



Variasi Genetik Lobster Hijau Pasir (*Panulirus homarus* L.) Di Teluk Bumbang Pulau Lombok Berdasarkan Penanda *Inter Simple Sequence Repeats* (ISSR)

Yudha Perdana Putra^{1*}, Niken Satuti Nur Handayani²

¹ Jurusan Ilmu Kelautan dan Perikanan Politeknik Negeri Pontianak

² Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada

*Correspondence email: *Yudha Perdana Putra*
✉ yudhaperdanaputra@gmail.com

Received: 18 September 2018- Accepted: 30 October 2018

Published: 31 October 2018 © Author(s) 2018. This article is open access

Abstract: *Panulirus homarus* merupakan salah satu jenis lobster yang memiliki nilai ekonomis tinggi dan paling banyak ditangkap serta dibudidayakan di wilayah perairan Teluk Bumbang Pulau Lombok. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui variasi genetik *P. homarus* di Teluk Bumbang dengan menggunakan penanda *Inter-Simple Sequence Repeats* (ISSR). Amplifikasi DNA dilakukan dengan metode PCR-ISSR menggunakan primer ISSR1 dan ISSR3. Analisis data dilakukan dengan metode UPGMA untuk menkonstruksi dendrogram. Karakter morfologi berupa rasio lebar/panjang tubuh dan pola warna tidak menunjukkan perbedaan signifikan antara individu. Total lokus polimorfik yang teramplifikasi sebanyak 16 *loci* dengan rata-rata persentase polimorfisme sebesar 64%. Dendrogram menunjukkan hubungan fenetik antara individu yang relatif tinggi. Rata-rata nilai similaritas karakter genetik daerah ISSR *P. homarus* di Teluk Bumbang sebesar 61,6%.

Keywords: *Panulirus homarus*, Teluk Bumbang, variasi genetik, ISSR, hubungan fenetik

1. Pendahuluan

Lobster laut merupakan salah satu sumber daya hayati kelautan yang penting, yang memiliki nilai ekonomis tinggi sehingga banyak dicari dan ditangkap secara global. Pada perairan Indonesia jenis lobster yang umum ditemukan adalah anggota dari Famili Palinuridae, khususnya dari yaitu Genus *Panulirus*. Perairan Indonesia merupakan habitat bagi 6 jenis lobster bernilai ekonomis tinggi, yaitu *Panulirus homarus*, *P. longipes*, *P. ornatus*, *P. penicillatus*, *P. polyphagus*,

dan *P. versicolor* (Girsanget *et al.*, 2007; Priyambodo and Sarifin, 2009). Pusat wilayah penangkapan dan budidaya jenis lobster ini meliputi perairan Pulau Sumatera, Jawa, Sulawesi, Bali, dan Lombok.

Pulau Lombok merupakan pionir dalam budidaya lobster di wilayah Indonesia Timur yang telah dimulai pada tahun 2000. Produksi lobster di Pulau Lombok dari sektor budidaya diperhitungkan mencapai sekitar 12,5 ton pada tahun 2008 (Priyambodo and Sarifin, 2009). Dari total produksi pada tahun

2008, sektor budidaya hanya menyumbang sebesar 3% (Priyambodo *et al.*, 2011). Dengan demikian berarti total produksi lobster di Pulau Lombok mencapai sekitar 417 ton per tahunnya. Salah satu lokasi penangkapan dan pembudidayaan lobster di perairan selatan Pulau Lombok yang sedang dikembangkan adalah di Teluk Bumbang yang terletak bersebelahan dengan Teluk Gerupuk, yang selama ini cukup dikenal sebagai salah satu pusat penghasil lobster di Pulau Lombok. Salah satu jenis lobster yang menjadi komoditas utama di Teluk Bumbang adalah lobster hijau pasir (*P. homarus*).

Penangkapan *P. homarus* dilakukan terhadap individu dewasa maupun individu yang masih dalam tahap juvenil ataupun puerulus. Individu dalam tahapan juvenil dan puerulus dibudidayakan dengan cara pembesaran menggunakan keramba apung. Jumlah tangkapan yang tinggi dan penangkapan non-selektif dikhawatirkan akan mengarah pada *overfishing* yang akan mempengaruhi stabilitas populasi *P. homarus* di perairan Pulau Lombok pada umumnya, dan khususnya perairan Teluk Bumbang. Dengan demikian perlu dilakukan usaha pengelolaan penangkapan dan pengembangan budidaya lobster untuk menjaga stabilitas populasi *P. homarus* di alam. Untuk itu perlu diketahui berbagai informasi mengenai populasi *P. Homarus* di Teluk Bumbang, khususnya informasi mengenai genotipenya. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian mengenai aspek molekular lobster untuk mengetahui variasi genetik *P. homarus* di Teluk Bumbang yang dapat bermanfaat untuk menganalisis struktur genetik dalam populasi, pengelolaan stok, dan pengembangan budidaya lobster di lokasi tersebut.

Variasi genetik lobster dapat dianalisis dengan menggunakan teknik penanda molekular untuk mendeteksi adanya variasi genetik antar populasi maupun antar individu di dalam populasi. Salah satu jenis penanda molekular yang dapat digunakan adalah penanda *Inter-Simple Sequence Repeats* (ISSR). Menurut Spooner *et al.* (2005), ISSR merupakan fragmen DNA berukuran antara 100-3000 bp yang terletak diantara 2 region mikrosatelit yang memiliki sekuen dengan orientasi berlawanan. Keuntungan dari penggunaan penanda ISSR yaitu tidak memerlukan informasi mengenai sekuen ISSR yang akan diamplifikasi, hanya memerlukan sampel DNA dalam jumlah sedikit, dan ISSR

terdistribusi secara acak di banyak *loci* dalam genom sehingga dapat dihasilkan banyak fragmen ISSR dengan ukuran yang berbeda. Penanda ISSR telah berhasil digunakan sebagai alat untuk mendeteksi variasi genetik dalam populasi beberapa spesies Crustacea, seperti lobster air tawar dan kepiting (Schulz *et al.*, 2004; Britto *et al.*, 2011). Penanda ISSR sendiri belum pernah dilaporkan digunakan untuk mendeteksi variasi genetik spesies *P. homarus*.

2. Metode

Penelitian ini dilaksanakan dalam 4 tahapan, yaitu pengambilan sampel, ekstraksi dan amplifikasi DNA, serta analisis data persentase polimorfisme, dan analisis hubungan fenetik profil molekular.

2.1 Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan di keramba-keramba apung pembesaran lobster di Teluk Bumbang yang berasal dari perairan sekitar. Peta lokasi Teluk Bumbang dapat dilihat pada Gambar 1. Sampel diambil secara acak, namun individu yang diambil dipilih yang sudah memasuki tahapan juvenil. Sampel yang digunakan untuk ekstraksi DNA diambil dari jaringan otot dengan kadar lemak rendah (Schulz *et al.*, 2004; Chow *et al.*, 2011). Jaringan diambil dari otot pada bagian abdomen. Sampel disimpan di dalam larutan 100 mM Tris-HCl - 40 mM EDTA - 0.2% SDS dalam pH 8.0 dan dibawa ke laboratorium. Sampel kemudian disimpan pada suhu ruang untuk kemudian diekstraksi DNA genomnya.

2.2 Ekstraksi dan Amplifikasi DNA

Ekstraksi DNA genom sampel dilakukan dengan menggunakan DNA *extraction kit* GeneJet™. Hasil ekstraksi DNA genom sampel kemudian diuji secara kuantitatif menggunakan spektrofotometer. Sample DNA kemudian diamplifikasi dengan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) menggunakan mesin *thermal cycler*. PCR mix dibuat dengan menggunakan PCR *master mix* DreamTaq™ yang ditambahkan primer dan DNA *template*. Primer yang digunakan merupakan primer ISSR untuk metode PCR-ISSR. Primer ISSR yang dipilih sebanyak 2 primer, yaitu ISSR1 dan ISSR3. Metode PCR-ISSR dilakukan berdasarkan metode dari Zietkiewicz *et al.* (1994). Kondisi optimal PCR yang diatur pada mesin



Gambar 1. Peta lokasi pengambilan sampel (Teluk Bumbang)

Tabel 1. Kondisi PCR untuk amplifikasi DNA sampel menggunakan primer ISSR1 dan ISSR3

| Tahapan | Waktu | Suhu | |
|-----------------|----------|--------|--------|
| | | ISSR1 | ISSR3 |
| Denaturasi awal | 3 menit | 94°C | 94°C |
| Denaturasi | 30 detik | 94°C | 94°C |
| Annealing | 30 detik | 47,4°C | 51,6°C |
| Elongasi | 2 menit | 72°C | 72°C |
| Elongasi akhir | 10 menit | 72°C | 72°C |
| Holding | ~ | 4°C | 4°C |

thermal cycler untuk kedua jenis primer dapat dilihat pada Tabel 1. Sampel DNA kemudian dipisahkan berdasarkan panjangnya dengan metode Agarose Gel Elektroforesis pada 2% gel agarose. Elektroforesis dilakukan pada tegangan 50V dalam waktu 90 menit. Sampel DNA kemudian diwarnai menggunakan pewarna Etidium Bromida (EtBr) dengan konsentrasi 10 µl/100 ml selama 30 menit.

2.3 Analisis Data

Pita DNA hasil amplifikasi yang diamati melalui hasil elektroforesis dikonversi menjadi data biner dengan melakukan *scoring* terhadap pita DNA. Data diberi nilai 1 bila pita DNA muncul dan diberi nilai 0 bila pita DNA tersebut tidak muncul. Data biner yang diperoleh digunakan untuk mengukur persentase polimorfik setiap primer.

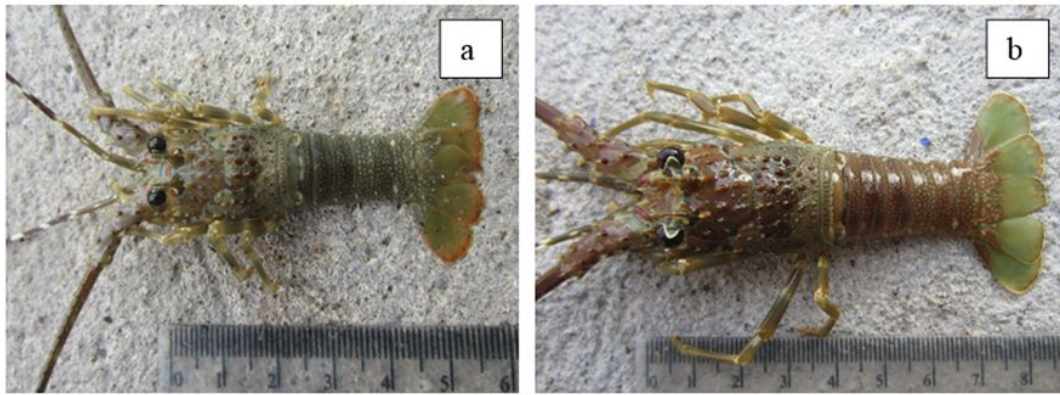
Analisis hubungan fenetik dilakukan dengan metode *Unweighted Pair Group With*

Arithmetic Average (UPGMA) menggunakan program DendroUPGMA. Koefisien yang digunakan yaitu koefisien Jaccard. Data biner dirubah menjadi data matriks similitas dan matriks jarak. Data matriks digunakan untuk mengkonstruksi dendrogram menggunakan 100 *bootstrap*.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Karakter Morfologis

Sampel individu lobster *P. homarus* yang diambil dari Teluk Bumbang berjumlah 5 individu dan seluruhnya berada pada tahap juvenil. Juvenil *P. homarus* secara umum memiliki ciri-ciri warna dasar pada bagian abdominal hijau kecoklatan atau keabu-abuan dengan bercak-bercak pudar. Warna pada abdominal pleura dan bagian keras pada uropod sama dengan warna pada permukaan dorsal abdomen. Pada bagian di dekat pangkal pleura terdapat bintik putih berukuran besar yang disebut sebagai *eye*



Gambar 2. Variasi morfologis individu *P. homarus*; (a) Sampel B1, (b) Sampel B5

Tabel 2. Hasil pengukuran karakter morfologis sampel *P. Homarus*

| Kode Sampel | Panjang Total (cm) | Lebar Abdominal (cm) | Rasio Panjang/Lebar | Berat (g) |
|-------------|--------------------|----------------------|---------------------|-----------|
| B1 | 9,415 | 1,845 | 0,196 | 25,29 |
| B2 | 7,330 | 1,545 | 0,211 | 12,59 |
| B3 | 6,855 | 1,375 | 0,201 | 11,13 |
| B4 | 7,080 | 1,380 | 0,195 | 11,15 |
| B5 | 6,950 | 1,380 | 0,199 | 10,15 |

spot. Bagian posterior uropod memiliki warna kemerahan. Pada umumnya variasi pola warna antar individu relatif seragam, namun perbedaan warna yang mencolok ditemukan pada satu sampel dengan kode B5. Sampel B5 memiliki warna dasar merah kecoklatan dengan warna pada bagian lunak uropod berwarna gelap dan bagian posteriornya berwarna hitam. Pola warna tubuh juvenil *P. homarus* dapat dilihat pada Gambar 2.

Menurut Berry (1974), *P. homarus* terdiri atas 3 subspecies berdasarkan ukuran sculpturasi pada *transverse groove* abdominal serta warna tubuh. Subspecies dengan sculpturasi berukuran kecil dikenal dengan bentuk *microsculpta* dengan warna dasar tubuh hijau gelap, sedangkan subspecies dengan sculpturasi dengan ukuran lebih besar dikenal dengan bentuk *megasculpta* dengan warna dasar tubuh merah kecoklatan. Berdasarkan pengamatan terhadap sampel B5, meskipun memiliki warna dasar tubuh merah kecoklatan, namun spesimen ini termasuk kelompok *microsculpta* karena sculpturasinya berukuran sama dengan sampel lainnya yang berwarna dasar hijau. Dengan demikian sampel B5 termasuk ke dalam subspecies yang sama dengan sampel lainnya, yaitu *P. homarus* homarus. Perubahan warna tubuh menjadi kemerahan ini disebabkan oleh penyakit

cangkang akibat infeksi bakterial (Leslie *et al.*, 2012; Shields, 2011).

Karakter morfometris sampel yang diukur dan diamati meliputi panjang total, lebar abdominal, dan berat basah. Karena usia dan banyaknya *molting* yang telah dilalui masing-masing sampel tidak seragam, maka data morfometri yang diukur tidak dapat dibandingkan secara langsung karena tidak memiliki standar yang sama. Standarisasi ukuran dilakukan dengan mempersentasikan hasil pengukuran lebar abdominal dengan panjang total sebagai pembanding. Rasio lebar abdominal per panjang tubuh berkisar antara 0,195 - 0,211 dengan rata-rata 0.200 (Tabel 2). Standarisasi ukuran tidak dapat dilakukan terhadap rasio ukuran tubuh dengan berat tubuh karena *P. homarus* memiliki pola pertumbuhan alometrik terhadap rasio ukuran/berat tubuh (Junaidi *et al.*, 2010). Hasil pengukuran karakter morfometris tidak menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan di antara individu sampel.

3.2 Polimorfisme Daerah ISSR

Hasil amplifikasi daerah ISSR DNA *P. homarus* dengan menggunakan primer ISSR1 dan ISSR3 menghasilkan 25 *loci* teramplifikasi. Diantara 25 *loci* tersebut, terdapat 16 *loci* yang bersifat polimorfik (Tabel 3). Jumlah total lokus dan lokus

Tabel 3. Hasil amplifikasi region DNA *P. homarus* untuk setiap primer ISSR

| Primer | Skuen Primer | Total Lokus Dihasilkan | Lokus Polimorfik | Persentase Polimorfisme |
|-----------------|-------------------------|------------------------|------------------|-------------------------|
| ISSR1 | 5'-AGAGAGAGAGAGAGAGT-3' | 11 | 5 | 45,46% |
| ISSR3 | 5'-GAGAGAGAGAGAGAGAT-3' | 14 | 11 | 78,57% |
| ISSR1 dan ISSR3 | | 25 | 16 | 64,00% |

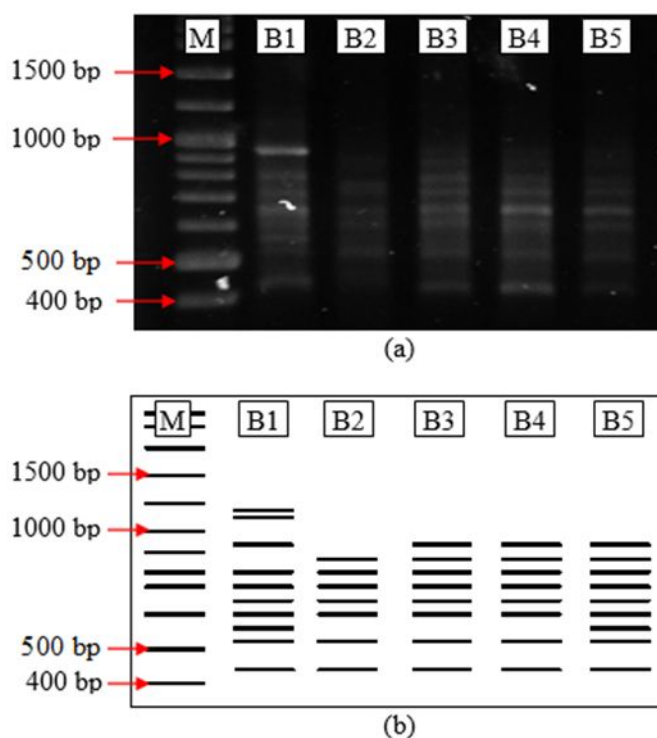
polimorfik yang teramplifikasi dengan menggunakan primer ISSR1 dan ISSR3 tidak sama. Primer ISSR3 mampu menghasilkan lebih banyak lokus polimorfik pada sampel *P. homarus* di Teluk Bumbang dibandingkan primer ISSR1.

Primer ISSR memiliki kecenderungan untuk menghasilkan banyak pita DNA dengan persentase polimorfisme yang tinggi. Beberapa penelitian mengenai variasi genetik pada spesies anggota Subfilum Crustacea menggunakan primer ISSR menunjukkan hasil rata-rata 12,6 *loci* polimorfik pada *Ucides cordatus*, 27 *loci* polimorfik pada *Talitrus saltator*, dan 30 *loci* polimorfik pada *Aristaeomorpha foliacea* dihasilkan untuk setiap primer ISSR dengan persentase polimorfisme mencapai 100% (Britto *et al.*, 2011; Fernandez *et al.*, 2011; dan Ungherese *et al.*, 2010). Rata-rata jumlah lokus polimorfik yang dihasilkan oleh primer ISSR terhadap sampel *P. homarus* di Teluk Bumbang yaitu sebanyak 8 *loci* polimorfik dengan persentase polimorfisme 64%. Hal

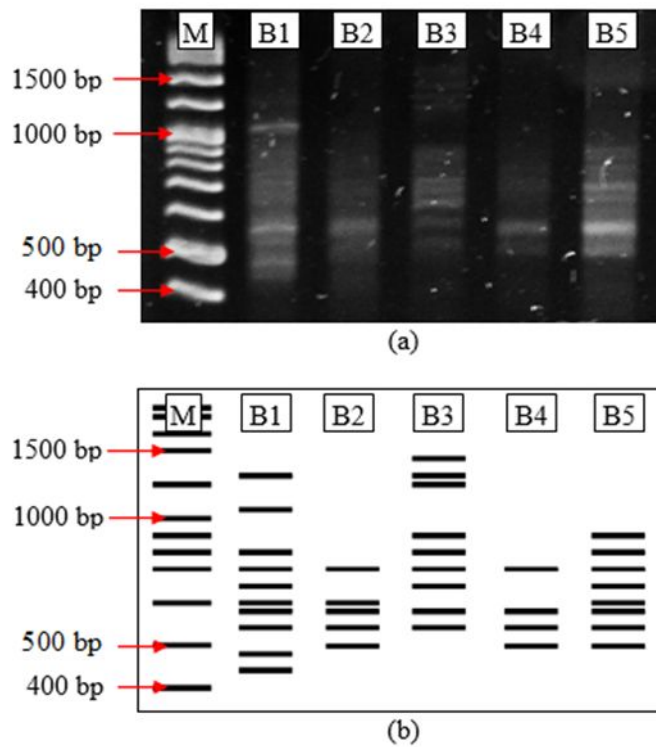
ini menimbulkan dugaan bahwa populasi *P. homarus* di Teluk Bumbang memiliki variasi genetik yang rendah pada daerah ISSR dalam genomnya.

Fragmen DNA yang dihasilkan dengan menggunakan primer ISSR1 berukuran 440 bp sampai 1150 bp. Diantara 11 pita DNA yang dihasilkan hanya terdapat 5 pita polimorfik, yaitu fragmen berukuran 560, 850, 940, 1100, dan 1150 bp (Gambar 3). Sampel B3 dan B4 memiliki profil dengan tingkat kemiripan 100%, serta sampel B5 memiliki kemiripan hingga 89% dengan sampel B3 dan B4. Dengan demikian, berdasarkan primer ISSR1, *P. homarus* di Teluk Bumbang memiliki kemiripan genetik yang sangat tinggi pada daerah ISSR.

Fragmen DNA yang dihasilkan dengan menggunakan primer ISSR3 berukuran 420 bp sampai 1400 bp. Diantara 14 pita DNA yang dihasilkan hanya terdapat 3 pita monomorfik, yaitu fragmen berukuran 540, 580, dan 700 bp (Gambar 4). Pada umumnya masing-masing sampel memiliki kemiripan



Gambar 3. Hasil amplifikasi DNA populasi *P. homarus* di Teluk Bumbang dengan primer ISSR1; (a) hasil elektroforesis, (b) diagram representatif



Gambar 4. Hasil amplifikasi DNA populasi *P. homarus* di Teluk Bumbang dengan primer ISSR3; (a) hasil elektroforesis, (b) diagram representatif

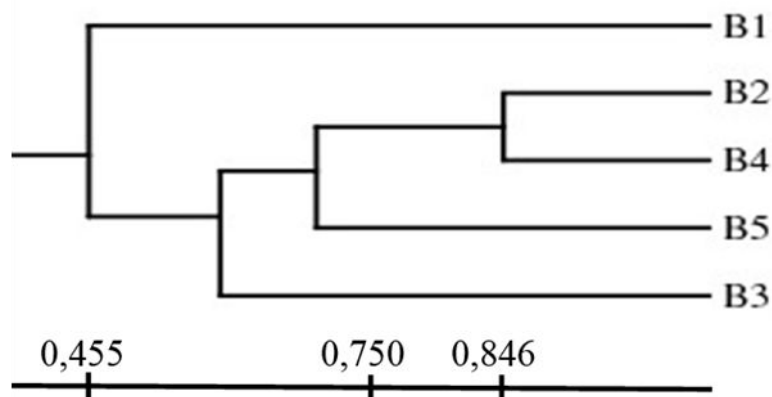
genetis pada daerah ISSR yang relatif rendah, kecuali pada sampel B2 dan B4 yang memiliki kemiripan hingga 80%. Dengan demikian, primer ISSR3 dinilai lebih efisien karena mampu menunjukkan variasi genetik daerah ISSR *P. homarus* di Teluk Bumbang dibandingkan primer ISSR1.

3.3 Hubungan Fenetik

Hubungan fenetik merupakan hubungan yang didasarkan pada similaritas karakteristik organisme yang dinilai, tanpa melibatkan hubungan kekerabatan berdasarkan nenek moyang karakteristik yang dinilai adalah lokus yang teramplifikasi

pada setiap sampel yang diubah dalam bentuk data biner. Hubungan fenetik antar individu sampel *P. homarus* dari Teluk Bumbang ditampilkan dalam bentuk dendrogram pada Gambar 5.

Nilai similaritas karakter molekular antar 5 sampel anggota populasi di Teluk Bumbang berkisar antara 45,5-84,6% dengan rata-rata nilai similaritas sebesar 61,6%. Pada dendrogram terlihat bahwa nilai similaritas tertinggi dimiliki oleh sampel B2 dengan B4 (Gambar 5), mengindikasikan bahwa sampel B2 dengan B4 memiliki hubungan fenetik atau kemiripan yang tinggi antara keduanya. Primer ISSR1 dan ISSR3



Gambar 5. Dendrogram hubungan fenetik antar individu *P. homarus* di Teluk Bumbang

secara keseluruhan mampu mengamplifikasi 13 *loci* pada sampel B2 dan B4, 11 *loci* diantaranya merupakan karakter bersama kedua sampel sedangkan perbedaannya terdapat pada fragmen DNA berukuran 600 bp (ISSR3) dan 940 bp (ISSR1).

Nilai similaritas terendah dimiliki oleh sampel B1 dengan B2 dan sampel B1 dengan B4. Pada sampel B1 dengan B2 dan sampel B1 dengan B4 total lokus yang teramplifikasi masing-masing sebanyak 22 *loci* dan hanya 10 *loci* yang merupakan karakter bersama kedua sampel. Meskipun sampel B1 dengan B2 dan sampel B1 dengan B4 memiliki nilai similaritas yang sama, namun ukuran fragmen yang teramplifikasi pada kedua pasangan sampel tidak semuanya sama. Berdasarkan rata-rata nilai similaritasnya, maka dapat disimpulkan bahwa kemiripan karakteristik genetik pada daerah ISSR *P. homarus* di Teluk Bumbang berdasar primer ISSR1 dan ISSR3 relatif tinggi.

4. Kesimpulan

Berdasarkan karakter morfologis yang mencakup pola warna tubuh dan karakter morfometris, tidak terlihat perbedaan yang signifikan antara setiap individu sampel *P. homarus* di Teluk Bumbang. Berdasarkan persentase polimorfisme dan hubungan fenetik karakter genetik daerah ISSR, *P. homarus* di Teluk Bumbang memiliki tingkat variasi genetik yang relatif rendah. Rata-rata persentase polimorfisme sebesar 64% dan rata-rata nilai similaritas karakter sebesar 61,6%. Primer ISSR3 dinilai lebih efisien daripada primer ISSR1 dalam menggambarkan informasi variasi genetik daerah ISSR *P. homarus* di Teluk Bumbang.

5. Ucapan Terima Kasih

Terima kasih disampaikan kepada Bapak Muhsinul Ihsan dan Rahmat Nugroho yang telah membantu selama proses pengumpulan sampel. Terima kasih kepada Balai Pengembangan Budidaya Perikanan Pantai Sekotong, serta teknisi dan pengelola Laboratorium Genetika dan Laboratorium FALITMA Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada atas kerjasamanya dan segala bentuk dukungannya selama pelaksanaan penelitian.

Daftar Pustaka

Berry, P.F. 1974. A Revision of the *Panulirus homarus*-Group of Spiny Lobsters (Decapoda, Palinuridae). *Crustaceana*. 27(1): 31-42.

- Britto, F.B., D.S.F. Mendes, M. Ogawa, I.H.A. Cintra, and F.M. Diniz. 2011. Single Primer-Based DNA Amplification as a Suitable and Low-Cost Tool for Assessing Genetic Diversity in Mangrove Crabs. *Genetic and Molecular Research*. 10(4): 4084-4092.
- Chow, S., A. Jeffs, Y. Miyake, K. Konishi, M. Okazaki, N. Suzuki, M.F. Abdullah, H. Imai, T. Wakabayasi, and M. Sakai. 2011. Genetic Isolation Between the Western and Eastern Pacific Population of Pronghorn Spiny Lobster *Panulirus penicillatus*. *PLoS ONE*. 6(12): e29280.
- Fernandez, M.V., F. Maltagliati, F.G. Pennaciulli, and M.I. Roldan. 2011. Analysis of Genetic Variability in *Aristaeomorpha foliacea* (Crustacea, Aristeidae) Using DNA-ISSR (Inter Simple Sequence Repeats) Markers. *Comptes Rendus Biologies*. 334: 705-712.
- Girsang, E., A.H. Kristanto, W. Hadi, and S. Mardijah. 2007. Karakterisasi Biometrik Lobster (*Panulirus homarus*) Dari Beberapa Lokasi. *Lokakarya Nasional Pengelolaan dan Perlindungan Sumber Daya Genetik di Indonesia*. ---, ---. 298-306.
- Junaidi, M., N. Cokrowati, and Z. Abidin. 2010. Aspek Reproduksi Lobster (*Panulirus* sp.) di Perairan Teluk Ekas Pulau Lombok. *Jurnal KELAUTAN*. 3(1): 29-35.
- Leslie, V.A., M.M. Rathinam, and B. Anusha. 2012. Distribution Profile of *Vibrio harveyi* in *Panulirus homarus*. *International Research Journals of Biological Science*. 1(4): 61-64.
- Priyambodo, B. and Sarifin. 2009. Lobster Aquaculture Industry in Eastern Indonesia: Present Status and Prospects. *ACIAR Proceeding*. 132: 36-45.
- Priyambodo, B., C. Jones, and S. Shanks. 2011. Abstract: Review of Spiny Lobster Aquaculture in Indonesia. *The 9th International Conference and Workshop On Lobster Biology And Management*. 24.
- Schulz, H.K., P. Śmietana, and R. Schulz. 2004. Assessment of DNA Variations of the Noble Crayfish (*Astacus astacus* L.) in Germany and Poland Using Inter-Simple Sequence Repeats (ISSRs). *Bull. Fr. Pêche Piscic.* 372-373: 387-399.
- Shields, J.D. 2011. Diseases of Spiny Lobsters: A Review. *Journal of Invertebrate Pathology*. 106: 79-91.
- Spooner, D., R.V. Treuren, and M.C. de Vicente. 2005. *Molecular Markers for Genebank Management*. International Plant Genetic Resources Institute. Rome.
- Ungherese, G., A. Mengoni, S. Somigli, D. Baroni, S. Focardi, and A. Ugolini. 2010. Relationship Between Heavy Metals Pollution and Genetic Diversity in Mediterranean Populations of the Sandhopper *Talitrus saltator* (Montagu) (Crustacea, Amphipoda). *Environmental Pollution*. 158: 1638-1643.

Zietkiewicz, E., Rafalski, A. and D. Labuda. 1994.
Genome Fingerprinting by Simple Sequence
Repeat (SSR)-Anchored Polymerase Chain
Reaction Amplification. *Genomics*. 20:
176-183.