

Variasi Genetik Itik Bayang Berbasis Marka Mikrosatelit Pada Lokus AY287 dan Lokus AY283

Rusfidra¹⁾, Y. Heryandi¹⁾, Jamsari²⁾, dan E. Y. Rahman³⁾

¹⁾Program Studi Peternakan, Fakultas Peternakan Universitas Andalas, Padang

²⁾Laboratorium Bioteknologi Fakultas Pertanian Universitas Andalas, Padang

³⁾Program Pascasarjana Universitas Andalas, Padang

Email: rusfidra@gmail.com

ABSTRAK

Provinsi Sumatera Barat memiliki sumber daya genetik ternak itik yang potensial sebagai penghasil daging dan telur, salah satunya itik Bayang. Itik Bayang merupakan plasma nutfah ternak yang pada tahun 2012 ditetapkan Kementerian Pertanian sebagai rumpun ternak nasional. Marka mikrosatelit banyak digunakan sebagai penciri genetik karena keberadaannya berlimpah, bersifat kodominan dan polimorfik. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui variasi genetik itik Bayang berdasarkan marka mikrosatelit lokus AY287 dan AY283. Material DNA yang digunakan adalah sampel darah dari 24 ekor itik Bayang di Kabupaten Pesisir Selatan. Hasil isolasi DNA dari 24 sampel darah itik Bayang dapat dideteksi oleh gel elektroforesis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa lokus AY287 menghasilkan 6 alel yakni alel A (108 bp), alel B (142 bp), alel C (183 bp), alel D (227 bp), alel E (272 bp) dan alel F (340 bp). Alel E dan alel F merupakan alel spesifik dan dapat digunakan sebagai penciri khusus itik Bayang. Frekuensi alel itik Bayang pada lokus AY287 adalah alel C (26,93%), alel D (19,24%), alel A (15,38%), alel B (15,38%), alel E (15,38%) dan alel F (7,69%). Lokus AY283 menampilkan 6 alel, yakni alel A (230 bp), alel B (320 bp), alel C (345 bp), alel D (390 bp), alel E (450 bp) dan alel F (500 bp). Frekuensi alel berturut-turut adalah alel B (20,51%), alel D (20,51%), alel E (20,51%), alel A (15,39%), alel C (15,39%), dan alel F (7,69%). Hasil amplifikasi menunjukkan bahwa jumlah alel pada lokus AY287 dan AY283 bersifat polimorfik pada itik Bayang.

Kata kunci: itik Bayang, mikrosatelit, AY287, AY283

Genetic Variation of Bayang Duck Based on Microsatellite Marker on AY287 and AY283 Loci

ABSTRACT

West Sumatera Province has poultry genetic resource of local duck that potential in supply eggs and duck meat. Bayang duck was set by Indonesian Agricultural Ministry in 2012 as national livestock breeds in Indonesia. Microsatellite markers are widely used as a genetic identifier because of their abundant existence, co-dominant and high polymorphic. The purpose of this study was to determine the genetic diversity of Bayang ducks based on two microsatellite loci which include AY287 and AY283. DNA substances used in the study were blood samples from 24 Bayang duck in Pesisir Selatan Regency. The isolated DNA genom from 24 blood samples of Bayang duck could be detected by gel electrophoresis. Results showed that AY287 locus has 6 alleles; allele A (108 bp), allele B (142 bp), allele C (183 bp), allele D (227 bp), allele E (272 bp) and allele F (340 bp). Both allele E and F were specific genetic markers of Bayang duck. Alleles frequencies of the AY287 locus were as follow: allele C (26,93%), allele D (19,24%), allele A (15,38%), allele B (15,38%), allele E (15,38%) and allele F (7,69%). The AY283 locus has 6 alleles consisted of allele A (230 bp), allele B (320 bp), allele C (345 bp), allele D (390 bp), allele E (450 bp) and allele F (500 bp). Allele frequencies of this marker were allele B (20,51%), allele D (20,51%), allele E (20,51%), allele A (15,39%), allele C (15,39%), and allele F (7,69%), respectively. Our finding suggest that two microsatellite markers, AY287 and AY283, were polymorphic in Bayang duck population.

Key words: Bayang duck, microsatellite, AY283, AY287

PENDAHULUAN

Itik Bayang merupakan plasma nutfah ternak itik di Provinsi Sumatera Barat yang pada tahun 2012 ditetapkan Kementerian Pertanian sebagai rumpun ternak nasional. Rusfidra dan Heryandi (2010); Rusfidra *et. al.* (2012); Kusnadi dan Rahim (2009) menyatakan bahwa itik Bayang merupakan itik Lokal yang dipelihara petani di Kabupaten Pesisir Selatan dan sangat potensial dikembangkan sebagai penghasil daging dan telur.

Keragaman genetik sangat diperlukan dalam upaya pemuliaan ternak, karena dengan diketahuinya keragaman genetik ternak dimungkinkan untuk membentuk bangsa ternak baru melalui seleksi dan sistem perkawinan (Tixier-Boichard *et.al.* 2009). Ismoyowanti dan Purwantini (2010) menyatakan bahwa identifikasi dan karakterisasi populasi itik lokal sangat penting dilakukan untuk identifikasi plasma nutfah dan pengembangan program pemuliaan.

Sampai kini karakterisasi marka molekuler itik Bayang belum banyak dilakukan. Salah satu pendekatan yang dapat dilakukan adalah mengetahui keragaman genetik itik Bayang berbasis marka mikrosatelit. DNA bukan gen yang berulang secara berurutan disebut mikrosatelit. Mikrosatelit atau *Short Tandem Repeats* (STRs) merupakan untaian basa nukleotida 1 - 6 pasang basa yang berulang dan tersebar di dalam genom (Clementino *et.al.* 2010).

Mikrosatelit merupakan penanda genetik yang banyak digunakan untuk mempelajari pautan (*linkage*), pemetaan, analisis populasi, sistem perkawinan dan struktur populasi (Silva *et. al.*, 1999). Mikrosatelit banyak digunakan sebagai penciri genetik karena keberadaannya berlimpah, bersifat kodominan dan kemungkinan polimorfik tinggi (Bennet, 2000). Mikrosatelit juga dapat digunakan dalam keperluan identifikasi individu, keanekaragaman dan struktur populasi, atau mempelajari evolusi dari spesies yang berkerabat (Clisson *et al.*, 2000). Ciampolini

et al. (1995) menyatakan bahwa DNA mikrosatelit banyak digunakan sebagai penanda molekuler untuk mendukung aktifitas pemuliaan ternak seperti kegiatan identifikasi ternak, penetapan asal-usul keturunan dan penggalian sumber-sumber genetik.

Variasi alel mikrosatelit dapat dihitung melalui pemisahan produk PCR secara elektroforesis. Dengan mengidentifikasi pita yang muncul setelah elektroforesis (satu pita untuk homozigot dan dua pita untuk heterozigot) maka genotip suatu individu dapat ditentukan dan frekuensi alel dalam suatu populasi dapat dihitung (Muladno, 2000). Beberapa studi menunjukkan sekuen berulang DNA (mikrosatelit) dapat digunakan untuk mengidentifikasi asal usul individu dari suatu populasi (Edwards *et. al.*, 2000).

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi variasi genetik itik Bayang berdasarkan marka mikrosatelit lokus AY283 dan AY287. Hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai dasar program pemuliaan itik Bayang di Sumatera Barat dengan menggunakan penciri DNA mikrosatelit sebagai *marker assisted selection*.

MATERI DAN METODE

Populasi Ternak dan Pengambilan Sampel Darah

Material DNA yang digunakan untuk marka mikrosatelit adalah sampel darah 12 ekor itik Bayang yang dipelihara peternak di Kecamatan Bayang dan 12 ekor itik Bayang di Kecamatan Lengayang, Kabupaten Pesisir Selatan, Sumatera Barat. Darah diambil dengan menggunakan jarum suntik 0,5 ml. Sampel darah diambil melalui *vena akselaris* pada bagian sayap sebanyak 0,3 ml, kemudian dimasukkan ke dalam tabung *venoject* dan dikocok membentuk angka 8 dan disimpan dalam lemari es untuk mencegah pembekuan darah.

Tabel 1. Primer yang digunakan dalam penelitian molekuler itik Bayang.

Lokus	Sekuen primer	Suhu <i>Annealing</i> (°C)	Ukuran Alel (bp)	Sumber
AY283	GACCACAACATCGTGCAGAG GATAATGGCTGGCTCCTTGA	50,9	211-371	Su <i>et. al</i> (2007)
AY287	TGCAGGTAGGTCTTCTGTTCTG GCCAGTCCTTTGCTTCGTAA	60,8	154-295	Su <i>et. al</i> (2007)

Isolasi dan Purifikasi DNA

Isolasi DNA dilakukan menggunakan metoda Sambrook *et. al.*, (1989) dengan modifikasi dengan menggunakan purifikasi DNA kit produksi Promega. Isolasi DNA diawali dengan pengambilan 100 µl sampel darah di campur dengan 300 µl larutan sel lysis dan 8 µl proteinase K dalam tabung sentrifus steril ukuran 1,5 ml, dengan cara membolak-balik tabung sebanyak 5-6 kali. Larutan yang telah tercampur diinkubasi pada suhu 65°C selama 1 jam. Kemudian lakukan sentrifus dengan kecepatan 15.000 rpm selama 1 menit. Selanjutnya supernatan dibuang dan peletnya ditinggalkan. Proses isolasi diulangi 4 sebanyak 3 kali. Pelet yang tersisa divortex sampai larut. Kemudian tambahkan 300 µl larutan *nuclei lysis*, kemudian dipipet cairan *up-down* sampai larutan bersifat *viscous*. Kemudian tambahkan *protein precipitation* sebanyak 200 µl dan akan terbentuk endapan yang berwarna keruh. Selanjutnya larutan tersebut disentrifus dengan kecepatan 15.000 rpm selama 3 menit, sehingga terbentuk dua bagian, yakni pellet dan supernatan. Supernatan diambil dan ditransfer ke dalam tabung sentrifus baru yang steril (ukuran 1,5 ml) dan ditambah dengan isopropanol sebanyak 300 µl.

Supernatan yang telah dicampur tersebut disentrifus dengan kecepatan 15.000 rpm selama 1 menit. Supernatant dibuang dan pellet dicuci dengan etanol 70% dingin sebanyak 500 µl. Pellet disentrifus dengan kecepatan 10.000 rpm selama 5 menit. Etanol lalu dibuang dengan pipet, kemudian tabung dibalik dan dikeringkan di atas tisu pada suhu ruang selama 10-15 menit. Pellet

yang telah dikeringkan ditambah dengan larutan DNA re-hidrasi 50 – 100 µl, kemudian tabung *di-typing* hingga pellet menjadi larut. Hasil isolasi tersebut diuji dengan menggunakan elektroforesis dengan campuran 4 µl 1xTE, 1 µl BPB, 2 µl DNA dan 2 µl λ- DNA *ladder* dengan menggunakan 1% agarose pada tegangan 100 volt selama 60 menit.

Amplifikasi DNA Mikrosatelit dengan Polymerase Chain Reaction (PCR)

Reaksi PCR dilakukan menurut metode Sambrook *et.al.* (1989). Komposisi larutan untuk runing PCR terdiri dari *Go Taq Green* 12,5 µl + 7,5 µl ddH₂O + 3 µl DNA sampel + 2 µl primer F dan R. Primer yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan primer yang telah dilaporkan Su *et.al.* (2007) (Tabel 1). Suhu *annealing* disesuaikan dengan suhu *annealing* masing-masing primer, yakni primer AY287 (60,8 °C) dan primer AY283 (50,9 °C). Proses amplifikasi DNA berlangsung selama 2 jam 20 menit. DNA hasil amplifikasi lalu dielektroforesis bersama 1 kb DNA *ladder* dengan menggunakan 1,5% agarose pada tegangan 100 Volt selama 90 menit. Hasil elektroforesis diamati dengan *UV transiluminator*. Pola pita DNA dipotret dengan unit gel dokumentasi.

Penentuan Posisi Pita DNA Mikrosatelit

Jika terdapat dua pita maka sampel tersebut bersifat heterozigot dan jika terdapat satu pita maka bersifat homozigot. Untuk memudahkan skoring pita yang paling

bawah diberi sandi A dan selanjutnya B, C, dan seterusnya sampai pita paling atas. Semua pita yang memiliki laju sama merupakan alel yang homolog (Nei, 1987).

Analisis Data

Frekuensi Alel

Frekuensi alel lokus AY287 dan AY283 dihitung menurut Nei dan Kumar (2000):

$$x_i = (2n_{ij} + \sum n_{ij}) / (2N)$$

Keterangan :

$j \neq 1$

x_i = frekuensi alel ke-i

n_{ij} = jumlah individu untuk genotip ij

N = jumlah sampel

Frekuensi Genotipe

Frekuensi Genotipe ditentukan dengan cara membagi jumlah sampel itik Bayang yang memiliki genotipe tertentu dengan seluruh jumlah itik Bayang yang diamati dan dihitung menurut Nei dan Kumar (2000):

$$x_i = \sum n_i / N$$

Keterangan :

x_i = frekuensi genotipe ke-i

n_i = jumlah individu bergenotipe i

N = jumlah individu sampel

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi DNA Genom dan Reaksi PCR

Amplifikasi DNA mikrosatelit pada itik Bayang dianalisis dengan menggunakan dua lokus, yaitu: AY287 dan AY283 (Su *et al.*, 2007). Amplifikasi PCR pada kedua lokus dapat mengamplifikasi 24 sampel itik Bayang. Penggunaan kedua lokus tersebut karena memiliki keragaman yang tinggi. Alel ditentukan oleh variasi pita DNA yang muncul pada gel agarose. Alel merupakan sekuen DNA yang berbeda pada lokus yang sama. Perbedaan yang muncul dianggap sebagai alel berbeda. Pola elektroforesis lokus AY287 dan AY283 dapat dilihat pada Gambar 1 dan 2.

Lokus AY287

Hasil penelitian menunjukkan bahwa lokus AY287 menampilkan 6 alel, yakni alel A (108 bp), alel B (142 bp), alel C (183 bp), alel D (227 bp), alel E (272 bp) dan alel F (340 bp). Ukuran alel berkisar dari 108 – 340 bp. Jumlah alel yang diperoleh pada itik Bayang lebih rendah dari itik China dengan jumlah 15 alel dengan ukuran alel 154-294 bp (Su *et al.*, 2007). Ismoyowati dan Purwantini (2010) melaporkan bahwa variasi genetik pada dua bangsa itik Lokal Indonesia, yaitu itik Alabio dan Bali adalah bersifat polimorfik dengan jumlah alel 2-3 dan ukuran alel 100-500 bp. Sementara itu studi variasi genetik pada itik Tegal, Magelang dan Bali berbasis mikrosatelit pada lokus ADL-115, ADL-209, ADL-231, ADH-23, ADH-24 dan ADH-09 dilaporkan oleh Ismoyowati dan Purwanti (2011) bersifat polimorfik, dengan jumlah alel 5-7 dengan ukuran alel 80-760 bp.

Variasi dari 6 alel yang dihasilkan pada lokus AY287 menunjukkan bahwa alel E dan alel F diduga merupakan alel spesifik yang hanya ditemui pada itik Bayang yang berasal dari Kecamatan Bayang dan tidak ditemukan pada itik Bayang di Kecamatan Lengayang. Alel E dan alel F dapat digunakan sebagai penciri khas itik Bayang di Kecamatan Bayang. Jumlah dan ukuran alel pada lokus AY287 dapat dilihat pada Gambar 1.

Frekuensi alel itik Bayang pada lokus AY287 berturut-turut adalah alel C (26,93%), alel D (19,24%), alel A (15,38%), alel B (15,38%), alel E (15,38%) dan alel F (7,69%). Frekuensi alel dan genotype dapat dilihat pada Tabel 2.

Lokus AY283

Hasil penelitian menunjukkan bahwa lokus AY283 menampilkan 6 alel, yakni alel A (230 bp), alel B (320 bp), alel C (345 bp), alel D (390 bp), alel E (450 bp) dan alel F (500 bp). Ukuran alel adalah 230 – 500 bp. Jumlah alel yang diperoleh pada penelitian ini lebih kecil dibandingkan jumlah alel pada itik China yang dilaporkan Su *et al.*, (2007)

Tabel 2. Jenis dan ukuran alel pada itik Bayang

Lokus	Jumlah Alel	Populasi Sampel	Genotip	Frekuensi Genotip (%)	Alel dan Ukuran (bp)	Frekuensi Alel (%)
AY287	6	24	AA (2)	8,33	A (108)	15,38
			BC (2)	8,33	B (142)	15,38
			BD (1)	4,17	C (183)	26,93
			CC (7)	29,17	D (227)	19,24
			DD (2)	8,33	E (272)	15,38
			EE (2)	8,33	F (340)	7,69
			EF (2)	8,33		
			ABC (1)	4,17		
			ACD (1)	4,17		
			BCD (2)	8,33		
			CEF (2)	8,33		
AY283	6	24	CD (3)	12,5	A (230)	15,39
			DE (1)	4,17	B (320)	20,51
			ACD (1)	4,17	C (345)	15,39
			AB (2)	8,33	D (390)	20,51
			EE (1)	4,17	E (450)	20,51
			DE (1)	12,5	F (500)	7,69
			BB (1)	8,33		
			BF (1)	4,17		
			BE (1)	4,17		
			EF (1)	4,17		
			AC (1)	4,17		
			BC (5)	4,17		
			AA (1)	4,17		
			AD (1)	20,83		
			BCD (1)	4,17		
			CDE (1)	4,17		
			BDEF (1)	4,17		

Tabel 3. Derajat Heterozigositas itik Bayang

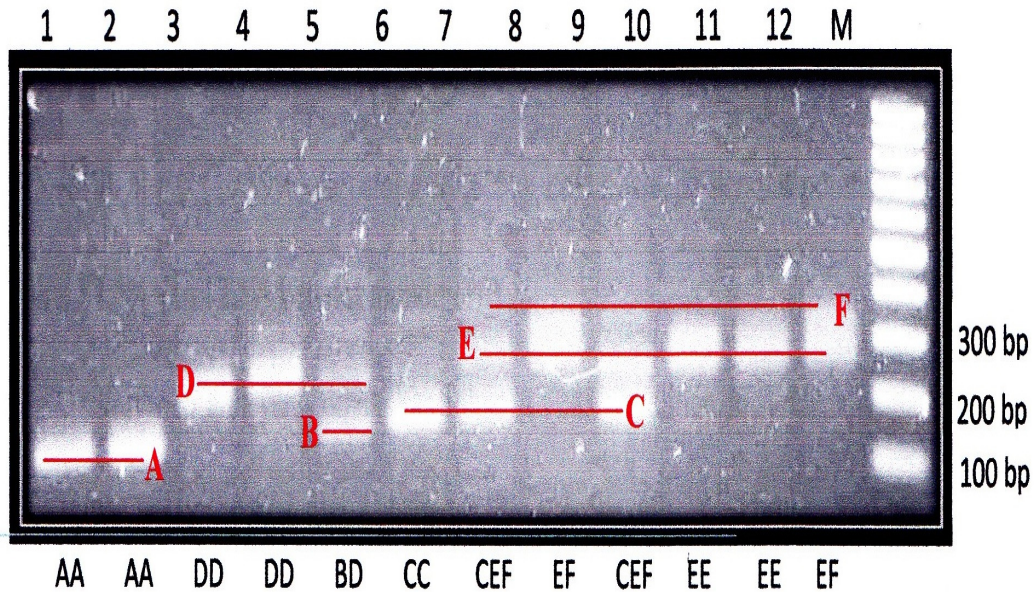
Lokus	Derajat Heterozygosis (\hat{h})
AY287	0,591
AY283	0,750
Rataan Heterozygosis (\hat{H})	0,671

pada lokus AY283 sebesar 17 alel dengan ukuran alel 211 - 371 bp.

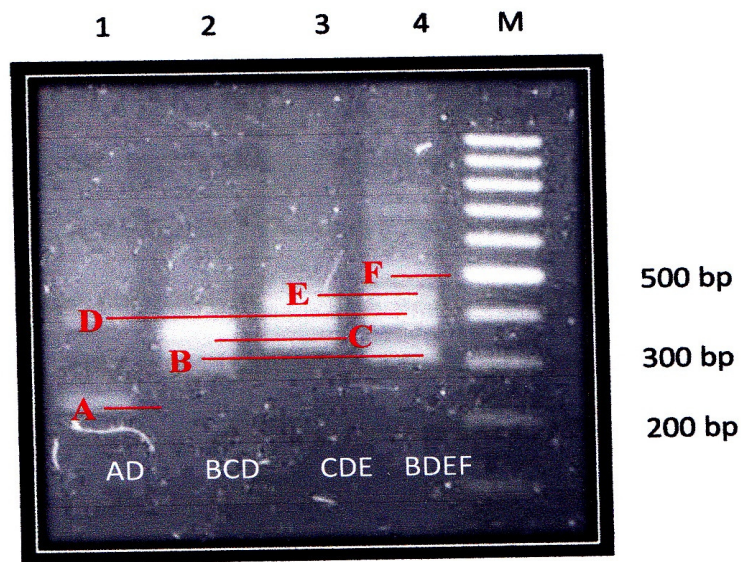
Frekuensi alel berturut-turut adalah alel B (20,51%), alel D (20,51%), alel E (20,51%), alel A (15,39%), alel C (15,39%), dan alel F (7,69%). Lokus AY283 bersifat polimorfik sebesar 87,5% dan monomorfik sebesar 12,5%. Lokus AY283 tidak memiliki alel spesifik sebagai penciri khas itik Bayang dari dua Kecamatan yang berbeda di Kabupaten Pesisir Selatan.

Derajat Heterozigositas

Nilai heterozigositas lokus AY283 ($\hat{h}=0,750$) lebih tinggi dari nilai heterozigositas lokus AY287 ($\hat{h}=0,591$). Nei (1987) menyatakan bahwa nilai heterozigositas (\hat{h}) merupakan indikator paling akurat untuk mengukur variasi genetik. Derajat heterozigositas dapat diperoleh dari rata-rata persentase lokus heterozigot tiap individu atau rata-rata persentase individu heterozigot di dalam populasi (Nei dan Kumar, 2000).



Gambar 1. Pola pita lokus AY287



Gambar 2. Pola pita lokus AY283

Nilai rata-rata heterozigositas pada penelitian ini yaitu rata-rata heterozigositas berdasarkan lokus yang berbeda. Rataan heterozigositas dipengaruhi oleh ukuran populasi dan jumlah lokus yang dianalisis dan untuk menduga rata-rata heterozigositas pada suatu lokus minimal membutuhkan 20-30 sampel (Nei, 1987). Derajat heterozigositas itik pada Lokus AY287 dan AY283 dapat dilihat pada Tabel 3.

Nilai rata-rata heterozigositas lokus adalah sebesar 0,671. Rendahnya nilai rata-rata heterozigositas pada penelitian ini diduga disebabkan karena jumlah lokus yang digunakan hanya 2 lokus yaitu AY287 dan AY283 serta jumlah sampel yang terbatas ($n=24$ ekor). Nei dan Kumar (2000) menyatakan bahwa nilai heterozigositas ditentukan oleh jumlah sampel, jumlah dan nilai frekuensi alel.

SIMPULAN DAN SARAN

Marka molekuler itik Bayang pada lokus AY287 dan AY283 bersifat polimorfik. Lokus AY287 menampilkan 6 alel, yakni alel A (108 bp), alel B (142 bp), alel C (183 bp), alel D (227 bp), alel E (272 bp) dan alel F (340 bp). Lokus AY283 menampilkan 6 alel, yakni alel A (230 bp), alel B (320 bp), alel C (345 bp), alel D (390 bp), alel E (450 bp) dan alel F (500 bp).

Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk menentukan keragaman itik Bayang dengan jumlah sampel dan lokus yang lebih banyak, sehingga hasil yang diperoleh akan lebih akurat. Selain itu, identifikasi keragaman itik Bayang dapat dilakukan dengan penciri DNA lainnya seperti teknik PCR-RFLP dan PCR-SSCP.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada DP2M Ditjen Pendidikan Tinggi atas bantuan biaya penelitian dalam Skim Hibah Strategis Nasional pada Tahun 2010 dengan judul penelitian “*Inventarisasi, Karakterisasi dan Konservasi Sumber Daya Genetik Itik Lokal Sumatera Barat*”.

DAFTAR PUSTAKA

- Bennet, P. 2000. Microsatellites. *J Clin Pathol.* 53:177-183.
- Ciampolini, R., K. M. Goudarzi., D. Vaiman., C. Dilman, E. Mazzanti, J.L. Fouley, H. Leveziel and D. Cianci. 1995. Individual multilocus genotypes using microsatellites polymorphism to permit the analysis of the genetic variability within and between Italian beef cattle. *J Anim Sci.* 73: 3259-3268.
- Clementino, C.S., F.J.V. Barbosa., A.M.F. Calvallo., R.A.R. Costa-Filho., G.R. Silva., E.G. Campelo., F.B. Britto and F.M. Diniz. 2010. Microsatellite DNA loci for population studies in Brazilian chicken ecotypes. *International. J Poultry Sci.* 9 (12): 100-106.
- Clisson, I., M. Lathuilliere and B. Croau-Roy. 2000. Conservation and evolution microsatellite loci in primate taxa. *Am J Prim.* 50: 205-214.
- Edwards, C.J., C. Gailard., D. G. Bradley and D. E. Machugh. 2000. Y-specific microsatellite polymorphism in a range of bovine species. *Anim Genet.* 31: 127-130.
- Ismoyowati and D. Purwantini. 2010. An estimation of genetic variation of Indonesian Local duck using microsatellite marker. *Asian J Poultry Sci.* 4 (4): 198-204.
- Ismoyowati and D. Purwantini. 2011. Genetic variability of Bali and Alabio duck on the basis of phenotypic and microsatellite. *Asian J Poultry Sci.* 5 (3): 107-115.
- Kusnadi, E and F. Rahim. 2009. Effect of floor density and feeding system on the weight of bursa of fabricius and spleen as well as the plasma triiodothyronine level of *Bayang* duck. *Pakistan J Nut.* 8 (11): 1743-1746.
- Muladno., R. R. Noor and B. Tappa. 2000. The genomic mapping of Bali cattle: Early strategy and an effort to production of “tandemly repeated sequence” and “intersperse repetitive sequence” as DNA marker. Report of Integrated Competitive Research Grand Program VI (1997-1999). National Research Council, Ministry of Research and Technology.
- Nei, M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics.* Columbia University Press. New York.
- Nei, M. and S. Kumar. 2000. *Molecular Evolutionary and Phylogenetics.* Oxford University Press, New York.
- Rusfidra, M. H. Abbas dan R. Yalti. 2012. Struktur populasi, ukuran populasi efektif dan laju inbreeding per generasi itik Bayang. *Prosiding Seminar Nasional Peternakan Berkelanjutan IV.* Bandung: Fakultas Peternakan Universitas Padjajaran. ISBN: 978-602-95808-6-2.
- Rusfidra dan Y. Heryandi, 2010. *Inventarisasi, karakterisasi dan konservasi sumber daya genetik itik Lokal Sumatera Barat.* Laporan Penelitian Hibah Strategis Nasional Tahun 2010.
- Sambrook, J., E. Fritsch and T. Maniatis. 1989. *Molecular Cloning; Laboratory Manual.* 2nd Edition. Cold Spring Harbor Laboratory Press.

- Silva, F., L. Gusmao and A. Amorim. 1999. Segregation analysis of tetra and penta nucleotide short tandem repeat polymorphism: Deviation from mendelian expectation. *Electrophoresis*, 20: 1697-1701.
- Su, Y., R. Long., G. Chen., X. Wu., K. Xie and J. Wan. 2007. Genetic analysis of six endangered local duck population in China based on microsatellite marker. *J Genet and Genom.* 34(11): 1010-1018
- Tixier-Boichard, M, A. Bordas and X. Rognon. 2009. Characterisation and monitoring of poultry genetic resources. *World's Poult Sci.* 65: 272-285.