

Analisis Kromosom Varietas Kacang Gude (*Cajanus cajan* (L.) Millspaugh) Asal Pulau Kisar, Maluku Barat Daya (MBD)

ALWI SMITH, KRISTIN SANGUR*, ECLESIA DANISA

Pendidikan Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Pattimura, Ambon, Maluku

Diterima: 29 Maret 2020 – Disetujui: 04 Oktober 2020

© 2021 Jurusan Biologi FMIPA Universitas Cenderawasih

ABSTRACT

Pigeon pea (*Cajanus cajan*) is one of the biodiversity of Kisar Island, Maluku Barat Daya (MBD). This study aimed to determine the number and size of chromosomes from pigeon pea (*C. cajan*) from Kisar Island, MBD. The method used for chromosome observation is the squashing method, while for the analysis of the shape and size of chromosomes using the picsart and image raster applications. Data analysis using descriptive analysis with the help of figures and tables. The results showed that the chromosome number of three varieties of pigeon pea (*C. cajan*) was $2n = 14$. The longest chromosome is owned by orange seed varieties that are $9.17 \mu\text{m}$, batik color seed varieties are $9.09 \mu\text{m}$, the shortest chromosomes are owned by black seed varieties of $8.32 \mu\text{m}$. The chromosome length of the three varieties of pigeon pea (*C. cajan*) varies showing different genome numbers.

Key words: Chromosome; *Cajanus cajan*; Kisar Island; Maluku Barat Daya.

PENDAHULUAN

Kacang gude (*Cajanus cajan* L.) merupakan salah satu biodiversitas pangan yang berada di Pulau Kisar, Kabupaten Maluku Barat Daya. Masyarakat pulau kisar mengenal kacang gude (*C. cajan*) sebagai kacang kayu. Sebutan kacang kayu dikarenakan tanaman ini memiliki pohon yang berkayu serta polong yang keras. Suku Igbo di Nigeria, Afrika mengenal kacang gude (*C. cajan*) sebagai "fio fio" (Aiyelaja & Bello, 2006). Masyarakat di Gujarat dan Maharashtra, India mengenal kacang gude sebagai "tur" (Sing *et al.*, 2015). Nama botani kacang gude dalam sistem klasifikasi lima kingdom adalah *C. cajan* (Van der Maesen, 1990).

Kacang gude (*C. cajan*) merupakan tanaman

asli India yang tumbuh di Benua Afrika dan Amerika (Ogbunugafor *et al.*, 2013). Kacang gude (*C. cajan*) juga merupakan salah satu tumbuhan legum yang paling toleran kekeringan (Emefiene *et al.*, 2013) dan menghasilkan polong pada musim kering (Sharma *et al.*, 2011). Kacang gude juga dapat tumbuh pada kisaran pH 4,5-8,4, tumbuh paling baik di bawah kondisi panas ($65-86 \text{ }^\circ\text{F}$), dan tumbuh pada suhu lebih dari $95 \text{ }^\circ\text{F}$ (Cook *et al.*, 2005).

Penelitian Patil *et al.* (2016) melaporkan bahwa terdapat 23 genotype kacang gude (*C. cajan*) yang secara fenotipe terdiri atas biji berwarna hijau terang, hitaju tua, hijau kekuningan dan cokelat. Kar & Datta (2017) menunjukkan bahwa warna polong yang seragam tetap menunjukkan warna biji yang beranekaragam seperti biji putih dengan bintik merah, biji merah tua, dan merah terang (merah muda). Kumar *et al.* (2007) melaporkan biji kacang gude (*C. cajan*) berbentuk bulat atau berbentuk lensa dengan variasi warna kulit biji yaitu putih kotor hingga putih terang, cokelat muda sampai cokelat, coklat berbintik-bintik gelap, dan merah muda

* Alamat korespondensi:

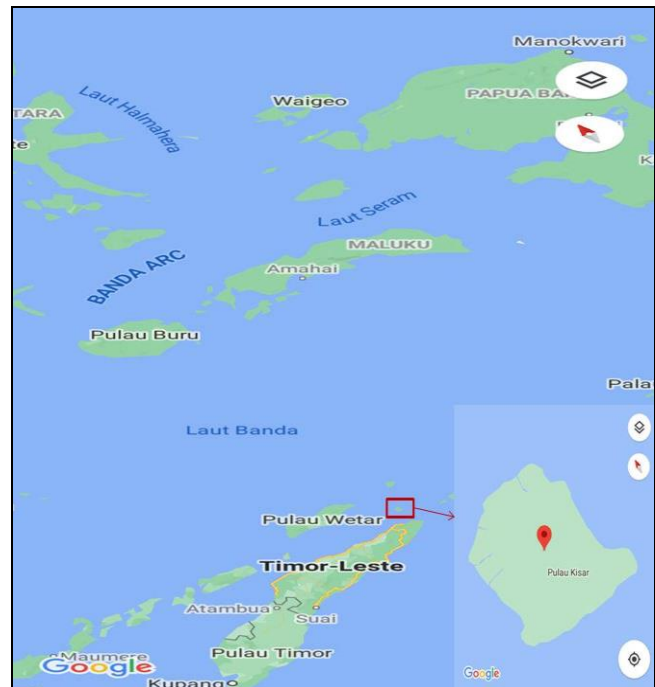
Pendidikan Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Pattimura, Ambon, Maluku. Jl. Ir. Muhammad Putuhena, Kampus Poka-Ambon, Maluku. 97233. E-mail: sangur_kristin@yahoo.com. Telp/HP: +62 85244757271

kehitaman. Sementara itu, observasi di lapangan menunjukkan kulit biji kacang kayu berwarna orange, batik (putih bercak cokelat), hitam, abu-abu, hijau, dan putih kotor.

Pemahaman tentang variabilitas genetik kacang gude (*C. cajan*) sangat penting terhadap fungsi pengoleksian plasma nutfah, perbaikan hasil panen, dan pemuliaan varietas kacang gude ini (Patil *et al.*, 2016; de Sousa *et al.*, 2011). Pemahaman tentang variabilitas genetik kacang gude (*C. cajan*) asal Pulau Kisar ini dapat dilakukan dengan analisis kromosom. Sarsamkar *et al.* (2008) menambahkan bahwa cara pemuliaan suatu tanaman dapat dilakukan dengan cara pengumpulan, evaluasi dan pemilihan genotipe unggul.

Tujuan analisis kromosom adalah mempermudah mempelajari identitas kromosom. Anjali & Srivastava (2012) menambahkan bahwa analisis kromosom, misalnya kariotipe mempunyai manfaat menyampaikan informasi tentang identifikasi spesies dan analisis hibrida. Zayed & Zeinab (2016) menjelaskan bahwa jumlah, ukuran dan bentuk kromosom merupakan komponen dalam mengkarakterisasi kariotipe dan mendefinisikan perbedaan taksonomi. Qin *et al.* (2019) menambahkan bahwa ukuran genom merupakan karakteristik sitogenetik utama dari suatu spesies yang sangat penting diketahui untuk studi sitogenetika, taksonomi, filogenesis, evolusi serta biologi molekuler.

Beberapa penelitian tentang kariotipe telah dilakukan oleh beberapa peneliti seperti analisis kariotipe *Chromolaena barranquillensis* menggunakan larutan Carnoy telah berhasil menunjukkan bahwa formula kromosomnya adalah hexaploid dengan jumlah 60 kromosom ($2n=6x=60$). Rodríguez *et al.* (2014) dan She & Jiang (2016) melaporkan bahwa kariotipe *Lablab purpureus* dirumuskan sebagai $2n = 2x = 22 = 14 m$. Kajian tentang jumlah dan ukuran kromosom sangat penting dalam kajian terkait ilmu lain, seperti taksonomi, genetika, rekayasa genetik, dan ilmu lainnya. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui jumlah dan ukuran kromosom kacang gude (*C. cajan*) pada tiga varietas kacang gude asal Pulau Kisar, Maluku Barat Daya.



Gambar 1. Peta Lokasi Penelitian, desa Wonreli, Kecamatan Kisar, Kabupaten Maluku Barat Daya.

METODE PENELITIAN

Waktu Penelitian dan Sampel

Sampel kacang gude (*C. cajan*) yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji kacang gude asal desa Wonreli, Kecamatan Kisar, Kabupaten Maluku Barat Daya (Gambar 1). Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biologi Dasar Universitas Pattimura, Ambon selama 2 bulan yaitu pada bulan Juli-Agustus 2019. Kacang gude (*C. cajan*) secara fenotipe berwarna hitam, putih bercak cokelat (batik) dan orange disortir untuk ditumbuhkan akar secara in-vitro. Biji kacang gude yang ditumbuhkan dalam penelitian ini adalah 10 biji untuk masing-masing warna biji.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah cawan petri, kain kasa, gelas beker, labu erlemeyer, pinset, spatula, oven, mikroskop Olympus CX23, kamera optilab advance plus Miconos, laptop, botol flakon kecil, silet,

aluminium foil, pipet tetes, gelas ukur 100 ml, gelas ukur 10 ml, dan batang pengaduk.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji kacang gude (*C. cajan*) (warna hitam, batik, dan orange) (Gambar 2), tissue, aquades, asam asetat glasial, HCL1 N, aceto orcein 2%, air dan etanol absolut.

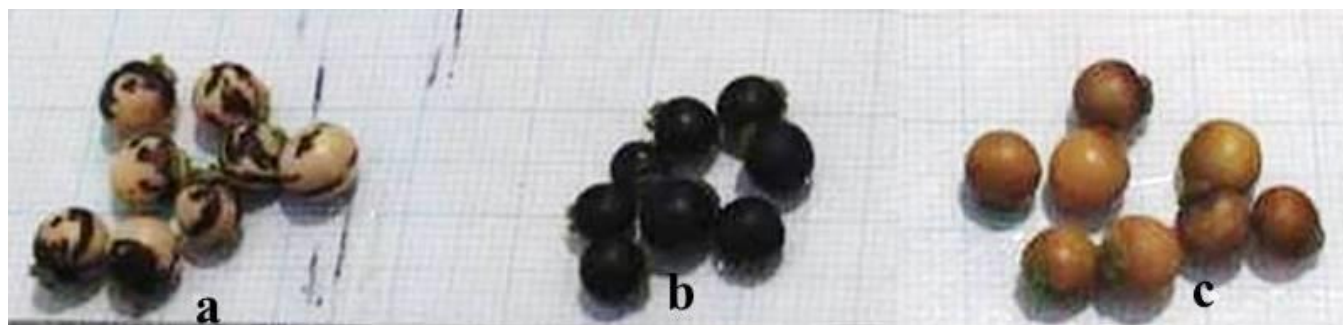
Pengamatan Kromosom

Kacang gude yang telah disortir, dicuci, kemudian direndam selama 12 jam, setelah kacang gude mengalami imbibisi, tahap selanjutnya adalah menumbuhkan kacang gude pada media kain kasa selama 4 hari. Setelah itu, ujung akar primer dipotong sepanjang $\pm 0,5$ mm pada pukul 08.10-08.15 WIT. Adapun langkah-langkah yang harus dilakukan dalam tahap pelaksanaan metode squash menurut modifikasi dari Udensi *et al.* (2011) sebagai berikut: (1) Pra perlakuan: ujung akar kacang gude (*C. cajan*) yang telah dipotong $\pm 0,5$ mm, kemudian dimasukkan ke dalam botol flakon berisi 2 ml aquades. Lalu dibungkus dengan kertas aluminium dan disimpan dalam lemari es selama 24 jam; (2) pencucian I: Aquades

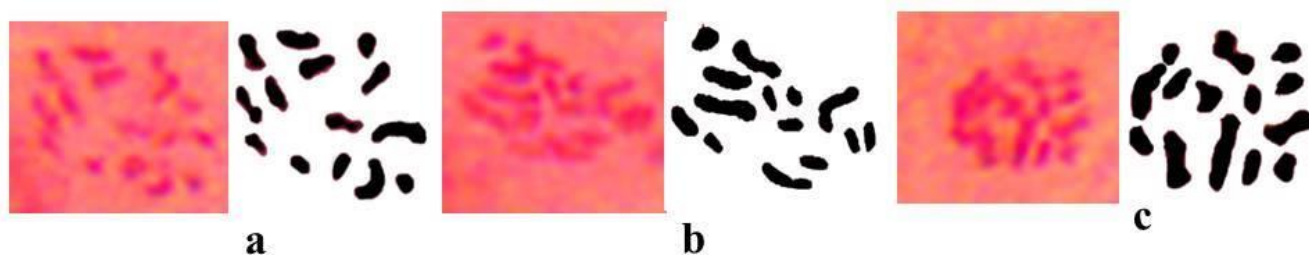
dibuang dan ujung akar tadi dicuci dengan aquades sebanyak tiga kali, (3) fiksasi: Aquades dibuang dan diganti dengan larutan carnoy (3 ml etanol absolut: 1 ml asam asetat glasial) dan disimpan pada suhu ruangan selama 24 jam, (4) pencucian II: Irisan akar yang telah difiksasi kemudian dicuci dengan menggunakan aquades sebanyak tiga kali pencucian, (5) maserasi: Aquades dibuang, diganti dengan HCL 1 N (5 ml HCL pekat dalam 55 ml aquades) dan disimpan dalam oven bersuhu 60 °C selama 15 menit, (6) pencucian III: HCL 1 N dibuang dan dicuci aquades tiga kali, (7) pewarnaan: aquades dibuang, diganti dengan aceto carmin 2% selama 30 menit dan simpan pada suhu ruangan, (7) *squashing*: ujung akar dipencet di atas kaca objek, kemudian ditutupi dengan cover glass. Objek diamati menggunakan mikroskop pada pembesaran 40x dan 1000x. Kemudian foto kromosom diambil menggunakan kamera optilab.

Analisis Kromosom

Hasil foto kromosom kemudian diedit menggunakan aplikasi *picsart* untuk mengedit



Gambar 2. Kacang gude (*C. cajan*) varietas biji warna (a) batik, (b) hitam, dan (c) orange.



Gambar 2. Kenampakan kromosom kacang gude (*C. cajan*) varietas biji warna (a) batik, (b) hitam, dan (c) orange. Penampakan gambar kromosom asli (kiri: penampakan kromosom; kanan: yang sudah diedit).

latar belakang foto menjadi hitam putih dan mempermudah pemotongan kromosom satu per satu. Berdasarkan hasil foto maka dihitung jumlah kromosom pada ketiga varietas kacang gude (*C. cajan*). Hasil foto kemudian diukur menggunakan *image raster* untuk mengetahui panjang kromosom.

Analisis Data

Data hasil penelitian berupa jumlah kromosom dan panjang kromosom dari ketiga varietas kacang gude (*C. cajan*) dianalisis secara deskriptif. Analisis deskriptif digunakan untuk mendeskripsikan data dalam bentuk gambar dan tabel.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Jumlah Kromosom

Hasil penelitian menunjukkan bahwa jumlah kromosom tanaman kacang gude (*C. cajan*) pada masing-masing varietas adalah $2n=14$ (Gambar 3). Hasil penelitian ini juga terlihat adanya kromosom yang menyebar dengan baik dan penumpukan kromosom. Kromosom yang menumpuk menyebabkan kesulitan dalam proses

pengamatan analisis kromosom.

Jumlah kromosom tanaman kacang gude (*C. cajan*) ini sama dengan beberapa spesies dalam genus *Lathyrus* (Klamt *et al.*, 2000), *Trigonella plicata* (Martin *et al.*, 2011). Namun temuan dalam penelitian ini berbeda dengan temuan beberapa peneliti yang telah menganalisis tentang genom kacang gude (*C. cajan*). Kacang gude yang berasal dari sub-suku *Cajaninae* dan memiliki genom diploid 11 pasang kromosom ($2n = 2x = 22$) (Greilhuber & Obermayer 1998; Varshney *et al.*, 2012). Perbedaan jumlah kromosom kacang gude (*C. cajan*) ini dipengaruhi oleh lingkungan tempat tumbuh di pulau Kisar, MBD. Peruzzi *et al.* (2012) melaporkan bahwa spesies dengan jumlah kromosom lebih banyak cenderung terdapat di lokasi dengan suhu tahunan yang lebih rendah. Lingkungan dengan habitat terbuka dengan banyak cekaman, rawan kekeringan merupakan faktor lingkungan yang menyebabkan jumlah kromosom rendah, sedangkan lingkungan yang teduh dan stabil dengan ketersediaan air dan nutrisi yang baik dapat mempengaruhi tingkat rekombinasi dan jumlah kromosom tanaman (Grant, 1958; Stebbins, 1966). Escudero *et al.* (2014) menambahkan bahwa perubahan jumlah kromo-

Tabel 1. Hasil pengamatan panjang kromosom varietas kacang gude (*C. cajan*).

Nomor kromosom	Panjang kromosom (μm)		
	Hitam	Putih bercak cokelat	Oranye
1.	1,04	1,15	1,23
2.	0,87	1,05	0,99
3.	0,80	0,96	0,91
4.	0,65	0,95	0,85
5.	0,64	0,89	0,82
6.	0,61	0,61	0,60
7.	0,59	0,52	0,57
8.	0,58	0,49	0,52
9.	0,49	0,47	0,51
10.	0,44	0,46	0,50
11.	0,43	0,42	0,49
12.	0,42	0,41	0,44
13.	0,40	0,36	0,42
14.	0,36	0,35	0,32
Jumlah	8,32	9,09	9,17

som yang terkait dengan disploidi dapat diamati di seluruh filogeni, konsisten dengan perubahan serta menyebabkan diversifikasi. Jumlah kromosom yang sedikit menjadi banyak dimediasi oleh ketidak-seimbangan rasio fisi-ke-fusi (Imai *et al.*, 2002; Kolnicki, 2000).

Ukuran Kromosom

Berdasarkan data (Tabel 1), menunjukkan bahwa konsistensi ini membuktikan bahwa kromosom merupakan bukti taksonomi yang penting (Iswantari *et al.*, 2017). Ukuran kromosom juga merupakan salah satu kriteria untuk mengidentifikasi morfologi kromosom. Ukuran kromosom bervariasi dari satu spesies ke spesies lain dan berkisar 0,2-50 μm (Suryo, 2003).

Kromosom tanaman kacang gude (*C. cajan*) pada varietas hitam, batik dan oranye memiliki ukuran kromosom yang kecil ($< 2 \mu\text{m}$) (Tabel 1). Young *et al.* (2012) menyatakan ukuran lengan kromosom 2,3 μm tergolong kromosom kecil dan 4,35 μm tergolong kromosom medium. Ini berarti kromosom varietas kacang gude (*C. cajan*) tergolong dalam kromosom kecil. Ukuran kromosom merupakan salah satu kriteria untuk mengidentifikasi morfologi kromosom. Penelitian Dewitte *et al.* (2009) juga menunjukkan bahwa studi sitologi kromosom dalam berbagai genotipe *Begonia* menunjukkan perbedaan substansial dalam kromosom seperti jumlah, panjang, lebar dan volume kromosom yang dikonfirmasi sebagai keragaman ukuran genom.

Ukuran kromosom dapat digambarkan dengan panjang absolut kromosom (Buitendijk *et al.*, 1997). Total ukuran panjang kromosom tanaman kacang gude (*C. cajan*) untuk varietas biji warna oranye memiliki panjang kromosom absolut 9,17 μm . Hasil ini membuktikan bahwa varietas biji warna orange mempunyai kromosom yang lebih panjang dibandingkan dengan 2 varietas lainnya yaitu varietas biji warna batik sebesar 9,09 μm , dan warna hitam sebesar 8,32 μm .

Varietas biji warna oranye yang memiliki panjang kromosom absolut lebih panjang ini dipengaruhi oleh jumlah DNA dalam kromosom yang lebih banyak dibandingkan dengan 2 varietas lainnya. Sebaliknya varietas biji warna

hitam memiliki panjang kromosom absolut yang jumlah DNANYa lebih sedikit. Varietas biji warna batik memiliki jumlah DNA yang hampir sama dengan varietas oranye. Perbedaan ukuran kromosom ini menunjukkan perbedaan kandungan genetik yang dimiliki oleh setiap varietas pada tanaman kacang gude (*C. cajan*) dan perbedaan ini yang ditunjukkan melalui fenotip-fenotip yang berbeda pada masing-masing variasi warna (Setyawan & Sutikno, 2000).

Jumlah DNA mempengaruhi panjang kromosom. Hal ini didukung oleh pendapat Bennet (1987) yang menyatakan bahwa jumlah DNA yang terdapat pada inti sel berkorelasi positif dengan beberapa parameter sel seperti panjang total, dan atau volume-volume kromosom pada saat proses pembelahan. Perbedaan jumlah DNA dalam inti, menunjukkan perbedaan jumlah gen-gen yang ada atau terjadi duplikasi atau mungkin keduanya, sehingga akan berpengaruh terhadap variasi fenotipe yang muncul (Stebbins, 1971). Ohri (1998) menambahkan analisis terhadap kromosom menunjukkan bahwa pengukuran terhadap ukuran genom dapat mengungkapkan keragaman yang tidak teramati pada pengamatan secara morfologi.

Ketiga fenotip yang ditunjukkan oleh masing-masing variasi warna tanaman kacang gude (*C. cajan*) tersebut merupakan hasil ekspresi dari kombinasi beberapa gen dominan. Adanya dua gen dominan (Brsd1 dan Brsd2) dan gen dominan lainnya (Brsd3) sebagai pelengkap dalam menentukan warna biji, sehingga ketiga gen tersebut bersama-sama menghasilkan interaksi epistatik antar-alelik yang kuat yang menghasilkan variasi warna biji tersebut (Saxena *et al.*, 2012).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa jumlah kromosom tiga varietas kacang gude (*C. cajan*) adalah $2n=14$. Varietas biji warna oranye memiliki panjang kromosom sebesar 9,17 μm , disusul varietas biji warna batik sebesar 9,09 μm , dan varietas biji

warna hitam sebesar 8,32 μm . Panjang kromosom bervariasi ini dipengaruhi oleh jumlah DNA yang terkandung di dalam kromosom masing-masing varietas. Hasil penelitian ini merupakan dasar untuk penelitian lanjutan yang mengungkapkan tentang jumlah genom dan kandungan gen pada masing-masing varietas kacang gude (*C. cajan*) asal pulau Kisar, Maluku Barat Daya.

DAFTAR PUSTAKA

- Aiyelaja, A.A., and O.A. Bello. 2006. Ethnobotanical potentials of common herbs in Nigeria: A case study of Enugu state. *Educational Review*. 1(1): 16-22.
- Anjali, M., and A.K. Srivastava. 2012. Karyological studies in twelve accessions of *Carthamus tinctorius*. *Caryologia*. 65(1): 1-6.
- Bennet, P.N., and D.R. Laurence. 1987. *Clinical pharmacology*. Sixth Edition. Churchill Livingstone, Edinburgh.
- Buitendijk, J.H., E.J. Noon, dan M.S. Ramanna. 1997. Nuclear DNA content in twelve species of *Alstroemeria* L. and some of their hybrids. *Annals of Botany*. 79(4): 343-353.
- Cook, B.G., B.C. Pengelly, S.D. Brown, J.L. Donnelly, D.A. Eagles, M.A. Franco, J. Hanson, B.F. Mullen, I.J. Partridge, M. Peters, and R. Schultze-Kraft. 2005. *Tropical forages: an interactive selection tool*. *Cajanus cajan*. CSIRO, DPI & F (Qld), CIAT, and ILRI, Brisbane, Australia.
- de Sousa, A.C.B., R. Godoy, D.A. Sforça, T. de Campos, M.I. Zucchi, L. Jank, and A.P. de Souza. 2011. Genetic diversity analysis among pigeonpea genotypes adapted to South American regions based on microsatellite markers. *Scientia Agricola*. 68(4): 431-439.
- Dewitte, A., L. Leus, T. Eeckhaut, I. Vanstechelman, J. Van Huylenbroeck, and E. Van Bockstaele. 2009. Genome size variation in *Begonia*. *Genome*. 52(10): 829-838.
- Emefiene, M.E., A.B. Salaudeen, and A.Y. Yaroson. 2013. The use of pigeon pea (*Cajanus cajan*) for drought mitigation in Nigeria. *International Letters of Natural Sciences*. 2(12): 6-16.
- Escudero, M., S. Martin-Bravo, I. Mayrose, M. Fernandez-Mazuecos, and O. Fiz-Palacios. 2014. Karyotypic Changes through dysploidy persist longer over evolutionary time than polyploid changes. *PLoS One*. 9(1): 1-7.
- Grant, V. 1958. The regulation of recombination in plants. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*. 23: 337-363.
- Greilhuber, J., and R. Obermayer. 1998. Genome size variation in *Cajanus cajan* (Fabaceae): A reconsideration. *Plant Systematics and Evolution*. 212(1): 135-141.
- Imai, H. T., Y. Satta, M. Wada, and N. Takahata. 2002. Estimation of the highest chromosome number of eukaryotes based on the minimum interaction theory. *Journal of Theoretical Biology*. 217(1): 61-74.
- Iswantari, W., T. Mulyaningsih, dan A. Muspiah. 2017. Karyomorfologi dan jumlah kromosom empat grup *Gyrinops versteegii* (Gilg.) Domke. di Lombok. *Jurnal Ilmu Kehutanan*. 11(2): 205-211.
- Saxena, K.B., R.K. Saxena, and R.V. Kumar. 2012. Evidence of a unique inter-allelic epistatic interaction for seed coat color in pigeonpea (*Cajanus cajan* L.) Millspaugh. *Euphytica*. 186: 813-816.
- Klamt, A., and M.T. Schifino-Wittmann. 2000. Karyotipe morphology and evolution in some *Lathyrus* (Fabaceae) species of Southern Brazil. *Genetics and Molecular Biology*. 23(2): 46-7.
- Kumar, C.V.S., S.J. S. Naik, N. Mohan, R.K. Saxena, and R.K. Varshney. 2007. *Botanical Description of Pigeonpea [Cajanus cajan (L.) Millsp.]*. In: *The Pigeonpea Genome*. Compendium of Plant Genomes book series (CPG). Springer, pp. 17-29.
- Martin E., H. Akan, M. Ekici, and Z. Aytac. 2011. Karmorphological studies on section bucerates boisss of *Trigonella* L. (Leguminosae) from Turkey. *Caryologia*. 61(3): 225-236.
- Ogbunugafor, H.A., M.N. Igwo-Ezikpe, I.O. Igwilo, T. Salisu, and C.N. Ezekwesili. 2013. *Cajanus cajan: Potentials as functional food*. Dept. of Applied Biochemistry, Nnamdi Azikiwe University, Awka, Nigeria.
- Ohri, D. 1998. Genome size variation and plant systematics. *Annals of Botany*. 82: 75-83.
- Patil, H.E., N. Dikshit, S.A. Aklade, and P.A. Vavdiya. 2016. Evaluation of vegetable type pigeon pea (*Cajanus cajan* (L.) genotypes for yield and yield contributing traits. *Ecology, Environment and Conservation*. 22: 247-254.
- Peruzzi, L., G. Goralski, A.J. Joachimiak, and G. Bedini. 2012. Does actually mean chromosome number increase with latitude in vascular plants? An answer from the comparison of Italian, Slovak and Polish floras. *Comparative Cytogenetics*. 6(4): 371-377.
- Kolnicki, R.L. 2000. Kinetochore reproduction in animal evolution: Cell biological explanation of karyotypic fission theory. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 97(17): 9493-9497.
- Qin, Z., X. Li, D. Liu, Q. Wang, L. Lu, and Z. Zhang. 2019. Analysis of chromosome karyotype and genome size in echiuran *Urechis unicinctus* Drasche, 1880 (Polychaeta, Urechidae). *Comparative Cytogenetics*. 13(1): 75-85.
- Rodríguez, J.M. 2015. *Analysis of the germination rate mitotic index and karyotype of Chromolena barranquillensis* (Hieron.). Universidad del Norte. Colombia.
- Setyawan dan Sutikno. 2000. Karyotipe kromosom pada *Allium sativum* (bawang putih) dan *Pisum sativum* (kacang kapri). *Jurnal BioSmart*. 2(1): 14-20.
- Sharma, S., N. Agarwal, and P. Verma. 2011. Pigeon pea (*Cajanus cajan* L.): A hidden treasure of regime nutrition. *Journal of Functional and Environmental Botany*. 1(2): 91-101.
- She, C.W., and X.H. Jiang. 2015. Karyotype analysis of *Lablab purpureus* (L.) sweet using fluorochrome banding and

- fluorescence in situ hybridisation with rDNA probes. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*. 51(3): 110-116.
- Sing, N.P., A. Das, S.K. Chaturvedi, A. Bohra, and D. Datta. 2015. *Biology of Cajanus cajan (pigeon pea)*. Ministry of Environment, Forest and Climate Change: Government of India.
- Kar, S., and B.K. Datta. 2017. Floral biology of *Cajanus cajan* (L.) Millsp. [Leguminosae] in Tripura (India). *Pleione*. 11(1): 104-115.
- Sarsamkar, S.S., S.B. Borgaonkar, S.V. Kalyankar, B.P. Kadam, and G.R. Kadam. 2008. Genetic variability studies in pigeon pea [*Cajanus cajan* (L.) Millsp.]. *International Journal of Plant Sciences*. 3(2): 502-503.
- Stebbins, G.L. 1996. *Chromosomal evolution in higher plants*. Edward Arnold, London.
- Suryo. 2003. *Genetika manusia*. Universitas Gadjah Mada Press. Yogyakarta.
- Udensi, O., E.A. Edu, V.O. Ntuil, P.A. Otu, I.S. Urual, and G.A. Akpan. 2011. Cyto-sensitivity of some locally grown pigeon pea [*Cajanus cajan* (L.) Millsp] to amiprofos methyl treatment as a guide for improvement. *International Journal of Current Research*. 3(11): 176-180.
- van der Maesen, L.J.G. 1990. *Pigeonpea: origin, history, evolution and taxonomy*. In: The Pigeonpea (Nene YL, Hall SD, Sheila VK eds.). CAB International. pp 15-46.
- Varshney, R.K., W. Chen, and Y. Li. 2012. Draft genome sequence of pigeonpea (*Cajanus cajan*), an orphan legume crop of resource-poor farmers. *Nature Biotechnology*. 30(1): 83-89.
- Young, H.A., G. Sarath, and C.M. Tobias. 2012. Karyotype variation is indicative of subgenomic and ecotypic differentiation in switchgrass. *BMC Plant Biology*. 12(1): 117-127.
- Zayed, E.M., and A.E. Zeinab. 2016. Karyotype Analysis and Protein Profile for Three Trifolium Species. *Journal of Cytology & Histology*. 7(2): 1-6.