

PENGARUH ORYZALIN TERHADAP TINGKAT PLOIDI TANAMAN GARUT (*Maranta arundinacea* L.)

L. Agus Sukamto, Fajarudin Ahmad, dan Albertus H. Wawo
Bidang Botani, Pusat Penelitian Biologi – LIPI

(terima tgl. 21/04/2010 – disetujui tgl. 18/11/2010)

ABSTRAK

Tanaman garut (*Maranta arundinacea* L.) diperbanyak secara vegetatif hingga keragaman genetiknya sangat sempit. Keragaman genetik yang sempit dapat diperluas melalui manipulasi ploidi. Oryzalin dapat menginduksi tingkat ploidi kromosom dan memperluas variasi genetik tanaman. Peningkatan jumlah kromosom biasanya berhubungan dengan peningkatan stomata, umbi, dan kandungan patinya. Tujuan penelitian ini untuk memperluas keanekaragaman genetik tanaman garut dengan penggandaan kromosom dan mencari individu-individu tanaman yang berpotensi poliploid dan dapat meningkatkan hasil. Penelitian dilakukan di Kebun Percobaan *Cibinong Science Center*, Februari sampai Desember 2009. Potongan umbi sepanjang 5 ruas direndam dalam larutan Oryzalin 0; 10; 20; 30; 40; 50; dan 60 μM selama 6 hari dan dibilas dengan air, ditanam di polibag yang berisi tanah dan kompos (1:1) di lapang dengan naungan 30% paranet. Perlakuan Oryzalin konsentrasi tinggi (≥ 30 μM) pada umbi garut menghambat, tetapi pada konsentrasi rendah (10 μM) meningkatkan pertumbuhan tanaman. Beberapa tanaman garut hasil perlakuan dengan Oryzalin merupakan tanaman potensial poliploid, stomatanya lebih besar/panjang, daunnya berwarna hijau tua, lebih membulat, lebih tebal, dan lebih bergelombang dibanding dengan tanaman kontrolnya.

Kata kunci : *Maranta arundinacea* L., Oryzalin, manipulasi ploidi

ABSTRACT

The Effect of Oryzalin on Ploidy Level of Arrowroot Plant (*Maranta arundinacea* L.)

Arrowroot is propagated vegetative so its genetic variation is very narrow. The narrow genetic variation could be broadened through ploidy manipulation. Oryzalin could induce ploidy level of chromosomes and broaden plant genetic variation. Increase in chromosome number usually corresponds with increase stomata, corm, and starch contents. The aims of this research were to broaden germplasms of arrowroot plant by doubling its chromosomes and seeking for individual plants that potentially polyploidy to yield increase. This experiment had been done in experimental garden of Cibinong Science Center, February-December 2009. A five-node rhizome was soaked in Oryzalin solution of 0; 10; 20; 30; 40; 50; and 60 μM for 6 days and washed with water. The rhizome was then grown in a polybag containing soil and compost (1:1) in field with 30% shaded net. Oryzalin treatment at high concentration on arrowroot rhizome inhibited plant growth but it increased plant growth at low concentration (10 μM). Several arrowroot plants resulted from Oryzalin treatments were potential polyploid plants. Their stomata were bigger/longer, greener, more rounded, thicker, and more undulated leaves than the control.

Key words : *Maranta arundinacea* L., Oryzalin, ploidy manipulation

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu negara dengan konsumsi beras tertinggi di dunia. Pilihan masyarakat Indonesia pada tanaman padi sebagai sumber karbohidrat utama, mudah dipahami karena padi sudah lama dibudidayakan dan mudah disimpan. Hal ini berbeda dengan tanaman penghasil karbohidrat lain, seperti sorghum, ubi kayu, ubi jalar, sagu, kentang, dan garut yang membutuhkan pascapanen yang lebih rumit. Ketergantungan pada padi, sebagai sumber karbohidrat utama masyarakat Indonesia, membahayakan ketahanan pangan nasional sehingga perlu mencari sumber karbohidrat alternatif.

Garut merupakan salah satu sumber karbohidrat alternatif yang mempunyai potensi sangat besar untuk dikembangkan. Garut dibudidayakan untuk mendapatkan umbi (rimpang) dan terutama untuk tepung yang diekstrak dari umbinya. Makanan yang terbuat dari tepung garut mempunyai keistimewaan, yaitu mudah dicerna hingga sangat baik untuk menu bagi bayi, orang yang diet makanan tertentu, maupun orang yang baru sembuh dari sakit, terutama yang kesulitan buang air besar. Tepung garut juga dapat menggantikan bahan pematik media kultur jaringan, yang hasil pertumbuhan tanamannya tidak berbeda nyata dengan agar/gelrite yang biasa digunakan (Gonzalez *et al.* 2006). Substitusi bahan tersebut akan menghemat biaya penelitian karena agar/gelrite harus diimpor dengan harga yang sangat mahal (Rp300.000,- sampai Rp2.000.000,-/kg) dan juga menghemat devisa negara.

Manipulasi ploidi telah dimanfaatkan dalam pemuliaan tanaman

seperti gandum (hexaploid $2n=6x$), kentang (tetraploid $2n=4x$), pisang (triploid $2n=3x$; tetraploid $2n=4x$), jambu biji *seedless* (triploid $2n=3x$), mangga (tetraploid $2n=4x$), dan semangka *seedless* ($2n=3x$). Tanaman poliploid, terutama triploid pada umumnya mempunyai ukuran vegetatif maupun generatif yang lebih besar, misalnya bunga *Petunia axillaris* (Gupta 1982), buah apel, pir, jeruk, dan anggur (Sanford 1983), hasil kayu *Populus tremuloides* (Johri *et al.* 1980), umbi kentang dan lobak (Poehlman 1986), buah dan daun pisang. Tanaman garut diploid ($2n=48$) kemungkinan besar dapat ditingkatkan ukuran umbi maupun kandungan tepungnya dengan meningkatkan ploidi kromosomnya menjadi triploid ($2n=72$), tetraploid ($2n=96$) atau hexaploid ($2n=144$), seperti pada umbi tanaman yacon yang octoploid ($2n=58$) menjadi hexadecaploid ($2n=116$) dengan menggunakan Oryzalin hingga kandungan sakarida meningkat sekitar 2 x lebih tinggi (Viehmanna *et al.* 2009).

Manipulasi ploidi kromosom dapat dilakukan dengan menggunakan senyawa kimia Oryzalin (3,5-dinitro-N4, N4-dipropylsulfanilamide) suatu herbisida selektif *pre emergence* untuk mengendalikan gulma rumput dan berdaun lebar (Hall *et al.* 2005), yang menghalangi pembentukan benang *spindle* pada waktu mitosis hingga sel-sel baru yang terbentuk jumlah kromosomnya berlipat ganda (Strachan & Hess 1983; Van Duren *et al.* 1996). Oryzalin lebih efektif sebagai agen untuk menggandakan kromosom dibanding amiprophos-methyl (APM) atau colchicine (Ramulu *et al.* 1991). Perlakuan

Oryzalin telah dipakai untuk mendapatkan tanaman tetraploid pada kentang (Ramulu *et al.* 1991; Chauvin *et al.* 2003; Barandalla *et al.* 2006), pisang (Van Duren *et al.* 1996), *Rhododendron* (Vainola 2000), *Miscanthus sinensis* (Petersen *et al.* 2003), *Alocasia* (Thao *et al.* 2003), mawar (Kermani *et al.* 2003; Khosravi *et al.* 2007; Allum *et al.* 2007), bawang merah (Grzebelus dan Adamus 2004), *Spathiphyllum wallisii* (Eeckhaut *et al.* 2004), *japanese quince* (Stanys *et al.* 2006), *Ranunculus* (Dhooghe *et al.* 2009), *yacon* (Viehmannova *et al.* 2009), jeruk (Aleza *et al.* 2009).

Tanaman garut diduga berasal dari Amerika Tengah dan Selatan yang telah lama diintroduksi dan telah beradaptasi dengan kondisi Indonesia (Villamayor dan Jukema 1996). Tanaman ini tidak membentuk biji dan perbanyakannya dilakukan secara vegetatif terus menerus hingga keragaman genetiknya sangat sempit. Penggunaan bibit seadanya dari anak-anak/sisa umbi hasil panen dan penanaman di tanah-tanah yang marginal menyebabkan hasilnya rendah, disamping pasca panen yang sederhana menyebabkan daya simpan umbi/tepungnya rendah. Akibatnya ketersediaan bahan baku untuk industri juga terbatas menyebabkan industri pengolahan pangan tidak berkembang sehingga harga tidak kompetitif dan semakin membuat petani tidak berminat mengembangkannya. Pemanfaatan yang kurang optimal tersebut sejalan dengan kurangnya penelitian dan pengembangan komoditas garut.

Tujuan penelitian ini untuk memperluas keanekaragaman genetik tanaman garut dengan menggandakan jumlah kromosomnya dan mencari individu-individu tanaman yang ber-

potensi poliploid hasil dari perlakuan Oryzalin yang dapat meningkatkan hasilnya.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan di Kebun Percobaan *Cibinong Science Center*, Februari sampai Desember 2009. Material hidup berupa umbi diambil di lapangan atau dibeli dari penduduk di daerah Bogor dan sekitarnya. Umbi dibersihkan dari tanah dan seludang yang menutupinya. Umbi berdiameter 1,0-1,2 cm dipotong 5 ruas, direndam dalam larutan Oryzalin 0; 10; 20; 30; 40; 50; dan 60 μM kemudian digojok dengan alat penggojok *shaker* selama 6 hari. Potongan umbi dibilas dengan air sebanyak 3 kali. Potongan umbi ditanam di polibag yang berisi media tanah dan kompos (2:1) di lapang dengan naungan paranet 30%. Penelitian menggunakan Rancangan Kelompok Lengkap Teracak dengan satu faktor, yaitu 7 taraf perlakuan konsentrasi Oryzalin, dengan empat ulangan dan tiap ulangan terdiri dari 3 unit tanaman. Pengamatan dilakukan setiap bulan sampai bulan ketiga terhadap parameter : tinggi tanaman, jumlah daun, diameter batang, dan jumlah anakan.

Pengukuran panjang stomata daun dilakukan terhadap tiap tanaman yang diperlakukan dengan konsentrasi Oryzalin yang berbeda. Sampel diambil dari tiap tanaman sebanyak 5 stomata pada permukaan atas daun termuda ketiga. Kutek kuku diusapkan tipis sekitar 0,5 cm dipermukaan daun, ditunggu $\pm$ 5 menit sampai kutek mengering. Selotip *Scotch* ditempelkan pada kutek yang sudah kering, kutek yang sudah tercetak stomata diambil dan ditempel di

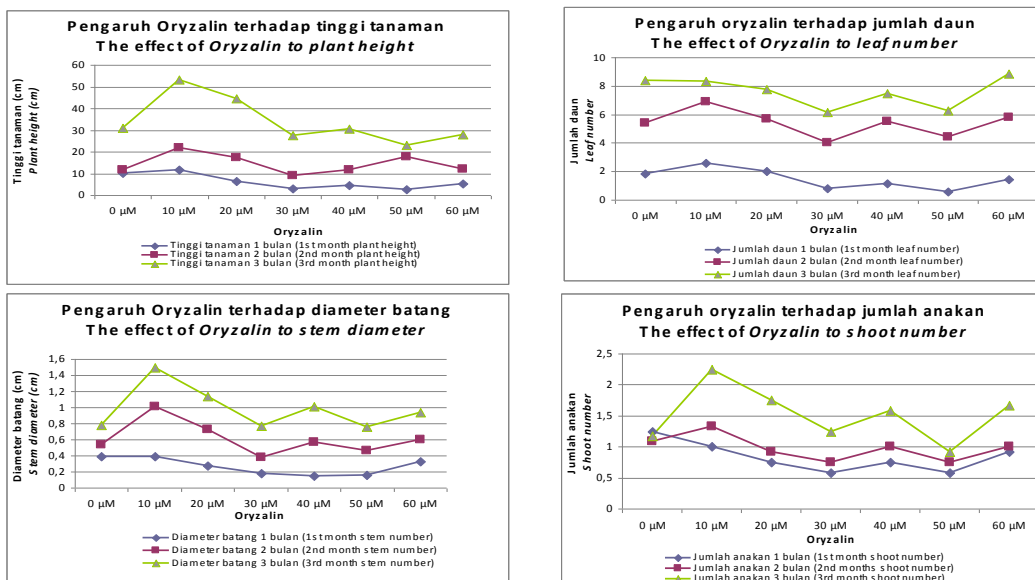
gelas benda. Panjang stomata yang terdapat pada gelas benda, diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 10 x 40 kali dan diukur dengan mikrometer. Tanaman-tanaman yang potensial poliploid (stomata lebih besar/panjang) diamati penampakan habitus tanaman dan daunnya secara kualitatif dibanding dengan tanaman kontrol setelah 9 bulan tanam. Data dianalisa dengan *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) dari prosedur *Statistical Analysis System* (SAS).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pertumbuhan tanaman garut

Perlakuan Oryzalin konsentrasi tinggi pada tanaman garut cenderung menghambat pertumbuhan, tetapi pada perlakuan Oryzalin konsentrasi rendah meningkatkan pertumbuhan tanaman garut (Gambar 1). Oryzalin

konsentrasi rendah (10 μ M) meningkatkan tinggi tanaman, diameter batang, dan jumlah anakan tanaman garut secara nyata, tetapi jumlah daunnya tidak meningkat (Tabel 1). Hasil yang sama diperoleh Malamug *et al.* (1994) dengan agen pemutasi radiasi sinar gamma dosis 5 dan 10 Gy yang meningkatkan jumlah anakan talas "Egu-imo", Sukanto *et al.* (2002) pada tunas talas kultivar "Ketan" dengan radiasi sinar gamma dosis 5 Gy yang meningkatkan berat tunas dan jumlah anakannya. Qosim *et al.* (2007) dengan radiasi 5 Gy meningkatkan jumlah tunas dari kalus manggis, Kuzin *et al.* (1986) dengan kumulatif radiasi 0,02 Gy selama 7 hari meningkatkan pertumbuhan ketimun, Al-Safadi dan Simon (1990) dengan radiasi 5 dan 10 Gy meningkatkan berat kalus dan 10 Gy merangsang pembentukan tunas wortel, dan Al-Safadi *et al.* (2000)



Gambar 1. Pengaruh Oryzalin terhadap berbagai parameter pertumbuhan tanaman garut umur 1, 2, dan 3 bulan

Figure 1. The effect of Oryzalin on some parameters on the arowh of arrowroot plant of 1, 2, and 3 months old

Tabel 1. Pengaruh Oryzalin terhadap pertumbuhan tanaman garut
Table 1. The effect of Oryzalin on the growth of arrowroot plant

Oryzalin (μ M)	Tinggi tanaman/ <i>Plant height (cm)</i>	Jumlah daun/ <i>Leaf number</i>	Diameter/ <i>Diameter (cm)</i>	Jumlah anak/ <i>Shoot number</i>
0	17,53 bc	5,22 ab	0,56 b	1,17 b
10	28,87 a	5,94 a	1,24 a	1,53 a
20	19,92 b	4,58 bc	0,60 b	1,08 bc
30	13,14 c	3,67 c	0,44 b	0,86 cd
40	15,64 bc	4,72 b	0,57 b	1,11 bc
50	14,54 bc	3,75 c	0,46 b	0,75 d
60	15,06 bc	5,37 ab	0,74 b	1,19 b

Keterangan : Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada satu kolom tidak berbeda nyata pada tingkat 5% DMRT

Note : Numbers in the same group followed by same letter in the columns are not significantly different at the 5% level DMRT

pada radiasi sinar gamma 2,5 Gy meningkatkan jumlah umbi mikro kentang. Diduga pemaparan terhadap agen pemutasi, seperti Oryzalin atau radiasi sinar gamma dosis rendah menyebabkan adaptasi sel dan jaringan tanaman terhadap radikal bebas yang mengubah struktur dan fungsi sel membran hingga terjadi peningkatan pertumbuhan (Kuzin *et al.* 1986).

Oryzalin pada konsentrasi 20 μ M tidak menunjukkan perbedaan tinggi tanaman, diameter batang, jumlah daun, dan jumlah anakan secara nyata. Konsentrasi Oryzalin 30 μ M menurunkan jumlah daun dan jumlah anakan tanaman garut, tetapi konsentrasi 40 μ M tidak menunjukkan beda nyata pada semua parameter pertumbuhan. Oryzalin pada konsentrasi 50 μ M menurunkan secara nyata pertumbuhan jumlah daun dan jumlah anakan tanaman yang terbentuk, tetapi perlakuan Oryzalin 60 μ M tidak menunjukkan beda nyata semua parameter pertumbuhan. Ada kecenderungan konsentrasi Oryzalin yang tinggi menurunkan pertumbuhan tanaman. Penurunan pertumbuhan akibat perlakuan mutagen pada konsentrasi tinggi juga dilaporkan Malamug *et al.* (1994),

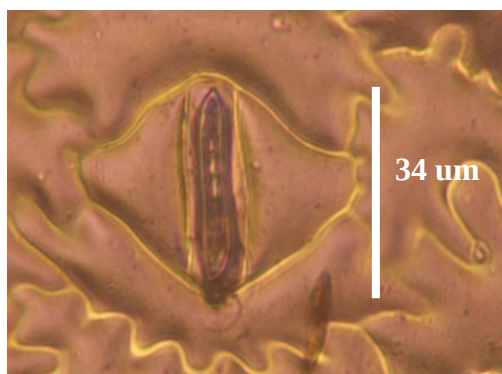
Sukanto *et al.* (2002) pada tanaman talas, Qosim *et al.* (2007) pada tanaman manggis, Kuzin *et al.* (1986) pada tanaman ketimun, Al-Safadi dan Simon (1990) pada tanaman wortel, dan Al-Safadi *et al.* (2000) pada tanaman kentang. Respon penurunan pertumbuhan tanaman garut tidak selaras dengan peningkatan konsentrasi Oryzalin (Tabel 1). Adanya perbedaan respon tiap individu tanaman garut terhadap perlakuan Oryzalin pada konsentrasi 30-60 μ M menunjukkan adanya variasi jaringan (*chimera*) dalam umbi garut yang diperlakukan.

Panjang stomata

Hasil pengukuran panjang stomata tanaman garut yang diperlakukan dengan Oryzalin bervariasi, ada yang berkategori kecil sampai besar (24-53 μ m), tetapi tidak ada perubahan dalam hal tipe stomatanya. Contoh panjang stomata berkategori sedang (34 μ m) dapat dilihat pada Gambar 2 dan berkategori kecil (28 μ m) pada Gambar 3.

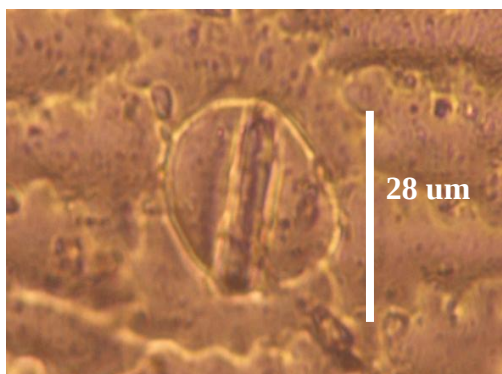
Perlakuan Oryzalin tidak berpengaruh nyata terhadap rerata ukuran stomata daun (Tabel 2), tetapi

beberapa tanaman garut hasil perlakuan Oryzalin mempunyai stomata lebih panjang dibanding kontrol (Gambar 4). Hal yang sama juga didapat oleh Ahmad *et al.* (2009) pada tanaman pisang dan Stanys *et al.* (2006) pada tanaman *Japanese quince*, bahwa stomata tanaman tetraploid panjang (sekitar 1/3) dibanding kontrolnya.



Gambar 2. Stomata daun ukuran sedang

Figure 2. Medium size of leaf stomata



Gambar 3. Stomata daun ukuran kecil

Figure 3. Small size of leaf stomata

Tabel 2. Pengaruh perlakuan Oryzalin terhadap rerata panjang stomata tanaman garut

Table 2. The effect of Oryzalin treatment on average length of stomata

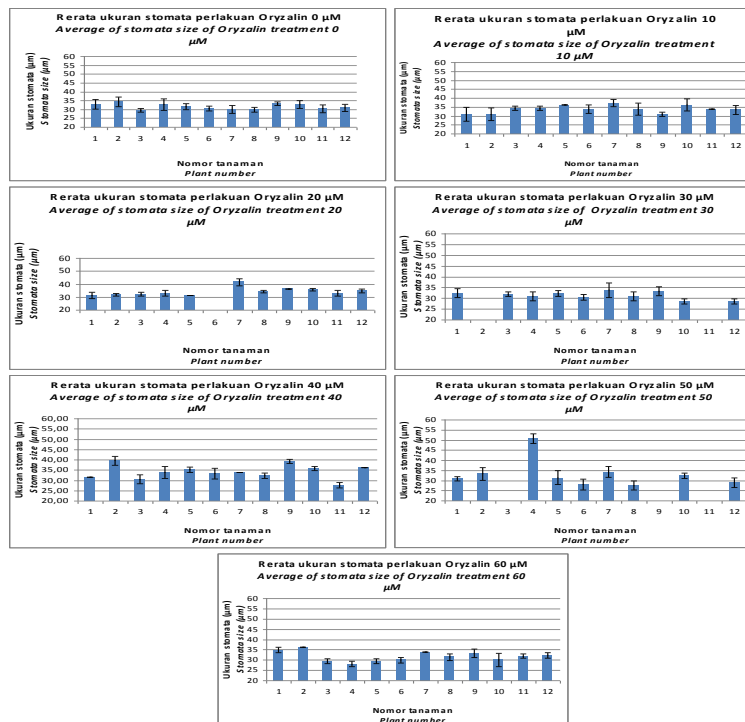
Oryzalin (μM)	Panjang stomata (μm)/ <i>Stomata length (μm)</i>
0	31,62 ab
10	33,88 a
20	31,34 ab
30	26,14 ab
40	34,12 a
50	24,85 b
60	31,78 ab

Keterangan : Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada satu kolom tidak berbeda nyata pada tingkat 5% DMRT

Note : Numbers followed by same letter in the column are not significantly different at the 5% level of DMRT

Tanaman poliploid

Beberapa tanaman hasil perlakuan Oryzalin menghasilkan panjang stomata melebihi panjang rata-rata stomata tanaman garut normal, seperti pada individu tanaman nomor 7 hasil perlakuan Oryzalin 20 μM , nomor 2 dan 9 hasil perlakuan Oryzalin 40 μM dan nomor 4 hasil perlakuan Oryzalin 50 μM , yang berpotensi poliploid. Individu tanaman yang stomatanya relatif jauh lebih panjang tidak terjadi pada perlakuan Oryzalin konsentrasi tertentu (Gambar 4). Hal ini menunjukkan adanya variasi jaringan dalam umbi tanaman garut yang digunakan hingga perlakuan Oryzalin konsentrasi tertentu terhadap umbi garut menghasilkan respon yang berbeda.



Gambar 4. Histogram rerata panjang stomata dan standar deviasi daun garut tiap individu tanaman pada berbagai konsentrasi Oryzalin

Figure 4. Histogram of stomata length and standard deviation averages of arrowroot leaf of each plant individu on several Oryzalin concentrations



Gambar 5. Habitus tanaman garut kontrol dan potensial poliploid

Figure 5. Habitus of control and potential polyploids of arrowroot plants

Keterangan/Note :

K: Kontrol, panjang stomata 33,88 µm/Control, stomata length 33.8 µm

1: Perlakuan Oryzalin 20 µM, panjang stomata 41,62 µm/Oryzalin treatment of 20 µM, stomata length 41.62 µm

2: Perlakuan Oryzalin 40 µM, panjang stomata 39,69 µm/Oryzalin treatment of 40 µM, stomata length 39.69 µm

3: Perlakuan Oryzalin 40 µM, panjang stomata 39,20 µm/Oryzalin treatment of 40 µM, stomata length 39.20 µm

4: Perlakuan Oryzalin 50 µM, panjang stomata 50,82 µm/Oryzalin treatment of 50 µM, stomata length 50.82 µm

Tanaman garut yang potensial tetraploid, tinggi habitus tanamannya tidak tercermin/selaras dengan panjang stomata daunnya (Gambar 5), tetapi tingkat ploidi kromosom suatu tanaman selaras dengan besarnya stomata daunnya. Semakin tinggi tingkat ploidi kromosom maka stomata daunnya semakin besar. Penampakan daun tanaman garut yang potensial poliploid adalah lebih hijau, bentuk lebih membulat, lebih tebal, dan permukaannya menggelombang dibanding dengan tanaman kontrol. Penampakan tanaman poliploid serupa juga diperoleh pada pisang (Van Duren *et al.* 1999; Ahmad *et al.* 2009), *Alocasia* (Thao *et al.* 2003), dan mawar (Kermani *et al.* 2003).

KESIMPULAN

Perlakuan Oryzalin berpotensi meningkatkan ploidi kromosom garut, yang juga meningkatkan keragaman genetiknya. Beberapa tanaman hasil perlakuan Oryzalin yang menunjukkan potensial poliploid yaitu stomata daunnya relatif lebih panjang, penampakan daunnya lebih hijau, bentuk daun lebih membulat, lebih tebal, dan bergelombang dibanding dengan tanaman normal (kontrol).

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Ditjen Pendidikan Tinggi (DIKTI) atas dana yang telah diberikan dan Pusat Penelitian Biologi - Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) atas perkenannya mengikuti program DIKTI hingga terlaksananya penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, F., I.R. Tambunan, dan Witjaksono. 2009. Ukuran Stomata sebagai Prescreening dalam Identifikasi Ploid Pisang dengan *Flow Cytometer*. Prosiding Seminar Biologi XX dan Kongres Perhimpunan Biologi Indonesia XIV, Malang, pp. 238-243.
- Al-Safadi, B., Z. Ayyoubi, and D. Jawdat. 2000. The Effect of Gamma Irradiation on Potato Microtuber Production *In Vitro*. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*. 61:183-187.
- Al-Safadi, B. and P.W. Simon. 1990. The Effects of Gamma Irradiation on Growth and Cytology of Carrot (*Daucus carota*) Tissue Culture. *Environmental and Experimental Botany*. 30(3):361-371.
- Aleza, P., J. Juarez, P. Ollitrault, and L. Navarro. 2009. Production of Tetraploid Plants of Non Apomictic Citrus Genotypes. *Plant Cell Reports* 28(12):1837-1846.
- Allum, J.F., D.H. Bringloe, and A.V. Roberts. 2007. Chromosome Doubling in a *Rosa rugosa* Thunb. Hybrid by Exposure of *In Vitro* Nodes to Oryzalin : The Effects of Node Length, Oryzalin Concentration, and Exposure Time. *Plant Cell Reports* 26(11):1977-1984.
- Barandalla, L., E. Ritter, and J.I.R.D. Galarreta. 2006. Oryzalin Treatment of Potato Diploids Yields Tetraploid and Chimeric Plants from Which Euploids Could be Derived by Callus Induction. *Potato Research* 49:143-154.

- Chauvin, J.E., C. Souchet, J.P. Dantec, and D. Ellisseche. 2003. Chromosome Doubling of 2x *Solanum* Species by Oryzalin: Method Development and Comparison with Spontaneous Chromosome Doubling *In Vitro*. Plant Cell, Tissue, and Organ Culture 73:65-73.
- Dhooghe, E., S. Denis, T. Eekhaut, D. Reheu, and M.V. Labeke. 2009. *In Vitro* Induction of Tetraploids in Ornamental Ranunculus. Euphytica 168(1):33-40.
- Eekhaut, T.G.R., S.P.O. Werbrouck, L.W.H. Leus, E.J.V. Bockstaele, and P.C. Deberg. 2004. Chemically Induced Polyploidization in *Spathiphyllum wallisii* Regel through Somatic Embryogenesis. Plant Cell, Tissue, and Organ Culture 78(3):241-246.
- Gonzalez, R., H.Y.H. Sosa, and Isabel. 2006. Gel de *Aloe vera* (L.) N.L.Burm.Y Harina de Sagu Como Soporte Solido de Medio de Cultivo Para Plantas Medicinales. Abstrak Revista Cubana de Plantas Medicinales 11(1). Habana, Cuba. 2006. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&S1028-47962006000100007&Ing.
- Grzebelus, E. and A. Adamus. 2004. Effect of Antimitotic Agents on Development and Genome Doubling of Gynogenic Onion (*Allium cepa* L.) Embryos. Plant Sci. 167(3): 569-574.
- Gupta, P.P. 1982. Genesis of Microspore-Derived Triploid Petuias. Theor. Appl. Genet. 61: 327-331.
- Hall, L.C., J.M. Rogers, M.S. Denison, and M.L. Johnson. 2005. Identification of the Herbicide Surflan and Its Active Ingredient Oryzalin, a Dinitrosulfonamide, as Xenoestrogens. Archives of Environmental Contamination and Toxicology 48(2):201-208.
- Johri, B.M., P.S. Srivastava, and A.P. Raste. 1980. Endosperm Culture. *In*: Vasil, I.K. (ed.). Int. Rev. Cytology, Suppl. 11B, Perspectives in Plant Cell and Tissue Culture. Academic Press, New York. pp. 157-182.
- Kermani, M.J., V. Sarasan, A.V. Roberts, K. Yokoya, J. Wentworth, and V.K. Sieber. 2003. Oryzalin-induced Chromosome Doubling in Rosa and Its Effect on Plant Morphology and Pollen Viability. Theor. and Applied Genetics 107(7): pp. 1195-1200.
- Khosravi, P., M.J. Kermani, G.A. Nematzadeh, M.R. Bihanta, and K. Yokoya. 2007. Role of Mitotic Inhibitors and Genotype on Chromosome Doubling of Rosa. Euphytica 160(2):267-275.
- Kuzin, A.M., M.E. Vagabova, M.M. Vilenchik, and V.G. Gogvadze. 1986. Stimulation of Plant Growth by Exposure to Low Level γ -radiation and Magnetic Field, and Their Possible Mechanism of Action. Environmental and Experimental Botany 26(2):163-167.
- Malamug, J.J.F., S. Yazawa, and T. Asahira. 1994. Morphological Variants Induced from Shoot Tips of Taro (*Colocasia esculenta* (L) Schott) Treated With Gamma Radiation. Scientia Horticulturae 58:105-113.
- Petersen, K.K., P. Hagberg, and K. Kristiansen. 2003. Colchicine and Oryzalin Mediated Chromosome Doubling in Different Genotypes of *Miscanthus sinensis*. Plant Cell, Tissue, and Organ Culture 73:137-146.

- Poehlman, J.M. 1986. Breeding Field Crops. Van Nostrand Reinhold, New York, 768 p.
- Qosim, W.A., R. Purwanto, G.A. Wattimena, dan Witjaksono. 2007. Pengaruh Iradiasi Sinar Gamma Terhadap Kapasitas Regenerasi Kalus Nodular Tanaman Manggis. *Hayati* 14(4):140-144.
- Ramulu, K.S., H.A. Verhoeven, and P. Dijkhuis. 1991. Mitotic Blocking, Micronucleation, and Chromosome Doubling by Oryzalin, Amiprophos-Methyl, and Colchicine in Potato. *Protoplasma* 160: 65-71.
- Sanford, J.C. 1983. Ploidy Manipulations. *In*: J.N. Moore & K. Janick (eds.). *Methods in Fruit Breeding*. Purdue Univ. Press. West Lafayette, Indiana. pp. 100-123.
- Stanys, V., A. Weckman, G. Stanienne, and P. Duchovskis. 2006. *In Vitro* Induction of Polyploidy in Japanese Quince (*Chaenomeles japonica*). *Plant Cell, Tissue, and Organ Culture* 84(3):163-268.
- Strachan, S.D. and F.D. Hess. 1983. The Biochemical Mechanism of Action of The Dinitroaniline Herbicide Oryzalin. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 20(2): 141-150.
- Sukanto, L.A., Irawati, and G.G. Hambali. 2002. Development of Early Maturing and Leaf Blight Resistant Taro (*Colocasia esculenta* L.) with Improved Taste. Working Material: Genetic Improvement of Under-utilized and Neglected Crops in LIFDCs through Irradiation and Related Techniques. IAEA, Vienna, Austria, pp. 51-53.
- Thao, N.T.P., K. Ureshino, I. Miyajima, Y. Ozaki, and H. Okubo. 2003. Induction of Tetraploids in Ornamental *Alcacia* Through Colchicine and Oryzalin Treatments. *Plant Cell, Tissue, and Organ Culture* 72:19-25.
- Vainola, A. 2000. Polyploidization and Early Screening of *Rhododendron* hybrids. *Euphytica* 112(3):239-244.
- Van Duren, M., R. Morpurgo, J. Doleze, and R. Afza. 1996. Induction and Verification of Autotetraploids in Diploid Banana (*Musa acuminata*) by *In Vitro* Techniques. *Euphytica* 88: 25-34.
- Viehmanna, I., E.F. Cusimamani, M. Bechyne, M. Vyvadilova, and M. Greplova. 2009. *In Vitro* Induction of Polyploidy in Yacon (*Smallanthus sonchifolius*). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 97(1):21-25.
- Villamayor, F.G. and J. Jukema. 1996. *Maranta arundinacea* L. *In*: M. Flach and F. Rumawas (eds.). *Plants Yielding Non-seed Carbohydrates, Plant Resources of South East Asia No 9*. Bogor, Indonesia. pp. 113-116.