SELEKSI KULTIVAR KEDELAI: PERSIAPAN PEMULIAAN TANAMAN DENGAN METODE KULTUR MIKROSPORA

SELECTION OF SOYBEAN CULTIVARS: PREPARATION THE PLANT BREEDING WITH MICROSPORE CULTURE METHOD

Sumarmi

Fakultas Pertanian, Universitas Slamet Riyadi, Surakarta

E-mail: felt.sumarmi@gmail.com

Diterima 15 Mei 2018, disetujui 17 Desember 2018

ABSTRACT

Microspore culture method can be used as plant breeding program. The preparation of cultivars selection is an important step. The research starts with cultivated five cultivars of soybean i.e: Argomulyo, Grobogan, Wilis, Anjasmoro and Black Malika. The appearance of soybean plant was observed until flowering. Selection of plants based on: sum of flower bud every plant, anther midline, total and diameter of microspore every flower bud was measured by the 'Optilab' software. The development of microspore done with grouping of flower bud according long 2.0-2.5 mm, 2.6-3.0 mm, 3.1- 3.6 mm and 3.7-4.1 mm for chooses flower bud with the most late uninucleate microspore stadium. Result of the research shows that long of flower bud 2.6-3.6 mm contain 1847-2010 late uninucleate microspores, diameter $\geq 20 \mu\text{m}$ for 5 cultivars can be used for material of microspore culture. Anjasmoro cultivar, tall of plant gain 68 cm, sum of rame 7-9, anther midline $354.67 \pm 59.67 \mu\text{m}$, number of microspores each flower bud 2003 ± 216 . Result of responsive quality test with anther incubation on 34°C temperature for 4 days represent the most of total viable microspore, 3.371 ± 45 on Anjasmoro cultivar. Plant breeding by Anjasmoro cultivar is the most appropriate for microspore culture treatment.

Keyword: *selection, soybean, microspore*

ABSTRAK

Metode kultur mikrospora dapat digunakan untuk pemuliaan tanaman. Persiapan seleksi kultivar merupakan tahap yang penting. Penelitian dimulai dengan menanam lima kultivar kedelai yaitu Argomulyo, Grobogan, Wilis, Anjasmoro dan Hitam Malika. Habitus tanaman kedelai diamati hingga berbunga. Seleksi tanaman berdasarkan: jumlah kuncup bunga tiap tanaman, garis tengah kepala sari, jumlah dan diameter mikrospora tiap kuncup bunga diukur dengan 'Optilab'. Perkembangan mikrospora dilakukan dengan mengelompokkan kuncup bunga berdasarkan panjang 2,0-2,5 mm, 2,6-3,0 mm, 3,1- 3,6 mm dan 3,7-4,1 mm untuk menentukan kuncup bunga dengan stadium mikrospora uninukleat akhir terbanyak. Hasil penelitian menunjukkan kuncup bunga panjang 2,6-3,6 mm, berisi 1.847-2.010 mikrospora uninukleat akhir, diameter $\geq 20 \mu\text{m}$, pada 5 kultivar dapat digunakan untuk bahan kultur mikrospora. Kultivar Anjasmoro, tinggi tanaman mencapai 68 cm, jumlah cabang 7-9, garis tengah kepala sari $354,67 \pm 59,67 \mu\text{m}$, jumlah mikrospora tiap kuncup bunga 2003 ± 216 . Hasil uji sifat responsif dengan inkubasi kepala sari pada suhu 34°C selama 4 hari menunjukkan jumlah mikrospora viabel terbanyak, 3.371 ± 45 pada kultivar Anjasmoro. Pemuliaan tanaman kedelai kultivar Anjasmoro paling sesuai untuk perlakuan kultur mikrospora.

Kata kunci: seleksi, kedelai, mikrospora

PENDAHULUAN

Peningkatan produksi kedelai dapat dilakukan dengan menambah luas lahan penanaman, menambah produktivitas dan meningkatkan potensi hasil genetik tanaman melalui persilangan galur untuk memperoleh calon varietas unggul baru (Adisarwanto, 2010). Penggunaan varietas unggul merupakan teknologi yang lebih nyata kontribusinya terhadap peningkatan produktivitas tanaman (Yuliani, et al., 2017). Upaya mendapatkan kultivar unggul yang baru merupakan bagian dari pekerjaan pemuliaan tanaman.

Pemuliaan tanaman kedelai dilakukan antara lain untuk mendapatkan kultivar dengan produktivitas tinggi, tahan serangan hama dan penyakit. Pemuliaan tanaman dapat dilakukan dengan cara seleksi dari keragaman populasi, menyilangkan tanaman dan rekayasa genetika (Mangoendidjojo, 2003). Metode kultur mikrospora dapat digunakan untuk pemuliaan tanaman. Metode ini menawarkan peluang mendapatkan galur homozigot lebih cepat, selain itu beberapa sifat resesif dapat dideteksi lebih awal (Zulkarnain, 2005). Kedelai dipilih

karena merupakan tanaman pokok ke tiga setelah padi dan jagung. Metode kultur mikrospora dipilih karena kultur dilakukan pada tanaman kedelai yang diseleksi sejak awal dan dapat mempersingkat waktu penelitian.

Kondisi tanaman donor merupakan faktor penting untuk keberhasilan kultur mikrospora. Ada 28 kultivar kedelai yang tumbuh di pulau Jawa dari 62 macam kultivar yang ada di Indonesia (Wirawan, 2000). Permasalahan dalam pemuliaan tanaman kedelai antara lain memilih atau melakukan seleksi tanaman agar didapat tanaman donor yang sesuai untuk kultur mikrospora. Kultivar kedelai yang diteliti berbeda menyesuaikan dengan lokasi penanaman atau kebiasaan petani daerah setempat. Supena et al., (2009) menggunakan varietas Slamet, Sindoro, dan Wilis. Penelitian ini bertujuan untuk memilih kultivar kedelai yang memiliki keunggulan dan mendapatkan kriteria kuncup bunga kedelai yang paling tepat untuk kultur mikrospora.

METODE PENELITIAN

Penanaman lima kultivar kedelai dilakukan di

dalam rumah kawat Fakultas Pertanian UGM. Biji kedelai ditanam dalam polibag ukuran 25 x 30 cm sebanyak 15 polibag, masing-masing berisi 5 kg campuran tanah dan pupuk kompos dengan perbandingan satu : satu (1:1). Kedelai ditanam pada awal musim kemarau, Juni-Agustus 2014. Suhu udara berkisar antara 25-34°C dengan pencahayaan penuh tanpa naungan. Perawatan tanaman kedelai meliputi penyiraman, pemupukan, pengendalian hama dan penyakit serta pengendalian gulma atau tanaman pengganggu. Penyiraman diberikan satu sampai dua hari sekali, 250-500 ml tiap polibag pada pagi hari. Pemupukan dengan NPK 5 gam tiap polibag dilakukan pada hari ke 21 setelah biji tumbuh. Pengendalian hama menggunakan Decis 25 EC pada minggu ke empat.

Pengamatan lima kultivar tanaman kedelai meliputi: tinggi tanaman, jumlah cabang, umur berbunga, morfologi daun dan jumlah kuncup bunga tiap tanaman. Kuncup bunga dibuka, untuk mengamati kepala sari, lalu dibuat foto kuncup bunga dan kepala sari. Jumlah kepala sari tiap 10 kuncup bunga dihitung, garis tengah kepala sari diukur menggunakan mikroskop cahaya dan perangkat "Optilab".

Delapan puluh (80) kuncup bunga dipetik, dibagi menjadi 4 kelompok: 2,0-2,5 mm, 2,6-3,0 mm, 3,1-3,6 mm, 3,7-4,1 mm. Kuncup bunga dibuka, kepala sari dikumpulkan, digerus, diberi medium B 1 ml, jumlah mikrospora dihitung per kelompok, diameter mikrospora stadium uninukleat akhir diukur dengan "Optilab".

Uji sifat responsif kedelai dilakukan dengan membuka kuncup bunga dan mengerjakan *Anther pre-culture* 5 kultivar kedelai, perlakuan starvasi dalam medium B, inkubasi

cekaman pada 34°C selama 4 hari. Pengamatan ada dua yaitu (a) Jumlah mikrospora tiap kuncup bunga (b) jumlah mikrospora tumpah (*dehiscent*) dan mikrospora viabel.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Morfologi Tanaman Kedelai

Hasil penanaman lima kultivar kedelai dalam polibag tampak mirip, terutama bentuk daun, sistem percabangan dan warna bunga, meskipun berasal dari biji dengan besar yang berbeda (Tabel 1). Pertumbuhan benih menjadi tanaman kedelai pada kultivar Wilis, Grobogan, Argomulyo, dan Anjasmoro mencapai 95%, sedangkan pada kultivar Hitam Malika 90%.

Hasil penanaman kedelai dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain lokasi dan perawatan tanaman. Faktor lingkungan sangat berperan dalam menghasilkan tanaman kedelai sehat yang memenuhi syarat sebagai tanaman donor. Faktor lingkungan yang sesuai untuk tanaman kedelai: curah hujan 100-200 mm/bulan, pH tanah 6,0-6,5, suhu harian 21-34°C, kelembaban relatif 60-70%, naungan kurang dari 30%, dan ketinggian lokasi penanaman 300-500 m dpl. Anomali cuaca dapat menyebabkan masa tanam dan hasil pertumbuhan tanaman kedelai terganggu, meskipun tanaman tetap berbunga (Thuzar et al., 2010; Puteh et al., 2013). Banyaknya kuncup bunga kedelai akan memengaruhi jumlah polong yang terbentuk. Dibandingkan dengan hasil penelitian di lahan kering Jumantono, Karanganyar yang menanam kedelai hingga terbentuk buah polong kering maka ada kemiripan, kecuali pada kultivar Wilis. Kultivar Argomulyo dapat membentuk 25-43 buah polong, kultivar Anjasmoro dapat membentuk 32-50 buah, sedangkan kultivar Wilis 33-62 polong (Darsono, 2010).

Tabel 1 Pengamatan lima kultivar kedelai yang digunakan untuk penelitian

Kedelai	Argomulyo	Grobogan	Wilis	Anjasmoro	Hitam Malika
Berat 100 biji (gram)	15,6-16,0	17,8-18,2	10,0-10,2	14,8-15,3	10,0-10,2
Tinggi tanaman (cm)	40-45	50-60	47-50	60-65	35-50
Warna daun	Hijau pucat	Hijau tua	hijau	hijau	Hijau tua
Bentuk daun:	Oval	oval	oval	oval	oval
Ujung daun	tumpul, 90-100 ⁰	tumpul, 90-100 ⁰	tumpul, 90-100 ⁰	tumpul, 90-100 ⁰	tumpul, 90-100 ⁰
Pangkal daun	tumpul: 140-160 ⁰	tumpul: 140-160 ⁰	tumpul: 140-160 ⁰	tumpul: 140-160 ^{0z}	tumpul: 140-160 ⁰
Jumlah cabang	5±1	6±1	5±1	7±2	4±1
Umur berbunga (hari)	38-40	30-32	38-40	36-39	34-36
Bentuk bunga	kupu-kupu	kupu-kupu	kupu-kupu	kupu-kupu	kupu-kupu
Warna mahkota bunga	ungu	ungu	ungu	ungu	Ungu tua
Jumlah kuncup bunga tiap tanaman	35-45	35-40	25-35	30-50	25-35

Ukuran tanaman kedelai kultivar Anjasmoro paling tinggi dibandingkan empat kultivar lain yang ditanam. Jumlah cabang dan jumlah kuncup bunga tiap tanaman kedelai Anjasmoro juga paling banyak di antara kultivar yang lain.

Kepala sari Kedelai

Hasil pengamatan jumlah kepala sari tiap 10 kuncup bunga dan diameter kepala sari ada pada Tabel 2. Biasanya bunga kedelai memiliki 10 kepala sari, akan tetapi selama pengamatan dijumpai kuncup bunga dengan delapan atau sembilan kepala sari, apabila berasal dari

tanaman yang tidak sehat, waktu penanaman tidak tepat, sering tersiram air hujan atau sebab lain yang belum diketahui.

Kuncup bunga yang sesuai untuk penelitian kultur mikrospora perlu disiapkan dengan cermat. Di dalam kuncup bunga terdapat benang sari (stamen). Benang sari terdiri dari tangkai sari atau filamen dan kepala sari atau kepala sari. Di dalam kepala sari terdapat mikrospora.

Bentuk dan ukuran kepala sari di dalam kuncup bunga kedelai bervariasi. Rerata garis tengah

Tabel 2 Jumlah kepala sari tiap 10 kuncup bunga dan diameter kepala sari kedelai

kultivar	Jumlah kepala sari tiap 10 kuncup bunga	Diameter kepala sari (µm)		
		minimum	maksimum	rerata±sd
Argomulyo	91-98	294,0	363,7	326,03±20,81 ^b
Grobogan	88-92	294,6	412,6	344,56±35,19 ^b
Wilis	88-95	262,8	310,6	284,98±18,60 ^a
Anjasmoro	95-99	261,0	432,5	354,67±59,67 ^b
Hitam Malika	85-95	248,9	300,9	278,00±17,51 ^a

Angka yang diikuti huruf yang sama dalam kolom menunjukkan berbeda tidak nyata berdasarkan uji Duncan pada tingkat kepercayaan 95%. sd = standar deviasi.

kepala sari lima kultivar kedelai mulai dari $278,00 \pm 17,51 \mu\text{m}$ hingga $354,67 \pm 59,67 \mu\text{m}$. Kepala sari terpanjang terdapat pada Anjasmoro, walaupun tidak berbeda nyata dengan Argomulyo dan Grobogan. Ukuran kepala sari dipengaruhi oleh sifat genetik dan kondisi bunga. Bunga dari tanaman sehat mengandung kepala sari berukuran besar. Kepala sari ukuran besar biasanya berisi mikrospora lebih banyak dibandingkan dengan kepala sari ukuran lebih kecil (Rezanejad, 2007). Banyak sedikitnya mikrospora dan polen di dalam kepala sari berbanding lurus dengan ukuran kepala sari (Nagy-Deri, 2011). Kepala sari kecil banyak terdapat dalam kuncup bunga kedelai dengan ukuran 2,0-2,5 mm. Kepala sari ukuran diameter lebih dari 300 μm banyak ditemukan pada kuncup bunga ukuran panjang 2,6-3,6 mm terutama pada tanaman yang sehat.

Gambar 1 Kuncup bunga kedelai, bar: 2 cm

Diameter Mikrospora Kedelai

Diameter mikrospora lima kultivar kedelai yang dipergunakan dalam penelitian ini, satu sama lain hampir sama untuk setiap kelompok ukuran. Diameter mikrospora pada kuncup

bunga ukuran 2,6-3,0 mm paling lebar. Kesamaan pola ukuran mikrospora tersebut dijumpai pada lima kultivar kedelai yang diteliti (Tabel 3).

Kondisi kuncup bunga kedelai ukuran 2,6-3,0 mm lebih mudah untuk dianalisis, warna kepala sari kuning, jelas berbeda dengan warna mahkota bunga maupun kelopak sehingga mudah untuk diambil dan dipisahkan. Kondisi kuncup bunga kedelai ukuran 3,1-3,6 mm juga memenuhi syarat sebagai bahan penelitian, terutama karena jumlah mikrospora uninukleat akhirnya paling banyak. Berdasarkan pengamatan tersebut, penelitian selanjutnya mempergunakan kuncup bunga panjang ukuran 2,6-3,0 mm dan 3,1-3,6 mm.

Mikrospora stadium uninukleat akhir banyak dijumpai pada kuncup bunga ukuran 2,6-3,0 mm dan 3,1-3,6 mm. Berdasarkan temuan tersebut maka panjang kuncup bunga kedelai antara 2,6-3,0 mm dan 3,1-3,6 mm dipilih untuk bahan kultur mikrospora. Kuncup bunga ukuran tersebut berbeda dengan ukuran yang digunakan pada kedelai asal Brasil untuk kultur mikrospora. Kultur mikrospora dan kultur kepala sari beberapa kultivar kedelai asal Brasil menggunakan kuncup bunga antara 3,0-3,5 mm (Rodrigues et al., 2006).

Jumlah Mikrospora Tiap Kuncup Bunga Kedelai

Jumlah mikrospora tiap kuncup bunga pada lima kultivar diteliti untuk menentukan jumlah kuncup bunga tiap perlakuan kultur mikrospora. Jumlah kuncup bunga yang tepat dapat mendukung keberhasilan pertumbuhan mikrospora. Jumlah mikrospora tiap kuncup bunga kedelai kultivar Wilis tidak berbeda nyata dengan kedelai kultivar Anjasmoro, sehingga keduanya berpeluang untuk dipilih sebagai kultivar yang akan dikulturkan (Tabel 4).

Tabel 3 Diameter mikrospora lima kultivar kedelai

kultivar	Panjang kuncup bunga (mm)	Diameter mikrospora (µm)		
		minimum	maksimum	rerata±sd
Argomulyo	2,0-2,5	19,2	22,5	21,46±1,04 a
	2,6-3,0	20,4	23,8	21,64±1,06 a
	3,1-3,6	17,7	21,1	19,37±1,35 b
	3,7-4,1	18,2	20,8	19,28±0,98 b
Grobogan	2,0-2,5	19,3	22,7	21,47±1,06 a
	2,6-3,0	20,4	23,8	21,64±1,06 a
	3,1-3,6	17,9	21,4	19,40±1,35 b
	3,7-4,1	18,2	20,8	19,28±0,98 b
Wilis	2,0-2,5	19,0	22,0	21,00±1,00 a
	2,6-3,0	20,0	23,2	21,48±1,02 a
	3,1-3,6	17,6	21,0	19,34±1,32 b
	3,7-4,1	18,0	20,2	19,18±0,84 b
Anjasromo	2,0-2,5	19,3	22,7	21,47±1,06 a
	2,6-3,0	20,4	23,8	21,64±1,06 a
	3,1-3,6	17,8	21,2	19,38±1,35 b
	3,7-4,1	18,2	20,8	19,29±0,98 b
Hitam Malika	2,0-2,5	19,0	22,2	21,00±1,02 a
	2,6-3,0	20,0	23,2	21,50±1,02 a
	3,1-3,6	17,6	21,4	19,36±1,32 b
	3,7-4,1	18,0	20,2	19,18±0,82 b

Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji Duncan pada tingkat kepercayaan 95%. sd = standar deviasi.

Tabel 4 Jumlah mikrospora tiap kuncup bunga ukuran 2,0-4,1 mm pada 5 kultivar kedelai

Kultivar	Jumlah mikrospora tiap kuncup bunga (rata-rata ±sd)
Argomulyo	1.644±173 ^{bc}
Grobogan	941±142 ^a
Wilis	1.839±156 ^c
Anjasromo	2.003±216 ^c
Hitam Malika	1.277±147 ^{ab}

Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji Duncan pada tingkat kepercayaan 95%. sd = standar deviasi.

Salah satu hal penting untuk keberhasilan kultur mikrospora adalah kerapatan mikrospora tiap mililiter medium yang digunakan. Kultivar Anjasromo lebih unggul daripada kultivar Wilis berdasarkan satu sifat penting yaitu besarnya biji. Berat 100 biji kedelai kultivar Wilis 10 gram termasuk berbiji kecil, sedangkan berat 100 biji kultivar Anjasromo 15,3 gram, termasuk berbiji besar (Ginting et al., 2009).

Jumlah Mikrospora *Dehiscent*

Kultur kepala sari (*anther preculture*) dikerjakan untuk menentukan sifat responsif mikrospora kedelai. Kepala sari diberi perlakuan untuk meneliti respon lima kultivar kedelai terhadap cekaman suhu dan starvasi. Jumlah mikrospora *dehiscent* (tumpah berhamburan) dari kepala sari dan jumlah

mikrospora viabel setelah cekaman dalam medium B pada suhu 34°C selama 4 hari pada 5 kultivar kedelai ada pada Tabel 5.

Jumlah mikrospora yang terhambur keluar setelah perlakuan cekaman pada tiga kultivar kedelai yaitu Argomulyo, Wilis dan Anjasmoro, lebih banyak dari pada kultivar Grobogan dan Hitam Malika. Hal tersebut diduga karena sel stomium mudah terbuka, dapat juga keluarnya mikrospora karena dinding sel kepala sarinya tipis. Setelah 4 hari mikrospora mengalami starvasi di dalam kepala sari, maka terjadi mikrospora *dehiscent* melalui stomium untuk mencari makan, karena cadangan di dalam tapetum sudah mulai habis (Indrianto et al., 1999). Semakin banyak mikrospora *dehiscent* ke luar dari kepala sari, semakin mikrospora tersebut aktif dan segera akan mengalami perubahan hingga akhirnya bersifat embrionik (Touraev et al., 1996).

Di antara ke lima kultivar kedelai yang diteliti, Anjasmoro paling banyak menumpahkan mikrospora setelah perlakuan cekaman. Jumlah mikrospora viabel kedelai kultivar Anjasmoro paling banyak dibandingkan empat kultivar lain selama perlakuan kultur kepala sari. Hal ini mendukung penentuan kultivar yang paling responsif yang akan dipergunakan untuk perlakuan selanjutnya yaitu kedelai kultivar

Anjasmoro. Beberapa faktor yang berpengaruh pada kultur kepala sari meliputi genotip, kondisi fisiologis dan pertumbuhan tanaman donor, tahap perkembangan polen, praperlakuan kepala sari dan komposisi medium yang digunakan (Cardoso et al., 2004). Sedangkan keberhasilan kultur mikrospora ditentukan oleh pemilihan stadium yang tepat, perlakuan cekaman yang sesuai, ketepatan pemilihan medium embriogenesis dan tidak adanya kontaminasi selama pelaksanaan penelitian (Dubas et al., 2014).

KESIMPULAN

Seleksi kultivar perlu memperhatikan kondisi morfologi tanaman: tinggi tanaman, jumlah cabang, umur berbunga dan jumlah kuncup bunga tiap tanaman. Seleksi tanaman kedelai untuk pemuliaan tanaman dibutuhkan pengamatan jumlah kepala sari tiap kuncup bunga, diameter kepala sari, jumlah mikrospora tiap kuncup bunga dan diameter mikrospora. Kultur kepala sari dengan cekaman suhu dan starvasi dilakukan untuk mengetahui jumlah mikrospora *dehiscent* dan mikrospora yang viabel. Berdasarkan data yang diperoleh, kedelai kultivar Anjasmoro paling responsif dan sesuai untuk pemuliaan tanaman dengan metode kultur mikrospora.

Tabel 5 Jumlah mikrospora *dehiscent* dan viabel pada praperlakuan kepala sari dari kuncup bunga ukuran 2,6-3,6mm dalam medium B suhu 34°C selama 4 hari

Kultivar	Jumlah mikrospora <i>dehiscent</i> dalam medium B suhu 34°C selama 4 hari ± sd	Jumlah mikrospora	
		viabel	% viabel
Argomulyo	3.527 ± 396 ^b	3.153±14	89,4
Grobogan	2.149 ± 61 ^a	2.011±51	93,6
Wilis	3.658 ± 652 ^b	3.150±96	86,1
Anjasmoro	3.820 ± 516 ^b	3.371±45	88,2
Hitam Malika	1.729 ± 292 ^a	1.497±40	86,6

Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji Duncan pada tingkat kepercayaan 95%. sd = standar deviasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Cardoso, M.B., Kaltchuk-Santos, E., Munstock, E.C. and Bodanese-Zanettini, M.H. 2004. *Initial segmentation patterns of microspores and pollen viability in soybean cultured anthers: indication of chromosome doubling*. Brazilian Archives of Biology and Technology. 47 (5): 703-712.
- Darsono, D.C. 2010. *Perubahan Morfologi dan Sitologi Lima Varietas Kedelai dengan perlakuan Pemberian Pupuk Pospfat*. Fakultas pertanian. Universitas Sebelas Maret Surakarta. 38 halaman.
- Dubas, E., Maraveikova, J., Libantova, J., Matusikova, I., Benkova, E., Zur, I., and Krzewska, M. 2014. *The influence of heat stress on auxin distribution in transgenic B napus microspore and microspore-derived embryos*. Protoplasma. 251: 1077-1087.
- Ginting, E., Antarlina, S.S. Widowati, S. 2009. *Varietas unggul kedelai untuk bahan baku industri pangan*. Jurnal Litbang Pertanian 28(3): 79-87.
- Indrianto, A., Herberle-Bors, E., and Touraev, A. 1999. *Assessment of various stresses and carbohydrates for their effect on the induction of embryogenesis in isolated wheat microspores*. Plant Science 143:71-79.
- Mangoendidjojo, W. 2003. *Dasar-dasar Pemuliaan Tanaman*. PT Kanisius, 182 hal.
- Nagy-Déri, H. 2011. *Morphological investigations on anthers and pollen grains of some quince cultivars*. Acta Biologica Szegediensis. 55(2):231-235
- Puteh, A.B., Thuzar, M., Mohd Monjurul Alam Mondal, M.M.A., Abdullah, N.A.P. B. and Halim, M.R.A. 2013. *Soybean [Glycine max (L.) Merrill] seed yield response to high temperature stress during reproductive growth stages*. AJCS 7(10):1472-1479.
- Rezanejad, F. 2007. *The effect of air pollution on microsporogenesis, pollen development and soluble pollen proteins in Spartium junceum L. (Fabaceae)*. Turk J Bot. 31:183-191.
- Rodrigues, L R, Camargo-Forte, D. D. and Zanettini, M.D.B. 2006. *Isolation and culture of soybean (Glycine max L. Merrill) microspore and pollen grains*. Brazillian Achieve of Biology and Technology. 49(4): 537-545.
- Supena, E.J.D, Suharsono dan Sudharma, I.M. 2009. *Induksi Androgenesis Kedelai Melalui Kultur Antera Pada Media Dua Lapis untuk Pengembangan Teknologi haploid dalam Proses Pemuliaan Tanaman*. Laporan hasil Penelitian. Institut Pertanian Bogor dan Sekretariat Badan Pengembangan Pertanian.
- Touraev, A., Indrianto, S., Wratschko, I., Vincente, O. and Heberle-Bors, E. 1996. *Efficient microspore embryogenesis in wheat (Triticum aestivum L) induced by starvation at high temperature*. Sex Plant Reprod 9:209-215.
- Thuzar, M, Puteh, A.B., Abdullah, N. A. P., Mohd. Lassim, M. B. and Jusoff, K. 2010. *The effects of temperature stress on the quality and yield of soya bean [(Glycine max L.) Merrill.]*. Journal of Agricultural Science 2 (1): 172-179.

Wirawan, S.R.S. 2000. *Studi taksonomi kultivar kedelai (Glycine max L Merr) di Pulau Jawa*. Tesis. Program Pasca Sarjana, Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

Yuliani, D., Amirrullah, Y dan Sudir. 2017. *Keragaan Penyakit Padi pada Varietas Unggul Baru untuk Agroekosistem Rawa dan Lahan Kering*. J.Agric. Vol. 29 No. 1: 21-30.

Zulkarnain. 2005. *Pemanfaatan metode Kultur Antera Dalam pemuliaan Tanaman*. Jurnal Agronomi, 8 (1) 1-10.