingey, S.V. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research*, 18, 6531–6535.

- Yang, S., Zhong, Q., Tian, J., Wang, L., Zhao, M., Li, L., & Sun, X. 2018. Characterization and development of EST-SSR markers to study the genetic diversity and populations' analysis of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.). *Genes & Genomics*, 40(9), 1023–1032. <https://doi.org/10.1007/s13258-018-1040-7>
- Yang, Y. C., Kung, T. L., Hu, C. Y., & Lin, S. F. 2015. Development of primer pairs from diverse chloroplast genomes for use in plant phylogenetic research. *Genetics and Molecular Research*, 14(4), 14857–14870. <https://doi.org/10.4238/2015.November.18.51>
- Yusuf, A., Rahman, A.M.A., Zakaria, Z. and Wahab, Z. 2018a. Assessment of variations in selected industrially desirable morphological and biochemical traits of 'Harumanis' from different population across Perlis. *AIP Conference Proceedings* 2030(1), 020248. <https://doi.org/10.1063/1.5066889>
- Yusuf, A., Rahman, A.M.A., Zakaria, Z., Wahab, Z. and Kumar, S.V. 2018b. Assessment of variability pattern of flesh color in 'Harumanis' mango (*Mangifera indica* L.) from diverse Perlis geographical origin. *Food Research*, 2(6), 564-571. [https://doi.org/10.26656/fr.2017.2\(6\).108](https://doi.org/10.26656/fr.2017.2(6).108)
- Yusuf, A., Abdul Rahman, A. M., Zakaria, Z., Subbiah, V. K., & Mokhtar, M. A. A. 2019. Polymorphism information content and heterozygosity values of simple sequence repeat markers in 'Harumanis' and other mango cultivars. *Transactions of Persatuan Genetik Malaysia*, 10, 25-30.
- Yusuf, A., Rahman, A.M.A., Zakaria, Z., Masnan, M.J. and Wahab, Z. 2020. Morphological Variability Identification of Harumanis Mango (*Mangifera Indica* L.) Across Different Geographical Region of Perlis and Tree Age. *Tropical Life Science Research Journal*, 31(2), 107-143. <https://doi.org/10.21315/tlsr2020.31.2.6>
- Zakaria, S. R., Saim, N., Osman, R., Haiyee, Z. A., and Juahir, H. 2018. Combination of sensory, chromatographic, and chemometrics analysis of volatile organic compounds for the discrimination of authentic and unauthentic Harumanis mangoes. *Molecules*, 23(9): 2365. <https://doi.org/10.3390/molecules23092365>

- Zarei, A., & Erfani-Moghadam, J. 2021. SCoT markers provide insight into the genetic diversity, population structure, and phylogenetic relationships among three *Pistacia* species of Iran. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 68(7), 1625–1643. <https://doi.org/10.1007/s10722-021-01140-8>
- Zhang, J., Xie, W., Wang, Y., & Zhao, X. 2015. Potential of start codon targeted (SCoT) markers to estimate genetic diversity and relationships among Chinese *Elymus sibiricus* accessions. *Molecules*, 20, 5987–6001. <https://doi.org/10.3390/molecules20045987>
- Zheng, Y., Xu, S., Liu, J., Zhao, Y., & Liu, J. 2017. Genetic diversity and population structure of Chinese natural bermudagrass [*Cynodon dactylon* (L.) Pers.] germplasm based on SRAP markers. *PLoS ONE*, 12: e0177508. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0177508>
- Zhou, L., Yarra, R., Cao, H., & Zhao, Z. 2021. Sequence-Related Amplified Polymorphism (SRAP) markers based genetic diversity and population structure analysis of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). *Tropical Plant Biology*, 14: 63–71. <https://doi.org/10.1007/s12042-020-09273-0>
- Zhou, Y., Wang, X., & Zhang, X. 2011. Development and application of a SRAP marker for the identification of sex in *Buchloe dactyloides*. *Euphytica*, 181: 261–266. <https://doi.org/10.1007/s10681-011-0419-9>