

Mutagenesis in the improvement of ornamental plants La mutagénesis en el mejoramiento de plantas ornamentales

Selene Hernández-Muñoz¹; Martha Elena Pedraza-Santos^{1*};
Pedro Antonio López²; Juan Manuel Gómez-Sanabria¹;
José Luciano Morales-García¹

¹Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Facultad de Agrobiología. Paseo de la Revolución esquina con Berlín, col. Emiliano Zapata, Uruapan, Michoacán, C. P. 60180, MÉXICO.

²Colegio de Postgraduados, Campus Puebla. Carretera Federal México-Puebla km 125.5, Santiago Momoxpan, San Pedro Cholula, Puebla, C. P. 72760, MÉXICO.

*Corresponding author: mpedraza@umich.mx

Abstract

Mutagenesis is an important tool in the generation of ornamental plant varieties. By 2017, more than 700 varieties had been registered in the mutant variety database jointly administered by the Food and Agriculture Organization of the United Nations and the International Atomic Energy Agency. Among the main genera reported are *Chrysanthemum*, *Rosa*, *Dahlia* and *Alstroemeria*, with 283, 67, 35 and 35 registered varieties, respectively. Germplasm native to Mexico has been used to generate several varieties of mutant plants abroad. From *Dahlia*, 18 varieties have been registered and a large number of mutant forms have been generated in Asia and Europe, while from *Polianthes* mutant forms have been developed in Iran and India, and from *Helianthus* 569 mutant forms have been developed in Bulgaria. Although mutation induction has proven to be an efficient method for generating ornamental plant varieties, Mexico has failed to register ornamental varieties, and there are few reported studies, among which are reports of mutation induction in species such as *Tigridia pavonia*, *P. tuberosa*, *Euphorbia pulcherrima*, *Dendranthema grandiflora*, *H. annuus* and *Laelia autumnalis*. These works have established the foundations for implementing genetic improvement programs by mutation induction and developing varieties adapted to the different conditions of the country, which also have ornamental attributes that meet the quality standards demanded by the international market.

Keywords: gamma rays, ionizing radiation, mutation induction, radiosensitivity, ornamental varieties.

Resumen

La mutagénesis es una herramienta importante en la generación de variedades de plantas ornamentales. Hasta 2017, se registraron más de 700 variedades en la base de datos de variedades mutantes de la agencia conjunta de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, y la Agencia Internacional de Energía Atómica. Entre los principales géneros reportados destacan *Chrysanthemum*, *Rosa*, *Dahlia* y *Alstroemeria*, con 283, 67, 35 y 35 variedades registradas, respectivamente. El germoplasma nativo de México se ha utilizado para generar diversas variedades de plantas mutantes en el extranjero. De *Dahlia* se han registrado 18 variedades y se ha generado una gran cantidad de formas mutantes en Asia y Europa, mientras que de *Polianthes* se han desarrollado formas mutantes en Irán y la India, y de *Helianthus* se desarrollaron 569 formas mutantes en Bulgaria. A pesar de que la inducción de mutaciones ha demostrado ser un método eficiente en la generación de variedades de plantas ornamentales, en México no se ha logrado registrar variedades ornamentales, y son escasos los trabajos reportados, entre los que se encuentran reportes de inducción de mutaciones en especies como *Tigridia pavonia*, *P. tuberosa*, *Euphorbia pulcherrima*, *Dendranthema grandiflora*, *H. annuus* y *Laelia autumnalis*. Estos trabajos han permitido establecer las bases para implementar programas de mejoramiento genético por inducción de mutaciones, y desarrollar variedades adaptadas a las distintas condiciones del país, que además posean atributos ornamentales que cumplan con los estándares de calidad que demanda el mercado internacional.

Palabras clave: rayos gamma, radiación ionizante, inducción de mutaciones, radiosensibilidad, variedades ornamentales.



Introduction

The discovery of x-rays by Röntgen in 1895, radioactivity by Becquerel in 1896 and radioactive elements by Marie and Pierre Curie in 1898 (Mba, 2013) led to the deliberate induction of mutations in plants. The first investigations were done with X-rays and caused alterations in the genetic structure of corn (*Zea mays*) and barley (*Hordeum vulgare*) crops (Stadler, 1928a; Stadler, 1928b). Beginning with these studies, mutagenesis has been an important method in the successful generation of a large number of promising varieties in different crops (Datta, 2009), such as maize, barley, wheat (*Triticum* sp.), cotton (*Gossypium* sp.) and beans (*Phaseolus vulgaris*) (Chopra, 2005). In ornamental plants, many new varieties have been successfully produced, so it is considered a successful tool (Datta, 2009).

In Mexico, three varieties of soybean (*Glycine max*) and two of wheat (*Triticum aestivum*) have been generated with this biotechnology tool (Food and Agriculture Organization of the United Nations / International Atomic Energy Agency [FAO/IAEA], 2017). In ornamentals, efforts have focused on species such as tuberose (*Polianthes tuberosa*) (Estrada-Basaldúa et al., 2011), wild poinsettia (*Euphorbia pulcherrima*) (Canul-Ku et al., 2012), chrysanthemum (*Dendranthema grandiflora*) (Castillo-Martínez, de la Cruz-Torrez, Carrillo-Castañeda, & Avendaño-Arrazate, 2015) and sunflower (*Helianthus annuus*) (Díaz-López et al., 2017).

This review focuses on the use and efficiency of mutation induction with ^{60}Co gamma rays in ornamental plants, with emphasis on plants native to Mexico, for which two objectives were set: to provide a review on mutation induction with ^{60}Co gamma rays in ornamental plants and to carry out a review on variability induction by mutagenesis in plants native to Mexico.

Methodology and criteria used in the search for information

The search for articles was carried out in the Dialnet, Google Scholar, Redalyc, Science Research and Springer Link databases, for which the following keywords were considered in English: ionizing radiation in plants, effect of gamma irradiation, induced mutation ornamental plants, induced mutation by gamma irradiation, mutations in flowers, physical and chemical mutagenesis in ornamental plants, effect of ionizing radiation on plant DNA, cellular changes by gamma irradiation, mutagenesis in crop improvement, plant mutation breeding, *in vitro* mutagenesis and somaclonal variation, and the following keywords in Spanish: efecto de la radiación gamma, inducción de mutagénesis en ornamentales, irradiación gamma en plantas

Introducción

El descubrimiento de los rayos X por Röntgen en 1895, la radiactividad por Becquerel en 1896 y los elementos radiactivos por Marie y Pierre Curie en 1898 (Mba, 2013), dieron inicio a la inducción deliberada de mutaciones en las plantas. Las primeras investigaciones se hicieron con rayos X y causaron alteraciones en la estructura genética de los cultivos de maíz (*Zea mays*) y cebada (*Hordeum vulgare*) (Stadler, 1928a; Stadler, 1928b). A partir de estos trabajos, la mutagénesis ha sido un método importante en la generación exitosa de un gran número de variedades prometedoras en diferentes cultivos (Datta, 2009), como maíz, cebada, trigo (*Triticum* sp.), algodón (*Gossypium* sp.) y frijol (*Phaseolus vulgaris*) (Chopra, 2005). En plantas ornamentales, se han producido con éxito muchas variedades nuevas, por lo que se considera una herramienta exitosa (Datta, 2009).

En México, con esta herramienta biotecnológica se han generado tres variedades de soya (*Glycine max*) y dos de trigo (*Triticum aestivum*) (Food and Agriculture Organization of the United Nations / International Atomic Energy Agency [FAO/IAEA], 2017). En ornamentales, los esfuerzos se han enfocado en especies como nardo (*Polianthes tuberosa*) (Estrada-Basaldúa et al., 2011), nochebuena silvestre (*Euphorbia pulcherrima*) (Canul-Ku et al., 2012), crisantemo (*Dendranthema grandiflora*) (Castillo-Martínez, de la Cruz-Torrez, Carrillo-Castañeda, & Avendaño-Arrazate, 2015) y girasol (*Helianthus annuus*) (Díaz-López et al., 2017).

Esta revisión se concentra en el uso y la eficiencia de la inducción de mutaciones con rayos gamma ^{60}Co en plantas ornamentales, con énfasis en plantas nativas de México; para ello, se plantearon dos objetivos: proporcionar una reseña sobre la inducción de mutaciones con rayos gamma ^{60}Co en plantas ornamentales y realizar una revisión sobre inducción de variabilidad por mutagénesis en plantas nativas de México.

Metodología y criterios empleados en la búsqueda de información

La búsqueda de artículos se efectuó en las bases de datos Dialnet, Google Académico, Redalyc, Science Research y Springer Link, para lo cual se consideraron las siguientes palabras clave en inglés: *ionizing radiation in plants, effect of gamma irradiation, induced mutation ornamental plants, induced mutation by gamma irradiation, mutations in flowers, physical and chemical mutagenesis in ornamental plants, effect of ionizing radiation on plant DNA, celular changes by gamma irradiation, mutagenesis in crop improvement, plant mutation breeding, in vitro mutagenesis y somaclonal variation*, y las palabras clave en español: efecto de la radiación gamma, inducción de mutagénesis en ornamentales, irradiación gamma en plantas nativas de México y energía nuclear en

nativas de México and energía nuclear en el mejoramiento de plantas. The selected articles were those directly related to improvement by mutagenesis with ^{60}Co gamma rays in ornamental plants. In addition, the mutant variety database administered by the joint FAO/IAEA agency was reviewed in detail.

Importance of ornamental plants and their improvement

Floriculture is one of the most important sectors within agriculture, with its growth estimated at approximately \$500 million annually. Countries with developed economies, such as the United States, Australia and European countries, have generated a well-established floriculture industry where cut flowers are the most prominent sector (Singh, 2017). By 2010 there were 702,383 ha in production worldwide and exports amounted to \$9,784,525,000.00 USD, where Holland was the world leader with 47.7 % of total exports, followed by Colombia, Ecuador, Kenya, Ethiopia and Belgium (Malhotra, 2017). In the same year, the main consumer countries were concentrated in Western Europe and North America, where about 80 % of total production was consumed.

Due to the development of new production areas, where traditional varieties are not adapted, the need to produce new ornamental varieties with improved attributes has increased to provide growth to the floriculture industry (Aida, Ohmiya, & Onozaki, 2018). In addition, European producers maintain novel products as a marketing strategy to remain in the market; therefore, the international demand for new varieties is very high (Gupta & Agnihotri, 2017). However, at the international level, Mexico's participation in this economic chain does not correspond with the advantages that the country has: great floristic wealth, ideal geographic location to facilitate commercialization and solid infrastructure in biotechnological plant research; this is mainly because the floriculture sector depends on foreign varieties, which increases production costs. In 2018, the import value of Dutch *Lilium* sp. bulbs amounted to \$28,778.00 USD, and imports of *Rhododendrum* and *Rosa* cuttings from the United States and Ecuador amounted to \$68,199.00 and \$144,545.00 USD, respectively (International Trade Center [ITC], 2019).

Mutations as a source of variation

The growing demand for novel varieties of ornamental plants implies a challenge for plant breeders (Urrea & Ceballos, 2005). Many of the objectives of genetic improvement programs consist of achieving morphological changes and inducing resistance to diseases, pests and adverse abiotic factors, among other outstanding agronomic traits, which can be achieved through mutation induction.

el mejoramiento de plantas. Los artículos seleccionados fueron aquellos relacionados directamente con el mejoramiento por mutagénesis con rayos gamma ^{60}Co en plantas ornamentales. Además, se revisó a detalle la base de datos de variedades mutantes de la agencia conjunta de la FAO/IAEA.

Importancia de las plantas ornamentales y su mejoramiento

La floricultura es uno de los sectores más importantes dentro de la agricultura, su crecimiento se estima en aproximadamente 500 millones de dólares anuales. Países con economías desarrolladas, como Estados Unidos, Australia y los países europeos, han generado una industria florícola bien establecida, donde las flores de corte constituyen el sector más destacado (Singh, 2017). Para 2010 había 702,383 ha en producción a nivel mundial, y las exportaciones ascendieron a \$9,784,525,000.00 USD, donde Holanda fue el líder mundial con 47.7 % del total de las exportaciones, seguido por Colombia, Ecuador, Kenia, Etiopía y Bélgica (Malhotra, 2017). En ese mismo año, los principales países consumidores se concentraron en Europa Occidental y América del Norte, donde se consumió alrededor de 80 % de la producción total.

Debido al desarrollo de nuevas áreas de producción, donde las variedades tradicionales no están adaptadas, se ha incrementado la necesidad de producir nuevas variedades ornamentales con atributos mejorados para brindar crecimiento a la industria florícola (Aida, Ohmiya, & Onozaki, 2018). Además, los productores europeos mantienen productos novedosos como estrategia de mercadotecnia para permanecer en el mercado; por ello, la demanda internacional de nuevas variedades es muy alta (Gupta & Agnihotri, 2017). Sin embargo, a nivel internacional, la participación de México en esta cadena económica no corresponde con las ventajas que el país posee: gran riqueza florística, ubicación geográfica ideal para facilitar la comercialización e infraestructura sólida en investigación biotecnológica de plantas; esto debido, principalmente, a que el sector florícola depende de variedades extranjeras, lo que incrementa los costos de producción. En 2018, el valor de la importación de bulbos holandeses de *Lilium* sp. ascendió a \$28,778.00 USD, y las importaciones de esquejes de *Rhododendrum* y *Rosa*, provenientes de Estados Unidos y Ecuador, ascendió a \$68,199.00 y \$144,545.00 USD, respectivamente (International Trade Center [ITC], 2019).

Las mutaciones como fuente de variación

La demanda creciente de variedades novedosas de plantas ornamentales implica un reto para los fitomejoradores (Urrea & Ceballos, 2005). Muchos objetivos de los programas de mejoramiento genético consisten en lograr cambios morfológicos, e inducir resistencia a

In mutagenesis, deletions or insertions of DNA fragments are induced, which eventually lead to changes in amino acids and modifications in the pigmentation of leaves and stems, as happens with *Arabidopsis thaliana* (Shikazono et al., 2003). On the other hand, a mutation in the biosynthetic pathway of structural or regulatory genes may cause a change in the color of the gentian (*Gentiana triflora*) flower (Nakatsuka, Nishihara, Mishiba, & Yamamura, 2005), while changes in coconut palm (*Cocos nucifera*) leaves may be due to phytochrome alterations, chromosomal aberrations and mitotic inhibition (Abraham & Ninan, 1968). The change in flower color in ornamental plants may be due to a mutation in the L1 layer of the apical meristem, because the epidermis is responsible for flower color (Yamaguchi, 2018). On the other hand, polyploid organisms are more tolerant to irradiation than diploids (Chopra, 2005), so the latter have higher mutation frequencies (Mac, 1954); however, changes do not always occur immediately (Canul-Ku et al., 2012).

In higher plants, mutations may occur with the use of T-DNA (or transposons) or through the exposure of propagules to chemical and physical mutagenic agents. The insertion of T-DNA destroys the structure of the gene, while physical and chemical agents break the DNA strand and during the DNA repair mechanism process, new mutations may occur randomly that are inheritable (Kayalvizhi, Kannan, & Ganga, 2017).

Mutagenic agents and their mode of action

Chemical mutagens

This type of mutagenic agent generates stable and inheritable changes because it induces alterations in simple nucleotides, which can form a new allelic series. Over 80 % of the mutagens applied in plants are alkylating agents, such as ethylmethanesulfonate (EMS), methylnitrosourea (MNU) and ethylnitrosourea (ENU) (Pacher & Puchta, 2017). EMS causes point mutations due to the addition of an alkyl group in the guanine that results in the transition from G:C to A:T, creating allelic versions of genes that give rise to phenotypes with agronomically relevant traits (Dhaliwal, Mohan, Sidhu, Maqbool, & Gill, 2015). Other mutagens, such as hydroxylamine, react with cytosine in the NH group and form hydroxyl cytosine which pairs with adenine instead of guanine. On the other hand, the 5-amino-acridine mutagen is a flat molecule like the base of purine and at low concentrations can be inserted or intercalated between bases of DNA helix and stretches the distance between adjacent base pairs, which distorts the DNA strand (Bhat, Pandit, Sheikh, & Hassan, 2016).

enfermedades, plagas y factores abióticos adversos, entre otras características agronómicas sobresalientes, las cuales se pueden lograr a través de la inducción de mutaciones.

En la mutagénesis se inducen deleciones o inserciones de fragmentos de ADN, que eventualmente conducen a cambios en los aminoácidos y a modificaciones en la pigmentación de hojas y tallos, como sucede con *Arabidopsis thaliana* (Shikazono et al., 2003). Por su parte, una mutación en la vía biosintética de los genes estructurales o reguladores puede causar un cambio en el color de la flor de gentiana (*Gentiana triflora*) (Nakatsuka, Nishihara, Mishiba, & Yamamura, 2005), mientras que los cambios en hojas de palmas de coco (*Cocos nucifera*) se pueden deber a alteraciones por fitocromos, aberraciones cromosómicas y a la inhibición mitótica (Abraham & Ninan, 1968). El cambio en el color de las flores en plantas ornamentales puede deberse a una mutación en la capa L1 del meristemo apical, debido a que la epidermis es la responsable del color de las flores (Yamaguchi, 2018). Por otro lado, los organismos poliploides son más tolerantes a la irradiación que los diploides (Chopra, 2005), por lo que estos últimos presentan frecuencias de mutaciones más altas (Mac, 1954); sin embargo, los cambios no siempre se presentan de manera inmediata (Canul-Ku et al., 2012).

En plantas superiores, las mutaciones se pueden producir con el uso de ADN-T (o transposones) o por la exposición de propágulos a agentes mutagénicos químicos y físicos. La inserción de ADN-T destruye la estructura del gen, mientras que los agentes físicos y químicos rompen la cadena de ADN y durante el mecanismo de reparación ocurren mutaciones al azar que pueden ser heredables (Kayalvizhi, Kannan, & Ganga, 2017).

Agentes mutagénicos y su modo de acción

Mutágenos químicos

Este tipo de agente mutagénico genera cambios estables y heredables debido a que induce alteraciones en nucleótidos simples, lo que puede formar una serie alélica nueva. Más de 80 % de los mutágenos aplicados en plantas son agentes alquilantes, como el etilmetanosulfonato (EMS), metilnitrosourea (MNU) y etilnitrosourea (ENU) (Pacher & Puchta, 2017). El EMS causa mutaciones puntuales debido a la adición de un grupo alquilo en la guanina que resulta en la transición de G:C a A:T, esto crea versiones alélicas de los genes que dan lugar a fenotipos con rasgos agronómicos relevantes (Dhaliwal, Mohan, Sidhu, Maqbool, & Gill, 2015). Otros mutágenos, como la hidroxilamina, reaccionan con la citosina en el grupo NH y forman hidroxil-citosina que

Physical mutagens

In physical mutagens, atoms are the main source material. Unstable atoms of the same element with different weights provide energy particles called radioisotopes and the electromagnetic waves associated with nuclear disintegration are called radiation (Kayalvizhi et al., 2017). These mutagenic agents produce oxygen-reactive species that interact with DNA and cause oxidative damage, such as altered bases (Roldán-Arjona & Ariza, 2009), which induce multiple single or double breaks in the DNA strand (Pacher & Puchta, 2017). Physical mutagens are divided into ionizing and non-ionizing radiation. Neutrons and alpha (α), beta (β), gamma (γ) and X-rays belong to the group of ionizing radiations, while non-ionizing radiation includes only UV rays (Kayalvizhi et al., 2017).

Ionizing radiation

Ionizing radiation is the most commonly used due to the high energy levels employed, making it able to dislodge electrons from the nuclear orbits of the atoms, and the affected atoms become ions, hence the term ionizing radiation (Mba, Afza, & Shu, 2012). This type of radiation causes biological lesions in higher plants through interactions with the genetic material (Lagoda, 2012), which can generate from DNA-level aberrations to chromosomal ruptures and rearrangements (Mba, 2013); that is, it can cause changes in the bases and single or double breaks of the DNA strand (Morita et al., 2009).

Gamma rays. This type of ray is one of the most important mutagenic agents within ionizing radiation because they have been shown to be highly penetrating and potent in inducing variability in plants (Deshpande, Mehetre, & Pingle, 2010). The success of gamma rays has been demonstrated in the generation of new varieties, as more than 55 % of the mutant varieties released have been generated with this technique (Kulkarni, Ganapathi, Suprasanna, & Bapat, 2007). Gamma rays are emitted in the disintegration process of the radioisotopes of carbon-14 (^{14}C), cobalt-60 (^{60}Co), caesium-137 (^{137}Cs) and to a lesser extent plutonium-239 (^{239}Pu). Irradiation may be acute (short periods) or chronic (long periods) (Mba, 2013). The high efficiency of this radiation is because it has an energy level ranging from 10 keV to several hundred keV (Table 1), which gives it greater penetration power than alpha and beta rays (Kovacs & Keresztes, 2002). Its biological effect is based on the interaction with atoms or molecules in the cell, particularly with water, to produce free radicals, which can damage or modify important cellular components. It has been reported that these radicals affect the morphology, anatomy, biochemistry and physiology of plants, according to the level of irradiation (Wi et al., 2005).

se une con la adenina en lugar de guanina. Por su parte, el mutágeno 5-amino-acridina es una molécula plana como la base de la purina y a concentraciones bajas se puede insertar o intercalar entre las bases de la hélice del ADN y alarga la distancia entre los pares de bases adyacentes, lo que distorsiona la cadena de ADN (Bhat, Pandit, Sheikh, & Hassan, 2016).

Mutágenos físicos

En los mutágenos físicos, los átomos son el principal material de origen. Los átomos inestables del mismo elemento con diferentes pesos proporcionan partículas de energía llamadas radioisótopos, y las ondas electromagnéticas asociadas con la desintegración nuclear se denominan radiación (Kayalvizhi et al., 2017). Estos agentes mutagénicos producen especies reactivas con el oxígeno que interactúan con el ADN y causan daño oxidativo, como modificaciones en las bases (Roldán-Arjona & Ariza, 2009), que induce múltiples rupturas simples o dobles en la cadena del ADN (Pacher & Puchta, 2017). Los mutágenos físicos se dividen en radiación ionizante y no ionizante. Los neutrones y los rayos alfa (α), beta (β), gamma (γ) y X pertenecen al grupo de las radiaciones ionizantes, mientras que la radiación no ionizante incluye sólo a los rayos UV (Kayalvizhi et al., 2017).

Radiación ionizante

La radiación ionizante es la más utilizada debido a los altos niveles de energía empleados, con lo que es capaz de desalojar electrones de las órbitas nucleares de los átomos, y los átomos afectados se convierten en iones, de ahí el término radiación ionizante (Mba, Afza, & Shu, 2012). Este tipo de radiación causa lesiones biológicas en las plantas superiores a través de interacciones con el material genético (Lagoda, 2012), lo que puede generar desde aberraciones a nivel de ADN hasta rupturas cromosómicas y reordenamientos (Mba, 2013); es decir, puede provocar modificaciones en las bases y rupturas simples o dobles de la cadena de ADN (Morita et al., 2009).

Rayos gamma. Este tipo de rayos es uno de los agentes mutagénicos más importantes dentro de la radiación ionizante debido a que han demostrado ser altamente penetrantes y potentes en la inducción de variabilidad en las plantas (Deshpande, Mehetre, & Pingle, 2010). El éxito de los rayos gamma se ha demostrado en la generación de nuevas variedades, ya que más de 55 % de las variedades mutantes liberadas se han generado con esta técnica (Kulkarni, Ganapathi, Suprasanna, & Bapat, 2007). Los rayos gamma se emiten en el proceso de desintegración de los radioisótopos de carbono-14 (^{14}C), cobalto-60 (^{60}Co), cesio-137 (^{137}Cs) y en menor medida de plutonio-239 (^{239}Pu). La irradiación puede ser aguda (períodos cortos) o crónica (períodos largos)

Table 1. Electromagnetic wave properties of commonly used physical mutagens.**Cuadro 1. Propiedades de la onda electromagnética de los mutágenos físicos usados comúnmente.**

Mutagenic agent / Agente mutagénico	Typical frequency (s ⁻¹) / Frecuencia típica (s ⁻¹)	Typical energy (kJ·mol ⁻¹) / Energía típica (kJ·mol ⁻¹)	Typical photonic energy (eV) / Energía fotónica típica (eV)
Particles / Partículas			
Alfa		4.1 x 10 ⁸	
Beta		1.5 x 10 ⁷	
Electromagnetic radiation / Radiación electromagnética			
Gamma rays / Rayos gamma	3 x 10 ²	1.2 x 10 ⁸	1 MeV
X-rays / Rayos X	3 x 10 ¹⁷	1.2 x 10 ⁵	100 KeV
Ultraviolet / Ultravioleta	3 x 10 ¹⁵	1,200	4 eV

Source: Mba et al. (2012).

Fuente: Mba et al. (2012).

Effect of radiation on plant cells

The response of plants to radiation is more or less linear with the dose used (Yamaguchi, Shimizu, Degi, & Morishita, 2008), which can cause changes in cell structure, such as physical-chemical lesions, small lesions on chromosomes or the combination of both effects (Ramesh, Murthy, & Munirajappa, 2013). Primary lesions delay or inhibit cell division, affect mitotic activity, growth rate or habit, metabolism (such as dilation of thylakoid membranes), photosynthesis, modulation of the antioxidant system and accumulation of phenolic compounds (Wi et al., 2005), cause modifications in lipids, enzymes and other cellular constituents (Kodym & Afza, 2003) and induce cell death (Wi et al., 2005).

Radiation modifies the DNA strand, and the repair mechanism can be produced through two pathways: homologous recombination and nonhomologous-end joining (Kimura & Sakaguchi, 2006). The first is an error-free repair pathway, while the second is an error-prone repair pathway and often causes mutations such as deletions, insertions and inversions in repair sites (Kirik, Salomon, & Puchta, 2000).

Radiosensitivity and median lethal dose

Radiosensitivity depends on the type of radiation and the dose used, as well as on the explant's traits: type of tissue, size, degree of development and moisture content (Datta & Teixeira-da Silva, 2006), as these traits alter the cells' response to radiation. Soft materials such as *in vivo* and *in vitro* cuts and embryogenic calluses require lower doses compared to seeds. Sensitivity also depends on the genetic constitution of the plant material, such as the number and chromosomal size, the nucleotide, the heterochromatin, centromere number and position, degree of polyploidy, nuclear DNA content and replication time at initial stages, as well as cytoplasmic, biological, chemical and environmental

(Mba, 2013). La eficiencia alta de esta radiación se debe a que tiene un nivel de energía que va de 10 keV a varios cientos de keV (Cuadro 1), lo que le confiere mayor poder de penetración que los rayos alfa y beta (Kovacs & Keresztes, 2002). Su efecto biológico se basa en la interacción con los átomos o moléculas en la célula, en particular con el agua, para producir radicales libres, los cuales pueden dañar o modificar componentes celulares importantes. Se ha reportado que dichos radicales afectan la morfología, anatomía, bioquímica y fisiología de las plantas, de acuerdo con el nivel de irradiación (Wi et al., 2005).

Efecto de la radiación en las células vegetales

La respuesta de las plantas a la radiación es más o menos lineal con la dosis empleada (Yamaguchi, Shimizu, Degi, & Morishita, 2008), lo cual puede causar cambios en la estructura celular, como lesiones físico-químicas, pequeñas lesiones en los cromosomas o la combinación de ambos efectos (Ramesh, Murthy, & Munirajappa, 2013). Las lesiones primarias retrasan o inhiben la división celular, afectan la actividad mitótica, la tasa o hábito de crecimiento, el metabolismo (como la dilatación de las membranas de los tilacoides), la fotosíntesis, la modulación del sistema antioxidante y la acumulación de compuestos fenólicos (Wi et al., 2005), causan modificaciones en lípidos, enzimas y otros constituyentes celulares (Kodym & Afza, 2003) e inducen la muerte celular (Wi et al., 2005).

La radiación modifica la cadena de ADN, y el mecanismo de reparación se puede producir mediante dos vías: recombinación homóloga y extremos no homólogos (Kimura & Sakaguchi, 2006). La primera es una vía de reparación libre de errores, mientras que la segunda es una vía de reparación propensa a errores y con frecuencia causa mutaciones como deleciones, inserciones e inversiones en los sitios de reparación (Kirik, Salomon, & Puchta, 2000).

factors (Deshpande et al., 2010). Therefore, each genotype should be evaluated for optimal treatment within a range of conditions (Urrea & Ceballos, 2005).

The main purpose of the radiosensitivity study is to determine the most effective radiation dose to increase the frequency of mutations (Barakat & El-Sammak, 2011). Median lethal dose, prolonged level of damage, lethal radiation exposure rate (Abdullah, Endan, & Mohd-Nazir, 2009), reductions in germination rate, seedling height, survival rate and chlorophyll mutations are the main parameters evaluated in sensitivity tests to determine optimal doses (Mba, 2013).

Median lethal dose or mean reductive dose

This dose is the one that reduces survival and growth to 50 % in relation to the control treatment, and is where most mutations are obtained. Some authors recommend an interval of 20 % higher and lower (FAO/IAEA, 1977); other authors state that the optimal dose should lead to the survival of 40 to 60 % of the treated material with respect to the untreated material (Urrea & Ceballos, 2005).

Radioinhibition

Radioinhibition is the negative effect of radiation, and usually occurs at very high doses, where most plants die because mutagens have a direct negative effect on plant tissue, multiplication and regeneration, as well as on their height and development. High doses of radiation cause loss of regenerative capacity and malformation of plants (Chakravarty & Sen, 2001), and many mutations become lethal (Abdullah et al., 2009), since at the cellular level diverse reactions occur that affect vital macromolecules and result in physiological imbalances. High doses of ionizing radiation have been shown to damage DNA and macromolecular components, such as cell walls, membranes (Wi et al., 2005) and organic molecules that are essential for the cell division process, stopping cell division (Tangpong, Taychasinpitak, Jompuk, & Jompuk, 2009).

The death of plants is attributed to the interaction of radiation with molecules in cells, in particular with the water with which they produce free radicals (H and OH). These radicals can combine to form toxic substances, such as hydrogen peroxide (H_2O_2), which contribute to cell destruction. This indirect effect influences plant cells, as about 80 % of the cytoplasm content is water (Kovacs & Keresztes, 2002).

Radiostimulation

Radiostimulation occurs with the use of low radiation doses, which stimulate physical and biochemical changes that are reflected in physiological processes such as accelerated plant regeneration (Chakravarty

Radiosensibilidad y dosis letal media

La radiosensibilidad depende del tipo de radiación y de la dosis empleada, así como de las características del explante: tipo de tejido, tamaño, grado de desarrollo y contenido de humedad (Datta & Teixeira-da Silva, 2006), ya que estas características alteran la respuesta de las células a la radiación. Los materiales blandos como cortes *in vivo* e *in vitro*, y los callos embriogénicos, requieren dosis más bajas en comparación con las semillas. La sensibilidad también depende de la constitución genética del material vegetal, como es el número y tamaño cromosómico, el nucleótido, la heterocromatina, número y posición del centrómero, grado de poliploidía, contenido de ADN nuclear y tiempo de replicación en las etapas iniciales, así como de factores citoplásmicos, biológicos, químicos y ambientales (Deshpande et al., 2010). Por lo tanto, cada genotipo debe ser evaluado para un tratamiento óptimo dentro de un intervalo de condiciones (Urrea & Ceballos, 2005).

El propósito principal del estudio de la radiosensibilidad es determinar la dosis de radiación más eficaz para incrementar la frecuencia de mutaciones (Barakat & El-Sammak, 2011). La dosis letal media, el nivel prolongado de daño, la tasa de exposición letal por la radiación (Abdullah, Endan, & Mohd-Nazir, 2009), las reducciones en la tasa de germinación, la altura de plántulas, la tasa de supervivencia y las mutaciones de clorofila son los principales parámetros evaluados en las pruebas de sensibilidad para determinar las dosis óptimas (Mba, 2013).

Dosis letal media o dosis reductiva media

Esta dosis es con la que se reduce la supervivencia y el crecimiento al 50 % en relación con el tratamiento control, y es donde se obtiene la mayor cantidad de mutaciones. Algunos autores recomiendan un intervalo de 20 % superior e inferior (FAO/IAEA, 1977); otros autores mencionan que la dosis óptima debe llevar a la supervivencia de 40 a 60 % del material tratado con respecto al no tratado (Urrea & Ceballos, 2005).

Radioinhibición

La radioinhibición es el efecto negativo de la radiación, y generalmente se presenta con dosis muy altas, donde la mayoría de las plantas mueren debido a que los mutágenos tienen un efecto negativo directo sobre los tejidos, la multiplicación y la regeneración de plantas, así como en la altura y el desarrollo de éstas. Las dosis altas de radiación ocasionan pérdida de la capacidad regenerativa y malformación de plantas (Chakravarty & Sen, 2001), y muchas mutaciones llegan a ser letales (Abdullah et al., 2009), ya que a nivel celular ocurren diversas reacciones que afectan a las

& Sen, 2001) and increased formation of reserve substances (Al-Safadi, Ayyoubi, & Jawdat, 2000).

***In vitro* culture in mutagenesis**

Mutagenesis is more efficient when using cellular totipotency; that is, by using single cells and *in vitro* cultured plant tissues as starting materials for mutation induction (Mba, 2013). The combination of both techniques has been widely used in the improvement of vegetatively propagated varieties (Maluszynski, Nichterlein, Van-Zanten, & Ahloowalia, 2000); in addition, it has opened up new possibilities to induce a greater number of mutants with outstanding agronomic traits in crops of economic importance. *In vitro* mutagenesis, as well as increasing genetic variants, makes it possible to supply seedlings for field cultivation on a large scale (Barakat & El-Sammak, 2011). Any explant or callus can be treated with a mutagenic agent and regenerate large populations of plants through *in vitro* methods under controlled conditions, in limited spaces and at any time of the year. In addition, plants can be observed in the second generation of treated plants (M1V2) and later generations, which is where the possibility of obtaining a greater number of mutants is presented, since the mutated cells of the lower axillary buds remain in latent phase and express their mutant character when they develop during the vegetative propagation of M1V2 (Datta & Teixeira-da Silva, 2006). *In vitro* mutagenesis has the particular advantage of possibly increasing the frequencies of gene and point mutations, which are the most important in crop improvement (Estrada-Basaldúa et al., 2011).

Somaclonal mutation

This type of mutation is the variation that arises in the culture of cells and regenerated plants *in vitro*, as well as in their progeny. Among the most important factors for the appearance of somaclonal variation are the regeneration system, the type of tissue, the source of the explant, the components of the medium and the duration of the culture cycle (Sarmah et al., 2017). Changes occur when a cell undergoes a mutation and continues to divide; the single cell generate tissue with a genotype different from the rest of the plant cells (Brar & Jain, 1998). These mutations include karyotypic changes, point mutations, somatic crossing-over, somatic gene arrangement, changes in DNA amplification and segregation of pre-existing chimeric tissues (Kearsey & Pooni, 1998).

Ornamental plant varieties generated by mutagenesis

Mutagenesis in ornamental plants represents a powerful tool, not only to clarify physiological mechanisms in plant functioning (Honda et al.,

macromoléculas vitales y resultan en desequilibrios fisiológicos. Se ha demostrado que dosis altas de radiación ionizante dañan el ADN y componentes macromoleculares, tales como paredes celulares, membranas (Wi et al., 2005) y moléculas orgánicas que son esenciales para el proceso de división celular, lo que detiene la división celular (Tangpong, Taychasinpitak, Jompuk, & Jompuk, 2009).

La muerte de las plantas se atribuye a la interacción de la radiación con moléculas en las células, en particular con el agua, con la que producen radicales libres (H y OH). Estos radicales pueden combinarse para formar sustancias tóxicas, como peróxido de hidrógeno (H₂O₂), que contribuyen a la destrucción celular. Este efecto indirecto influye en las células vegetales, ya que alrededor de 80 % del contenido del citoplasma es agua (Kovacs & Keresztes, 2002).

Radioestimulación

La radioestimulación se presenta con el uso de dosis bajas de radiación, las cuales estimulan cambios físicos y bioquímicos que se ven reflejados en procesos fisiológicos como la aceleración en la regeneración de las plantas (Chakravarty & Sen, 2001) e incremento en la formación de sustancias de reserva (Al-Safadi, Ayyoubi, & Jawdat, 2000).

El cultivo *in vitro* en la mutagénesis

La mutagénesis es más eficiente al usar la totipotencia celular; es decir, al utilizar células individuales y tejidos de las plantas cultivadas *in vitro* como material de partida para la inducción de mutaciones (Mba, 2013). La combinación de ambas técnicas ha sido ampliamente utilizada en el mejoramiento de variedades de propagación vegetativa (Maluszynski, Nichterlein, Van-Zanten, & Ahloowalia, 2000), además, ha abierto nuevas posibilidades para inducir un mayor número de mutantes con caracteres agronómicos sobresalientes en cultivos de importancia económica. La mutagénesis *in vitro*, además de incrementar las variantes genéticas, permite proveer a gran escala plántulas para su cultivo en campo (Barakat & El-Sammak, 2011). Cualquier explante o callo puede ser tratado con un agente mutagénico y regenerar grandes poblaciones de plantas a través de métodos *in vitro* en condiciones controladas, en espacios limitados y en cualquier época del año. Además, se pueden observar las plantas en la segunda generación de las plantas tratadas (M1V2) y generaciones posteriores, que es donde se presenta la posibilidad de obtener un mayor número de mutantes, ya que las células mutadas de las yemas axilares inferiores permanecen en fase latente y expresan su carácter mutante cuando se desarrollan durante la propagación vegetativa de la M1V2 (Datta & Teixeira-da Silva, 2006). La mutagénesis *in vitro* tiene

2006), but also to obtain new varieties useful for the floriculture industry (Canul-Ku et al., 2012). Changes in phenotypic traits, such as the color, shape or size of the flower and chlorophyll variegation in leaves, can be easily detected; in addition, due to the heterozygous nature of many cultivars, a high frequency of mutation can occur (Datta & Teixeira-da Silva, 2006), which makes ornamental plants ideal for mutation induction (Urrea & Ceballos, 2005).

By the year 2000, more than 2,200 varieties of mutant plants had been released into the world market; by 2005, this value had increased to 2,335 varieties, of which 552 were ornamental crops (Mba, Afza, Lagoda, & Darwig, 2005), and by 2017 it had increased to 3,249 varieties, of which 720 are ornamental crops (FAO/IAEA, 2017). Mutagenesis has been used in cut flowers and potted plants (Taheri, Abdullah, Ahmad, & Abdullah, 2014). The largest number of varieties have been obtained in the genera *Chrysanthemum*, *Rosa*, *Dahlia*, *Alstroemeria*, *Streptocarpus*, *Dianthus* and *Begonia* (Table 2) (FAO/IAEA, 2017).

como ventaja particular la posibilidad de incrementar las frecuencias de mutaciones génicas y puntuales, que son las más importantes en el mejoramiento (Estrada-Basaldua et al., 2011).

Mutación somaclonal

Este tipo de mutación es la variación que surge en el cultivo de células y plantas regeneradas *in vitro*, así como en su progenie. Entre los factores más importantes para la aparición de variación somaclonal son el sistema de regeneración, el tipo de tejido, la fuente del explante, los componentes del medio y la duración del ciclo de cultivo (Sarmah et al., 2017). Los cambios ocurren cuando una célula sufre una mutación y continúa en división; la célula individual genera tejido con genotipo diferente al resto de las células de la planta (Brar & Jain, 1998). Estas mutaciones incluyen cambios cariotípicos, mutaciones puntuales, cruzamiento somático, disposición de genes somáticos, cambios en la amplificación del ADN y segregación de tejidos quiméricos preexistentes (Kearsey & Pooni, 1998).

Table 2. Genera with mutant ornamental varieties registered in the joint Food and Agriculture Organization of the United Nations/International Atomic Energy Agency database (FAO/IAEA, 2017).

Cuadro 2. Géneros con variedades ornamentales mutantes registradas en la base de datos de la agencia conjunta de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, y la Agencia Internacional de Energía Atómica (FAO/IAEA, 2017).

Genus/ Género	Varieties obtained/ Variedades obtenidas	Varieties obtained with gamma rays/ Variedades obtenidas con rayos gamma
<i>Chrysanthemum</i>	283	150
<i>Rosa</i>	67	52
<i>Dahlia</i>	35	18
<i>Alstroemeria</i>	35	11
<i>Streptocarpus</i>	30	0
<i>Dianthus</i>	28	8
<i>Begonia</i>	25	17
<i>Portulaca</i>	17	17
<i>Bougainvillea</i>	16	14
<i>Rhododendron</i>	15	9
<i>Hibiscus</i>	10	10
<i>Cytisus</i>	9	9
<i>Tulipa</i>	9	0
<i>Achimenes</i>	8	0
<i>Canna</i>	8	8
<i>Lilium</i>	6	4
<i>Limonium</i>	6	6
<i>Antirrhinum</i>	5	0
<i>Iris</i>	5	5
<i>Tibouchina</i>	5	0
<i>Albelmoschus</i>	4	4
<i>Gladiolus</i>	4	2
<i>Hoya</i>	4	4
<i>Juncus</i>	4	3
<i>Kalanchoe</i>	4	1

Chrysanthemum (synonym Dendranthema): Between 1962 and 2015, 283 varieties of this genus were registered with FAO/IAEA. Flower color stands out as the main modified trait (Table 3).

Rosa: The improvement programs of this genus focus on traits linked to the color and size of the flower to increase its economic and ornamental value (Qadeer, Hafiz, Abbasi, & Ahmad, 2015). By 2017, 67 varieties had been released and registered in the FAO/IAEA database. The highest number of varieties was recorded in Asia (86.56 %), Europe (7.46 %) and North America (5.97 %) (Table 4).

Dahlia: The improvement of *Dahlia* by mutagenesis has been carried out in Europe and Asia. The former generated 65.71 % of the varieties between 1966 and 1971, while the remaining 34.28 % was generated in China and India from 1978 to 1989 (Table 5).

Alstroemeria: By 2017, the International Atomic Energy Agency database had registered 35 varieties. All varieties were generated in Europe; the Netherlands released 68.57 % and Germany the remaining 31.43 % (Table 6).

Ornamental plants native to Mexico improved by mutagenesis in other countries

Mexico is a country with a wide diversity of ornamental plants. The native germplasm of genera such as *Dahlia*, *Eustoma*, *Helianthus*, and *Polianthes*, among others, has been used abroad to generate diverse varieties of mutant plants. In sunflower (*Helianthus annuus*), Bulgarian researchers developed 569 mutant forms by treating seeds with ^{60}Co and ^{137}Cs gamma rays (Encheva et al., 2014), and in the FAO/IAEA they registered the Rada variety in 2006, generated with 8 Gy of ^{137}Cs gamma rays, and the Madan variety in 2008, generated with 120 Gy of ^{60}Co gamma rays (FAO/IAEA, 2017). In tuberose (*Polianthes tuberosa*), genetic improvement techniques developed in Iran generated mutant forms for flower length and weight from irradiating mature bulbs with 10 Gy of ^{60}Co gamma rays (Navabi, Norouzi, Arab, & Daylami, 2016). In India, flower mutants were generated with four, five, seven, eight and eleven tepals per flower (Kayalvizhi et al., 2017), as well as two varieties with leaf variegation (Datta, 2009).

In dahlia (*Dahlia*), the use of mutagenesis began in the 1960s, and from then until the early 1970s, 18 varieties were registered with FAO/IAEA in the Netherlands and numerous mutant forms were developed for flower color and shape (Broertjes & Ballego, 1967). In India, Dube, Das, Dey, and Bid (1980) selected 19 mutants with changes in the color of the dahlia flower, and by

Variedades de plantas ornamentales generadas por mutagénesis

La mutagénesis en plantas ornamentales representa una herramienta poderosa, no solo para esclarecer mecanismos fisiológicos en el funcionamiento de las plantas (Honda et al., 2006), sino también para obtener nuevas variedades de utilidad para la industria florícola (Canul-Ku et al., 2012). Los cambios en las características fenotípicas, como el color, la forma o el tamaño de la flor y la variegación de clorofila en las hojas, se pueden detectar con facilidad; además, debido a la naturaleza heterocigótica de muchos cultivares, se puede producir una frecuencia alta de mutación (Datta & Teixeira-da Silva, 2006), lo que hace a las plantas ornamentales ideales para la inducción de mutaciones (Urrea & Ceballos, 2005).

Hasta el año 2000, se liberaron más de 2,200 variedades de plantas mutantes al mercado mundial; para 2005, este valor incrementó a 2,335 variedades, de las cuales 552 eran cultivos ornamentales (Mba, Afza, Lagoda, & Darwig, 2005), y para 2017 aumentó a 3,249 variedades, de estas, 720 son cultivos ornamentales (FAO/IAEA, 2017). La mutagénesis se ha utilizado en flores de corte y en plantas cultivadas en macetas (Taheri, Abdullah, Ahmad, & Abdullah, 2014). El mayor número de variedades se ha obtenido en los géneros *Chrysanthemum*, *Rosa*, *Dahlia*, *Alstroemeria*, *Streptocarpus*, *Dianthus* y *Begonia* (Cuadro 2) (FAO/IAEA, 2017).

Chrysanthemum (sinonimia Dendranthema): Entre 1962 y 2015 se registraron 283 variedades de este género en la FAO/IAEA. El color de las flores destaca como la principal característica modificada (Cuadro 3).

Rosa: Los programas de mejoramiento de este género están enfocados en los rasgos ligados al color y tamaño de la flor para aumentar su valor económico y ornamental (Qadeer, Hafiz, Abbasi, & Ahmad, 2015). Hasta 2017 se liberaron y registraron 67 variedades en la base de datos de la FAO/IAEA. El mayor número de variedades se registró en Asia (86.56 %), Europa (7.46 %) y Norteamérica (5.97 %) (Cuadro 4).

Dahlia: El mejoramiento de *Dahlia* por mutagénesis se ha realizado en Europa y Asia. En el primero se generó el 65.71 % de las variedades entre 1966 y 1971, mientras que el 34.28 % restante se generó en China e India de 1978 a 1989 (Cuadro 5).

Alstroemeria: La base de datos de la Agencia Internacional de Energía Atómica registró 35 variedades hasta 2017. Todas las variedades se generaron en Europa, los Países Bajos liberaron 68.57 % y Alemania el 31.43 % restante (Cuadro 6).

Table 3. Origin, method, material used and number of *Chrysanthemum* varieties registered in the joint Food and Agriculture Organization of the United Nations/International Atomic Energy Agency database (FAO/IAEA, 2017).**Cuadro 3. Origen, método, material empleado y número de variedades de *Chrysanthemum* registradas en la base de datos de la agencia conjunta de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, y la Agencia Internacional de Energía Atómica (FAO/IAEA, 2017).**

Country/ País	Varieties/ Variedad	Method used/ Método empleado	Year/ Año	Material used/ Material empleado	Improved traits/ Características mejoradas
Germany/ Alemania	34	X-rays (22 ¹) and gamma rays (12)/ Rayos X (22 ¹) y gamma (12)	1962 (3), 1964 (1), 1966 (4), 1977 (1), 1979 (1), 1981 (1), 1983 (3), 1984 (2), 1985 (3), 1987 (3), 1988 (8), 1989 (4)	Shoots (4), cuttings (10), not reported (20)/ Brotes (4), esquejes (10), no reportado (20)	Flower color (34)/ Color de las flores (34)
Belgium/Bélgica	7	X-rays (7)/ Rayos X(7)	1985 (7)	Cuttings (7)/Esquejes (7)	Flower color (7)/ Color de las flores (7)
Brazil/ Brasil	4	Gamma rays (4)/ Rayos gamma (4)	1995 (2), 1996 (2)	Cuttings (1), pedicel (1), not reported (2)/ Esquejes (1), pedicelo (1), no reportado (2)	Flower color (4)/ Color de las flores (4)
China	21	Gamma rays (18), not reported (3)/Rayos gamma (18), no reportado (3)	1986 (1), 1987 (1), 1989 (10), 1990 (2) 1991 (1), 1996 (6),	Leaf callus (4), not reported (17)/Callos de hojas (4), no reportado (17)	Agronomic and botanical traits (17), growth habit (1), not reported (3)/ Características agronómicas y botánicas (17), hábito de crecimiento (1), no reportado (3)
United States/ Estados Unidos	1	X-rays (1)/ Rayos X (1)	1960 (1)	Rooted cuttings (1)/ Esquejes enraizados (1)	Flower color (1)/ Color de las flores (1)
Russia/ Rusia	17	Gamma rays (17)/ Rayos gamma (17)	1976 (17)	Rooted cuttings (17)/ Esquejes enraizados (17)	Flower color (17)/ Color de las flores (17)
Hungary/ Hungría	1	Gamma rays (1)/ Rayos gamma (1)	1969 (1)	Not reported (1)/ No reportado (1)	Not reported (1)/ No reportado (1)
India	48	Gamma rays (44), X-rays (1), irradiation (1), colchicine (1), not reported (1)/ Rayos gamma (44), rayos X (1), irradiación (1), colchicina (1), no reportado (1)	1969 (1), 1974 (11), 1975 (9), 1978 (3), 1979 (4), 1982 (3), 1984 (1), 1985 (3), 1987 (3), 1990 (1), 1991 (1), 1992 (2), 1993 (1), 1994 (1), 1996 (1), 2003 (1), 2015 (1)	Cuttings (19), vegetative reproduction (21), not reported (8)/ Esquejes (19), reproducción vegetativa (21), no reportado (8)	Flower color (30), flower shape and color (18)/ Color de las flores (30), forma y color de las flores (18)
Japan/ Japón	56	Gamma rays (36), gamma rays and X-rays (1), irradiation (1), X-rays (4), ion beams (7), somaclonal variation (3), not reported (2)/ Rayos gamma (36), rayos gamma y X (1), irradiación (1), rayos X (4), haces de iones (7), variación somaclonal (3), no reportado (2)	1985 (4), 1986 (1), 1990 (1), 1991 (6), 1994 (1), 1995 (6), 1997 (7), 1998 (6), 2000 (3), 2001 (3), 2002 (1)	<i>In vitro</i> petal explants (7), <i>in vitro</i> explants (13), leaves (3), not reported (33) / Explantes de pétalos <i>in vitro</i> (7), explantes <i>in vitro</i> (13), hojas (3), no reportado (33)	Flower color (51), flower size (2), short stems (1), not reported (2)/Color de las flores (51), tamaño de la flor (2), tallos cortos (1), no reportado (2)
Malaysia/Malasia	2	Gamma rays (2)/ Rayos gamma (2)	1976 (2)	Callus (2)/Callo (2)	Flower color and shape (2)/Color y forma de las flores (2)
Netherlands/ Países Bajos	80	Gamma rays (11), X-rays (67), not reported (2)/ Rayos gamma (11), rayos X (67), no reportado (2)	1969 (1), 1970 (1), 1973 (4), 1975 (5), 1976 (10), 1977 (5), 1978 (10), 1979 (6), 1983 (2), 1984 (9), 1985 (20), 1986 (7)	Rooted cuttings (52), not reported (28)/ Esquejes enraizados (52), no reportado (28)	Flower color (79), flower color and size (1)/ Color de las flores (79), color y tamaño de las flores (1)
Poland/Polonia	6	Gamma rays (2) and X-rays (4)/Rayos gamma (2) y X (4)	1993 (6)	Not reported (6)/ No reportado (6)	Flower color (6)/ Color de las flores
Republic of Korea/ República de Corea	2	Gamma rays (2)/ Rayos gamma (2)	2011 (2)	<i>In vitro</i> explants (2)/ Explantes <i>in vitro</i> (2)	Flower color (2)/Color de las flores (2)
Thailand/ Tailandia	1	Gamma rays (1)/ Rayos gamma (1)	1987 (1)	<i>In vitro</i> explants (1)/ Explantes <i>in vitro</i> (1)	Flower color (1)/ Color de las flores
Vietnam	3	Not reported (3)/ No reportado (3)	2010 (1), 2011 (2)	Not reported (3)/ No reportado (3)	Not reported (3)/ No reportado (3)

¹The quantity in brackets indicates the number of varieties registered.

¹La cantidad entre paréntesis indica el número de variedades registradas.

Table 4. Origin, method, material used and number of Rosa varieties registered in the joint Food and Agriculture Organization of the United Nations/International Atomic Energy Agency database (FAO/IAEA, 2017).

Cuadro 4. Origen, método, material empleado y número de variedades de Rosa registradas en la base de datos de la agencia conjunta de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, y la Agencia Internacional de Energía Atómica (FAO/IAEA, 2017).

Country/ País	Varieties/ Variedades	Method used/ Método empleado	Year/ Año	Material used/ Material empleado	Improved traits/ Características mejoradas
Germany/ Alemania	4	X-rays (2 ¹), not reported (2)/ Rayos X (2 ¹), no reportado (2)	1965 (1), 1976 (1), 1987 (1), 1988 (1)	Shoots (1), <i>in vitro</i> explants (1), not reported (2)/ Brotos (1), explantes <i>in vitro</i> (1), no reportado (2)	Flower color (4)/ Color de las flores (4)
Canada/ Canadá	2	Irradiation (1), X-rays (1)/ Irradiación (1), rayos X (1)	1964 (1), 1976 (1)	Not reported (2)/ No reportado (2)	Flower color (2)/ Color de las flores (2)
China	35	Gamma rays (30), not reported (5)/ Rayos gamma (30), no reportado (5)	1984 (6), 1985 (2), 1986 (10), 1987 (1), 1989 (5), 1990 (11)	Buds (14), buds and seeds (2), seeds (2), graft (2), branch (4), not reported (1)/ Yemas (14), yemas y semillas (2), semillas (2), injerto (2), estacas (4), no reportado (1)	Leaves and flowers (4), agronomic and botanical traits (24), resistance to pests and diseases (3), not reported (4)/ Hojas y flores (4), características agronómicas y botánicas (24), resistencia a plagas y enfermedades (3), no reportado (4)
Slovakia/ Eslovaquia	1	Gamma rays (1)/ Rayos gamma (1)	1964 (1)	Seeds (1)/ Semillas (1)	Flower color (1)/ Color de las flores (1)
United States/ Estados Unidos	2	Gamma rays (2)/ Rayos gamma (2)	1960 (2)	Shoots (2)/ Brotos (2)	Flower color (2)/ Color de las flores (2)
India	15	Gamma rays (14), EMS chemical mutagen (1)/ Rayos gamma (14), mutágeno químico EMS (1)	1975 (5), 1983 (6), 1986 (3), 1989 (1)	Shoots (14), not reported (1)/ Brotos (14), no reportado (1)	Flower color (15)/ Color de las flores (15)
Japan/ Japón	8	Gamma rays (5), chemical mutagen (3)/ Rayos gamma (5), mutágeno químico (3)	1985 (1), 1990 (3), 1995 (1), 2000 (2), 2001 (1)	Not reported (8)/ No reportado (8)	Flower color (5), flower color and shape (2), leaf size (1)/ Color de las flores (5), color y forma de las flores (2), tamaño de hojas (1)

¹The quantity in brackets indicates the number of varieties released.

¹La cantidad entre paréntesis indica el número de variedades liberadas.

Table 5. Origin, method, material used and number of Dahlia varieties registered in the joint Food and Agriculture Organization of the United Nations/International Atomic Energy Agency database (FAO/IAEA, 2017).

Cuadro 5. Origen, método, material empleado y número de variedades de Dahlia registradas en la base de datos de la agencia conjunta de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, y la Agencia Internacional de Energía Atómica (FAO/IAEA, 2017).

Country/ País	Varieties/ Variedades	Method used/ Método empleado	Year/ Año	Material used/ Material empleado	Improved traits/ Características mejoradas
China	2	Gamma rays (2 ¹)/ Rayos gamma (2 ¹)	1989 (2)	Not reported (2)/ No reportado (2)	Agronomic and botanical traits (2)/ Características agronómicas y botánicas (2)
France/ Francia	5	Gamma rays (5)/ Rayos gamma (5)	1970 (5)	Tubers (5)/ Tubérculos (5)	Flower color (5)/ Color de las flores (5)
India	10	Gamma rays (10)/ Rayos gamma (10)	1978 (10)	Tubers (5)/ Tubérculos (5)	Plant architecture and flower color (5)/ Arquitectura de la planta y color de las flores (5)
Netherlands/ Países Bajos	18	X-rays (18)/ Rayos X (18)	1966 (4), 1967 (5), 1968 (3), 1969 (1), 1970 (1), 1971 (1), 1972 (3)	Tubers (13), not reported (5)/ Tubérculos (13), no reportado (5)	Flower color (16), plant architecture and flower color (1), flower size (1)/ Color de las flores (16), arquitectura de la planta y color de las flores (1), tamaño de las flores (1)

¹The quantity in brackets indicates the number of varieties released.

¹La cantidad entre paréntesis indica el número de variedades liberadas.

Table 6. Origin, method, material used and number of *Alstroemeria* varieties registered in the joint Food and Agriculture Organization of the United Nations/International Atomic Energy Agency database (FAO/IAEA, 2017).**Cuadro 6. Origen, método, material empleado y número de variedades de *Alstroemeria* registradas en la base de datos de la agencia conjunta de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, y la Agencia Internacional de Energía Atómica (FAO/IAEA, 2017).**

Country/ País	Varieties/ Variedades	Method used/ Método empleado	Year/ Año	Material used/ Material empleado	Improved traits/ Características mejoradas
Germany/ Alemania	11	Gamma rays (11 ¹)/ Rayos gamma (11 ¹)	1979 (1), 1981 (5), 1989 (5)	Not reported (11)/ No reportado (11)	Flower color, early flowering and longer post- harvest life (11) / Color de las flores, floración temprana y mayor vida postcosecha (11)
Netherlands/ Países Bajos	24	X-rays (23) and gamma rays (1)/ Rayos X (23) y gamma (1)	1970 (2), 1971 (1), 1972 (2), 1973 (1), 1975 (2), 1977 (6), 1978 (1), 1979 (4), 1980 (1), 1983 (2), 1984 (2)	Rhizomes (7), stolons (1), not reported (16)/ Rizomas (7), estolones (1), no reportado (16)	Flower color (22), plant architecture and flower size (1), early flowering (1)/ Color de las flores (22), arquitectura de la planta y tamaño de las flores (1), floración temprana (1)

¹La cantidad entre paréntesis indica el número de variedades liberadas.

¹The quantity in brackets indicates the number of varieties released.

2017, 12 mutant varieties had been reported in this country (De, 2017). The great aesthetic and economic importance of this genus has encouraged plant breeders to continue with the development of new cultivars to this day. In Egypt, Abou et al. (2017) found that with doses of 100 or 120 KR of ⁶⁰Co gamma rays in *Eustoma gradiflorum* the senescence of the flowers is delayed six days and the number of petals per flower is increased, in addition to generating a wide range of colors in the flowers.

These studies, carried out in other countries, have demonstrated that mutation induction is an efficient method in the generation of ornamental and commercial plant varieties from germplasm native to Mexico. However, there are few reported studies on genetic improvement by mutagenesis in Mexico.

Use of mutagenesis in Mexico

The induction of variability by mutagenesis in ornamental plants in Mexico began in the last century. In orchids, roses and daisies, it was possible to increase the number of flowers, vase life and production of marbled petals, respectively. Additionally, researchers from the National Institute of Nuclear Research increased the genetic variability of two Mexican species: *Mammillaria sanangelensis*, a plant considered in danger of extinction, and *Sprekelia formosissima*, where they increased the vigor of their root system (González-Jiménez, 2004), while in *Tigridia pavonia*, with ⁶⁰Co gamma radiation at doses between 15 and 25 Gy, three mutants were induced in the color hue of the flowers (Díaz-López et al., 2003).

Plantas ornamentales nativas de México mejoradas por mutagénesis en otros países

México es un país que cuenta con una amplia diversidad de plantas ornamentales. El germoplasma nativo de géneros como *Dahlia*, *Eustoma*, *Helianthus*, *Polianthes*, entre otros, ha sido utilizado en el extranjero para generar diversas variedades de plantas mutantes. En girasol (*Helianthus annuus*), investigadores de Bulgaria desarrollaron 569 formas mutantes al tratar semillas con rayos gamma ⁶⁰Co y ¹³⁷Cs (Encheva et al., 2014), y en la FAO/IAEA registraron la variedad Rada en 2006, generada con 8 Gy de rayos gamma ¹³⁷Cs, y la variedad Madan en 2008, generada con 120 Gy de rayos gamma ⁶⁰Co (FAO/IAEA, 2017). En nardo (*Polianthes tuberosa*), los trabajos de mejoramiento genético desarrollados en Irán generaron formas mutantes para la longitud y el peso de las flores a partir de la irradiación de bulbos maduros con 10 Gy de rayos gamma ⁶⁰Co (Navabi, Norouzi, Arab, & Daylami, 2016). En la India, se generaron mutantes de flores con cuatro, cinco, siete, ocho y once tépalos por flor (Kayalvizhi et al., 2017), así como dos variedades con variegado en las hojas (Datta, 2009).

En dalia (*Dahlia*), el uso de la mutagénesis inició a partir de la década de los sesenta, y desde esta fecha hasta principios de la década de los setenta, en los Países Bajos se registraron 18 variedades en la FAO/IAEA y se desarrollaron numerosas formas mutantes para el color y la forma de las flores (Broertjes & Ballego, 1967). En la India, Dube, Das, Dey, y Bid (1980) seleccionaron 19 mutantes con cambios en el color de la flor de dalia, y hasta 2017 se reportaron 12 variedades mutantes en este país (De, 2017). La gran importancia

In tuberose (*P. tuberosa*) tubers, grown *in vitro* with doses of 5 and 10 Gy, seedlings increased their height and the LD₅₀ was determined at 9 Gy. On the other hand, tubers established *in vivo* showed differences in leaf length and width, and the LD₅₀ was determined at 25 Gy (Estrada-Basaldúa et al., 2011).

Canul-Ku et al. (2012) irradiated wild poinsettia (*E. pulcherrima*) seeds with ⁶⁰Co gamma rays and observed a reduction in plant size, an important trait for generating varieties in this species, as well as an increase in seed size. Castillo-Martínez et al. (2015) used 200 Gy of ⁶⁰Co gamma rays in chrysanthemum (*Dendranthema grandiflora*) and obtained a dwarf mutant. Díaz-López et al. (2017) evaluated the effect of ⁶⁰Co gamma radiation on the germination of sunflower (*H. annuus*) seeds; with 35 Gy they obtained a lower germination percentage (72 %), and as this was the highest dose they did not determine the LD₅₀ and concluded that it is necessary to increase the irradiation dose to 1 KGy.

Hernández-Muñoz et al. (2017a) assessed the effect of ⁶⁰Co gamma radiation on asymptotic germination of orchid (*Laelia autumnalis*) seeds and found that 3 Gy stimulated germination and formed complete promeristems, leaves and seedlings, 20, 20 and 10 days earlier than in the control treatment, respectively. In this same species, when irradiating protocorms, it was found that ⁶⁰Co gamma radiation at doses between 20 and 30 Gy stimulated chlorophyll formation in the protocorms; in addition, seedling length increased 32 % with the 5 Gy dose. The LD₅₀ for protocorm survival and the mean reductive dose for leaf formation were determined with 53 and 28 Gy, respectively (Hernández-Muñoz et al., 2017b).

Conclusions

The use of ⁶⁰Co gamma radiation in the generation of new ornamental plant varieties is an important and widely used tool in various ornamental crops of economic importance. This technique is an effective option to meet the growing demand for promising new varieties for the floriculture industry in Mexico.

End of English version

References / Referencias

- Abdullah, T. L., Endan, J., & Mohd-Nazir, B. (2009). Changes in flower development, chlorophyll mutation and alteration in plant morphology of *Curcuma alismatifolia* by gamma irradiation. *American Journal of Applied Sciences*, 6(7), 1436-1439. doi: 10.3844/ajassp.2009.1436.1439
- Abou-Dahab, A. M., Heikal, A. M., Taha, L. S., Ahmed, M. M., Metwally, S. A., & Ali, A. R. (2017). *In vitro* mutagenesis

estética y económica de este género ha estimulado a los fitomejoradores a continuar con el desarrollo de nuevos cultivares hasta la actualidad. En Egipto, Abou et al. (2017) encontraron que con dosis de 100 o 120 KR de rayos gamma ⁶⁰Co en *Eustoma gradiflorum* se retrasa la senescencia de las flores seis días y se incrementa el número de pétalos por flor, además de generar una amplia gama de colores en las flores.

Estas investigaciones, desarrolladas en otros países, han demostrado que la inducción de mutaciones es un método eficiente en la generación de variedades de plantas ornamentales y comerciales a partir de germoplasma nativo de México. Sin embargo, en México son escasos los trabajos reportados sobre mejoramiento genético por mutagénesis.

Uso de la mutagénesis en México

La inducción de variabilidad por mutagénesis en plantas de ornato en México inició en el siglo pasado. En orquídea, rosa y margarita, se logró aumentar el número de flores, la vida de florero y la producción de pétalos jaspeados, respectivamente. Adicionalmente, investigadores del Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares incrementaron la variabilidad genética de dos especies mexicanas: *Mammillaria sanangelensis*, planta considerada en peligro de extinción, y *Sprekelia formosissima*, donde incrementaron el vigor de su sistema radicular (González-Jiménez, 2004), mientras que en *Tigridia pavonia*, con radiación gamma ⁶⁰Co a dosis entre 15 y 25 Gy, se indujeron tres mutantes en la tonalidad del color de las flores (Díaz-López et al., 2003).

En tubérculos de nardo (*P. tuberosa*), cultivados *in vitro* con las dosis de 5 y 10 Gy, las plántulas incrementaron su altura y la DL₅₀ se determinó en 9 Gy. Por su parte, los tubérculos establecidos *in vivo* presentaron diferencias en el largo y ancho de las hojas, y la DL₅₀ se determinó en 25 Gy (Estrada-Basaldúa et al., 2011).

Canul-Ku et al. (2012) irradiaron semillas de nochebuena silvestre (*E. pulcherrima*) con rayos gamma ⁶⁰Co y observaron una reducción del porte de la planta, característica importante para generar variedades en esta especie, además de un incremento en el tamaño de la semilla. Castillo-Martínez et al. (2015) usaron 200 Gy de rayos gamma ⁶⁰Co en crisantemo (*Dendranthema grandiflora*) y obtuvieron un mutante enano. Díaz-López et al. (2017) evaluaron el efecto de la radiación gamma ⁶⁰Co sobre la germinación de semillas de girasol (*H. annuus*); con 35 Gy obtuvieron menor porcentaje de germinación (72 %), y como esta fue la dosis más alta no determinaron la DL₅₀ y concluyeron que es necesario incrementar la dosis de irradiación a 1 KGy.

Hernández-Muñoz et al. (2017a) evaluaron el efecto de la radiación gamma ⁶⁰Co sobre la germinación

- induction in *Eustoma grandiflorum* plant using gamma radiation. *Journal of Environmental Science and Technology*, 10(4), 175-185. doi: 10.3923/jest.2017.175.185
- Abraham, A., & Ninan, C. A. (1968). Genetic improvement of the coconut palm: Some problems and possibilities. *Indian Journal of Genetics and Plant Breeding*, 28, 142-153.
- Aida, R., Ohmiya, A., & Onozaki, T. (2018). Current researches in ornamental plant breeding. *Breeding science*, 68(1), 1. doi: 10.1270/jsbbs.68.1
- Al-Safadi, B., Ayyoubi, Z., & Jawdat, D. (2000). The effect of gamma irradiation on potato microtuber production *in vitro*. *Plant cell, tissue and organ culture*, 61(3), 183-187. doi: 10.1023/A:1006477224536
- Barakat, M. N., & El-Sammak, H. (2011). *In vitro* mutagenesis, plant regeneration and characterization of mutants via RAPD analysis in Baby's breath *Gypsophila paniculata* L. *Australian Journal of Crop Science*, 5(2), 214-222. Retrieved from http://www.cropj.com/barakat_5_2_2011_214_222.pdf
- Bhat, I. A., Pandit, U. J., Sheikh, I. A., & Hassan, Z. U. (2016). Physical and chemical mutagenesis in *Linum usitatissimum* L. to induce variability in seed germination, survival and growth rate traits. *Current Botany*, 7, 28-32. doi: 10.19071/cb.2016.v7.3054
- Brar, D. S., & Jain, S. M. (1998). Somaclonal variation: Mechanism and applications in crop improvement. In: Jain, S. M., Brar, D. S., & Ahloowalia, B. S. (Eds.), *Somaclonal variation and induced mutations in crop improvement*. (pp. 15-37). Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. doi: 10.1007/978-94-015-9125-6_2
- Broertjes, C., & Ballego, J. M. (1967). Mutation breeding of *Dahlia variabilis*. *Euphytica*, 16(2), 171-176. doi: 10.1007/BF00043451
- Canul-Ku, J., García-Pérez, F., Campos-Bravo, E., Barrios-Gómez, E. J., de la Cruz-Torres, E., García-Andrade, J. M., Osuna-Canizalez, F. J., & Ramírez-Rojas, S. (2012). Efecto de la irradiación sobre nochebuena silvestre (*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch) en Morelos. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 3(8), 1495-1507. Retrieved from <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=263124770002>
- Castillo-Martínez, C. R., de la Cruz-Torrez, E., Carrillo-Castañeda, G., & Avendaño-Arrazate, C. H. (2015). Inducción de mutaciones en crisantemo (*Dendranthema grandiflora*) usando radiación gamma y etil metano sulfonato. *Agroproductividad*, 8(2), 60-64. Retrieved from <http://132.248.9.34/hevila/Agroproductividad/2015/vol8/no2/9.pdf>
- Chakravarty, B., & Sen, S. (2001). Enhancement of regeneration potential and variability by λ -irradiation in cultured cells of *Scilla indica*. *Biologia plantarum*, 44(2), 189-193. doi: 10.1023/A:1010282805522
- Chopra, V. L. (2005). Mutagenesis: Investigating the process and processing the outcome for crop improvement. *Current Science* 89(2), 353-359. Retrieved from <http://www.jstor.org/stable/24110583>
- Datta, S. K. (2009). A report on 36 years of practical work on crop improvement through induced mutagenesis. In: asimbiótica de semillas de orquídea (*Laelia autumnalis*) y encontraron que con 3 Gy se estimula la germinación y se forman promeristemos, hojas y plántulas completas, 20, 20 y 10 días antes que en el tratamiento control, respectivamente. En esta misma especie, al irradiar protocormos, se encontró que la radiación gamma ^{60}Co a dosis entre 20 y 30 Gy estimuló la formación de clorofila en los protocormos; además, la longitud de plántulas incrementó 32 % con la dosis de 5 Gy. La DL_{50} para la supervivencia de protocormos y la dosis reductiva media para formación de hojas se determinaron con 53 y 28 Gy, respectivamente (Hernández-Muñoz et al., 2017b).

Conclusiones

El uso de radiación gamma ^{60}Co en la generación de nuevas variedades de plantas ornamentales es una herramienta importante y ampliamente utilizada en diversos cultivos ornamentales de importancia económica. Esta técnica es una opción eficaz para satisfacer la creciente demanda de nuevas y prometedoras variedades para la industria florícola en México.

Fin de la versión en español

Shu, Q. Y. (Ed.), *Induced plant mutations in the genomics* (pp: 253-256). Rome, Italy: Food and Agriculture Organization of the United Nations.

- Datta, S. K., & Teixeira-da Silva, J. A. (2006). Role of induced mutagenesis for development of new flower colour and type in ornamentals. In: Teixeira-da Silva, J. A. (Ed.), *Floriculture, ornamentals and plant biotechnology: Advances and topical issues. Mutations and mutagénesis* (pp. 640-645). Isleworth, UK: Global Science Books Ltd.
- De, L. C. (2017). Improvement of ornamental plants - a review. *International Journal of Horticulture*, 7(22), 180-204. doi: 10.5376/ijh.2017.07.0022
- Deshpande, K. N., Mehete, S. S., & Pingle, S. D. (2010). Effect of different mutagens for induction of mutations in mulberry. *Asian Journal of Experimental Biological Sciences*, 1(2), 104-108. Retrieved from <https://www.ajeb.com/special/SP-21.pdf>
- Dhaliwal, A. K., Mohan, A., Sidhu, G., Maqbool, R., & Gill, K. S. (2015). An ethylmethane sulfonate mutant resource in pre-green revolution hexaploid wheat. *PLoS one*, 10(12), 1-15. doi: 10.1371/journal.pone.0145227
- Díaz-López, E., Morales-Ruíz, A., Olivar-Hernández, A., Hernández-Herrera, P., Juárez-Cortes, J. A., León-de la Rocha, J. F. ... & Loeza-Corte, J. M. (2017). Gamma irradiation effect of ^{60}Co on the germination of two subtropical species in the Tehuacán-Cuicatlán Valley. *International Journal of Advanced Engineering Research and Science*, 4(8), 56-61. doi: 10.22161/ijaers.4.8.10
- Díaz-López, E., Pichardo-Riego, J., de la Cruz, T. E., Norman, M. T., Sandoval-Romero, F., & Vázquez-García, L. (2003). Variabilidad inducida en *Tigridia pavonia* (L. f.) D.C. var. Sandra por irradiación de bulbos con rayos

- mutations induced by gamma irradiation in rice. *Genes & genetic systems*, 84(5), 361-370. doi: 10.1266/ggs.84.361
- Nakatsuka, T., Nishihara, M., Mishiba, K., & Yamamura, S. (2005). Two different mutations are involved in the formation of white-flowered gentian plants. *Plant Science*, 169(5), 949-958. doi: 10.1016/j.plantsci.2005.06.013
- Navabi, Y., Norouzi, M., Arab, M., & Daylami, S. D. (2016). Mutagenesis via exposure to gamma-rays in tuberose (*Polianthes Tuberosa*). *Electronic Journal of Biology*. 12(2), 168-172. Retrieved from <http://ejbio.imedpub.com/mutagenesis-via-exposure-to-gammarays-in-tuberosepolianthes-tuberosa.pdf>
- Pacher, M., & Puchta, H. (2017). From classical mutagenesis to nuclease-based breeding-directing natural DNA repair for a natural end-product. *The Plant Journal*, 90(4), 819-833. doi: 10.1111/tpj.13469
- Qadeer, M., Hafiz, I. A., Abbasi, N. A., & Ahmad, T. (2015). Evaluating and validating the protocol for gamma radiation induced mutations in floral distinct rosa spp. *Pakistan Journal of Botany*, 47(5), 1847-1854. Retrieved from https://inis.iaea.org/search/search.aspx?orig_q=RN:47020626
- Ramesh, H. L., Murthy, V. N., & Munirajappa (2013). Gamma ray induced radio sensitivity in three different mulberry (*Morus*) genotypes. *American Journal of Plant Sciences*, 4(7), 1351-1358. doi: 10.4236/ajps.2013.47165
- Roldán-Arjona, T., & Ariza, R. R. (2009). Repair and tolerance of oxidative DNA damage in plants. *Mutation Research/ Reviews in Mutation Research*, 681(2), 169-179. doi: 10.1016/j.mrrev.2008.07.003
- Sarmah, D., Kolukunde, S., Sutradhar, M., Singh, B. K., Mandal, T., & Mandal, N. (2017). A review on: In vitro cloning of orchids. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(9), 1909-1927. doi: 10.20546/ijcmas.2017.609.235
- Shikazono, N., Yokota, Y., Kitamura, S., Suzuki, C., Watanabe, H., Tano, S., & Tanaka, A. (2003). Mutation rate and novel tt mutants of *Arabidopsis thaliana* induced by carbon ions. *Genetics*, 163(4), 1449-1455. Retrieved from <http://www.genetics.org/content/163/4/1449>
- Singh, H. P. (2017). Landscape gardening for ecological and aesthetic gains. In: Malhotra, S. K., & Ram, L. (Eds.), *Floriculture and landscape gardening* (pp. 1-10). India: Central Institute of Horticulture.
- Stadler, L. J. (1928a). Genetic effects of X-rays in maize. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 14(1), 69-75. doi: 10.1073/pnas.14.1.69
- Stadler, L. J. (1928b). Mutations in barley induced by X-rays and radium. *Science*, 68(1756), 186-187. doi: 10.1126/science.68.1756.186
- Taheri, S., Abdullah, T. L., Ahmad, Z., & Abdullah, N. A. (2014). Effect of acute gamma irradiation on *Curcuma alismatifolia* varieties and detection of DNA polymorphism through SSR Marker. *BioMed research international*, 2(2), 55-59. doi: 10.1155/2014/631813
- Tangpong, P., Taychasinpitak, T., Jompuk, C., & Jompuk, P. (2009). Effects of acute and chronic gamma irradiations on *in vitro* culture of *Anubias congensis* NE Brown. *Kasetsart Journal*, 43(3), 449-457. Retrieved from http://kasetsartjournal.ku.ac.th/kuj_files/2009/a0908210950286875.pdf
- Urrea, A. I., & Ceballos, S. M. (2005). Empleo de las radiaciones gamma en la inducción de variabilidad genética en *Heliconia psittacorum*. *Actual Biology*, 27(82), 17-23. Retrieved from <https://aprendeenlinea.udea.edu.co/revistas/index.php/actbio/article/view/329425>
- Wi, S. G., Chung, B. Y., Kim, J. H., Baek, M. H., Yang, D. H., Lee, J. W., & Kim, J. S. (2005). Ultrastructural changes of cell organelles in *Arabidopsis* stems after gamma irradiation. *Journal of Plant Biology*, 48(2), 195-200. doi: 10.1007/BF03030408
- Yamaguchi, H. (2018). Mutation breeding of ornamental plants using ion beams. *Breeding science*, 68(1), 71-78. doi: 10.1270/jsbbs.17086
- Yamaguchi, H., Shimizu, A., Degi, K., & Morishita, T. (2008). Effects of dose and dose rate of gamma ray irradiation on mutation induction and nuclear DNA content in chrysanthemum. *Breeding Science*, 58(3), 331-335. doi: 10.1270/jsbbs.58.331

