

INDUÇÃO DE MUTAÇÃO EM CAUPI VISANDO RESISTÊNCIA AO VÍRUS DO MOSAICO-SEVERO E COR DAS SEMENTES¹

MÁRCIA REGINA ALBERTONI², JOÃO PRATAGIL PEREIRA DE ARAÚJO³
e EARL EUGENE WATT⁴

RESUMO - Visando obter cultivares de caupi (*Vigna unguiculata*) com sementes de tegumento marrom, resistentes ao vírus do mosaico-severo-do-caupi (VMSC), sementes da cultivar CNC 0434, de tegumento branco com olho mosqueado-marrom, imune a esta virose, foram irradiadas com 25 kR e 30 kR de raios gama de cobalto - 60. Na geração M₁, além da cor original do tegumento da semente da CNC 0434, cinco outras colorações foram observadas, as quais, na geração M₂, segregaram 189 plantas resistentes ao VMSC, constituindo 31 grupos de coloração de semente, com alta variação do peso das sementes. Alterações nas características morfológicas das plantas também foram observadas em M₂. Da análise realizada nessas plantas, verificou-se que a resistência ao VMSC é controlada por um simples gene recessivo.

Termos para indexação: raios gama, peso das sementes, cor do tegumento da semente, resistência ao VMSC, *Vigna unguiculata*.

INDUCED MUTATION FOR COWPEA SEVERE MOSAIC VIRUS RESISTANCE AND SEED COAT COLOR IN COWPEA

ABSTRACT - To obtain a commercial variety of cowpea (*Vigna unguiculata*) resistant to Cowpea Severe Mosaic Virus (CpSMV), seeds of an immune variety 'CNC 0434' were treated with 25 kR and 30 kR of gamma rays from a 60 Co source. In the M₁ generation, five different groups of seed-coat color plus the original seed type were identified. These groups segregated in the M₂ generation with 189 CpSMV resistant plants within 31 different groups of seed-color and high seed-weight variability. Notes on morphological mutants were also taken. From the analysis in the M₂, it was concluded that a single recessive gene controls resistance to CpSMV.

Index terms: gamma rays, seed weight, seed-coat color, CpSMV resistance, *Vigna unguiculata*.

INTRODUÇÃO

O vírus do mosaico-severo-do-caupi (*Vigna unguiculata*) (VMSC), presente em quase todas as regiões produtoras do Brasil, é considerado como um dos mais importantes vírus que infectam a cultura, já tendo sido registrados decréscimos de produção superiores a 80% (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária 1983).

Imunidade ao VMSC foi encontrada na cultivar CNC 0434 (FP 7733-2), altamente produtiva, apresentando grãos com tegumento branco, olho mosqueado-marrom e peso médio de quinze gramas por 100 sementes (Rios & Neves 1982). Estas ca-

racterísticas da semente tornam a CNC 0434 sem perspectivas de ampla aceitação comercial para o consumo de grãos secos. Há evidências de que a imunidade ao VMSC está associada à coloração do tegumento da semente por uma possível ligação gênica. Isso tem dificultado sua transferência para as cultivares comerciais, de tegumentos marrons, através de hibridações.

Mudanças na cor do tegumento da semente, induzidas por agentes mutagênicos, têm sido relatadas em feijão (Moh 1972, Hussein & Disouki 1976) e caupi (Louis & Sundaram 1975). Da mesma forma, o aumento no peso de 100 sementes foi obtido por Hussein & Disouki (1976) e por diversos autores, citados por Morton et al. (1982). Estas duas características sobressaíram entre as principais características melhoradas em 20 cultivares de leguminosas que foram desenvolvidas a partir de mutação induzida (Sigurbjornsson 1977).

Mutações em outras características da planta também são comumente relatadas. Em legumino-

¹ Aceito para publicação em 25 de setembro de 1986.

² Enga. - Agra., Bolsista do PIEP/CNPq/CNPAF.

³ Eng. - Agr., M.Sc., EMBRAPA/Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão (CNPAF), Caixa Postal 179, CEP 74000 Goiânia, GO.

⁴ Eng. - Agr., Ph.D., Convênio CNPAF/IITA/IICA.

sas, há diversos trabalhos que apontam, nas plantas da geração M_1 , alterações na germinação, porte, fertilidade e outras características morfológicas (Jones 1965, Singh & Pandya 1977, Ojomo & Raji 1978, Hussein & Disouki 1976, Zogorcheva & Poriazov 1983, Rao & Reddy 1975).

As anormalidades causadas nas plantas M_1 tendem a aumentar com o aumento da dose do mutagênico e variam com o agente indutor (Jones 1965, Hussein & Disouki 1976, Louis & Sundaram 1975, Singh & Pandya 1977, Ojomo & Raji 1978, Zogorcheva & Poriazov 1983). Portanto, a eficiência na utilização deste método de aumento da variabilidade genética, em qualquer cultura, depende da natureza do agente indutor de mutações e da escolha criteriosa da dose.

Moh (1972) e Louis & Sundaram (1975) afirmaram que, pelo menos para a mudança da coloração do tegumento da semente, o melhoramento pelo uso de mutação é mais viável que pelos métodos convencionais. Apesar de estes e outros trabalhos mostrarem a viabilidade da mutação induzida na mudança da coloração do grão, não se tem conhecimento da sua eficiência na obtenção de recombinantes para resistência a doenças na cultura do caupi. No entanto, seu potencial de utilização nas principais plantas cultivadas (arroz, milho, trigo, aveia, cevada, tomate e outras) é discutido por Favret et al. (1977); o principal progresso tem sido a obtenção de mutantes resistentes aos patógenos, principalmente fungos, a partir de cultivares comerciais suscetíveis. Neste trabalho procurou-se induzir mutações na cultivar de caupi CNC 0434, capazes de provocar a dissociação entre a coloração do tegumento da semente e a imunidade ao VMSC. O objetivo foi a obtenção de mutantes com sementes de coloração e tamanho comercialmente aceitáveis, preservando-se as características de imunidade da cultivar original, para serem utilizados em programa de melhoramento da cultura.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas sementes da cultivar CNC 0434 selecionadas no Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão (CNPAP), da EMBRAPA, de uma subpopulação F_2 do "population improvement" (Rachie & Gardner s.n.t., oriunda do International Institute of Tropical Agriculture (IITA), Nigéria.

O experimento preliminar foi conduzido no Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA), na Seção de Radiogenética, para avaliar a radiosensibilidade das sementes da cultivar CNC 0434 às doses de 0 kR, 7 kR, 14 kR, 21 kR, 28 kR, 35 kR e 42 kR de irradiação gama de cobalto - 60, tendo sido indicadas as doses de 25 kR e 30 kR como as mais adequadas.

Após a irradiação das sementes secas com as duas doses recomendadas, uma população M_1 , de 1.000 sementes/dose, foi semeada no CNPAF, plantando-se de duas a três sementes/cova em fileiras espaçadas de 1 m e 0,50 m entre covas. Nessa geração, conduzida com rigoroso controle fitossanitário, foram anotadas as anormalidades das plantas em relação à testemunha.

As sementes M_2 provenientes de cada dose foram colhidas em massa e separadas pela coloração.

Todas sementes M_2 , colhidas das plantas M_1 anormais (mutantes para coloração da semente), e parte das sementes normais (visualmente semelhantes às da cultivar CNC 0434) foram semeadas separadamente, de acordo com a dose recebida e a coloração da semente, e intercaladas com fileiras da cultivar Seridó - altamente suscetível ao VMSC numa área bastante infectada por esse vírus. As folhas primárias das plantas M_2 foram inoculadas artificialmente no 15.^o e 30.^o dias após a germinação das sementes, com extrato de plantas infectadas com o vírus, usando-se o carborundum como substância abrasiva.

A seleção individual de plantas na geração M_2 , visando a resistência ao VMSC, foi realizada na fase de maturação das vagens. As sementes M_3 , colhidas de cada planta M_2 , selecionadas dentro de cada grupo de coloração, foram separadas pela coloração do tegumento e peso médio de 100 sementes.

Para se comparar a distribuição e a frequência do peso médio de 100 sementes das populações M_2 com a testemunha, cultivar CNC 0434, utilizaram-se os pesos médios de 100 sementes numa amostra de 32 plantas individuais, colhidas ao acaso, de um campo de multiplicação de sementes, próximo à área experimental.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Geração M_1

Ao contrário do observado por diversos autores em várias espécies de leguminosas (Sing et al. citados por Morton et al. 1982, Ojomo & Raji 1978, Hussein & Disouki 1976), a germinação das sementes M_1 não foi afetada pela irradiação. Ocorreram, porém, severas deformações nas folhas primárias e secundárias. Durante a fase de crescimento vegetativo verificou-se, no entanto, total recuperação das plantas nos dois tratamentos, as quais se apresentaram muito vigorosas no final do ciclo.

Resultado semelhante foi obtido por Jones (1965), ao irradiar sementes de caupi com diferentes doses de raios X e nêutrons térmicos. Apesar da recuperação e vigor apresentados nas plantas M_1 , foram observadas as seguintes anormalidades:

- a. formas anormais das folhas (semiglobosas e lanceoladas);
- b. mais de um pedúnculo floral por axila de folha ou ramo;
- c. inflorescências anormais, com superdesenvolvimento das gemas florais (pedúnculo com seqüências de gemas);
- d. elevada freqüência de flores abortadas, tal como foi descrito por Rao & Reddy (1975);
- e. macho-esterilidade mecânica (estames expostos) na dose de 30 kR, encontrada algumas vezes na mesma planta que possuía flores normais. Este resultado concorda com o obtido por Gaul (1977);
- f. vagens com sementes abortadas, fato também observado por Rao & Reddy (1975); e
- g. algumas plantas total ou parcialmente estéreis, principalmente na dose de 30 kR. O mesmo foi observado por Jones (1965), nas doses mais elevadas de raios X e nêutrons térmicos.

A maior freqüência de anomalia morfológica e abortamento de flores foi observada nas plantas tratadas com 30 kR, resultando em menor produção de sementes (Tabela 1). A mesma tendência foi observada nos trabalhos de Singh & Pandya (1977), Ojomo & Raji (1978), Hussein & Disouki (1976) e Zogorcheva & Poriazov (1983).

Verificou-se, com freqüência muito baixa, alteração na cor dos grãos colhidos das plantas M_1 , ou seja, além de sementes normais (visualmente semelhantes às da CNC 0434 não-irradiada), encontraram-se três grupos de coloração de sementes mosqueadas de várias cores, com freqüência de 0,93%, na dose 25 kR, e dois grupos com 0,57%, na dose de 30 kR (Tabela 1).

A ocorrência de tegumento com diferentes colorações nas sementes colhidas de plantas M_1 pode ser explicada de duas formas: 1) possível heterogeneidade do material irradiado. Além de as sementes irradiadas serem provenientes de campos de multiplicação, com possibilidades de intercruzamento por insetos, a cultivar CNC 0434 origi-

nou-se de seleção recorrente, usando-se a macho-esterilidade genética, já tendo sido constatadas, na sua população, plantas atípicas e presença de plantas macho-estéreis. Portanto, é possível que tenham ocorrido cruzamentos naturais e tenham sido irradiadas sementes híbridas F_1 , semelhantes às da cultivar CNC 0434. Neste caso, o fenótipo da semente esperado na geração M_1 é mosqueado, como o obtido, podendo o outro progenitor ter sido creme, marrom ou branco (sem olho preto). 2) Ocorrência de mutação gênica dominante. Segundo Sen & Bhowal (1961), o pequeno olho, característico da CNC 0434, é governado pelos genes recessivos hhww ("Holstein/Watson"), e o genótipo das sementes de tegumento com padrão mosqueado, segundo Spillman & Sandoo (1929), seria hhNNbbUURRW⁵, com pelo menos um gene W dominante, além de possuir todos os fatores de coloração capazes de explicar os grupos de coloração dos tegumentos obtidos. Esta hipótese não é de fácil comprovação, porque na maioria dos estudos sobre a herança do olho da semente em caupi, foram utilizadas sementes de tegumento branco, com olho preto, não havendo, na literatura, nenhum registro da herança de sementes de tegumento branco com olho mosqueado-marrom, o que limita as inferências que se possam fazer dos estudos citados.

Geração M_2

Das anormalidades observadas na geração M_1 , somente a macho-esterilidade das plantas foi transferida para a geração M_2 . Na população das plantas originadas das sementes de tegumento colorido, e que receberam a dose de 25 kR, encontraram-se oito plantas com flores totalmente estéreis (macho-esterilidade mecânica) e flores férteis e es-

⁵ gene H - restringe a cor preta ou marrom à metade da semente com áreas isoladas (manchas) ocasionais no tegumento branco (Smith 1956).

gene N - presença de antocianina.

gene B - tegumento marrom.

gene U - tegumento amarelo (creme).

gene R - tegumento vermelho (este é o fator geral para presença de cor no tegumento, e a sua ausência determina semente com tegumento branco, flores brancas e ausência de pigmento nas partes vegetativas da planta).

gene W - semente com tegumento mosqueado com áreas irregulares de manchas escuras separadas com áreas claras.

téreis na mesma planta. Tais anormalidades não foram verificadas nas progênies das sementes irradiadas com 30 kR, tratamento que apresentou maior frequência de macho-esterilidade mecânica na geração M_1 e, conseqüentemente, menor população de plantas na geração M_2 (Tabela 2).

Como houve segregação da suscetibilidade ao VMSC, tanto nas sementes coloridas quanto nas visualmente semelhantes às da CNC 0434, procedeu-se à seleção individual das plantas que não apresentaram sintomas da virose.

As plantas M_2 provenientes das sementes colhidas em plantas M_1 , com diferente coloração do

tegumento, apresentaram segregação da suscetibilidade ao VMSC, numa frequência muito superior à verificada nas progênies de plantas com semente semelhante à da CNC 0434 (Fig. 1). Houve também variação do peso médio das sementes (Fig. 2) e coloração do tegumento. Nestas plantas (M_2), efetuou-se a seleção da resistência ao VMSC, obtendo-se 181 plantas resistentes (sem sintomas de virose), que constituíram 31 grupos de cores (Tabela 3). Destes, somente 9,36% (das seleções) apresentaram alguma semelhança com a cultivar original, não se considerando as diferentes tonalidades da coloração do olho da semente dos mutan-

TABELA 1. Segregação da coloração dos grãos da cultivar CNC 0434, irradiada com raios gama, nas sementes colhidas na geração M_1 .

Doses de irradiação	0 kR					30 kR			
	N	MMCC	MMCM	MEME	Total	N	MMCC	MEME	Total
Coloração das sementes*									
Sementes colhidas - gramas	36.000	23	69	245	36.337	25.800	16	132	25.948
Sementes em relação ao total colhido (%)	99,0726	0,0633	0,1899	0,6742	100,000	99,4296	0,0617	0,5087	100,000
Total de mutantes para coloração (%)	—		0,93		—		0,57		

* Classificação arbitrária segundo a descrição:

N = Branca com olho mosqueado marrom.

MMCC = Mosqueado marrom claro sobre creme.

MMCM = Mosqueado marrom claro sobre marrom escuro

MEME = Mosqueado marrom escuro sobre marrom escuro.

TABELA 2. Número de plantas com e sem sintomas de virose na M_2 , de acordo com a dose de irradiação e coloração das sementes colhidas nas plantas M_1 .

Doses de irradiação	Cor de sementes* colhidas nas plantas M_1	Número de plantas (total)	Número de plantas s/virose	Número de plantas c/virose	Plantas c/virose (%)
25 kR	MMCC	2	1	1	50
25 kR	MMCM	21	3	18	85,7
25 kR	MEME	502	132	370	73,7
25 kR	Subtotal	525	136	389	74,1
30 kR	MMCC	2	1	1	50
30 kR	MEME	180	52	128	71,1
30 kR	Subtotal	182	53	129	70,9
	Total	707	189	518	73,2

* Classificação arbitrária (veja Tabela 1).

tes. Particularmente importante foi a obtenção de plantas resistentes ao VMSC, com sementes de tegumento creme (0,55%), vermelho (0,55%) e marrom (6,61%), esta última presente em onze plantas selecionadas, correspondendo ao tipo de maior preferência dos produtores e consumidores. Tal amplitude de variação na coloração não foi citada nos trabalhos consultados e pode ser atribuída à cultivar irradiada, às baixas doses ou ao agente mutagênico utilizado.

A maior variação foi observada na dose de 25 kR, sendo que os três tipos de sementes mosqueadas de várias cores, colhidas das plantas M₁, segregaram, na geração M₂, 27 cores de semente (127 plantas resistentes ao VMSC), enquanto que os dois tipos de coloração do tegumento da semente, provenientes da dose de 30 kR, segregaram 20 cores de tegumento (53 plantas resistentes ao VMSC).

Considerando as características procuradas, observou-se que os genótipos desejáveis apareceram com freqüência muito baixa, exigindo, portanto, alta população nas gerações iniciais para selecioná-los, fato comum nos trabalhos de melhoramento. Verificou-se ainda que, quanto maior o número de caracteres que se quer reunidos num genótipo, menor é a sua freqüência.

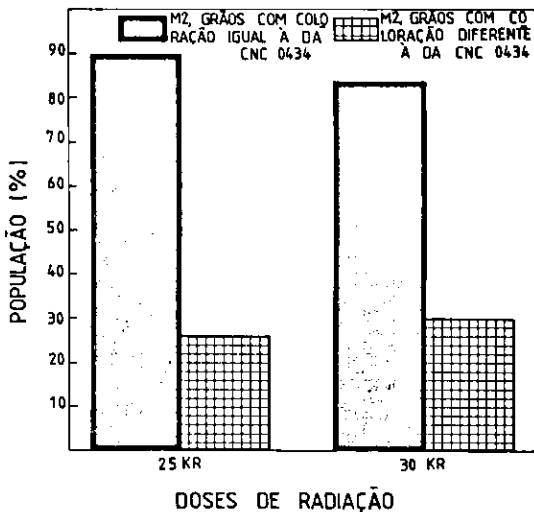


FIG. 1. Percentagem de plantas na geração M₂ sem sintomas de virose, segundo a coloração dos grãos.

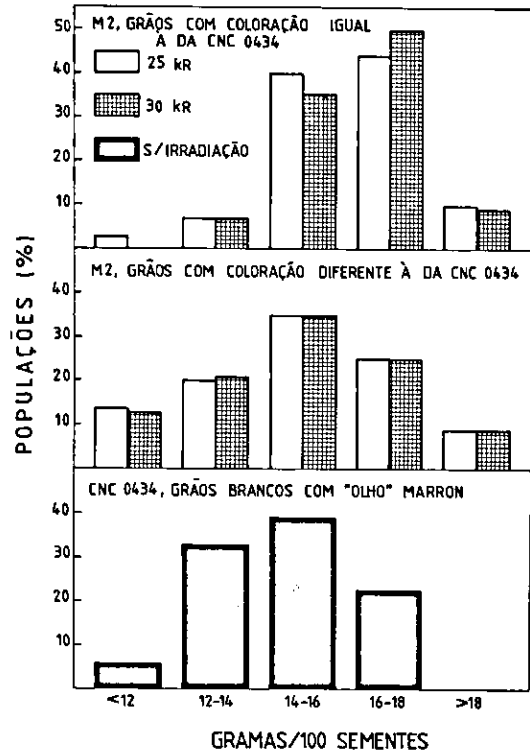


FIG. 2. Distribuição e freqüência do tamanho das sementes visualmente semelhantes às da CNC 0434 e sementes coloridas, colhidas de plantas M₂, em comparação às sementes originais da cultivar CNC 0434.

Herança da resistência dos genótipos de tegumento da semente colorida

Como resultado das duas inoculações com o VMSC, nas plantas da geração M₂, constatou-se a segregação de dois tipos de reação à virose: suscetibilidade e resistência. A segregação observada nas plantas originárias de sementes que receberam a dose de 25 kR foi de 389 indivíduos suscetíveis para 136 resistentes, e, nas que receberam a dose de 30 kR, 129 suscetíveis para 53 resistentes. Ambas as segregações, quando analisadas pelo teste do X₂, indicaram a relação monofatorial de 3:1, ou seja, a resistência ao VMSC, nas plantas M₂ com sementes de coloração diferente, é governada por um simples gene recessivo (Tabela 4).

Para explicar a variabilidade genética produzida pelas sementes de tegumento com a cor diferen-

TABELA 3. Número de plantas M₂ resistentes ao CPSMV classificadas de acordo com a coloração do tegumento da semente e da dose de irradiação aplicada.

N.º	Coloração do tegumento da semente	Dose de irradiação gama				Plantas em relação ao número total
		25 kR		30 kR		
		Número de plantas	%	Número de plantas	%	
1.	Salpicado cinza sobre marrom-claro	20	80	5	20	13,01
2.	Salpicado cinza sobre marrom-escuro	10	66,7	5	33,3	8,28
3.	Mosqueado cinza sobre creme e olho mosqueado cinza-claro sobre creme	4	44,4	5	55,5	4,97
4.	Mosqueado cinza sobre creme e olho mosqueado cinza-escuro sobre creme	11	91,7	1	8,3	6,62
5.	Salpicado marrom-escuro sobre marrom-claro com áreas claras	7	58,3	5	41,7	6,62
6.	Mosqueado marrom-escuro sobre laranja com áreas-claras	6	100	0	0	3,31
7.	Salpicado marrom-escuro sobre laranja com áreas-claras	2	100	0	0	1,10
8.	Salpicado marrom-escuro sobre laranja-escuro	8	61,5	5	38,5	7,18
9.	Mosqueado cinza disperso sobre marrom-claro	6	85,7	1	14,3	3,86
10.	Mosqueado cinza muito disperso sobre marrom-escuro	2	100	0	0	1,10
11.	Mosqueado cinza sobre marrom-escuro	8	88,9	1	11,1	4,97
12.	Malhado-mosqueado cinza sobre marrom-claro e branco	0	—	1	100	0,55
13.	Malhado cinza sobre marrom-escuro e branco	0	—	1	100	0,55
14.	Malhado salpicado marrom sobre marrom-claro e branco	5	100	0	0	2,76
15.	Malhado branco com marrom	1	100	0	0	0,55
16.	Branco com olho marrom	2	100	0	0	1,10
17.	Branco com olho marrom laranja, bordas do olho mosqueado marrom	5	41,7	7	58,3	6,62
18.	Branco com olho mosqueado marrom	6	54,5	5	45,5	6,07
19.	Branco com olho pequeno marrom-claro	2	66,7	1	33,3	1,65
20.	Branco acinzentado com olho pequeno marrom	1	100	0	0	0,55
21.	Creme	1	100	0	0	0,55
22.	Vermelho	1	100	0	0	0,55
23.	Marrom	5	62,5	3	37,5	4,41
24.	Marrom-laranja	3	75	1	25	2,20
25.	Marrom com estrias ferrugem	0	0	1	100	0,55
26.	Branco com olho salpicado marrom-escuro	1	33,3	2	66,7	1,65
27.	Branco com olho mosqueado marrom-claro	4	100	0	0	2,20
28.	Branco com olho salpicado marrom-claro	1	50	1	50	1,10
29.	Branco com olho mosqueado marrom-acinzentado	4	66,7	2	33,3	3,31
30.	Branco com olho salpicado cinza	0	0	1	100	0,55
31.	Branco com olho laranja	1	100	0	0	0,55
Total		127	70,16	54	29,83	181

TABELA 4. Segregação de duas populações M_2 , descendentes de sementes coloridas M_1 , originadas de sementes de cultivar CNC 0434 irradiadas com raios gama.

Doses de irradiação	Número total de plantas	Número de plantas		χ^2 3:1	Probabilidade
		Suscetíveis	Resistentes		
25 kR	525	380	136	0,2292	> 0,50
30 kR	182	129	53	1,6483	> 0,10

te da CNC 0434, bem como a ausência de segregação das sementes semelhantes à da CNC 0434 e a baixa frequência de plantas suscetíveis ao VMSC na geração M_2 , a hipótese mais provável é a de que sementes híbridas tenham sido irradiadas. Dessa forma, ao somarem-se os efeitos da mutação e recombinação, ampliou-se a variabilidade genética, dissociando a cor do tegumento da semente da imunidade ao VMSC.

Nesse caso, a herança determinada por um gene recessivo, constatada na geração M_2 , seria esperada, mesmo que nenhuma mutação do caráter imunidade ao VMSC houvesse ocorrido, e a segregação observada refletisse a herança recessiva constatada na cultivar CNC 0434 em trabalhos não publicados, realizados em Goiânia, por Gerson Pereira Rios e Earl Eugene Watt. Esta hipótese é reforçada pelo fato de se ter obtido baixa frequência de mutantes suscetíveis, na progênie das sementes de coloração do tegumento semelhante às da CNC 0434, o que pode ser atribuído a uma mutação dominante, cuja frequência de ocorrência é menor, quando se induzem mutações.

CONCLUSÕES

1. As doses de 25 kR e 30 kR aplicadas às sementes secas da cultivar CNC 0434 induziram uma ampla variação nas gerações M_1 e M_2 , maior do que o esperado, fato atribuído à presença de sementes híbridas na população irradiada. No entanto, a aplicação do tratamento mutagênico foi eficiente na dissociação entre a coloração do tegumento da semente e a imunidade ao VMSC, nos genótipos descendentes das sementes M_1 de coloração diferente da CNC 0434.

2. A resistência ao VMSC da cultivar CNC 0434, previamente descrita como tendo uma he-

rança monogênica recessiva, manteve este tipo de herança nas plantas descendentes das sementes colhidas de plantas M_1 coloridas, demonstrando, dessa forma, que esta característica não foi afetada pela irradiação.

3. A ocorrência de baixa frequência de genótipos suscetíveis ao VMSC, na progênie M_2 da cultivar CNC 0434, a obtenção de plantas M_2 com o peso médio de sementes superior ao da cultivar original e plantas M_2 com sementes de tegumento marrom, indicam que este método de ampliação da variabilidade genética é alternativa viável, quando o principal caráter é condicionado por gene recessivo, pois abre a possibilidade de se obterem novos recombinantes, preservando a característica principal.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Dr. Almiro Blumenschein, Chefe do Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão, pelo incentivo e pelas sugestões apresentados; ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA), nas pessoas do Dr. Akihiko Ando e Dr. Augusto Tulmann Neto, na irradiação e teste da sensibilidade da cultivar CNC 0434, bem como pelas sugestões apresentadas durante a execução da pesquisa, e ao Técnico Agrícola Antônio Afonso Ribeiro, pela colaboração na instalação e execução da pesquisa.

REFERÊNCIAS

- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão, Goiânia, GO. Five years review of the Brazilian Cooperative Research Program in Cowpea. Goiânia, 1983. 29p.

- FAVRET, E.K.; KONZAK, C.F.; MICKE, A. Disease and pest resistance. In: MANUAL on mutation breeding. 2. ed. Vienna, International Atomic Energy Agency, 1977. p.180-8. (Technical reports, 119)
- GAUL, H. Sterility. In: MANUAL on mutation breeding. 2. ed. Vienna, International Atomic Energy Agency, 1977. p.96-9. (Technical reports, 119)
- HUSSEIN, H.A.S. & DISOUKI, I.A.M. Mutation breeding experiments in *Phaseolus vulgaris* (L.). 1. EMS and gamma-ray - induced seed coat colour mutants. *Z. Pflanzenzuecht.*, 76:190-9, 1976.
- JONES, S.T. Radiation - induced mutations in southern peas. *J. Hered.*, 56:272-6, 1965.
- LOUIS, I.H. & SUNDARAM, M.K. Induction of white eye mutant in cowpea (*Vigna sinensis* L. Savi). *Madras Agric. J.*, 62(2):95-7, 1975.
- MOH, C.C. Induced seed-coat colour mutations in beans and their significance for bean improvement. In: LATIN AMERICAN STUDY GROUP MEETING ON INDUCED MUTATIONS AND PLANT IMPROVEMENT, Buenos Aires, 1970. *Induced mutations and plant improvement*. Vienna, International Atomic Energy Agency, 1972. p.67-72.
- MORTON, J.F.; SMITH, R.E.; POEHLMAN, J.M. The mungbean. Mayaguez, University of Puerto Rico, 1982. p.55.
- OJOMO, O.A. & RAJI, J.A. Some effects of ionizing radiation on M_1 population of cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp). *Trop. Grain Legume Bull.*, (13/14):11-3, 1978.
- RACHIE, K.O. & GARDNER, C.O. Increasing efficiency in breeding particularly outcrossing crop plants. s.n.t. Trabalho apresentado no "ICRISAT Sponsored Grain Legume Workshop", Hyderabad, India, 1975.
- RAO, S.A. & REDDY, B.M. Crumpled petal mutants in black gram and cowpea. *Indian J. Genet. Plant Breed.*, 35(3):391-4, 1975.
- RIOS, G.P. & NEVES, N.P. das. Resistência de linhagens e cultivares de caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) ao vírus do mosaico-severo (VMSC). *Fitopatol. bras.*, 7(2):175-84, 1982.
- SEN, N.K. & BHOWAL, J.G. Genetics of *Vigna sinensis* (L.) Savi. *Genetica*, 32:247-66, 1961.
- SIGURBJÖRNSSON, B. Introduction; mutations in plant-breeding programmes. In: MANUAL on mutation breedings. 2. ed. Vienna, International Atomic Energy Agency, 1977. p.1-6. (Technical reports, 119)
- SINGH, D.P. & PANDYA, B.P. Studies on radionsensitivity in mungbean (*Vigna radiata* L. Wilczek). *Trop. Grain Legume Bull.*, (9):25-7, 1977.
- SMITH, F.L. Inheritance of three seed-coat color genes in *Vigna sinensis* Savi. *Hilgardia*, 24(11):279-96, 1956.
- SPILLMAN, W.J. & SANDO, W.J. Mendelian factors in the cowpea (*Vigna species*). *Mich. Acad.*, 11:249-3, 1929.
- ZOGORCHEVA, L. & PORIAZOV, I. Induction of mutation in green beans by gamma rays. *Ann. Rep. Bean Improv. Coop.*, 26:89-90, 1983.