

INDUÇÃO DE MUTAÇÃO NO MELHORAMENTO DA SOJA (*Glycine max*, L.)

TULMANN NETO, A.¹; MENTEN, J.O.M.^{1*}; ANDO, A.^{1*}

RESUMO

Atualmente a soja é uma das mais importantes culturas no Brasil. Além dos métodos tradicionais de melhoramento de plantas, pode-se utilizar indução de mutação para se aumentar a variabilidade genética, permitindo a seleção de mutantes para várias características agronômicas.

A partir de 1980, as Seções de Radiogenética do CENA e de Virologia do IAC, iniciaram trabalhos visando a obtenção de resistência ao vírus da queima do broto em soja. Posteriormente, incluiu-se a obtenção de mutantes para resistência à ferrugem e atualmente procura-se também a obtenção de mutantes precoces.

Nestas pesquisas, tem sido realizado tratamento de sementes com raios-gama ou metanossulfonato de etila. Quando um número relativamente baixo de sementes é tratado, as plantas da geração M₁ são colhidas individualmente. Quando os tratamentos envolvem grande número de sementes os métodos massal ou o de uma semente por planta, são utilizados. As seleções para resistência às doenças citadas, são feitas em condições de campo ou em casa de vegetação. As plantas com ausência ou com baixa intensidade de sintomas são selecionadas na geração M₂ e suas progênies novamente testadas. Tem sido observado que a maior parte das plantas selecionadas se constituíram em escapes. Entretanto, no que se refere à queima do broto, em um tratamento efetuado com raios-gama, algumas linhagens parecem apresentar certo nível de resistência, após serem submetidas a várias inoculações.

No que se refere à obtenção de precocidade, o trabalho está apenas em seu início, algumas plantas precoces foram selecionadas na geração M₂ de algum tratamento, mas há necessidade de confirmação.

¹Pesquisadores - CENA/USP, Caixa Postal 96, 13.400-Piracicaba, SP. Brasil

*Bolsistas - CNPq

1. INTRODUÇÃO

Devido suas vantagens para o consumo humano, o cultivo da soja (*Glycine max* L.) tem aumentado em vários países. Este fato pode ser observado particularmente no Brasil, que em curto período de tempo, passou a ser o segundo exportador mundial existindo ainda a possibilidade de ocupação de novas áreas tais como a região Central, Norte e Nordeste (1).

O rápido aumento da área cultivada no Brasil foi acompanhado do aumento de doenças que passaram a causar prejuízos. Citam-se entre as várias doenças, 20 particularmente importantes (1). Por isto, nos programas de melhoramento, procuram-se fontes de resistência que possam ser incorporadas nas nossas cultivares (1, 2, 3).

Tem sido observado que para algumas doenças, existem limitações na variabilidade genética natural, no que se refere a fontes de resistência. Este fato tem sido observado na doença conhecida como queima do broto, causada por vírus ("tobacco streak virus", TSV) e na ferrugem, causada pelo fungo *Phakopsora pachyrhizi*.

Com relação à queima do broto, a doença foi identificada no Brasil em 1955 (4). As plantas afetadas paralizam o crescimento, há brotações axilares que dão aspecto de vassoura à planta e uma curvatura e necrose do broto apical e em geral estas plantas não produzem vagens. Embora possa ser transmitida por semente (4, 5, 6), a forma principal de transmissão é um trips do gênero *Frankliniella*, que transmite principalmente da cravórana (*Ambrosia polystachia* DC) um erva daninha de pasto, frequente na área onde existe a doença (7). Além deste, o vírus tem outros hospedeiros, incluindo plantas cultivadas e ervas daninhas (8). As perdas podem ser severas (9), mas os surtos têm sido esporádicos principalmente em regiões produtoras do Paraná e São Paulo.

Triagem em busca de resistência tem sido feita há tempos utilizando-se inoculação mecânica, mas níveis satisfatórios de resistência não tem sido detectados (1, 2)

embora recentemente uma ou duas linhas sejam promissoras (A.S. COSTA, comunicação pessoal).

Com relação à ferrugem, causada por *Phakopsora pachyrhizi* Sydow, é um dos principais problemas da cultura em certos países, podendo reduzir a produtividade de 10 a 50% devido à prematura perda de folhas e alterações metabólicas (10). Várias leguminosas podem atuar como hospedeira (10). No Brasil, em soja, a ferrugem foi reconhecida recentemente em parcelas experimentais em Lavras, em Minas Gerais em 1979 (11). Em 1980 o patógeno foi encontrado em Goiás (12). Anteriormente, em outros locais, a ferrugem aparecia somente sob determinadas condições de umidade ambiental (10). Depois de algum tempo entretanto, a doença passou a ocorrer o ano todo, mesmo em condições não favoráveis (10). Por isto, a doença é considerada como de potencial importância para a região Central do Brasil, área esta onde poderá haver uma grande expansão da cultura de soja.

Devido às razões citadas, a obtenção de cultivares resistentes é um dos objetivos de importância em vários países. Existem fontes de resistência, mas que são transitórias e instáveis devido provavelmente a variações no patógeno (13, 14). No Brasil, centenas de materiais têm sido tratados para resistência, em condições de campo, em Lavras, Minas Gerais (15, 16), observando-se diferentes densidades de lesões da ferrugem.

É bem conhecido que mutagênicos químicos e físicos podem aumentar a variabilidade genética (17). Através de mutações induzidas, germoplasmas com boas características têm sido obtidos (18, 19). No Brasil, indução de mutações no melhoramento de plantas tem sido utilizada com vários objetivos, em várias culturas, especialmente para resistência a doenças (20).

Em soja, indução de mutações tem sido empregada com relativo sucesso, utilizando-se vários mutagênicos, especialmente metanosulfonato de etila e raios-gama (21, 22, 23, 24). Atualmente, em vários países, existem projetos em desenvolvimento com o objetivo de indução de mutações para resistência a doença (22, 25, 26, 27).

Em virtude da situação exposta anteriormente, iniciou-se no Brasil pesquisa com o objetivo de indução de mutações para o desenvolvimento de fontes de resistência à queima do broto e ferrugem da soja, devido à necessidade de fontes adicionais de genes de resistência a estas doenças. Em trabalho anterior (28) foram apresentados com mais detalhes, as justificativas e etapas iniciais desta pesquisa, que serão agora complementados com resultados mais recentes.

Como será descrito adiante, vários materiais, tratamentos e locais estão sendo utilizados nos diversos experimentos. Como as mutações ocorrem ao acaso, além de se fazer a seleção de mutantes para os objetivos citados, resolveu-se também selecionar outros tipos de mutantes que possam surgir como consequência dos tratamentos com os mutagênicos. Neste caso, resolveu-se dar

particular atenção à seleção de mutantes precoces, sendo este também um dos objetivos do trabalho.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Cultivares utilizadas

Como a frequência de mutações pode depender do genótipo utilizado, várias cultivares estão sendo empregadas, procurando-se sempre utilizar as de boas características agrônômicas. Sendo assim, se um mutante for obtido, poderá ser utilizado diretamente pelos agricultores ou indiretamente, em programas de melhoramento.

Até o momento, foram tratadas com mutagênicos sementes de Paraná, Santa Rosa, UFV-1, Foscarin 31 e IAC-8.

2.3. Tratamento com mutagênicos

Foram utilizados para tratamento de sementes raios-gama da fonte de ^{60}Co do CENA e o mutagênio químico metanosulfonato de etila (EMS). As doses de radiação e concentração de EMS são escolhidas a partir de experimentos preliminares. Nestes experimentos procura-se analisar a redução da altura do epicótilo da plântula, 10 dias após a emergência.

Na Tabela 1 demonstra-se a sensibilidade da cultivar Paraná a diversas doses de radiação e na Tabela 2 a de Foscarin-31 e IAC 8. O mesmo tipo de experimento foi realizado com EMS e na Tabela 3 indica-se a sensibilidade da cultivar Paraná a diversas concentrações.

Baseando-se nos experimentos preliminares foram escolhidas as doses e concentrações para o tratamento definitivo. Procurou-se, quando possível, utilizar-se mais de um tratamento para determinada cultivar. O número de sementes tratadas variou de acordo com a situação. Nos casos em que número relativamente baixo de sementes foi utilizado, cada planta sobrevivente da geração M_1 , foi colhida individualmente. Quando um número maior de sementes foi tratado, de cada planta colheu-se uma vagem. Na Tabela 4 faz-se um resumo de alguns dos diferentes tratamentos realizados nos vários experimentos.

TABELA 1 - SENSITIVIDADE DE SEMENTES DE SOJA, CULTIVAR PARANÁ, A RAIOS-GAMA (TAXA DE DOSE DE 300 KR/h), BASEADA NA MEDIDA DO EPICÓTILO, 14 DIAS APÓS A SEMEADURA.

DOSE (KR)	ALTURA EM CENTÍMETROS	ALTURA EM RELAÇÃO AO CONTROLE (= 100,0)
0	8,91	100,0
25	6,82	76,0
35	2,93	33,0
45	1,24	14,0

TABELA 2 - SENSITIVIDADE DE SEMENTES DE SOJA, CULTIVARES FOSCARIN-31 E IAC-8, A RAIOS GAMA (TAXA DE DOSE E 310,5 kR/h), BASEADA NA MEDIDA DO EPICÓTILO, 14 DIAS APÓS A SEMEADURA.

DOSE (kR)	CULTIVAR	
	FOSCARIN-31*	IAC-8
0	10,43*(100)**	12,22(100)
18	9,38(90)	11,46(94)
21	7,88(76)	10,16(83)
24	6,41(61)	9,18(75)
27	5,92(57)	7,02(57)
30	5,73(55)	6,27(51)

* Altura em centímetros

** Altura em relação ao controle = 100

TABELA 3 - SENSITIVIDADE DE SEMENTES DE SOJA, CULTIVAR PARANÁ, A EMS, BASEADA NA MEDIDA DO EPICÓTILO, 14 DIAS APÓS A SEMEADURA.

CONCEN TRACÃO* (M)	ALTURA EM CENTÍMETROS	ALTURA EM RELAÇÃO AO CONTROLE (= 100,0)
0	11,2	100
0,02	11,3	101
0,04	9,0	80
0,06	5,5	49
0,10	1,1	10

* Prê-tratamento em água por 4 horas, 22°C, tratamento com o mutagênico por 8 horas, 0,6 ml de solução por semente, a 22°C; lavagem em água corrente por 1 hora.

2.3. Triagem para resistência à queima do broto.

A seleção procurando-se mutantes resistentes à queima do broto foi realizada tanto em condições de casa de vegetação como em condições de campo.

A triagem em casa de vegetação foi realizada no Instituto Agronômico de Campinas (Seção de Virologia). Plantas ou progênies da geração M₂ foram inoculadas com o vírus utilizando-se o sistema convencional. Plantas sem sintomas foram colhidas

TABELA 4 - TRATAMENTOS COM MUTAGÊNICOS EFETUADOS EM DIVERSAS CULTIVARES DE SOJA.

CULTIVAR	TRATAMENTO	Nº DE SEMENTES
PARANÁ	22 kR, RAIOS-GAMA	23.000
PARANÁ	23 kR, RAIOS-GAMA	54.000
PARANÁ	25 kR, RAIOS-GAMA	15.000
PARANÁ	0,02 M, EMS	3.500
PARANÁ	0,03 M, EMS	3.500
IAC-8	0,05 M, EMS	18.500
FOSCARIN-31	24,5 kR, RAIOS-GAMA	33.000

individualmente e suas progênies novamente inoculadas.

A triagem em condições de campo foi feita na Fazenda Holambra (Paranapanema, São Paulo), área em que, em certos anos, ocorre alta incidência natural da doença. Neste caso, a geração M₂ ou M₃ constituiu-se de uma mistura de sementes obtidas da geração M₁.

2.4. Triagem para resistência a ferrugem

Neste caso, a geração M₂ foi observada em Lavras (Minas Gerais), devido às boas condições ambientais para a manifestação da doença. Foram plantadas em diversas épocas, as misturas de sementes provenientes de Paraná tratada com 22 kR e de IAC-8 tratada com 0,05 M de EMS. Plantas com baixa intensidade de sintomas nas folhas (com menos de 25% de área foliar afetada) foram selecionadas e colhidas individualmente e suas progênies novamente observadas no campo ao lado de controles.

2.5. Triagem para outros tipos de mutantes

Aproveitando-se os materiais em observação nos vários locais ou materiais não utilizados nestes experimentos e semeados em outros locais, efetuou-se a seleção individual de planta, na geração M₂, para diversas características agrônomicas tais como ciclo tardio ou precoce, porte menor, presença de pilosidade, etc..

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Triagem para queima do broto

Tres plantios, em tres anos distintos foram realizados em condições de campo, em Paranapanema. Apenas em um deles houve a incidência da doença que tornou possível a seleção. Neste caso, cerca de 60000 plantas provenientes do tratamento de Paraná com 22 e 25 kR de raios-gama e 0,02 e 0,03 M de EMS, foram observadas, além do controle. Todas as plantas apresentaram sintomas e em apenas uma observou-se a produção de vagens. As sementes desta planta foram inoculadas em casa de vegetação (IAC, Seção de Virologia) e

apresentaram sintomas. Desta modo, nenhum mutante resistente foi obtido.

Em casa de vegetação, no decorrer de dois anos, vários tratamentos foram inoculados e as plantas sem sintomas eram colhidas individualmente. Mas sempre se observou que suas progênies apresentavam sintomas indicando tratar-se de escapes. Entretanto, na geração M₂ proveniente do tratamento da cultivar Paraná com 22 kR uma planta selecionada passou a apresentar certo interesse. Observou-se que sua progênie apresentava a maior parte das plantas sem sintomas. As plantas sem sintomas foram colhidas e suas progênies novamente inoculadas. Ao final deste procedimento, chegou-se a um total de 17 linhagens que, quando inoculadas mecanicamente e colocadas ao lado do controle, parecem apresentar nível maior de resistência. A próxima etapa do trabalho será avaliar a reação destas plantas em condições de campo sujeito à alta incidência natural da doença. Estas linhagens foram enviadas para a Seção de Leguminosas do IAC, para que isto possa ser feito. Lá, existe uma pequena área, cercada por cravonana, que tem sido utilizada para avaliação de materiais para resistência à queima do broto. As linhagens mencionadas serão semeadas em outubro de 1984, junto com outros materiais de interesse do IAC, e assim será possível avaliar-se a utilidade ou não do material selecionado.

3.2. Triagem para resistência a ferrugem

Como dito anteriormente, o plantio foi realizado em Lavras, a partir de 1982. Normalmente são realizados plantios em três épocas a partir de setembro. Em algumas épocas não se constatou ferrugem em alta intensidade e deste modo foi possível realizar-se seleção.

Na geração M₂ proveniente do tratamento de Paraná com 22 kR em setembro de 1982, 17 plantas com menor intensidade de ferrugem, foram selecionadas. Suas progênies foram observadas em 1983 e observou-se alta intensidade de sintomas, indicando tratar-se de escapes.

No plantio de outubro de 1983, na geração M₂ de IAC-8 proveniente do tratamento com 0,05 M de EMS (pré-tratamento em água por 5 horas, tratamento com 0,05 M de EMS por 8 horas, 1 hora de lavagem) 8 plantas foram selecionadas por apresentarem menos de 25% de área foliar afetada. As progênies destas plantas serão observadas no plantio a ser efetuado em 1984, para confirmação ou não da característica selecionada.

3.3. Triagem para precocidade

Aproveitando-se a geração M₂ semeada em Lavras, iniciou-se a seleção em busca de mutantes precoces. Na geração M₂ proveniente de IAC-8 tratada com 0,05 M de EMS, 8 plantas mais precoces que o controle foram selecionadas e colhidas individualmente. Na geração M₂ proveniente do tratamento de Paraná com 23 kR, foram selecionadas plantas com ciclos tardio, precoce, e excesso de pilosidade. A geração M₃ destas plantas será observada em Piracicaba e Londrina para que se

possa avaliar o possível interesse destes materiais no que se refere a precocidade.

A geração M₂, remanescente de diversos tratamentos e materiais será observada em Piracicaba, exclusivamente para seleção em busca de mutantes precoces. Será iniciado em outubro de 1984, o tratamento de novos materiais, unicamente com esta finalidade.

4. CONCLUSÃO

No que se refere às tentativas de seleção de mutantes resistentes à queima do broto, milhares de plantas foram avaliadas e observou-se a grande dificuldade de se selecionar uma planta resistente. Esta situação tem ocorrido também em outros casos em que se procura mutantes resistentes a doenças de vírus. Sabe-se através da literatura, que na maior parte dos casos, a resistência a vírus é governada por genes dominantes. Sabendo-se que a maioria das mutações induzidas são recessivas e isto pode explicar a dificuldade de seleção de mutantes resistentes a vírus. A partir de um tratamento efetuado com raios-gama, existem algumas linhagens da cultivar Paraná, que parecem apresentar certo nível de resistência quando comparadas ao controle. Entretanto, há a necessidade de maiores observações para que isto seja confirmado. O experimento de campo programado poderá ser de utilidade para o esclarecimento da situação.

Quanto à ferrugem, ainda parece cedo para um avanço em qualquer conclusão. Até o momento não se obteve nenhum material de interesse, mas quantidade relativamente pequena de materiais foram analisados.

Finalmente quando à obtenção de precocidade, o trabalho apenas começou. Neste caso, as perspectivas de sucesso parecem ser boas. Isto porque obtenção de precocidade tem sido relatada em um grande número de trabalhos envolvendo mutações induzidas. Para a cultura da soja, já existem uma série de mutantes espontâneos, envolvendo ciclo da cultura, em cultivo comercial. Este dois fatos somados e que justificam as boas perspectivas visando-se tal objetivo.

INDUCED MUTATION IN SOYBEAN (*Glycine max* L.) BREEDING.

SUMMARY

Soybean is one of the most important crops in Brazil. Besides traditional breeding methods, induced mutation can be used to increase genetic variability, making it possible to select mutants for different agronomic characteristics.

Since 1980 the Radiogenetic Section of CENA and the Virology Section of IAC are working in collaboration to obtain resistance to the soybean bud blight virus. Lately work to obtain mutants resistant to rust has also been included and at present we are trying to obtain early mutants.

Seed treatment with gamma-rays or methanesulfonic acid ethyl ester (EMS) has been used. When a relatively small number of seeds is treated, M₁ generation is individually harvested. When a large number of seeds is treated then either mass harvest or one seed per plant method is used. Selection for resistance to the above diseases is made under field or greenhouse conditions. Plants with no or very little symptoms are selected in M₂ generations and their progenies tested again. It has been noted that the majority of the selected plants are "escapes". However, with regard to the bud blight, some lines treated with gamma-rays seem to show a certain level of resistance after being submitted to various inoculations.

As for earliness, the work is just beginning. Some early plants have been selected from M₂ generation treatments, but it is still necessary to obtain confirmation from future generations.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- (1) EMBRAPA, Programa Nacional de Pesquisa de Soja, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, DID, Brasília (1981) 115.
- (2) COSTA, A.S. Investigações sobre moléstias da soja no Estado de São Paulo, *Summa Phytopathologica* 3 1 (1977) 3.
- (3) FERREIRA, L.P.; LEHMAN, P.S.; ALMEIDA, A. M.R. Doenças da Soja no Brasil EMBRAPA, Centro Nacional de Pesquisa da Soja, EMBRAPA, Londrina (1979) 41.
- (4) COSTA, A.S.; MIYASAKA, S.; D'ANDREA, A.J. P. Queima dos brotos da soja, uma moléstia causada pelo vírus da necrose branca do fumo ou couve, *Bragantia* 14 (1955) VII.
- (5) COSTA, A.S.; HIIHL, R.A.S. Transmissão do vírus da necrose branca do fumo através da semente de soja, *Rev. Soc. Brasileira Fitopatologia* 4(1971) 35.
- (6) GHANEKAR, A.M.; SCHMENK, F.W. Seed transmission and distribution of tobacco streak virus in six cultivars of soybean, *Phytopathology* 64 (1974) 112.
- (7) COSTA, A.S.; LIMA NETO, V.C. Brazilian tobacco streak virus vectored by *Frankliniella* sp., *Rev. Soc. Brasileira Fitopatologia* 9 (1976) 68.
- (8) COSTA, A.S.; CARVALHO, A.M.B. Studies on Brazilian tobacco streak, *Phytopathologische Z.* 42 (1961) 113.
- (9) LIMA NETO, V.C.; COSTA, A.S. Redução na produção de variedades de soja induzida pela queima do broto em plantas inoculadas em duas idades diferentes, VII Reunião Anual Soc. Bras. Fitopatologia, Brasília, (1974) 1.
- (10) FORD, R.E.; SINCLAIR, J.B. Eds., *Rust of Soybean - The Problem and Research Needs* (Rep. Workshop held Manila, Philippines, 1977) INTSOY series number 12, Coll. Agric., Univ. Illinois Urbana-Champaign (1977) 110.
- (11) DESLANDES, J.A. Ferrugem da soja e outras leguminosas causadas por *Phakopsora pachyrhizi* no Estado de Minas Gerais, *Fitopatologia Brasileira* 4 2(L979) 337.
- (12) CHARCHAR, M.J.D.A. Ocorrência da ferrugem em soja no Brasil Central, *Fitopatologia Brasileira* 5 3(1980) 393.
- (13) YANG, C.Y. "Soybean rust in Eastern Hemisphere", *Rust of Soybean - The Problem and Research Needs* (Rep. Workshop held Manila, Philippines, 1977) INTSOY Series Number 12, Coll. Agric. Univ. Illinois Urbana-Champaign (1977) 22.
- (14) LANTICAN, R.M. "Observations and theories on cultivar resistance of soybean to rust", *Rust of Soybean - The Problem and Research Needs* (Rep. Workshop held Manila, Philippines, 1977) INTSOY Serie Number 12, Coll. Agric. Univ. Illinois Urbana-Champaign (1977) 54.
- (15) YORINORI, J.T.; DESLANDES, J.A. "Epidemiologia e controle de *Phakopsora pachyrhizi*", resultados de Pesquisa de Soja 1980/81, EMBRAPA/CNPSo, Londrina (1981) 358.
- (16) DESLANDES, J.A.; YORINORI, J.T. "Epidemiologia e controle de *Phakopsora pachyrhizi*". Resultados de Pesquisa de Soja 1981/82, EMBRAPA/CNPSo, Londrina (1982) 240.
- (17) MANUAL ON MUTATION BREEDING, Techn. Reprt. Series nº 119, International Atomic Energy Agency, Vienna (1977) 288.
- (18) MICKE, A. Mutation induction to supplement available germplasm, *Genetic Resources and Plant Breeding for Resistance*, International Atomic Energy Agency, Vienna (1981) 23.
- (19) MICKE, A. Considerations about the use of improving disease resistance of crop plants. International Atomic Energy Agency, Vienna (1981) 16.
- (20) TULMANN NETO, A.; ANDO, A.; MENTEN, J.O.M. Mutation breeding in Brazil Gamma Field Symposia 18 (1979) 49.
- (21) CONSTANTIN, M.J. Creating genetic variability by mutations. I World Soybean Research Conference, Proceedings (1976) 237.
- (22) OH, J.H. Induced mutation for Soybean Mosaic Virus disease resistance in soybeans. Induced mutation for improvement of grain legume production III (Rep. Res. Co-ord. Meeting South East Asia, Seoul, 1982),

International Atomic Energy Agency,
TECDOC 299 (1983) 133.

- (23) ZAKRI, A.H.; JALANI, B.S.; NG, K.F. Breeding improved soybean through induced mutations (Rep. Res. Co-ord. Meeting South East Asia, Seoul, 1982), International Atomic Energy Agency, TECDOC 299 (1983) 149.
- (24) RAJPLT, M.A.; SIDDIQUI, K.A. Induced mutation breeding studies for soybean improvement (Rep. Res. Co-ord. Meeting South East Asia, Seoul (1982), International Atomic Energy Agency, TECDOC 299 (1983) 165.
- (25) KWON, S.H.; OH, J.H. Induced mutation for virus disease resistance in soybean. Induced Mutations for Improvement of Grain Legume Production (Rep. Res. Co-ord. Meeting Kuala Lumpur, Malaysia, 1979), International Atomic Energy Agency TECDOC 234 (1980) 19.
- (26) SMUTKUPT, S.; PUIPAT, U.; LANSEEJAN, S.; WONGPIYASATID, A.; NARITON, K. Induced Mutations for rust resistance in soybeans. Induced Mutations for Improvement of Grain Legume Production (Rep. Res. Co-ord. Meeting Kuala Lumpur, Malaysia, 1979), International Atomic Energy Agency, TECDOC 234 (1980) 27.
- (27) GUHARDJA, E.; SOMAATMADJA, S.; KARTOPRAWIRO, M.I. Improvement of soybean peanut and mungbean by the use of nuclear techniques. Induced Mutations for Improvement of Grain Legume Production (Rep. Res. Co-ord. Meeting Kuala Lumpur, Malaysia, 1979), International Atomic Energy Agency, TECDOC 234 (1980) 33.
- (28) MENTEN, J.O.M.; TULMANN NETO, A.; ANDO, A.; YORINORI, J.T.; COSTA, A.S.; DESLANDES, J.A.; SILVERIO, J.C.O. Induced mutation for disease resistance in soybean Glycine max L. Induced mutation for crop improvement in Latin America (Proc. Regional Seminar, Lima, Peru, 1982), International Atomic Energy Agency, TECDOC 305 (1984) 173.