

Analisis Keragaman Fenotipik untuk Toleransi Salinitas pada Kedelai Hasil Iradiasi Sinar Gamma

Phenotypic Diversity Analysis for Salinity Tolerance of Soybean Irradiated by Gamma-Rays

F. Kusmiyati^{1*)}, Sutarno², B. Herwibawa¹

¹Laboratorium Fisiologi dan Pemuliaan Tanaman, Universitas Diponegoro, Semarang

²Laboratorium Ekologi dan Produksi Tanaman, Universitas Diponegoro, Semarang

^{*)}Penulis untuk korespondensi: Tel./Faks. +62247474750/+62247474750

email: fkusmiyati@live.undip.ac.id

ABSTRACT

Salinity is the main factors limiting the soybean yield in the North Coast of Java. Wide diversity of genetic resources provides opportunity to improve salinity tolerance in soybean. The aim of this study was to analysis of phenotypic diversity in soybean irradiated by gamma-rays under salinity-stress. Soybean seeds cv. Dering-1 were irradiated at 5, 10, 20, 40, 80, 160, 320, 640, 1280 and 2560 Gy, sown in greenhouse and watered at three-day intervals for three weeks. There were only 32 survival genotypes. Three-weeks old soybean seedling in M₁ generation and check cultivar of Dering-1 were grown on latosol soils. Salinity-stress treatment was performed by salt solutions daily (4 dS m⁻¹). Phenotypic characters were observed for flowering time, plant-height, root-length, number of pods per plant, seeds per pod, 100-seeds weight, seed-yield per plant. Data would be coded binarily by visual scores. Similarity coefficients were calculated based on DICE, and dendrogram was constructed by UPGMA-SAHN with NTSYSpc 2.02 software. The results showed that the high diversity of soybean irradiated by gamma-rays under salinity-stress based on phenotypic character. Improved tolerance character under salinity-stress was shown in SMG-10-1, SMG-40-1, SMG-5-10 genotypes, and the most tolerant genotype under salinity-stress was SMG-5-1.

Kata kunci: Dendrogram, Diversity, Similarity index

ABSTRAK

Salinitas merupakan pembatas utama hasil kedelai di pantai utara Jawa. Sumber genetik dengan keragaman luas meningkatkan peluang perbaikan toleransi salinitas pada kedelai. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keragaman fenotipik genotip-genotip kedelai hasil iradiasi sinar gamma pada cekaman salinitas. Benih kedelai kultivar Dering-1 diiradiasi pada dosis 5, 10, 20, 40, 80, 160, 320, 640, 1280 dan 2560 Gy, kemudian disemaikan di rumah kaca dengan interval penyiraman setiap tiga hari sekali selama tiga minggu, sehingga hanya terdapat 32 genotip yang masih bertahan hidup. Bibit kedelai generasi M₁ berumur tiga minggu dan cek kultivar Dering-1, kemudian ditanam pada tanah latosol. Perlakuan cekaman salinitas dilakukan dengan penyiraman larutan garam setiap hari (4 dS m⁻¹). Karakter fenotipik yang diamati adalah waktu berbunga, tinggi tanaman, panjang akar, jumlah polong per tanaman, jumlah biji per polong, bobot 100 biji, bobot biji per tanaman. Data yang diperoleh dikelompokkan untuk mendapatkan data biner. Data dikode secara biner berdasarkan skor visual. Koefisien similaritas dihitung berdasarkan DICE, dan dendrogram dikonstruksi berdasarkan UPGMA-SAHN pada perangkat lunak NTSYSpc 2.02. Hasil penelitian menunjukkan terdapat keragaman genotip-genotip kedelai

Editor: Siti Herlinda et. al.

ISBN : 978-979-587-748-6

hasil iradiasi gamma pada cekaman salinitas berdasarkan karakter fenotipik. Peningkatan toleransi pada cekaman salinitas ditunjukkan genotip SMG-10-1, SMG-40-1, SMG-5-10, dan genotip yang paling toleran salinitas adalah SMG-5-1.

Kata kunci: Dendrogram, Indeks similaritas, Keragaman

PENDAHULUAN

Salinitas merupakan masalah utama yang berkontribusi terhadap penurunan produksi tanaman di dunia, dimana sekitar 20% (45 juta ha) lahan beririgasi dipengaruhi salinitas (Machado dan Serralheiro, 2017). Lahan yang dipengaruhi salinitas meningkat dengan laju 10% setiap tahun, dan diestimasikan mencapai lebih dari 50% lahan subur akan dipengaruhi salinitas pada tahun 2050 (Shrivastava dan Kumar, 2015). Padahal kebutuhan pangan diproyeksikan meningkat 70 - 110% pada tahun 2050, karena prediksi peningkatan populasi dunia hingga 9 miliar orang (Khan *et al.*, 2016). Oleh karenanya diperlukan upaya peningkatan toleransi salinitas tanaman untuk menjaga produktivitas tanaman dan keamanan pangan dunia. Di Indonesia, salinitas juga merupakan pembatas hasil kedelai di wilayah pantai utara Jawa (Aini *et al.*, 2014).

Kedelai merupakan tanaman yang secara luas dimanfaatkan untuk pangan dan pakan, karena kandungan protein (40-42%) dan minyak (18-22% terdiri atas 85% asam lemak tak jenuh) (Anwar *et al.*, 2016). Namun demikian, kedelai merupakan tanaman sensitif terhadap salinitas, dimana peningkatan salinitas 5 dS m⁻¹ hingga 12 dS m⁻¹ berpotensi menurunkan hasil sekitar 30 – 100% (Purwaningrahayu *et al.*, 2015). Pengembangan kultivar kedelai toleran salinitas dapat dipandang sebagai upaya yang penting dan mendesak untuk memperbesar peluang ekspansi wilayah penanaman kedelai di lahan-lahan pertanian yang dipengaruhi salinitas, sehingga diharapkan ikut berkontribusi dalam menjaga dan meningkatkan produksi kedelai nasional. Evaluasi fenotip plasma nutfah kedelai untuk mendapatkan genotip yang diinginkan (toleransi salinitas) merupakan langkah awal, bila tidak tersedia secara alami maka keragaman dapat ditingkatkan melalui mutasi induksi (metode yang relatif sederhana dan murah), sehingga didapatkan kumpulan genotip dengan variasi tinggi yang siap diseleksi dalam program pemuliaan tanaman kedelai toleran salinitas (Oladosu *et al.*, 2015).

Analisis keragaman terhadap kumpulan genotip menyediakan informasi-informasi yang dapat digunakan sebagai acuan seleksi, sehingga program yang dilaksanakan dapat lebih efisien, efektif dan ekonomis (Govindaraj *et al.*, 2015). Secara konvensional, karakteristik morfologi digunakan untuk menguji keragaman genetik dan mengklasifikasikan materi genetik yang sudah tersedia, sehingga berguna untuk pengelompokan awal sebelum karakterisasi menggunakan teknologi penanda yang lebih akurat (Malek *et al.*, 2014). Menurut Khalid *et al.* (2010), klasifikasi ilmiah tanaman masih bergantung pada karakteristik morfologi, karena tekniknya mudah, murah, dan cepat, serta tidak membutuhkan banyak pengetahuan dan keterampilan teknis. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui keragaman fenotipik genotip-genotip kedelai hasil iradiasi sinar gamma pada kondisi cekaman salinitas, sehingga dapat dipilih tetua-tetua potensial untuk diteruskan dalam program pemuliaan kedelai toleran salinitas.

MATERI DAN METODE

Benih kedelai kultivar Dering 1 diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Aneka Kacang dan Umbi (BALITKABI), Malang. Penelitian dilakukan di Pusat Aplikasi Teknologi Isotop dan Radiasi, Badan Tenaga Nuklir Nasional (PATIR-BATAN), Jakarta

Selatan, dan rumah kaca Laboratorium Fisiologi dan Pemuliaan Tanaman, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro (UNDIP), Semarang.

Seratus benih kedelai diiradiasi sinar gamma, masing-masing pada dosis 5, 10, 20, 40, 80 Gy (Gamma Chamber 4000 A), dan 160, 320, 640, 1280, 2560 Gy (Gamma Cell 220 AECL). Benih kedelai hasil iradiasi sinar gamma (generasi M₁) kemudian disemai dalam kotak plastik. Persemaian di rumah kaca (\pm 32.874 lux) dipelihara dengan cara penyiraman setiap tiga hari sekali (3.000 ml) selama tiga minggu, sehingga hanya terdapat 32 genotip kedelai hasil iradiasi sinar gamma yang masih bertahan hidup (SMG-20-5, SMG-20-6, SMG-80-1, SMG-40-7, SMG-20-4, SMG-320-6, SMG-20-3, SMG-160-4, SMG-10-1, SMG-40-5, SMG-5-10, SMG-40-6, SMG-40-3, SMG-160-1, SMG-80-2, SMG-5-1, SMG-40-4, SMG-320-2, SMG-5-9, SMG-320-4, SMG-5-8, SMG-5-6, SMG-5-5, SMG-10-2, SMG-40-1, SMG-40-2, SMG-20-2, SMG-80-3, SMG-5-2, SMG-5-4, SMG-20-1, SMG-5-3).

Bibit kedelai generasi M₁ dan kultivar cek Dering-1 berumur tiga minggu kemudian ditanam pada media tanah latosol (Tembalang, Semarang), dengan penambahan pupuk urea (0,3 g), SP-36 (1 g), dan KCl (1 g) dalam polibag ukuran 25 cm. Perlakuan cekaman salinitas adalah dengan penyiraman larutan garam (4 dS m⁻¹) setiap hari. Karakter fenotipik yang diamati adalah waktu berbunga, tinggi tanaman, panjang akar, jumlah polong per tanaman, jumlah biji per polong, bobot 100 biji, bobot biji per tanaman. Data yang diperoleh kemudian diinterpretasikan secara biner untuk tiap genotip. Koefisien jarak menggunakan indeks similaritas DICE, dan konstruksi dendrogram mengikuti metode UPGMA dan program pengelompokan SAHN pada perangkat lunak NTSYS-pc 2.02.

HASIL DAN PEMBAHASAN

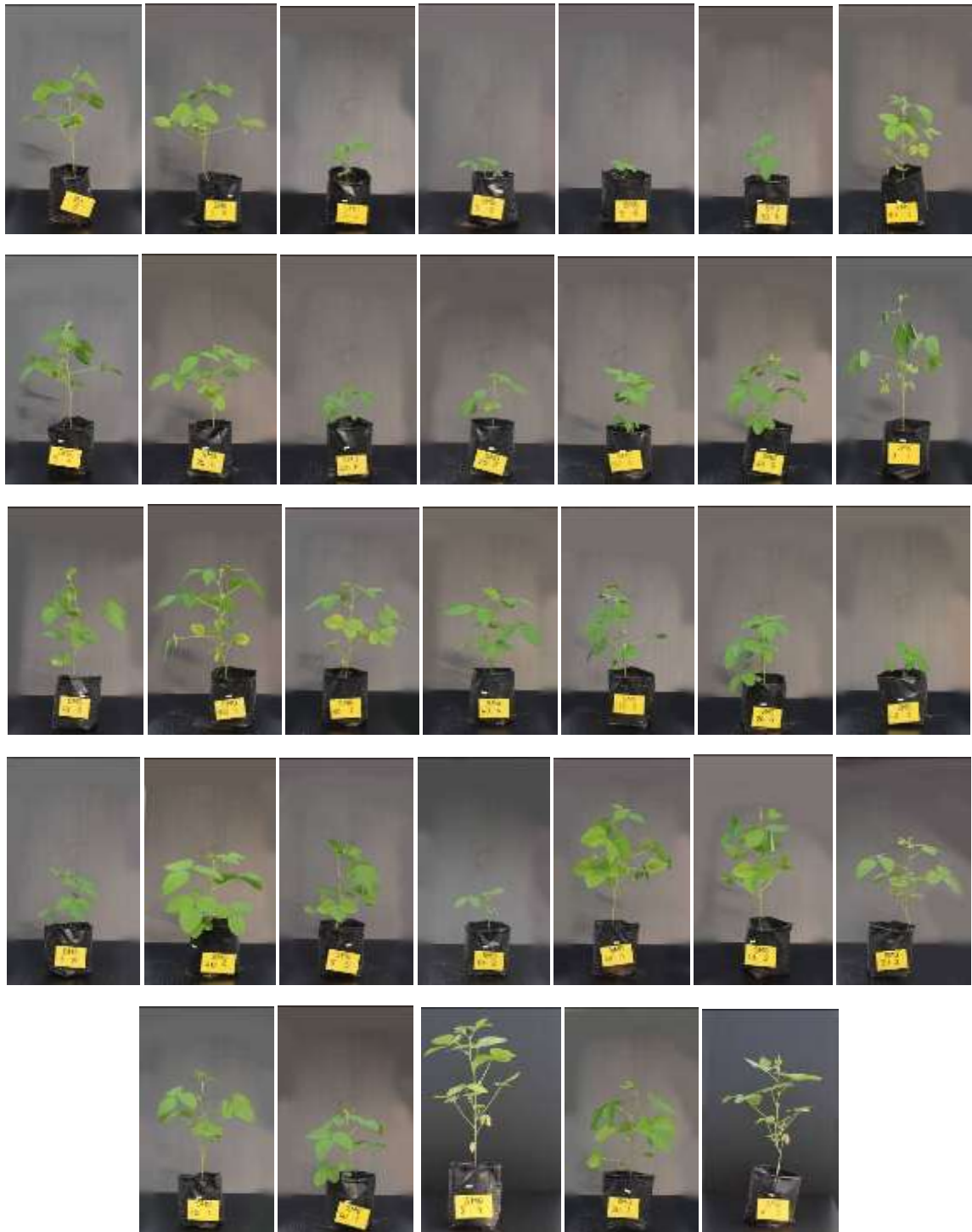
Keragaman visual terlihat dari penampilan fenotipik 32 genotip kedelai hasil iradiasi sinar gamma (generasi M₁) dan kultivar cek Dering-1 (Gambar 1). Secara kuantitatif, keragaman fenotipik diukur berdasarkan waktu berbunga, tinggi tanaman, panjang akar, jumlah polong per tanaman, jumlah biji per polong, bobot 100 biji, dan bobot biji per tanaman (Tabel 1). Tidak ada genotip kedelai generasi M₁ yang memiliki waktu berbunga lebih cepat dibandingkan kultivar cek. Menurut Abugalieva *et al.* (2016), waktu berbunga sangat menentukan produktivitas kedelai, karena adaptabilitasnya tergantung pada ekspresi gen-gen pembungaan yang mungkin menyesuaikan durasi munculnya bunga dan pematangan, untuk memaksimalkan penangkapan fotosintat, sementara meminimalkan pengaruh cekaman abiotik untuk lingkungan spesifik. Gen-gen berbunga kedelai telah ditetapkan sebagai seri E (E1-E8) (Jia *et al.*, 2014), dimana peran gen E1-E4 pada waktu berbunga telah dikarakterisasi (Tsubokura *et al.*, 2014), namun identitas gen E5-E8 masih belum banyak diketahui (Zhai *et al.*, 2014).

Tinggi tanaman 15 genotip kedelai generasi M₁ antara 17,10 – 44,70 cm, lebih pendek dibanding kultivar cek (45,70 cm), dan 16 genotip lainnya memiliki tinggi tanaman antara 45,10 – 56,30 cm. Brassinosteroid (BR) memiliki pengaruh penting terkait dengan pertumbuhan tanaman semi kerdil, yang sebenarnya memberikan keuntungan besar dalam produksi tanaman, dan pada kedelai dikendalikan oleh gen GmBRI1 (Wang *et al.*, 2014). Meskipun demikian hanya 2 genotip kedelai generasi M₁ yang memiliki akar lebih panjang dibanding kultivar cek (23,10 cm), yaitu SMG-320-2 (26,60 cm) dan SMG-40-7 (29,80 cm), sementara 30 genotip lainnya memiliki panjang akar antara 8,80 – 21,10 cm. Panjang akar erat kaitannya dengan expansin yang merupakan famili protein yang mengkatalis perluasan dinding sel, dan telah diketahui bahwa expansin spesifik akar dikendalikan oleh gen GmEXP1, khususnya bertanggung jawab terhadap pemanjangan dan/atau inisiasi akar primer dan sekunder kedelai (Lee *et al.*, 2003). Selain itu arsitektur sistem akar sangat

Editor: Siti Herlinda et. al.

ISBN : 978-979-587-748-6

dipengaruhi oleh perubahan lingkungan, dan berimplikasi pada arsitektur keseluruhan tanaman, laju pertumbuhan, serapan hara, dan hasil (Jung dan McCouch, 2013). Toleransi salinitas merupakan sifat kompleks yang dikendalikan oleh banyak mekanisme, dan pada kedelai dikendalikan oleh gen GmST1 (Ren *et al.*, 2016).



Gambar 1. Penampilan fenotipik 32 genotip kedelai hasil iradiasi sinar gamma dan kultivar cek Dering-1 pada cekaman salinitas (4 dS m^{-1})

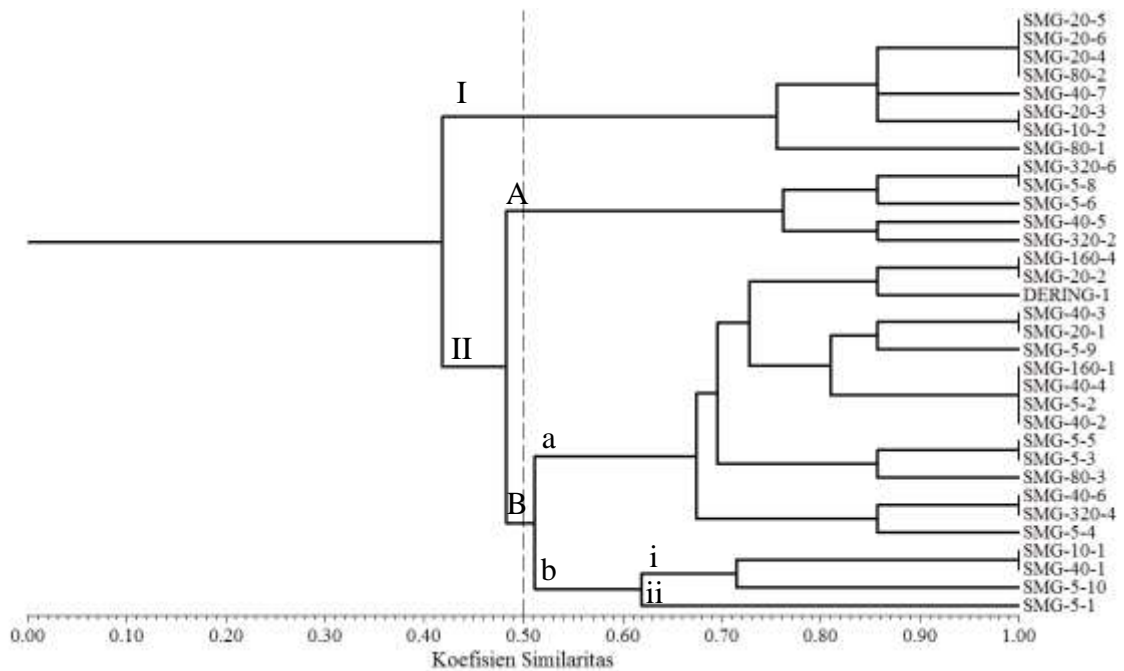
Tabel 1. Keragaman fenotipik pada 32 genotip kedelai hasil iradiasi sinar gamma dan kultivar cek Dering-1 pada cekaman salinitas (4 dS m^{-1})

Genotip	WB (hari)	TT (cm)	PA (cm)	JPT	JBP	BSB (g)	BBT (g)
SMG-5-9	35.00	56.20	13.20	7.00	2.71	1.94	0.37
SMG-320-4	40.00	39.60	12.30	2.00	1.50	2.77	0.08
SMG-5-8	39.00	17.10	8.80	1.00	2.00	4.80	0.10
SMG-5-6	38.00	20.60	16.80	2.00	2.00	3.78	0.15
SMG-20-5	> 53.00	43.60	15.00	0.00	0.00	0.00	0.00
SMG-80-3	39.00	45.70	13.10	5.00	2.40	4.00	0.48
SMG-5-2	42.00	48.30	16.70	8.00	2.88	0.80	0.18
SMG-20-4	> 53.00	38.30	16.70	0.00	0.00	0.00	0.00
SMG-320-6	50.00	27.60	13.30	3.00	2.00	3.93	0.24
SMG-20-3	> 53.00	37.40	13.60	0.00	0.00	0.00	0.00
SMG-160-4	50.00	32.30	15.30	3.00	2.67	1.20	0.10
SMG-40-5	40.00	56.30	14.20	5.00	2.00	4.17	0.42
SMG-5-1	40.00	48.80	17.70	8.00	3.00	8.27	1.98
SMG-40-3	39.00	50.90	9.80	6.00	2.33	1.50	0.21
SMG-160-1	39.00	53.60	17.90	7.00	2.86	1.20	0.24
SMG-80-2	> 53.00	48.10	20.70	0.00	0.00	0.00	0.00
SMG-40-4	39.00	45.70	19.20	7.00	2.71	2.54	0.48
SMG-320-2	38.00	47.20	26.60	3.00	2.00	3.93	0.24
SMG-20-6	> 53.00	37.20	10.60	0.00	0.00	0.00	0.00
SMG-80-1	> 53.00	27.20	12.30	0.00	0.00	0.00	0.00
SMG-5-10	39.00	22.00	21.10	9.00	2.00	4.80	0.86
SMG-40-6	39.00	49.80	10.80	1.00	2.00	2.54	0.05
SMG-5-5	39.00	44.70	9.10	7.00	2.29	3.80	0.61
SMG-10-2	> 53.00	30.70	11.80	0.00	0.00	0.00	0.00
SMG-40-1	39.00	50.20	17.60	7.00	2.57	4.17	0.75
SMG-40-2	40.00	52.70	15.70	7.00	2.71	2.54	0.48
SMG-20-2	37.00	46.20	14.10	1.00	3.00	2.03	0.06
SMG-10-1	50.00	51.20	18.10	11.00	2.18	3.20	0.77
SMG-40-7	> 53.00	44.40	29.80	0.00	0.00	0.00	0.00
SMG-5-4	39.00	48.10	9.10	5.00	3.00	1.94	0.29
SMG-20-1	39.00	49.80	12.10	8.00	2.50	2.03	0.41
SMG-5-3	39.00	44.40	12.70	6.00	2.67	4.15	0.66
Kultivar cek							
Dering 1	33.00	45.70	23.10	5.00	2.40	5.46	0.66
\bar{x}	43.50	42.37	15.18	4.03	1.81	2.38	0.32
σ	6.52	10.54	4.77	3.37	1.12	1.97	0.40
σ^2	42.52	111.20	22.75	11.39	1.26	3.88	0.16

Keterangan: WB = waktu berbunga, TT = tinggi tanaman, PA = panjang akar, JPT = jumlah polong per tanaman, JBP = jumlah biji per polong, BSB = bobot 100 biji, BBT = bobot biji per tanaman, \bar{x} = rata-rata genotip, σ = simpangan baku genotip, σ^2 = varian genotip

Cekaman salinitas menginduksi cekaman oksidatif dengan terus memproduksi spesi oksigen reaktif, seperti radikal superoksida ($O_2^{\bullet-}$), hidrogen peroksida (H_2O_2), radikal hidroksil (OH^{\bullet}) dan oksigen singlet (1O_2), sehingga menyebabkan pertumbuhan tanaman kedelai terhambat dan berpengaruh terhadap penurunan hasil (Egbichi *et al.*, 2014). Jumlah

polong per tanaman dan jumlah biji per polong 13 genotip kedelai generasi M₁ lebih banyak dibandingkan kultivar cek, dan terdapat 4 genotip kedelai generasi M₁ yang memiliki bobot biji per tanaman (0,75 – 1,98 g) lebih besar dari kultivar cek (0,66 g). Namun hanya 1 genotip kedelai generasi M₁ yang memiliki bobot 100 biji lebih besar dari kultivar cek (5,46 g/ 100 g), yaitu SMG-5-1 (8,27 g/ 100 g). Pembentukan biji kedelai dikendalikan oleh gen GmDGAT1A, yang meregulasi produksi diacylglycerol acyltransferases (DGATs) dalam peran kunci biosintesis triacylglycerol (TAG) (Chen *et al.*, 2016). Selain itu gen GmDGAT1B dan GmDGAT2C juga diketahui berasosiasi terhadap peningkatan hasil biji kedelai (Eskandari *et al.*, 2013).



Gambar 2. Dendrogram hubungan kekerabatan berdasarkan 7 karakter fenotipik dari 32 genotip kedelai hasil iradiasi sinar gamma dan kultivar cek Dering-1 pada cekaman salinitas (4 dS m^{-1})

Dendrogram hasil analisis gerombol (Gambar 2) menunjukkan nilai koefisien similaritas terbesar adalah 1,00; dan nilai koefisien similaritas terkecil adalah 0,42. Melalui pemotongan dendrogram pada koefisien similaritas 0,42 genotip kedelai terbagi menjadi 2 kelompok utama. Kelompok I terdiri dari 8 genotip yaitu SMG-20-5, SMG-20-6, SMG-20-4, SMG-80-2, SMG-40-7, SMG-20-3, SMG-10-2, dan SMG-80-1, sementara kelompok II terdiri dari 25 genotip lainnya. Genotip-genotip kelompok I menunjukkan kesamaan yaitu waktu berbunga lebih dari 53 hari. Karakter waktu berbunga lebih lama dari kultivar cek kurang diinginkan, karena berpengaruh terhadap waktu panen yang menjadi lebih lama. Menurut Saeed *et al.* (2017), waktu berbunga yang lebih cepat menghasilkan polong lebih cepat dan pengisian polong yang lebih cepat, serta berkaitan dengan perkecambahan lebih cepat dan vigor yang lebih baik. Selain itu, waktu berbunga kedelai yang lebih cepat erat kaitannya dengan konsentrasi CO₂, yang berdampak pada peningkatan semua laju pertumbuhan tanaman melalui peningkatan suplai energi (Bunce dan Hilacondo, 2016).

Kultivar cek Dering I berada pada kelompok II sub kelompok a, terpisah pada nilai koefisien similaritas 0,51 dengan genotip SMG-5-1 yang berada pada sub kelompok b. Genotip SMG-5-1 merupakan genotip yang memiliki bobot 100 biji dan bobot biji per tanaman paling besar dibanding genotip lainnya. Sub kelompok b terpisah menjadi sub

Editor: Siti Herlinda *et. al.*

ISBN : 978-979-587-748-6

kelompok i dan ii pada nilai koefisien similaritas 0,62, dimana sub kelompok i terdiri dari 3 genotip yaitu SMG-10-1, SMG-40-1, SMG-5-10, sementara sub kelompok ii terdiri dari 1 genotip yaitu SMG-5-1. Nilai koefisien similaritas lebih dari 0.60 menunjukkan hubungan kekerabatan yang dekat antar genotip (Saeed *et al.*, 2011). Pada penelitian ini nilai koefisien similaritas paling besar adalah 1,00. Nilai maksimum tersebut mengindikasikan ada duplikasi pada genotip-genotip yang dianalisis. Semakin banyak kemiripan karakter semakin besar kemungkinan adanya kesamaan genom, sehingga kurang diinginkan dalam program pemuliaan tanaman.

Mutasi merubah struktur kromosom dan posisi gen di kromosom, sehingga menyebabkan perubahan fenotip dengan keragaman tinggi dan menunjukkan modifikasi lebih dari satu karakter (Ambavane *et al.*, 2015). Menurut Sloczynska *et al.* (2014), keragaman karena perubahan genotip disebabkan oleh mutasi dengan mekanisme berbeda tergantung pada mutagen yang diberikan. Kumar dan Srivastva (2013) juga menjelaskan bahwa mutagenesis dengan perlakuan iradiasi gamma terbukti menyebabkan kerusakan sitogenetik, aberasi kromosom, dan perubahan fisiologis, namun meningkatkan frekuensi mutasi. Oleh sebab itu, keragaman karakter yang didapatkan melalui induksi mutasi diharapkan memberikan kontribusi pada perbaikan karakter yang diinginkan (toleransi salinitas), setelah dikombinasikan dengan seleksi, rekombinasi, atau metode lain untuk memanipulasi variasi genetik (Sharma dan Singh, 2013).

KESIMPULAN

Genotip-genotip kedelai hasil iradiasi gamma pada cekaman salinitas (4 dS m^{-1}) menunjukkan keragaman berdasarkan karakter fenotipik. Genotip yang paling toleran salinitas adalah SMG-5-1. Selain itu terdapat 3 genotip yang menunjukkan peningkatan toleransi pada cekaman salinitas yaitu genotip SMG-10-1, SMG-40-1, SMG-5-10. Keragaman karakter yang didapatkan diharapkan dapat digunakan sebagai referensi untuk menentukan genotip tetua dalam program pemuliaan kedelai toleran salinitas.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Direktorat Riset dan Pengabdian kepada Masyarakat (DRPM) – Direktorat Jenderal Penguatan Riset dan Pengembangan - Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi untuk hibah Penelitian Terapan Unggulan Perguruan Tinggi (PTUPT) No. 007/SP2H/LT/DRPM/V/2017.

DAFTAR PUSTAKA

- Aini, N., Sumiya, W. D.Y., Syekhfani, Dyah, R. P., Setiawan, A. 2014. Kajian pertumbuhan, kandungan klorofil dan hasil beberapa genotip tanaman kedelai (*Glycine max* L.) pada kondisi salinitas. Prosiding Seminar Nasional Lahan Suboptimal 2014, Palembang 26-27 September 2014.
- Ambavane, A.R., Sawardekar, S.V., Sawantdesai, S.A., Gokhale, N.B. 2015. Studies on mutagenic effectiveness and efficiency of gamma rays and its effect on quantitative traits in finger millet (*Eleusinecoracana* L. Gaertn). *Journal of Radiation Research and Applied Sciences* 8 (1): 120-125 doi: 10.1016/j.jrras.2014.12.004
- Anwar, F., Kamal, G.M., Nadeem, F., Shabir, G. 2016. Variations of quality characteristics among oils of different soybean varieties. *Journal of King Saud University-Science* 28(4): 332-338 doi: 10.1016/j.jksus.2015.10.001

- Bunce, J.A., and W.C. Hilacondo. 2016. Responses of flowering time to elevated carbon dioxide among soybean photoperiod isolines. *American Journal of Plant Sciences* 7: 773-339 doi: 10.4236/apjs.2016.76071
- Chen, B., Wang, J., Zhang, G., Liu, J., Manan, S., Hu, H., Zhao, J. 2016. Two types of soybean diacylglycerol acyltransferases are differentially involved in triacylglycerol biosynthesis and response to environmental stresses and hormones. *Scientific Reports* 6: 28541 doi: 10.1038/srep28541
- Egbichi, I., Keyster, M., Ludidi, N. 2014. Effect of exogenous application of nitric oxide on salt stress responses of soybean. *South African Journal of Botany* 90: 131-136 doi: 10.1016/j.sajb.2013.11.002
- Eskandari, M., Cober, E.R., Rajcan, I. 2013. Using the candidate gene approach for detecting genes underlying seed oil concentration and yield in soybean. *Theoretical and Applied Genetics* 126 (7): 1839-1850 doi: 10.1007/s00122-013-2096-7
- Govindaraj, M., Vetriventhan, M., Srinivasan, M. 2015. Importance of genetic diversity assessment in crop plants and its recent advances: an overview of its analytical perspectives. *Genetic Research International* 2015, Article ID 431487 doi: 10.1155/2015/431487
- Jia, H., Jiang, B., Wu, C., Lu, W., Hou, W., Sun, S., Yan, H., Han, T. 2014. Maturity group classification and maturity locus genotyping of early-maturing soybean varieties from high-latitude cold regions. *PLoS ONE* 9(4): e94139 doi: 10.1371/journal.pone.0094139
- Jung, J.K.H., McCouch, S. 2013. Getting to the roots of it: genetic and hormonal control of root architecture. *Frontiers in Plant Science* 4:186 doi: 10.3389/fpls.2013.00186
- Khalid, M., Farhatullah, Khan, N.U., Din, R., Khan, M.Y., Akmal, M., Ali, N. 2010. Linkage of morphological markers in *Brassica*. *Pakistan Journal of Botany* 42(5): 2995-3000
- Khan, P.S.S.V., Basha, P.O., Lakshmi, G.V., Muniraja, M., Sergeant, K., Hausman, J.F. 2016. Proteomic analysis of food crops under abiotic stresses in the context of climate change. In: M.M. Azooz dan P. Ahmad (Eds.). *Plant-environment interaction: responses and approaches to mitigate stress*. John Wiley and Sons Ltd., West Sussex, UK.
- Kumar, G., Srivastava, N. 2013. Efficiency and effectiveness of gamma rays and sodium azide in *Sesbaniacannabina* Poir. *Cytologia* 78 (1): 81-90 doi: 10.1508/cytologia.78.81
- Lee, D.K., Ahn, J.H., Song, S.K., Choi, Y.D., Lee, J.S. 2003. Expression of an expansin gene is correlated with root elongation in soybean. *Plant Physiology* 131 (3): 985-997 doi: 10.1104/pp.009902
- Machado, R.M.A, Serralheiro, R.P. 2017. Soil salinity: effect on vegetable crop growth: management practices to prevent and mitigate soil salinization. *Horticulturae* 3(2): 30 doi: 10.3390/horticulturae3020030
- Malek, M.A., Rafii, M.Y., Afroz, M.S.S., Nath, U.K., Mondal, M.M.A. 2014. Morphological characterization and assessment of genetic variability, character association, and divergence in soybean mutants. *The Scientific World Journal* 2014, Article ID 968796 doi: 10.1155/2014/968796
- Oladosu, Y., Rafii, M.Y., Abdullah, N., Hussin, G., Ramli, A., Rahim, H.A., Usman, M. 2015. Principle and application of plant mutagenesis in crop improvement: a review. *Biotechnology and Biotechnological Equipment* doi: 10.1080/13102818.2015.1087333

- Purwaningrahyu, R.D., Sebayang, H.T., Syekhfani, Aini, N. 2015. Resistance level of some soybean (*Glycine max* L. Merr) genotypes toward salinity stress. *Journal of Biological Researches* 20 (2): 7-14 doi: 10.23869/bphjbr.20.2.20152
- Ren, S., Lyle, C., Jiang, G.L., Penumala, A. 2016. Soybean salt tolerance 1 (GmST1) reduces ROS production, enhances ABA sensitivity, and abiotic stress tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *Frontiers in Plant Science* 7:445 doi: 10.3389/fpls.2016.00445
- Saeed, A., Hovsepyan, H., Darvishzadeh, R., Imtiaz, M., Panguluri, S.K., Nazaryan, R. 2011. Genetic diversity of Iranian accessions, improved lines of chickpea (*Cicer arietinum* L.) and their wild relatives by using simple sequence repeats. *Plant Molecular Biology Reporter* 29 (4): 848–858 doi: 10.1007/s11105-011-0294-5
- Saeed, M.T., Wahid, M.A., Saleem, M.F., Cheema, M.A., Shahid, M., Shakoor, A., Sattar, A. 2017. Improving the stand establishment, phenology and yield of soybean (*Glycine max* L.) by various physiological enhancements. *Pakistan Journal of Agricultural Research* 30 (3): 218-225 doi: 10.17582/journal.pjar/2017.30.3.218.225
- Sharma, A., Singh, S.K. 2013. Induced mutation- a tool for creation of genetic variability in rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Crop and Weed* 9 (1): 132-138
- Shrivastava, P., Kumar, R., 2015. Soil salinity: a serious environmental issue and plant growth promoting bacteria as one of the tools for its alleviation. *Saudi Journal of Biological Sciences* 22 (2): 123-131 doi: 10.1016/j.sjbs.2014.12.001
- Słoczyńska, K., Powroźnik, B., Pękala, E., Waszkielewicz, A.M. 2014. Antimutagenic compounds and their possible mechanisms of action. *Journal of Applied Genetics* 55 (2): 273-285 doi: 10.1007/s13353-014-0198-9
- Tsubokura, Y., Watanabe, S., Xia, Z., Kanamori, H., Yamagata, H., Kaga, A., Katayose, Y., Abe, J., Ishimoto, M., Harada, K. 2014. Natural variation in the genes responsible for maturity loci E₁, E₂, E₃ and E₄ in soybean. *Annals of Botany* 113 (3): 429-441 doi: 10.1093/aob/mct269
- Wang, M., Sun, S., Wu, C., Han, T., Wang, Q. 2014. Isolation and characterization of the brassinosteroid receptor gene (GmBRI1) from *Glycine max*. *International Journal of Molecular Science* 15 (3): 3871-3888 doi: 10.3390/ijms15033871
- Zhai, H., Lu, S., Wang, Y., Chen, X., Ren, H., Yang, J., Cheng, W., Zong, C., Gu, H., Qiu, H., Wu, H., Zhang, X., Cui, T., Xia, Z. 2014. Allelic variations at four major maturity E genes and transcriptional abundance of the E1 gene are associated with flowering time and maturity of soybean cultivars. *PLoS ONE* 9 (5): e97636 doi: 10.1371/journal.pone.0097636