

Efecto de la irradiación sobre nochebuena silvestre (*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch) en Morelos*

Effect of irradiation on wild poinsettia (*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch) in Morelos

Jaime Canul-Ku^{1§}, Faustino García-Pérez¹, Elio Campos-Bravo², Edwin Javier Barrios-Gómez¹, Eulogio De La Cruz-Torres³, Juan Manuel García-Andrade³, Felipe de Jesús Osuna-Canizalez¹ y Sergio Ramírez-Rojas¹

¹Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Campo Experimental Zacatepec. Carretera Zacatepec-Galeana, km 0.5. Zacatepec, Morelos, C. P. 62780. Tel. 017343430230. Ext. 118, 104, 121, 128 y 108. (garcia.f Faustino@inifap.gob.mx), (barrios.edwin@inifap.gob.mx), (osuna.felipe@inifap.gob.mx), (ramirez.sergio@inifap.gob.mx). ²Posgrado en Ciencias Agropecuarias y Desarrollo Rural, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Tel. 017774174949. (agrocam_2006@hotmail.com). ³Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares. Tel. 5553297200. (Eulogio.delacruz@inin.gob.mx), (jmanuel.garcia@inin.gob.mx). [§]Autor para correspondencia: canul.jaime@inifap.gob.mx.

Resumen

En México, no hay información sobre efectos que causa la irradiación en nochebuena (*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch), por tanto existe la necesidad de generarla. En este estudio se evaluó el efecto de irradiación con rayos gamma sobre características de planta y semilla de nochebuena y se determinó la mejor dosis. En 2010, semillas colectadas en Texcal, Morelos fueron tratadas con rayos gamma en intervalos de 25 Gray, desde 50 hasta 275, más el testigo. Estas fueron germinadas en charolas con sustrato Sunshine[®] No. 3 en Campo Experimental, Zacatepec, Morelos. Plántulas con cuatro hojas verdaderas se trasplantaron a macetas de 16 L con sustrato 60-20-20 v/v ocochal, suelo aluvial y fibra de coco. Se establecieron en un diseño de bloques al azar con 10 repeticiones. Se registró porcentaje de emergencia, altura de hipocotilo, altura de planta, diámetro de ciatio; longitud y ancho de bráctea, longitud de peciolo de bráctea, longitud de pedúnculo de inflorescencia; largo, ancho y peso de 100 semillas. Para el análisis estadístico se realizó un análisis de varianza y comparación de medias. Se detectaron diferencias estadísticas significativas. La dosis de 150 Gy redujo la altura de planta. El diámetro de ciatio, longitud de pedúnculo de

Abstract

In Mexico, there is no information on the effects that irradiation causes on poinsettia (*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch) therefore there is a need to generate it. This study evaluated the effect of gamma irradiation on plant characteristics and poinsettia seed and determined the best dose. In 2010, seeds collected in Texcal, Morelos were treated with gamma rays at intervals of 25 Gray, from 50 to 275, plus control. These were germinated in trays with substrate Sunshine[®] No. 3 in the Experimental field, Zacatepec, Morelos. Seedlings with four true leaves were transplanted to pots of 16 L with substrate 60-20-20 v / v ocochal, alluvial soil and coconut fiber. It was established in a randomized block design with 10 replications. It was registered emergence percentage, hypocotyl height, plant height, cyathium diameter; length and width of bract, petiole length of bract, inflorescence peduncle length; length, width and weight of 100 seeds. For the Statistical analysis was performed an analysis of variance and mean comparison. Statistically significant differences were detected. The dose of 150 Gy reduced plant height. Cyathium diameter, peduncle length of

inflorescencia, largo y ancho de semilla fue mayor con 250 Gy. Se obtuvo mayor anchura de bráctea y peso de 100 semillas con 175 y 225 Gy, respectivamente. La mejor respuesta de la planta se logró aplicando 250 Gray. La irradiación promovió variación genética que puede ser utilizada en programas de mejoramiento genético en nochebuena.

Palabras clave: bráctea, dosis, mutagénesis, semilla.

Introducción

La nochebuena se encuentra en estado silvestre en áreas geográficas bien definidas de México, desde cero metros hasta aproximadamente 2 000 m (Steinmann, 2002). El país es considerado centro de origen de la especie, en espacios geográficos como la barranca "El Salto del Niño", Tehuilotepec, perteneciente al municipio de Taxco de Alarcón, Guerrero (Lee, 2000), la reserva ecológica el Texcal, ubicado en el municipio de Jiutepec, Morelos (Pagaza y Fernández, 2004) y en Cerro Alto, de la localidad de Tecuitata, municipio de San Blas, Nayarit. La nochebuena en su sitio de origen evoluciona de manera natural y responde ante las condiciones ambientales cambiantes (Qualset *et al.*, 1997).

La nochebuena es una planta que pertenece a la familia Euphorbiaceae y al género *Euphorbia*. El género es bastante grande e incluye muchas especies, aproximadamente 2 000 (Steinmann, 2002). La especie *E. pulcherrima* se caracteriza por tener solamente una flor femenina sin pétalos ni sépalos, rodeada por flores masculinas individuales que están contenidas en una estructura denominada ciatio, y es común que una o más glándulas surjan a su alrededor (Ecke *et al.*, 2004). Es un arbusto que mide entre 3 y 5 metros de altura, es una planta caducifolia, sus hojas son simples, dispuestas de manera alterna, de forma ovada a elíptica. La parte estructural más importante son las brácteas de tamaños diferentes, formas, colores, y rodean a las flores. Es una planta con diferente nivel de ploidía, pero la condición diploide ($2n=28$) es la más común, aunque también existen ejemplares triploides o tetraploides (Mejía y Espinosa, 2003).

La evolución de los organismos vivos, como el de las plantas, está controlada por fuerzas evolutivas que son la mutación, migración, deriva génica, la recombinación a través de hibridación y la selección natural (Sigurbjornsson, 1983; Atak *et al.*, 2004). El cambio genético que ocurre en las plantas, a través de la mutación, por lo general es aleatorio, puntual

inflorescence, length and width of seed was higher with 250 Gy. It gained higher bract width and weight of 100 seeds with 175 and 225 Gy, respectively. The best plant response was achieved by applying 250 Gray. Irradiation promoted genetic variation that can be used in genetic breeding programs on poinsettia.

Key words: bract, doses, mutagenesis, seed.

Introduction

The poinsettia is found wild in distinct geographical areas of Mexico, from zero meters to about 2000 m (Steinmann, 2002). The country is considered the center of origin of the specie, in geographical areas like Canyon "El Salto del Niño" Tehuilotepec, in the municipality of Taxco de Alarcon, Guerrero (Lee, 2000), the Texcal Ecological Reserve, located in the Jiutepec, Morelos (Pagaza and Fernández, 2004) and in Cerro Alto, of the town from Tecuitata, municipality of San Blas, Nayarit. Poinsettia from its origin site naturally evolves and responds to changing environmental conditions (Qualset *et al.*, 1997).

The poinsettia is a plant belonging to the family Euphorbiaceae, genus *Euphorbia*. The genus is quite large and includes many species, approximately 2 000 (Steinmann, 2002). The species *E. pulcherrima* is characterized by having only a female flower without petals or sepals, surrounded by individual male flowers that are contained in a structure called cyathium, and it is common for one or more glands arise around (Ecke *et al.*, 2004). It is a shrub that is between 3 and 5 meters high, is a deciduous plant, its leaves are simple, alternately arranged and ovate to elliptic form. The most important structural part is the bract of different sizes, shapes, colors, and surrounds the flowers. A plant with different ploidy level, but the diploid condition ($2n=28$) is the most common, but there are triploid or tetraploid plants (Mejía and Espinosa, 2003).

The evolution of living organisms, such as plants, is controlled by evolutionary forces that are mutation, migration, genetic drift, recombination through hybridization and natural selection (Sigurbjornsson, 1983; Atak *et al.*, 2004). The genetic change occurring in plants through mutation, is generally random, precise and often detrimental, but it is likely that this change is positive

y muchas veces perjudicial, pero existe la probabilidad de que ese cambio sea favorable y mejore las características fenotípicas y la capacidad de la planta para crecer, desarrollar y reproducirse en ambientes distintos y contrastantes.

La mutación ocurre de forma natural a muy bajas frecuencias y de manera espontánea, pero puede ser inducido a través de un número de agentes, tanto químicos como físicos, llamados mutágenos. Los de tipo químico son etil metanosulfonato, sulfato de dimetilo y sulfato de dietilo (Maluszynsky *et al.*, 2009); por otro lado, los de tipo físico pueden ser rayos x, gamma (Jain, 2006; Yamaguchi, 2008), ultravioleta (Ahloowalia y Maluszynski, 2001) e iones de carbono (Wu *et al.*, 2009; Matsumura *et al.*, 2010). La mutación en plantas ornamentales representa una herramienta poderosa, no solamente para esclarecer mecanismos fisiológicos en el funcionamiento de las plantas (Honda *et al.*, 2006), sino también para obtener nuevas variantes morfológicas de utilidad para la industria florícola.

La mutación inducida por medio de la radiación, representa una de las principales fuentes de variación, para la creación de nuevas variedades mejoradas o para generar genotipos que pueden ser usados como progenitores en programas de mejoramiento, al producir nuevas combinaciones genéticas o incrementar la variabilidad en una población (Rangaiah, 2006). Su uso en la mejora genética y producción agrícola fue desde inicios del siglo pasado con excelentes resultados, en cultivos como maíz, trigo, cebada, algodón y frijol (Ahloowalia y Maluszynski, 2001; Chopra, 2005).

La mutagénesis, es uno de los métodos de mejoramiento genético que ha funcionado en especies ornamentales cultivadas, como el crisantemo (*Crhyanthemum* spp.) (Yamaguchi, 2008 y 2010), dalia (*Dahlia* spp.), rosa (*Rosa* spp.), y clavel (*Dianthus* spp.) y que han dado resultados satisfactorios (Ahloowalia y Maluszynski, 2001; Chopra, 2005).

El mejoramiento genético por mutación se aplica para modificar pocos caracteres y en la población de nochebuena silvestre existen ejemplares con características que cumplen las exigencias del mercado y solamente falta reducir el porte de la misma; es decir, el objetivo es modificar el carácter de interés. Puesto que el efecto de la mutación en plantas ornamentales es muy visible, la selección es hacia color de flor fuera de lo común, a formas y tamaños variables y casi todo lo nuevo que surge, tiene valor estético y comercial (Ahloowalia y Maluszynski, 2001). En plantas cultivadas

and improve phenotypic characteristics and the ability of the plant to grow, develop and reproduce in different and contrasting environments.

The mutation occurs naturally at very low frequency and spontaneously, but can be induced by a number of agents, both chemical and physical, called mutagens. The chemical type are ethyl methanesulfonate, dimethyl sulfate and diethyl sulfate (Maluszynsky *et al.*, 2009); on the other hand, the physical type can be x-rays, gamma (Jain, 2006; Yamaguchi, 2008), ultraviolet (Ahloowalia and Maluszynski, 2001) and carbon ions (Wu *et al.*, 2009; Matsumura *et al.*, 2010). Mutation in ornamental plants represents a powerful tool, not only to establish the physiological mechanisms in the functioning of plants (Honda *et al.*, 2006), but also to get new morphological variants useful in the flower industry.

Induced mutation by radiation represents one of the major sources of variation to create new or improved varieties or to generate genotypes that can be used as parents in breeding programs by producing new genetic combinations or increase the variability in a population (Rangaiah, 2006). Its use in breeding and agricultural production was from early last century with excellent results, in crops such as corn, wheat, barley, cotton and beans (Ahloowalia and Maluszynski, 2001; Chopra, 2005).

Mutagenesis is one of the breeding methods that worked in cultivated ornamental species such as chrysanthemum (*Crhyanthemum* spp.) (Yamaguchi, 2008 and 2010), dahlia (*Dahlia* spp.), rose (*Rosa* spp.), and carnation (*Dianthus* spp.) and the results have been satisfactory (Ahloowalia and Maluszynski, 2001; Chopra, 2005).

Genetic improvement by mutation is applied to modify a few characters and in wild poinsettia population's there are species with characteristics that meet the demands of the market and it only needs to reduce the size of it, that is, the objective is to modify the character of interest. Since the effect of the mutation on ornamental plants is very visible, the selection is towards to unusual flower color, in varying shapes and sizes and almost everything new that comes, has aesthetic and commercial value (Ahloowalia and Maluszynski, 2001). In grown plants, the mutant characteristics that have been commonly exploited are: precocity, growth reduction and plant height, lodging and disease resistance, high yield and best quality (Szarejko and Forster, 2007).

las características mutantes que han sido comúnmente explotados son: precocidad, reducción en crecimiento y altura de planta, resistencia al acame y a enfermedades, rendimiento alto y mejor calidad (Szarejko y Forster, 2007).

La nochebuena es una especie ornamental muy demandada en la temporada navideña. En México, la producción fue de 20 millones de planta terminada en 2011 y generó ingresos por 700 millones de pesos. Los principales estados productores fueron: Morelos, Puebla, Michoacán y Distrito Federal. Su producción genera tres mil empleos directos y nueve mil indirectos. El mercado es dinámico, cada año el consumidor demanda nuevos productos y en presentaciones diferentes, a veces no es posible satisfacerlo, por lo que existe la necesidad de utilizar varias metodologías de mejoramiento, como el uso de la irradiación, para obtener nuevas variantes y satisfacer las necesidades del consumidor(a).

En la actualidad, las variedades comerciales que se cultivan en México provienen del extranjero, no están adaptadas a las condiciones ambientales del país, además, el costo de producción es alto por el pago de regalías. El genoma de las variedades comerciales de nochebuena es de origen mexicano, la cual está presente en las poblaciones silvestres y semicultivadas. Del total de la diversidad genética solamente una mínima parte está presente en las variedades comerciales y la mayor proporción no se ha utilizado para estos fines. También existe la necesidad de parte de los productores de contar con variedades generadas en el país y la mutagénesis es un método útil en mejoramiento genético para producir cambios heredables (López-Mendoza *et al.*, 2012).

Por otra parte, en México no hay información sobre los efectos que causa la irradiación en nochebuena silvestre, por lo que existe la necesidad de generarla. La información obtenida será de gran valor para realizar trabajos posteriores, con la finalidad de generar nuevos cultivares. Aún más, analizando la base de datos de la FAO, en México todavía no se liberan variedades de nochebuena aplicando el método de mutagénesis (Maluszynski *et al.*, 2000). Bajo estas condiciones, se debe sentar las bases para aplicar radiación a los genotipos élite o poblaciones de ésta especie. Dado que se requiere posicionar al productor en un mercado globalizado será necesario generar nuevos genotipos con valor estético y convencer al consumidor.

Bajo este contexto, existe un potencial enorme que es posible utilizarlo para crear nuevos arreglos en el genoma y generar nuevos genotipos, con las características fenotípicas

Poinsettia is ornamental specie highly demanded in the holiday season. In Mexico, production was 20 million of plant completed in 2011 and generated revenues of 700 million pesos. The main producing states were: Morelos, Puebla, Michoacan and Distrito Federal. Its production generates three thousand direct jobs and nine thousand indirect jobs. The market is dynamic, every year the consumer demand new products and in different presentations, sometimes is not possible to satisfy it, so that there is need to use various breeding methodologies such as the use of irradiation, to obtain new variants and satisfy the consumer needs.

Currently, commercial varieties grown in Mexico come from abroad, are not adapted to the environmental conditions of the country, in addition, the production cost is high for the payment of royalties. The genome of the commercial varieties of *poinsettia* is of Mexican origin, which is present in wild and semi-cultivated populations. Of the total genetic diversity only a fraction is present in commercial varieties and the largest proportion has not been used for these purposes. There is also the need for the producers to have varieties generated in the country and mutagenesis is a useful method in genetic breeding to produce heritable changes (López-Mendoza *et al.*, 2012).

Moreover, in Mexico there is no information on the effects caused by irradiation in wild *poinsettia*, so there is a need to generate it. The obtained information will be invaluable for future works, in order to generate new cultivars. In addition, analyzing the database of FAO, in Mexico, still not released *poinsettia* varieties using the method of mutagenesis (Maluszynski *et al.*, 2000). Under these conditions, it should be provided the basis to apply radiation to elite genotypes or populations of this species. It is necessary positionate the producer in a global market, will be necessary to generate new genotypes with aesthetic value and convince consumers.

In this context, there is a huge potential that it can be used to create new arrangements in the genome and generate new genotypes with the phenotypic characteristics of interest that are adapted to the conditions of the country's agriculture and quality standards demanded by the market. So, this study was undertaken in order to evaluate the effect of irradiation on phenotypic characteristics of *poinsettia* plants and seed and determine the best dose.

de interés que sean adaptadas a las condiciones de la agricultura del país y con los estándares de calidad que demanda el mercado. Por lo que, se emprendió el presente trabajo con el objetivo de evaluar el efecto de la irradiación sobre características fenotípicas de plantas y semilla de nochebuena y determinar la mejor dosis.

Materiales y métodos

Se realizaron recorridos en el área natural El Texcal, ubicado en Jiutepec, estado de Morelos en los meses de noviembre-diciembre de 2009 y febrero de 2010, es un espacio geográfico donde crece de manera natural la nochebuena (*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch), cuenta con una superficie de 407.827 ha, ubicada en el municipio de Jiutepec (Pagaza y Fernández, 2004), y geográficamente a los 18° 53' latitud norte y 99° 10' longitud oeste, a una altitud promedio de 1 718 m. En la primera visita la población de plantas estaba en la fase fenológica de pigmentación de brácteas y en el segundo recorrido solamente quedaban algunas plantas con brácteas y la mayoría con semilla, en estado de madurez fisiológica.

El criterio de selección de plantas fue el color verde oscuro de hojas y color rojo intenso de brácteas, así como la corta distancia de entre nudos, similar a la nochebuena mejorada como la Freedom o Prestige y que actualmente se utilizan para decorar interiores. El ideotipo que se pretende obtener en nochebuena es una planta compacta de altura baja, brácteas grandes y de color rojo (Canul *et al.*, 2010). Dado que ésta muestra presenta brácteas similares a las del interior y al parecer solamente es necesario realizar pequeñas modificaciones en su composición genético para utilizarlo como variedad o como progenitor para la generación de nuevas variedades, además de incrementar su valor agronómico y comercial, se sometió al proceso de mutagénesis.

El método de muestreo de plantas fue dirigido y de manera visual, se seleccionaron aquellas que presentaron hojas de color verde oscuro y brácteas de color rojo intenso, corta distancia de entre nudos y sanas (Canul *et al.*, 2010). En total se colectaron frutos de veintidós plantas y los frutos se recolectaron en madurez fisiológica en febrero de 2010, antes de que abriera la cápsula, ya que son dehiscentes, posteriormente se colocaron en bolsas de papel estraza donde quedaron hasta liberar la semilla. Finalmente se eliminó las impurezas y el material se almacenó en un cuarto frío con temperatura de -2 °C hasta la fecha de irradiación.

Material and methods

Tours were conducted in the Natural Area El Texcal located in Jiutepec, Morelos state in the months of November-December 2009 and February 2010, is a geographic space where the poinsettia grows naturally (*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch), it counts with an area of 407 827 ha, located in the town of Jiutepec (Pagaza and Fernández, 2004), and geographically at 18° 53' north latitude and 99° 10' west longitude, at an average altitude of 1 718 m. On the first visit the plant population was in the phenological stage of bract pigmentation and in the second tour there were only a few plants with bracts and most with seed in physiological maturity.

The plant selection criterion was the dark green color of leaves and bright red of bracts and the short distance between nodes, similar to the improve poinsettia as the Freedom or Prestige and currently is used for interior decoration. The ideotype that is sought in poinsettia is a compact plant of low height, large bracts and with a bright red (Canul *et al.*, 2010). Since this sample has bracts similar to those inside and apparently it only needs small modifications in their genetic composition to use it as a variety or as a parent for the generation of new varieties, and increase their agronomic and commercial value was submitted to the mutagenesis process.

The plant sampling method was directed and visually selected those that had dark green leaves and bright red bracts, short distance between nodes and healthy (Canul *et al.*, 2010). Fruits were collected from a total of twenty two plants and fruits were harvested at physiological maturity in February 2010, before the capsule opened, as they are dehiscent, and then placed in brown paper bags where they were to release the seed. Finally impurities were removed and the material was stored in a cold room with temperature of -2 °C to date of irradiation.

On July 1, 2010 at the National Institute of Nuclear Research (ININ) on the Marquesa, Ocoyoacac Municipality, State of Mexico were irradiated at 220 Gammacell wild poinsettia seeds using 10 doses, every 25 Gray (Gy) of gamma rays, starting from 50-275 Gy also the unirradiated control.

Two days later at the Experiment field "Zacatepec" from INIFAP, in the state of Morelos, located at 18° 39' 16" N and 99° 11' 54" W, irradiated seeds were sown in polystyrene

El 1 de julio de 2010 en el Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares (ININ) ubicado en la Marquesa, Municipio de Ocoyoacac, Estado de México fueron irradiadas en el Gammacell 220 las semillas de nochebuena silvestre empleando 10 dosis, cada 25 Gray (Gy) de rayos gamma, iniciando desde 50 hasta 275 Gy, además, del testigo sin irradiar.

Dos días después en el Campo Experimental "Zacatepec" del INIFAP, en el estado de Morelos, ubicado a los 18° 39' 16" latitud norte y 99° 11' 54" longitud oeste, se sembró las semillas irradiadas en charolas de poliestireno termoformado de color negro de 50 cavidades, empleando como sustrato una mezcla de turba, perlita y vermiculita. Las charolas con las semillas fueron envueltas en plástico para favorecer la germinación y se colocaron dentro de un túnel con techo y paredes de plástico lechoso 50% UV2 que funciona como enraizador, donde permanecieron hasta la emergencia de la plúmula. Posteriormente, con fines de aclimatación fueron ubicadas en condiciones de sombra por un espacio de tres días, y después transferidas a condiciones de malla sombra 80% hasta la etapa de cuarta hoja verdadera.

Las plantas en etapa de cuarta hoja verdadera se cambiaron a macetas de 16 L con sustrato 60-20-20 v/v de ocochal (material orgánico compuesto por acículas de pino y hojas de encino), atole (suelo de origen aluvial) y fibra de coco, al mismo tiempo se adicionaron 15 g de fertilizante granulado (15-9-12% de N, P y K) de lenta liberación. Inmediatamente fueron colocadas en condiciones de malla aluminizada 60-40 de luz y sombra. En estas condiciones la frecuencia de riego y de aplicación de solución nutritiva, durante el ciclo del cultivo, por lo general fueron dos de riego y una de fertilización, y así sucesivamente; la solución nutritiva estuvo compuesta por nitrato de potasio 0.22 gL⁻¹, nitrato de calcio 0.10 gL⁻¹, fosfato monopotásico 0.27 gL⁻¹, kelatex 0.03 gL⁻¹ y ácido nítrico 0.25 mL⁻¹.

Las diez dosis de irradiación más el testigo se establecieron en campo, en condiciones de malla aluminizada 60-40 de luz y sombra, bajo un diseño de bloques al azar con 10 repeticiones por dosis, la unidad experimental consistió de una planta. Se registró el porcentaje de emergencia siete días después de la siembra (dds) y se midió la altura de hipocotilo (cm) catorce dds.

En la etapa fenológica de tercer ciatio abierto se registró la altura de planta (cm); diámetro del ciatio (cm); longitud (cm) y ancho (cm) de bráctea; longitud de peciolo de la bráctea (cm); y longitud de pedúnculo de la inflorescencia (cm).

trays thermoformed of black color of 50 cavities, using as substrate a mixture of peat moss, perlite and vermiculite. The trays with seed were wrapped in plastic to promote germination and placed inside a tunnel with roof and walls of plastic 50% UV2 functioning as rooting, where they remained until the emergence of the plumule. Subsequently, with acclimatization purposes were placed in shady conditions for a period of three days, and then transferred to conditions of 80% shade cloth until the fourth true leaf stage.

The plants in the fourth true leaf stage were changed to 16 L pots with substrate 60-20-20 v / v ocochal (organic material composed of pine needles and oak leaves) atole (alluvial soil) and coconut fiber, at the same time were added 15 g of granular fertilizer (15-09-12% of N, P and K) of slow release. They were immediately placed in aluminized mesh conditions of 60-40 light and shadow. Under these conditions the frequency of irrigation and application of nutrient solution during the growing season, usually were two irrigations and fertilization, and so on; the nutrient solution was composed of potassium nitrate 0.22 gL⁻¹, calcium nitrate 0.10 gL⁻¹, monopotassium phosphate, 0.27 gL⁻¹, kelatex, 0.03 gL⁻¹ and nitric acid 0.25 mL⁻¹.

The ten doses of irradiation plus control were established on field, in aluminized mesh conditions of 60-40 light and shade, under a randomized block design with 10 replications per dose, the experimental unit consisted of a plant. It was registered an emergence percentage seven days after planting (DAP) and measured the hypocotyl height (cm) fourteen DAP.

In the phenological stage of third open cyathium was registered plant height (cm); cyathium diameter (cm); length (cm) and width (cm) of bract; petiole length of the bract (cm) and length of peduncle of inflorescence (cm). When the fruit reached physiological maturity seeds were harvested from five plants per dose plus control, previously selected for their dark green leaves and bright red bracts and short distance between nodes. From this sample three replicates of 10 seeds per dose plus control was measured the length and width (mm) of the seed, and estimated the weight of 100 seeds (g). With the information obtained, was performed the analysis of variance and comparison of means by Tukey test ($p \leq 0.05$) using the SAS statistical package (2000).

Cuando el fruto llegó a madurez fisiológica se cosecharon las semillas de cinco plantas por dosis más el testigo, previamente seleccionadas por tener hojas de color verde oscuro y brácteas de color rojo intenso y corta distancia de entre nudos. De ésta muestra tres repeticiones de 10 semillas por dosis más el testigo se midió el largo y ancho (mm) de la semilla, y se estimó el peso de 100 semillas (g). Con la información obtenida se realizó análisis de varianza, y comparación de medias mediante la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) utilizando el paquete estadístico SAS (2000).

Resultados y discusión

Los resultados del análisis de varianza en las dosis de radiación gamma aplicado a semillas de nochebuena silvestre presentaron diferencias estadísticas significativas respecto al testigo en siete características y en tres de ellas no hubo diferencias significativas. La altura de planta fue muy variable, ya que tuvo un rango de 87 cm, el diámetro de ciatio presentó un rango de 36 cm, el ancho de la bráctea de 3 cm, y la longitud del pedúnculo de la inflorescencia de 14 cm. El tamaño de semilla presentó variación, pues el rango en largo fue de 2.41 mm, en ancho fue de 2.04 y de 7.5 g en peso de 100 semillas (Cuadro 1).

Cuadro 1. Cuadrado medio, desviación estándar, valores mínimos, promedios y máximos en nochebuena silvestre (*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch) irradiada a diferentes dosis con rayos gamma, colectada en el Texcal, Jiutepec, Morelos.

Table 1. Mean square, standard deviation, minimum, average and maximum values in wild poinsettia (*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch) irradiated at different doses with gamma rays, collected in Texcal, Jiutepec, Morelos.

VARIABLES	CM	Mínimo	Promedio	Máximo	DS
Altura del hipocotilo (cm)	2.198 ^{NS}	7.5	9.60	13.5	1.58
Altura de planta (cm)	520.30*	32.0	78.52	119.0	15.46
Diámetro del ciatio (cm)	161.37***	6.0	17.05	40.0	7.72
Longitud de bráctea (cm)	2.56 ^{NS}	2.50	9.72	12.90	1.47
Ancho de bráctea (cm)	0.895***	1.0	2.47	4.0	0.56
Longitud de peciolo de la bráctea (cm)	0.467 ^{NS}	1.0	2.17	3.5	0.53
Longitud de pedúnculo de la inflorescencia (cm)	34.007***	1.0	5.63	15.0	3.57
Largo de semilla (mm)	2.34***	6.68	7.79	9.09	0.46
Ancho de semilla (mm)	1.28***	5.26	6.33	7.30	0.40
Peso de 100 semillas (g)	8.83***	10.0	13.4	17.5	1.74

^{NS}, *, **, ***: No significativo, significativo a una $p \leq 0.05$, 0.01 y 0.001, respectivamente; CM= cuadrado medio, DS= desviación estándar.

El ancho de la bráctea presentó diferencias altamente significativas en los tratamientos evaluados, por lo que la prueba de comparación de medias permitió discriminar

Results and discussion

The results of the analysis of variance in gamma radiation doses applied to seeds of wild poinsettia showed statistically significant differences compared to the control in seven characteristics and in three of them no significant difference were found. Plant height was highly variable, since, it had a range of 87 cm, the diameter of cyathium presented a range of 36 cm, bract width 3 cm, and the length of peduncle of the inflorescence 14 cm. Seed size showed variation, because the length range was 2.41 mm, in width was 2.04 and 7.5 g in 100 seed weight (Table 1).

The width of the bract showed highly significant differences in the treatments evaluated, so the comparison of means test was able to discriminate the response of different doses, the lowest bract size was obtained with doses of 200 and 250 Gy and the greater bract width was with a dose of 175 Gy. As the cyathium diameter, there were differences between the applied dose, so the smaller diameter was observed with 125 Gy and the highest was with 250 Gy (Table 2). The lower plant height was obtained with the dose of 150 Gy and the higher with 50 Gy. At a dose of 75 Gy presented the shortest distance of peduncle of the inflorescence and the largest with 250 Gy.

The dose of 250 Gy produced the higher length of seed, the dose of 75 Gy and 125 produced the lowest size measured in length. The higher width of seed was shown by the doses of

la respuesta de las diferentes dosis, el menor tamaño de bráctea se obtuvo con la dosis de 200 y 250 Gy y el mayor ancho de bráctea fue con la dosis de 175 Gy. En cuanto a diámetro de ciatio hubo diferencias entre las dosis aplicadas, así el menor diámetro se observó con 125 Gy y el mayor fue con 250 Gy (Cuadro 2). La menor altura de planta se obtuvo con la dosis de 150 Gy y la mayor con 50 Gy. Con la dosis de 75 Gy se presentó la menor longitud de pedúnculo de la inflorescencia y la mayor con 250 Gy.

100, 250 and 275 Gy and the smaller width was with 75 Gy. Similarly, weight of 100 seeds was greater with the dose of 225 Gy and the lowest with 75 Gy (Table 2). This indicates that the smaller size and seed weight is obtained with the lower dose and as this increases the response increases too.

Four days after sowing, seedling emergence occurred only at doses of 50, 175 and 250 Gy; in the following days this percentage increased at all doses tested, and from the sixth day after sowing the control presented the higher percentage

Cuadro 2. Prueba de comparación de medias en dosis de irradiación con rayos gamma aplicados en nochebuena silvestre (*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch), colectadas en Texcal, Jiutepec, Morelos.

Table 2. Mean comparison test at doses of gamma irradiation applied in wild poinsettia (*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch) collected in Texcal, Jiutepec, Morelos.

Tratamiento	Diámetro del ciatio (cm)	Ancho de bráctea (cm)	Largo de semilla (mm)	Ancho de semilla (mm)	Peso de 100 semillas (g)
Testigo	18.20abc ^z	2.27abc	7.653cd	6.363ab	13.500bcd
50 Gy	22.4ab	2.45abc	7.723bcd	6.449ab	14.500b
75 Gy	12.2bc	2.57abc	7.557d	5.798c	10.166e
100 Gy	13.95bc	2.56abc	7.889bc	6.486a	14.166bc
125 Gy	11.55c	2.95ab	7.563d	6.175b	12.000d
150 Gy	15.25abc	2.21bc	7.627cd	6.289ab	13.833bc
175 Gy	15.70abc	2.98a	7.828bcd	6.280ab	13.333bcd
200 Gy	16.4abc	2.11c	8.036b	6.352ab	13.333bcd
225 Gy	18.3abc	2.45abc	7.573cd	6.413ab	17.166a
250 Gy	24.6a	2.10c	8.502a	6.534a	12.666cd
275 Gy	19.05abc	2.58abc	7.800bcd	6.502a	12.833cd

^zValores con la misma letra dentro de cada columna son iguales con base en la prueba de Tukey a una $p \leq 0.05$.

La dosis de 250 Gy fue la que produjo el largo mayor de semilla, la dosis de 75 y 125 Gy produjeron el tamaño menor medido en largo. El ancho mayor de semilla lo mostraron la dosis de 100, 250 y 275 Gy y el ancho menor fue con 75 Gy. En el mismo sentido, el peso mayor de 100 semillas fue con la dosis de 225 Gy y el menor con 75 Gy (Cuadro 2). Esto indica que el menor tamaño y peso de semilla se obtiene con la menor dosis y a medida que aumenta también se incrementa la respuesta.

Cuatro días después de la siembra, la emergencia de plántulas solamente ocurrió en las dosis de 50, 175 y 250 Gy; en los días siguientes aumentó dicho porcentaje en todas las dosis evaluadas, y a partir del sexto día después de la siembra el testigo presentó el mayor porcentaje de emergencia. Por lo general, en los tratamientos de irradiación hubo una reducción en el porcentaje de emergencia en comparación con el testigo (Figura 1). En cambio en Chile de agua no

of emergence. Usually in irradiation treatments there was a reduction in the emergence percentage compared with the control (Figure 1). Instead in green pepper there was no statistical difference in total germination and emergence rate between irradiated and control seeds (López-Mendoza *et al.*, 2012).

The seed is the material commonly used to induce mutations in plants (Szarejko and Forster, 2007). In this paper the application of irradiation at different doses to samples of seeds of wild poinsettia from the ecological reserve the Texcal, Morelos produced important changes in characteristics of plant height, bract width, cyathium diameter and seed size.

The results indicate that the higher seed size was obtained with the highest dose. From the point of view of genetic breeding, one of the major characters is the seed size, since

hubo diferencias estadísticas en germinación total e índice de emergencia entre semillas irradiadas y el testigo (López-Mendoza *et al.*, 2012).

La semilla es el material usado con más frecuencia para inducir mutaciones en especies vegetales (Szarejko y Forster, 2007). En este trabajo la aplicación de la irradiación en diferentes dosis a muestras de semillas de nochebuena silvestre procedentes de la reserva el Texcal, estado de Morelos produjo cambios importantes en características de altura de planta, ancho de bráctea, diámetro de ciatio y tamaño de semilla.

Los resultados indican que el tamaño mayor de semilla se obtuvo con las dosis más altas. Desde el punto de vista del mejoramiento genético, uno de los caracteres importantes es el tamaño de semilla, puesto que hay una correlación entre tamaño y vigor de la plántula, por lo general a mayor tamaño hay un mayor crecimiento y tamaño de plántula (Carrillo *et al.*, 2009). La semilla es una forma de supervivencia de la especie y contiene información genética de ambos progenitores (materno y paterno).

En trabajos similares como en ricino (*Ricinus comunis* L.) Sarwar y Chaudhry (2008) obtuvieron mutantes a través de irradiación gamma de 100-1000 Gy, donde el peso de 100 semillas mostró una correlación genotípica significativa, pero la fenotípica no lo fue y además, señalan que la selección de variantes mutantes altamente productivos de semilla se debe hacer énfasis principalmente en el número de espigas y peso de cápsula, y en menor medida en el peso de 100 semillas.

El ideotipo que se pretende obtener en nochebuena es una planta compacta de porte bajo, brácteas grandes y de color rojo (Canul *et al.*, 2010). En el germoplasma irradiado se encontró amplia variación y diferencias significativas ($p \leq 0.05$) en altura de planta por la aplicación de dosis de radiación gamma, varía entre 32 y 119 cm (Cuadro 1); con 150 Gy se obtuvieron plantas de porte menor (68.4 cm); mientras que, con 50 Gy fueron de tamaño mayor (89.8 cm). Una de las principales respuestas de las plantas a la irradiación es la reducción en el porte y hábito de crecimiento (Schum, 2003).

La nochebuena de interior se produce en macetas de diferente diámetro y altura, pero el porte de la planta pigmentada debe ser el doble de la altura de la maceta. En base a la respuesta obtenida es posible obtener plantas con estos criterios, la

there is a correlation between size and seedling vigor, usually at a higher size there is a higher growth and seedling size (Carrillo *et al.*, 2009). The seed is a form of survival of the species and contains genetic information from both parents (mother and father).

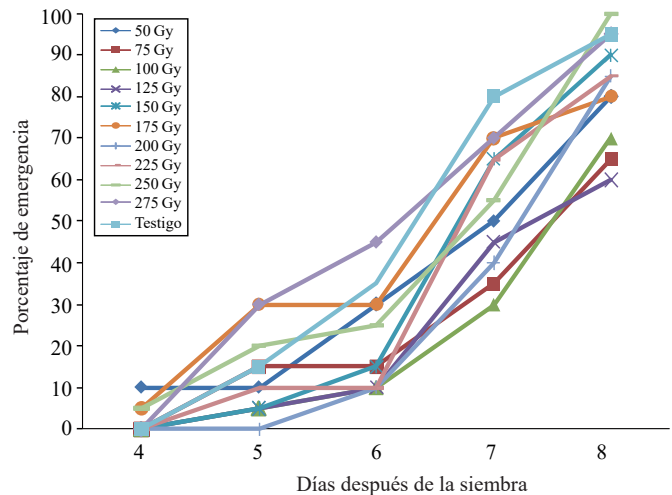


Figura 1. Porcentaje de emergencia de semilla de nochebuena silvestre (*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch) irradiada con rayos gamma en Morelos.

Figure 1. Percentage of emergence of seed of wild poinsettia (*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch) irradiated with gamma rays in Morelos.

In similar works as in castor oil plant (*Ricinus communis* L.) Sarwar and Chaudhry (2008) obtained mutants through gamma irradiation of 100-1000 Gy, where the weight of 100 seeds showed a significant genotypic correlation, but in the phenotypic was not and also, points out that the selection of mutant variants highly productive of seed should be emphasize primarily on the number of spikes and capsule weight, and less on the weight of 100 seeds.

The ideotype that is sought in poinsettia is a compact plant of short size, large bracts and red (Canul *et al.*, 2010). In the irradiated germplasm was found wide variation and significant differences ($p \leq 0.05$) in plant height by applying gamma radiation dose, varies between 32 and 119 cm (Table 1); with 150 Gy were obtained plants with lower size (68.4 cm); whereas with 50 Gy were larger (89.8 cm). A major plant response to irradiation is the reduction in size and growth habit (Schum, 2003).

The indoor poinsettia is produced in pots of different diameter and height, but the size of the pigmented plant should be twice the height of the pot. Based on the obtained response

selección fenotípica se debe dirigir hacia plantas compactas con buena ramificación. Ahloowalia y Maluszynski (2001) señalan que en arroz, trigo, cebada y maíz la obtención de plantas compactas a través de la irradiación ha contribuido significativamente a incrementar el rendimiento de grano debido a la resistencia al acame y a altas densidades de siembra.

La reducción en altura de planta aplicando irradiación se ha obtenido en otros cultivos, en este sentido Lee *et al.* (2010) indican que la longitud de entrenudo y altura de planta fue geométricamente reducida de 2 a 4 veces con la aplicación de rayos gamma a dosis de 40 y 50 Gy a esquejes enraizados del cultivar Beakma de *Dendranthema grandiflora* en comparación con el testigo.

El valor comercial de la nochebuena se debe a las características de la bráctea como son: el tamaño, la forma y sobretodo el color. La variación en anchura de bráctea fue de 1 a 4 cm. Si la tendencia es obtener brácteas delgadas y largas, éstas las produjo la dosis de 200 y 250 Gy y si la elección fuera hacia obtener un ancho mayor se escogerían plantas obtenidas con la dosis de 175 Gy. La importancia del uso de la irradiación, en este caso, es que se modificó el tamaño de brácteas, se obtuvieron ancho de brácteas de menor y mayor tamaño comparado con el testigo; es decir, se generó variación morfológica, la cual puede ser empleada en posteriores programas de mejoramiento genético de la especie o su uso directo mediante selección con el objetivo de generar una nueva variedad o como progenitor en hibridación de plantas.

Existe un gran número de variedades mejoradas de nochebuena en el mercado, en 2010 las empresas extranjeras ofertaron más de 60 variedades, de las cuales 90% de plantas poseen brácteas rojas y 10% son de color rosa, amarilla y variegada. A pesar de esta oferta amplia los consumidores demandan nuevos productos cada año, y para satisfacerlo existe la necesidad de emplear diferentes métodos de mejoramiento para generar nuevas variantes en cuanto a características morfológicas de hoja, bráctea y arquitectura de planta. Se han generado mediante mutagénesis 552 variedades de plantas ornamentales (Maluszynski *et al.*, 2000).

En la India se han liberado 103 variedades ornamentales provenientes de genotipos mutantes, de las cuales 46 corresponden a crisantemo y la mayor proporción de los mutantes fueron generados utilizando como mutágeno los rayos gamma (Chopra, 2005).

is possible to have plants with these criteria, phenotypic selection should be directed towards compact plants with good branching. Ahloowalia and Maluszynski (2001) point out that in rice, wheat, barley and corn to obtain compact plants through irradiation has contributed significantly to increased grain yield due to lodging resistance and high densities of sowing.

The reduction in plant height applying irradiation has been obtained other cultures, in this sense Lee *et al.* (2010) indicate that the internode length and plant height was geometrically reduced from 2 to 4 times with the application of gamma rays at a dose of 40 and 50 Gy to rooted cuttings of the Beakma cultivar of *Dendranthema grandiflora* compared with the control.

The commercial value of poinsettia is due to the characteristics of the bract as: the size, shape and overall color. The variation in bract width was 1 to 4 cm. If the trend is to obtain long thin bracts, these were produced the dose of 200 and 250 Gy and if the selection was to obtain a higher width would be chosen plants obtained with the dose of 175 Gy. The importance of the use of irradiation, in this case, is that it was modified the bracts size, were obtained bracts width of smaller and larger size compared with the control, i.e., it was generated morphological variation, which can be used in subsequent genetic breeding programs of the specie or its direct use by selection in order to generate a new variety or as a parent in plant hybridization.

There are a great number of improved varieties of poinsettia on the market, in 2010 foreign companies tendered more than 60 varieties, of which 90% of plants have red bracts and 10% are pink, yellow and variegated. Despite this wide offer consumers demand new products every year and to satisfy it, there is the need to use different methods to generate new variants in terms of morphological characteristics of leaf, bract and plant architecture. 552 varieties of ornamental plants have been generated through mutagenesis (Maluszynski *et al.*, 2000).

In India, 103 ornamental varieties have been released from mutant genotypes, of which 46 correspond to chrysanthemum and the higher proportion of the mutants were generated using gamma rays as a mutagen (Chopra, 2005).

The plant response to irradiation is more or less linearly with the dose employed (Chopra, 2005; Yamaguchi *et al.*, 2008) polyploid organisms are more tolerant to irradiation than diploids (Chopra, 2005). Sometimes changes are not

La respuesta de las plantas a la irradiación es más o menos lineal con la dosis empleada (Chopra, 2005; Yamaguchi *et al.*, 2008) los organismos poliploides son más tolerantes a la irradiación que los diploides (Chopra, 2005). En ocasiones los cambios no se presentan de manera inmediata, en este sentido Rangaiah (2006) indica que en Chile (*Capsicum annuum* L.) la aplicación de rayos gamma a la semilla no produjo cambios en la media o varianza de las poblaciones tratadas, pero pudo alterar la naturaleza de la distribución de la información genética, la cual posiblemente se vea reflejado en las generaciones siguientes.

Maluszynsky *et al.* (2009) señalan que en plantas cultivadas como los cereales, muchos mutantes con características deseables fueron seleccionados en la segunda o tercera generación después del tratamiento mutagénico y posteriormente liberado como nuevos cultivares después de la evaluación a nivel estado y país.

La identificación de mutantes en la descendencia se facilita, ya que es común obtener plantas de bajo porte, como sucedió con el trigo enano (Maluszynsky *et al.*, 2009), arquitectura de la planta y en color de bráctea y flor. Es importante identificar los individuos en el mejor momento, dado que es una labor minuciosa. En nochebuena el mejor momento es cuando la planta se encuentra en la etapa de pigmentación de brácteas.

En futuros trabajos sobre mejoramiento genético de nochebuena mediante mutagénesis se puede incrementar la posibilidad de lograr éxito de varias maneras, ya sea teniendo un mejor control del proceso de mutación, incrementando la tasa de mutación o desarrollando métodos más efectivos para la selección práctica de mutantes (Ukai, 2010), como puede ser la asistida por marcadores moleculares.

Conclusiones

La aplicación de diferentes dosis de rayos gamma a muestras de semillas de nochebuena silvestre procedentes de la reserva el Texcal, Jiutepec, estado de Morelos produjo cambios importantes en características de planta y semilla. Sin embargo, no modificó la altura de hipocotilo, longitud de bráctea y longitud de peciolo de bráctea. Se incrementó el tamaño de semilla y se redujo la altura de planta. La mejor respuesta se logró con la dosis de 250 Gy.

immediately present, in this sense Rangaiah (2006) indicates that in pepper (*Capsicum annuum* L.) gamma-ray application to the seed produced no changes in the mean or variance of treated populations, but could alter the nature of the distribution of genetic information, which may be reflected in subsequent generations.

Maluszynsky *et al.* (2009) point out that in cultivated plants such as cereals many mutants with desirable traits were selected in the second or third generation after mutagenic treatment and later released as new cultivars after evaluation at state and country level.

The identification of mutants in the offspring is facilitated, as it is common to obtain low size plants, as happened with dwarf wheat (Maluszynsky *et al.*, 2009), plant architecture and bract and flower color. It is important to identify individuals at the right time, because it is a thorough work. In poinsettia the best time is when the plant is in the stage of pigmentation bracts.

In future works on genetic improvement of poinsettia by mutagenesis it can increase the possibility of achieving success in several ways, either by having better control of the process of mutation, increasing the rate of mutation or developing more effective methods for practical selection of mutants (Ukai, 2010), such as the molecular marker assisted.

Conclusions

The application of different doses of gamma rays to seed samples from wild poinsettia precedent from the ecological reserve the Texcal, Jiutepec, Morelos produced important changes in plant and seed characteristics. However, did not modify the height of hypocotyl, bract length and length of petiole bract. Increased seed size and reduced plant height. The best response was achieved with a dose of 250 Gy.

The use of irradiation to create variation is a viable and economical alternative and the variation may be used for genetic improvement purposes on poinsettia, to broaden the genetic base of the specie or in the quick search to improve a character in an outstanding genotype.

End of the English version



El uso de la irradiación para crear variación es una alternativa viable y económica, y la variación puede ser utilizada con fines de mejoramiento genético de la nochebuena, para ampliar la base genética de la especie o en la búsqueda rápida de mejorar un carácter en un genotipo sobresaliente.

Agradecimientos

Los autores(as) agradecen el apoyado otorgado por Fondos Mixtos Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) -Morelos MOR-2009-C02-120661.

Literatura citada

- Ahloowalia, B. S. and Maluszynski, M. 2001. Induced mutations-A new paradigm in plant breeding. *Euphytica* 118:167-173.
- Atak, C.; Alikamanoglu, S.; Acik, L. and Canbolat, S. 2004. Induced of plastid mutations in soybean plant (*Glicine max* L. Merrill) with gamma radiation and determination with RAPD. *Mutation Research* 556:35-44.
- Canul, K. J.; García, P. F.; Ramírez, R. S. y Osuna, C. F. 2010. Estrategias para el mejoramiento genético de nochebuena (*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch). *Investigación Agropecuaria* 7:44-54.
- Carrillo, E.; Mejía, C. J.; Carballo, C. A.; García de los S, G.; Aguilar, R. V. y Corona, T. T. 2009. Calidad de semilla en colectas de chile de agua (*Capsicum annum* L.) de los Valles Centrales de Oaxaca. *Agric. Téc. Méx.* 35:257-266.
- Chopra, V. L. 2005. Mutagenesis: Investigating the process and processing the outcome for crop improvement. *Current Sci.* 89:353-359.
- Ecke, P; Faust, J E; Higgins, A and Williams, J. 2004. The ecke poinsettia manual. 1er edition. Ball publishing. Batavia, Illinois 60510. 287 p.
- Honda, I.; Kikuchi, K.; Matsuo, S.; Fukuda, M.; Saito, H.; Ryuto, H.; Fukunishi, N. and Abe, T. 2006. Heavy-ion-induced mutants in sweet pepper isolated by M₁ plant selection. *Euphytica* 152:61-66.
- Jain, S. M. 2006. Mutation-assisted breeding for improving ornamental plants. *Acta Hort.* 714:85-98.
- Lee, I. 2000. Phytoplasma casts a magic spell that turns the fair poinsettia into a Christmas showpiece. Online. *Plant Health Progress* doi: 1094/PHP-2000-0914-01-RV.
- Lee, J.; Chung, Y.; Joung, Y.; Han, T.; Kang, S.; Yoo, Y. and Lee, G. 2010. Inductions of mutations for stem quality in Chrysanthemum (*Dendranthema grandiflora*) by using gamma-ray irradiation. *Acta Hort.* 855:177-182.
- López-Mendoza, H.; Carrillo-Rodríguez, J. and Chávez-Servia, J. 2012. Effects of gamma-irradiated seeds on germination and growth in *Capsicum annum* L. plants growth in a greenhouse. *Acta Hort.* 947:77-81.
- Maluszynski, M.; Nichterlein, K.; Van Zanten, L. and Ahloowalia, B. S. 2000. Officially released mutant varieties-FAO/IAEA database. *Mutation Breed. Rev.* 12:1-84.
- Maluszynski, M.; Szarejko, I.; Bhatia, C.; Nichterlein, K. and Lagoda, P. 2009. Methodologies for generating variability part 4: Mutation techniques. *In: Ceccarelli, S.; Guimaraes, E. and Wetlzien, E. (eds.). Plant Breeding and Farmer Participation.* FAO, Rome, Italy. 159-194 pp.
- Matsumura, A.; Nomizu, T.; Furutani, N.; Hayashi, K.; Minamiyama, Y. and Hase, Y. 2010. Ray florets color and shape mutants induced by ¹²C⁵ ion beam irradiation in chrysanthemum. *Sci. Hort.* 123:558-561.
- Mejía, M. J. M. y Espinosa, F. A. 2003. Especies fotoperiódicas mexicanas. *In: Mejía, M. J. M. y Espinosa, F. A. (Comps.). Plantas nativas de México con potencial ornamental, análisis y perspectivas.* Primera edición. Universidad Autónoma Chapingo, Impreso en México. 159-166 pp.
- Pagaza, C. E. y Fernández, N. R. 2004. La familia bombacaceae en la cuenca del río Balsas, México. *Polibotánica* 17:71-102.
- Qualset, C. O.; Damania, A. B.; Zanatta, A. C. and Brush, S. B. 1997. Locally based crop plant conservation. *In: Maxted, N.; Ford-Lloyd, B. V. and Hawkes, J. G. (eds.). Plant genetic conservation the In Situ Approach.* First edition. Chapman Hall. Great Britain. 160-175 pp.
- Rangaiah, S. 2006. Induced genetic variation for days to flowering and maturity following hybridization and mutagenesis in chilli (*Capsicum annum* L.). *Karnataka J. Agric. Sci.* 19:382-384.

- Sarwar, G. and Chaudhry, M. B. 2008. Short communication. Evaluation of castor (*Ricinus communis* L.) induced mutants for possible selection in the improvement of seed yield. Spanish J. Agric. Res. 6:629-634.
- Szarejko, L. and Forster, B. P. 2007. Doubled haploidy and induced mutation. Euphytica 158:359-370.
- Steinmann V, W. 2002. Diversidad y endemismo de la familia Euphorbiaceae en México. Acta Bot. Mex. 61:61-93.
- Statistical Analysis System (SAS). Institute Inc. 2000. SAS User's Guide. Release 8.1. (Eds.). SAS Institute, Inc. Cary, NC. 100-120 pp.
- Schum, A. 2003. Mutation breeding in ornamentals: an efficient breeding method? Acta Hort. 612:47-60.
- Sigurbjornsson, B. 1983. Induced mutations. In: Wood, D. R. (ed.). Crop Breeding. Madison, Wisconsin, USA. Crop Sci. Soc. Am. 153-176 pp.
- Ukai, Y. 2010. Theoretical studies on population development design in mutation breeding of allogamous plants. Breed. Sci. 60:267-278.
- Wu, D. L.; Hou, S. W.; Qian, P. P.; Sun, L. D.; Zhang, Y. C. and Li, W. J. 2009. Flower color quimera and abnormal leaf mutants induced by $^{12}\text{C}^6$ heavy ions in *Salvia Splendes Ker-Gawl.* Sci. Hort. 121:462-467.
- Yamaguchi, H.; Shimizu, A.; Degi, K. and Morishita, T. 2008. Effects of dose rate of gamma ray irradiation on mutation induction and nuclear DNA content in chrysanthemum. Breed. Sci. 58:331-335.