

Inducción de mutantes para el color de la flor en crisantemos (*Dendranthema grandiflora* (Ram.) Tzvelev) mediante radiaciones gamma

Induction of mutants in flower color of chrysanthemum (*Dendranthema grandiflora* (Ram) Tzvelev) using gamma irradiation

Otahola-Gómez, Víctor; Aray, Marisol y Antoima, Yira

Departamento de Agronomía, Escuela de Ingeniería Agronómica de la Universidad de Oriente, Núcleo de Monagas, Maturín, estado Monagas. Campo Universitario Los Guaritos, Av. Universidad.
Tele-fax: 0291-6521192, email: votahola@cantv.net

RESUMEN

Con el objetivo de obtener mutantes en el color de las flor por efecto de la irradiación con rayos gamma en plantas de crisantemo (*Dendranthema grandiflora* (Ram) Tzvelev) se realizó un ensayo en el Laboratorio de Biotecnología y en el Invernadero del Postgrado en Agricultura Tropical del Núcleo de Monagas de la Universidad de Oriente, ambos ubicados en el *Campus* Juanico en la ciudad de Maturín, estado Monagas. Para la inducción de mutaciones en el color de las flores se irradiaron brotes en cultivo “*in vitro*” de 3 cm de largo utilizando la fuente de ⁶⁰Co del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, ubicado en Caracas, con dosis de 0,0; 0,5; 1,0; 1,5 y 2,0 Krad. Los parámetros evaluados en la irradiación fueron el porcentaje de sobrevivencia, número de hojas/brote y tasa de crecimiento a los 7, 14, 21 y 28 días después de la irradiación. Las plantas se aclimataron y posteriormente fueron llevadas al invernadero, donde se procedió a reducir la cantidad de horas luz para inducir la floración. Una vez abiertos los capítulos se evaluaron los mutantes en el color de la flor. La mayor sobrevivencia de los explantes irradiados se obtuvo con la dosis de 1,5 Krad y el mayor crecimiento con la dosis de 0,5 Krad. La dosis de 2,0 Krad afectó la sobrevivencia, el número de hojas/brote y la tasa de crecimiento. Se obtuvieron mutantes en el color de la flor en todas las dosis de irradiación utilizadas, sobresaliendo la dosis de 1,0 Krad (60 % de mutantes) y 0,5 Krad (38,88 % de mutantes), siendo más frecuente el color cobre.

Palabras claves: Crisantemo, mutantes color de flor

ABSTRACT

An experiment was carried out at Biotechnology Lab and Post-Graduate School's greenhouse of the Universidad de Oriente, Maturín, Monagas state in order to obtain flower color mutants of chrysanthemum (*Dendranthema grandiflora* (Ram) Tzvelev) using gamma irradiation. In order to induce flower color mutant, 3-cm long shoots under *in vitro* culture were irradiated using a ⁶⁰Co source located at the Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, Caracas, Venezuela, with doses of 0.0; 0.5; 1.0; 1.5 and 2.0 Krad. The parameters evaluated were survival percentage, number of leaves/shoot and growth rate at 7, 14, 21 and 28 days after irradiation. Plants were acclimated and later transferred to the greenhouse where the number of daylight hours was reduced in order to induce flowering. Once the flowers were open, color mutants were evaluated. The best survival rate of irradiated explants was achieved with a dose of 1.5 Krad, and the best growth with a dose of 0.5 Krad. The 2.0 Krad dose affected survival, number of leaves/shoot and growth rate. Mutants were obtained at all dose used, with the best results obtained with 1.0 Krad (60 % mutants) and 0.5 Krad (38.88 % mutants). “Copper” color flowers were most frequent.

Key words: Chrysanthemum, flower color mutants

INTRODUCCIÓN

El crisantemo (*Dendranthema grandiflora* (Ram) Tzvelev) es una de las flores cultivadas más antiguas, jugando un papel significativo en la cultura y vida tanto China como Japonesa. A pesar de las muchas especies de este género, sólo el crisantemo morifolium se cultiva en cantidad como flor para

corte, teniendo interés por su gran valor comercial, siendo la variación del color de la flor su máxima atracción (Salinger, 1991). Las mutaciones inducidas pueden ser vistas como una herramienta en el mejoramiento genético convencional o como un potencial alternativo en ciertos aspectos del cultivo. La mutación del cultivo también podría ser el método

de ampliar y proveer la variabilidad genética (Donini y Micke, 1984).

Existen diferencias en la radiosensibilidad de varias partes de la planta, la reacción de un tipo de célula va a depender de las condiciones fisiológicas, el tiempo de irradiación, así como de las condiciones pre y post irradiación. La decisión sobre la dosis debe ser hecha por el investigador de acuerdo a la parte a irradiar y el estado de desarrollo de la misma, sobre la base del conocimiento del organismo y los objetivos del programa (Tulmman, 1997).

Los registros indican que el crisantemo es una de las plantas donde se ha obtenido mayor número de cultivares a través de las mutaciones inducidas. Yamamuchi (1987) reporta que al revisar los registros sobre los cultivares desarrollados a través de las mutaciones inducidas encontró que del total de 272 nuevos cultivares ornamentales 106 corresponden a cultivares de crisantemo, lo cual nos indica la importancia de esta metodología en la obtención de cultivares mejorados.

Latado (1993) indica que las variedades de color rosa en plantas de crisantemo son las mejores para obtener mutantes de nuevos colores, seguidas de las variedades de color blanco, bronce, rojo, amarillo con rojo, salmón y naranja. Asociado a esto la selección de material para un programa de mejoramiento genético debe tener otras características agronómicas tales como vigor, resistencia a enfermedades y déficit hídrico, alto valor comercial y otras.

La inducción de mutaciones en el mejoramiento de crisantemo puede ser utilizada a través de los métodos "*in vivo*" e "*in vitro*". La técnica de irradiación "*in vivo*", consiste en la irradiación de brotes enraizados, con posterior propagación de este material en el campo, antes del florecimiento (época de selección). Este método explora las posibilidades de irradiación de meristemas multicelulares apicales y axilares causando la aparición de sectores mutantes. El otro método está basado en la irradiación seguido de cultivos "*in vitro*" de diversos tipos de explantes (pedicelos florales, hojas, pedicelos de botones jóvenes). La característica principal de este método consiste en la irradiación de tejidos que darán origen a yemas adventicias (Broerjes y Van Harten, 1988).

De Jong y Custer (1986), usaron una metodología de inducción de mutación "*in vitro*" en crisantemo, utilizando mutágenos físicos (rayos gamma). Los autores observaron modificaciones en el florecimiento y en la producción de la variedad "Spider" blanco comparando dos tipos de explantes (pedicelos florales y pétalos).

Matsumoto y Onozawa (1989) utilizaron rayos gamma para inducir mutaciones "*in vitro*" en crisantemo, con dosis de 3,25 a 3,50 Krad y cultivando los explantes (pedicelo) en medio MS, indicando que de 45 regenerantes sobrevivientes, 16 fueron de color de flores variables y 8 fueron mutantes no quiméricos.

Muchos trabajos han sido realizados comparando la eficiencia de diversos tipos de mutágenos y las dosis ideales para cada uno de ellos. La dosis óptima obtenida para trabajos de irradiación con rayos gamma está en el rango de 10 a 20 Gy (1,0 a 2,0 Krad) (Bowen, 1965; Broertjes *et al.*, 1980; Datta, 1987; Dowrick y El-Bayoumi, 1966; Gupta y Jugran, 1978).

Latado (1993) al irradiar pedicelos con dosis de 0; 6,0; 8,0; 10,0 y 12,0 Gy de rayos gamma encontró que la dosis que reduce el crecimiento de los explantes en un 50% (GR₅₀) se encuentra cercana a 8 Gy. Al irradiar con esta dosis encontró un promedio de 5,98% mutantes para color de la flor.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo se realizó en las instalaciones del Laboratorio de Biotecnología y en el invernadero de Postgrado, ubicados en el Campus Juanico del Núcleo Monagas de la Universidad de Oriente, en Maturín. Las irradiaciones fueron realizadas en la fuente de Cobalto (⁶⁰Co) del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC), en la ciudad de Caracas.

Se utilizaron plantas de crisantemo de inflorescencias amarillas y el explante se obtuvo del pedicelo floral joven (eliminando el botón floral), el tamaño del mismo fue de 1 cm de largo aproximadamente. Esta parte de la planta fue utilizada debido a su capacidad de regeneración "*in vitro*" (Roest y Boklemann, 1975). Los pedicelos se cortaron de manera longitudinal y se colocaron con el lado cortado hacia el medio del cultivo. Se utilizó medio MS, suplementado con 30 g/l de sacarosa, 1,0 mg/l

de BA y 2,0 mg/l de AIA y solidificado con 7,0 g/l de agar. Una vez obtenidos los brotes y cuando los mismos tenían unos 3 cm de largo, se procedió a su irradiación con rayos gamma, utilizando dosis de 0; 0,5; 1,0; 1,5 y 2,0 Krad. Posteriormente después de la irradiación, los brotes fueron cambiados de medio para evitar los posibles efectos de la irradiación sobre este (desnaturalización de los componentes).

Los parámetros evaluados fueron: porcentaje de sobrevivencia, número de hojas y tasa de crecimiento (mm/día) de los brotes, todos evaluados a los 7, 14, 21 y 28 días después de la siembra, bajo un diseño estadístico completamente aleatorizado con cinco tratamientos. Los datos obtenidos fueron sujetos a análisis de varianza convencional, determinándose las diferencias entre tratamientos mediante la prueba de ámbitos múltiples de Duncan con un nivel de probabilidad de 0,05.

Una vez enraizados los brotes, se procedió a aclimatarlos, mediante la colocación de los explantes, inmediatamente después de sacarlos de los tubos de ensayo, en una solución de funguicida por 15 minutos y luego sembrarlos en envases de plástico herméticamente cerrados, utilizando vermiculita previamente humedecida como sustrato. Se mantuvieron tapados por espacio de una semana y posteriormente se fueron destapando en forma gradual hasta lograr su endurecimiento. Este método permitió tener cerca del 100 % de sobrevivencia de los brotes a excepción de los brotes provenientes de explantes irradiados con dosis de 2,00 Krad, los cuales no sobrevivieron la fase de aclimatación. Los brotes una vez destapados fueron fertilizados con solución de macro y micro sales cada cuatro días y con riego diario.

Aclimatadas las plántulas, se procedió a sembrarlas en el invernadero, utilizando para ello bolsas de polietileno de 0,5 kg. El sustrato utilizado estuvo formado de una mezcla de tierra negra, materia orgánica y perlita. Se les aplicó riego diario y fueron fertilizadas cada 15 días con 12-24-12. 90 días después de la siembra se sometieron las plantas a fotoperíodo corto, reduciendo las cantidades de horas de luz (15 horas de oscuridad y 9 horas de luz) y así inducir la formación de los botones florales, se seleccionaron las plantas más vigorosas y de mayor número de ramas laterales. Una vez abiertos los botones florales se procedió a la evaluación de los posibles mutantes de color de flor y de algún otro carácter visible en las plantas irradiadas con respecto

al control sin irradiar. Las diferencias entre los porcentajes de mutantes se determinaron mediante la prueba descrita en Sokal y Rohlf (1969) para comparación entre dos tratamientos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Sobrevivencia de los explantes

El cuadro 1 muestra los resultados obtenidos para el carácter sobrevivencia de los explantes de crisantemos irradiados con diferentes dosis de rayos gamma en cada una de las fechas evaluadas, observándose que a los 7 días después de la siembra, la dosis 1,5 Krad y el testigo sin irradiar presentaron el mayor porcentaje de sobrevivencia. Así mismo, se observó que los explantes irradiados con la dosis 2,0 Krad presentaron el menor porcentaje de sobrevivencia.

Para las evaluaciones realizadas a los 14, 21 y 28 días después de la siembra se observó una respuesta similar de los tratamientos dentro de cada fecha, notándose que la dosis 1,5 Krad obtuvo el mayor porcentaje de sobrevivencia, mientras que la dosis 2,0 Krad obtuvo el menor porcentaje de sobrevivencia.

Latado (1993), trabajando con inducción de mutaciones “*in vivo*” de plantas de crisantemos del cultivar ‘Repin Rosa’ y ‘Tinsel’ blanco en la evaluación del porcentaje de sobrevivencia no reportó diferencias significativas entre las dosis de 0,0; 0,75; 1,25; 1,75; 2,25; 2,75 y 3,25 Krad).

La figura 1 muestra que ninguna de las dosis de irradiación utilizadas produce la mortalidad del 50% (DL₅₀) de los explantes de crisantemos. Sin embargo, este parámetro puede haberse visto influenciado por la contaminación de algunos explantes y por el hecho de que es difícil determinar si la muerte de los mismos fue debida a la contaminación por patógenos o debida al efecto de la irradiación. Lata (1980), trabajando con crisantemos “*in vitro*” consideró el parámetro porcentaje de sobrevivencia con evaluación a los 18 meses y encontró que la dosis letal media (DL₅₀) estuvo entre los 3,0 y 4,0 Krad para la mayoría de las variedades. Sin embargo, estas dosis fueron más altas que las utilizadas en este ensayo. Latado (1993), trabajando con crisantemos del cultivar ‘Repin Rosa’ “*in vitro*” reportó que la dosis letal media que redujo en un 50% el número de explantes que regeneran se encontró en 1,0 Krad.

Cuadro 1. Porcentaje de sobrevivencia de los explantes de crisantemos (*Dendranthema grandiflora* (Ram) Tzvelev) irradiados con diferentes dosis de rayos gamma en distintas épocas de evaluación.

Dosis de Irradiación (Krad)	Sobrevivencia			
	7 días después de la siembra	14 días después de la siembra	21 días después de la siembra	28 días después de la siembra
0,0	98,33 AB *	81,67 B	78,33 B	75,00 B
0,5	86,21 C	82,76 B	82,76 B	79,31 B
1,0	94,44 BC	88,89 B	83,33 B	77,78 B
1,5	100,00 A	100,00 A	95,45 A	93,18 A
2,0	66,62 D	47,22 C	44,44 C	41,67 C

* Prueba de ámbitos múltiples de Duncan al 0,05 de probabilidad

Valores con la misma letra indican similitud estadística sólo dentro de cada fecha de evaluación

No obstante, es de hacer notar que Latado utilizó explantes más pequeños, posiblemente más sensibles a la radiación gamma.

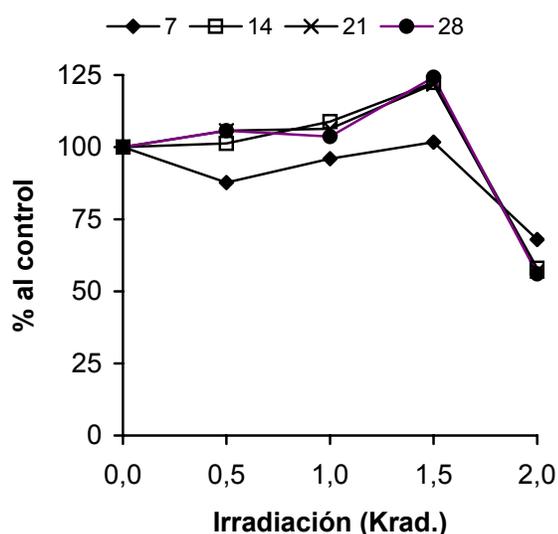


Figura 1. Dosis letal media (DL₅₀) para el porcentaje de sobrevivencia de explantes de crisantemos (*Dendranthema grandiflora* (Ram) Tzvelev) irradiados con diferentes dosis de rayos gamma.

Número de hojas/explantes

Los análisis de varianza para cada una de las fechas de evaluación indicaron diferencias significativas entre los tratamientos. El cuadro 2 muestra la prueba de promedio para el número de hojas/explantes, observándose que en la evaluación a los 7 días después de la siembra las dosis 0,5 y 1,5 Krad tuvieron un mayor número de hojas con respecto a las demás dosis, presentando similitud estadística entre sí. Además se observa que los explantes irradiados con la dosis de 2,0 Krad

presentaron el menor número de hojas. Por otro lado, en la evaluación realizada a los 14; 21 y 28 días después de la siembra la prueba de promedio determinó que los explantes irradiados con las dosis de 1,0 y 1,5 Krad presentaron el mayor número de hojas, siendo nuevamente la dosis 2,0 Krad la que más disminuyó el número de hojas. La figura 2 nos muestra que para todas las fechas de evaluación, la dosis de irradiación que reduce en un 50% el número de hojas por explante se encuentra cerca de 2,0 Krad. Observándose el efecto de la irradiación cuando se utilizan dosis mayores de 1,5 Krad.

Otahola (1999), trabajando con plántulas de parchita del cultivar ‘Golden Star’ reportó que la dosis reductiva media (GR₅₀) para el número de hojas por plántula se encontró entre 1,5 y 2,0 Krad. Por su parte, Broertjes y Van Harten, (1988), indican que con exposiciones crecientes a radiaciones gamma, la frecuencia de mutaciones generalmente se aumenta y la sobrevivencia decrece.

A exposiciones altas se puede inducir muchos eventos mutacionales por célula, con un riesgo creciente de que una mutación favorable sea acompañada por cambios genéticos indeseables.

Crecimiento de los Explantes Irradiados

Los análisis de varianza para cada una de las evaluaciones realizadas indicaron diferencias significativas entre los tratamientos. El cuadro 3 muestra la prueba de promedios para el carácter crecimiento de los explantes en cada una de las fechas de evaluación, observándose que para la primera evaluación, (7 días después de la siembra), los explantes irradiados con la dosis 0,5 y 1,5 Krad y el tratamiento testigo presentaron un mayor crecimiento,

Cuadro 2. Número de hojas/explante de crisantemos (*Dendranthema grandiflora* (Ram) Tzvelev) irradiados con diferentes dosis de rayos gamma en distintas épocas de evaluación.

Dosis de Irradiación (Krad)	Número de hojas/explante			
	7 días después de la siembra	14 días después de la siembra	21 días después de la siembra	28 días después de la siembra
0,0	3,39 B *	6,74 C	9,42 B	11,27 B
0,5	5,38 A	8,14 BC	9,56 B	11,21 B
1,0	4,06 B	9,55 AB	13,38 A	15,63 A
1,5	5,43 A	10,81 A	13,77 A	15,95 A
2,0	1,69 C	3,63 D	5,18 C	7,06 C

* Prueba de ámbitos múltiples de Duncan al 0,05 de probabilidad

Valores con la misma letra indican similitud estadística sólo dentro de cada fecha de evaluación

mientras que para las evaluaciones a los 14; 21 y 28 días después de la siembra los explantes donde se utilizó la dosis 0,5 Krad presentaron un crecimiento más acelerado con respecto a las demás dosis utilizadas. En todas las fechas evaluadas los explantes irradiados con la dosis 2,0 Krad presentaron el menor crecimiento.

En general, se observó que a medida que transcurren los días aumenta la tasa de crecimiento, observándose sin embargo que el crecimiento de los explantes es muy lento en los primeros días (entre 7 y 14 días) pero después de esta fecha se produce un crecimiento acelerado de los explantes en todas las dosis de irradiación, a excepción de la dosis de 2,0 Krad, donde prácticamente no se observó crecimiento

de los explantes.

La figura 3 nos muestra la determinación de la dosis de irradiación que reduce en un 50% el crecimiento de los explantes, observándose que la misma se encuentra entre las dosis 1,5 y 2,0 Krad a los 21 y 28 días después de la siembra, cercana a 1,0 Krad a los 14 días después de la siembra y cercana a 0,5 Krad en la evaluación 7 días después de la siembra.

Se espera que al aumentar las dosis de irradiación disminuya el crecimiento de los explantes, sin embargo se observó que la dosis de 0,5 Krad incrementó el crecimiento de los explantes en todas las fechas de evaluación. Además en dosis altas se observó un comportamiento errático de los explantes, lo cual puede ser causado por las variaciones normales en el crecimiento de la planta o por efecto de la irradiación.

El efecto observado sobre el crecimiento de los explantes irradiados con dosis bajas se presenta con mucha frecuencia en los trabajos de inducción de mutaciones con mutágenos físicos, siendo más frecuente en el caso de explantes “*in vitro*”, pero también se presenta en semillas y otros materiales vegetales. Pareciera que las dosis bajas de irradiación tiene un efecto estimulador sobre algunos reguladores de crecimiento naturales de las plantas, lo cual induce un mayor crecimiento en los mismos (Otahola, 1999).

Latado (1993), trabajando con cultivos “*in vitro*” y utilizando dos variedades de crisantemos, encontró que para el cultivar ‘Repin’ la dosis que redujo en un 50% la altura de las plantas fue la de 2,00 Krad y para el cultivar ‘Tinsel’ fue de 2,25 Krad, valores mayores a los encontrados en este ensayo.

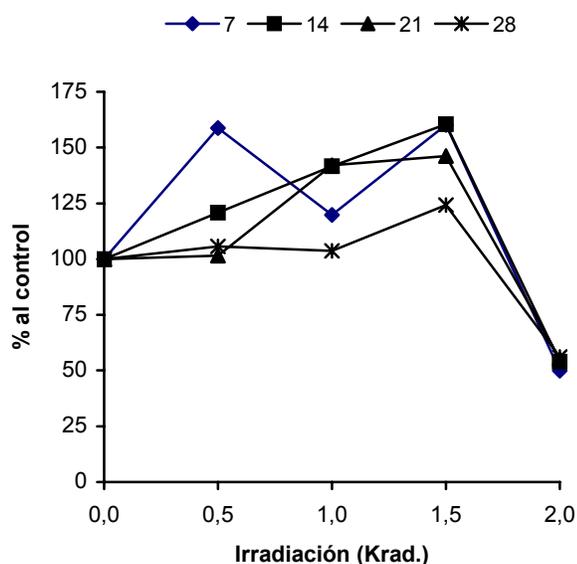


Figura 2. Dosis reductiva media (GR₅₀) para el número de hojas/explantes de crisantemo (*Dendranthema grandiflora* (Ram) Tzvelev) irradiados con diferentes dosis de rayos gamma.

Cuadro 3. Tasa de crecimiento de los explantes de crisantemos (*Dendranthema grandiflora* (Ram) Tzvelev) irradiados con diferentes dosis de rayos gamma en distintas épocas de evaluación.

Dosis de Irradiación (Krad)	Tasa de crecimiento (mm/día)			
	7 días después de la siembra	14 días después de la siembra	21 días después de la siembra	28 días después de la siembra
0,0	0,19 AB *	0,15 B	0,28 B	0,63 B
0,5	0,23 A	0,27 A	0,46 A	0,93 A
1,0	0,13 B	0,03 CD	0,22 BC	0,56 B
1,5	0,15 AB	0,08 C	0,19 C	0,46 B
2,0	0,03 B	0,00 D	0,03 D	0,01 C

* Prueba de ámbitos múltiples de Duncan al 0,05 de probabilidad

Valores con la misma letra indican similitud estadística sólo dentro de cada fecha de evaluación

Broertjes *et al* (1980) indican que la dosis letal media para el crecimiento de crisantemos en cultivo “in vitro” esta entre 1,0 y 2,0 Krad. Resultados muy similares a los obtenidos en este ensayo. Sin embargo, Broertjes y Van Harten, (1988) indican que la dosis letal media para este carácter está por encima de 2,5 Krad.

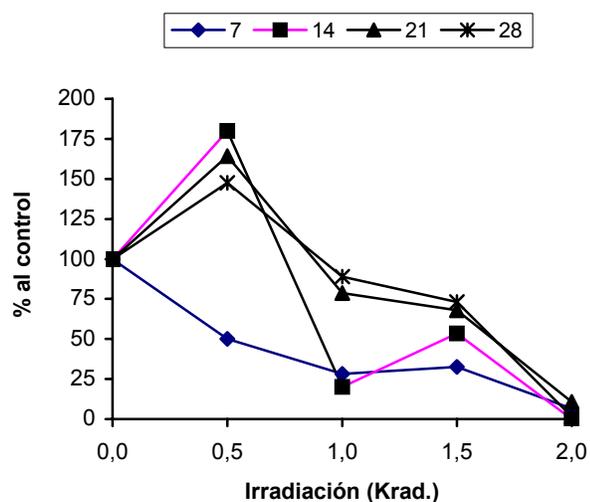


Figura 3. Dosis Reductiva Media (DR₅₀) para el crecimiento de los explantes de crisantemo (*Dendranthema grandiflora* (Ram) Tzvelev) irradiados con diferentes dosis de rayos gamma.

Evaluación de mutantes

En el cuadro 4, se muestran los resultados obtenidos en el número y frecuencia de mutantes de color de la flor para cada una de las dosis de irradiación, observándose que la dosis 1,0 Krad

presenta un 60,00 % de mutantes de color de 18 plantas florecidas, siendo mayor que la frecuencia de mutantes observada cuando se irradiaron los explantes con dosis 0,5 y 1,5 Krad las cuales presentaron una frecuencia de 38,88 % y 25,00 % respectivamente y se comportaron estadísticamente iguales entre sí. Así mismo no se observaron variaciones en el color de los capítulos de las plantas desarrolladas a partir de los brotes que no fueron irradiadas, lo cual hace suponer que no se presentó variación somaclonal como consecuencia del cultivo “in vitro”

Matsumoto y Onozawa (1989) utilizaron rayos gamma para inducir mutaciones “in vitro” en crisantemo, con dosis de 3,25 a 3,50 Krad e indican que de 45 regenerantes sobrevivientes, 16 fueron de color de flores variables (35,50%) y 8 fueron mutantes no quiméricos, valores más bajos que los obtenidos en el presente ensayo.

Latado (1993), trabajando con crisantemos del cultivar ‘Repin’ rosa a través de pedicelos florales irradiados con 0,8 Krad obtuvo una frecuencia de 6,52% de mutantes para el color de la flor y 0,14% de mutantes de forma irregular de una población evaluada de 690 plantas. Estos valores confirman que existen diferencias en los genotipos tanto en la regeneración como en la radiosensibilidad a rayos gamma.

Es de hacer notar que las plantas irradiadas con 0,5 y 1,0 Krad fueron las primeras en presentar flores abiertas a partir de la octava semana, el control y la dosis 1,5 Krad presentaron flores abiertas a partir de la novena semana.

Cuadro 4. Número y frecuencia de mutantes en el color de la flor en plantas de crisantemo (*Dendranthema grandiflora* (Ram) Tzvelev), irradiadas con diferentes dosis de rayos gamma.

Dosis (Krad)	Plantas Evaluadas	Plantas Florecidas	%	Mutante de color de la flor	
				Número	% *
0,0	30	24	80,00	0	0,00 C
0,5	36	35	97,22	14	38,88 B
1,0	40	36	90,00	24	60,00 A
1,5	24	18	75,00	6	25,00 B

* Letras iguales significan similitud estadística según prueba de t student (Sokal y Rohlf, 1969)

El porcentaje de mutantes obtenidos en el presente trabajo fue mayor que el de Latado, aunque este autor solo seleccionó mutantes sólidos, mientras que la mayoría de los mutantes obtenidos en el presente trabajo fueron quiméricos. La razón principal de esto fue debido al hecho de que Latado irradió pedicelos florales inmediatamente después de la inoculación, mientras que en este trabajo se irradiaron brotes de crisantemo regenerados a partir de pedicelos florales pero con un tamaño de 3 cm o más, lo cual aumenta las probabilidades de obtener mutantes quiméricos.

Según varios autores los cultivares de color rosa al ser irradiadas, dan origen a un mayor número de mutantes, seguida de los cultivares de colores: blanco, bronce, rojo, amarillo, salmón, naranja, amarillo bronce y marrón.

CONCLUSIONES

El mayor porcentaje de sobrevivencia de los explantes de crisantemos se obtuvo con la dosis de irradiación de 1,5 Krad y el menor porcentaje de sobrevivencia lo presentó la dosis de 2,0 Krad. Por otro lado, ninguna de las dosis de irradiación utilizadas produjo la mortalidad del 50,00% de los explantes de crisantemos.

El mayor número de hojas por explante se obtuvo con las dosis de irradiación 1,0 y 1,5 Krad. Además, la dosis de irradiación 2,0 Krad redujo la formación de hojas en un 50,00%. Sin embargo, la mayor tasa de crecimiento de los explantes se obtuvo con la dosis de irradiación de 0,5 Krad.

Al irradiar los explantes con 1,0 Krad se obtuvo un 60,00 % de mutante en el color de la flor, siendo mayor que la frecuencia obtenida en las demás dosis.

La irradiación con rayos gamma y con dosis cercanas a 1 Krad puede ser una herramienta muy útil en la producción de plantas mutantes en el color de la flor de crisantemo y en la obtención de nuevos cultivares con flores más vistosas y atrayentes hacia los consumidores

LITERATURA CITADA

- Bowen, H. J. 1965. Mutations in horticultural Chrysanthemums Radiation Botany 5 (Suppl.): 695-700.
- Broertjes, C.; Koene, P and Vav Veen, J. 1980. Irradiation of Progressive Radiation induced mutants in an mutation breeding programmed with *Chrysanthemum morifolium* Ram. Euphytica 29 (3): 525-530.
- Broertjes, C and Van Harten, A. 1988. Applied mutation breeding for vegetatively propagated crops. Amsterdam, Elsevier Science Pub. Co, 345 p.
- Datta, S. K. and Man Bhawan. 1987. New chrysanthemum cultivar induced by gamma radiation. J. Nuclear Agric. Biol 16 (4): 217-218.
- De Jong, J. and Custer, J. B. 1986. Induced changes in growth and flowering of chrysanthemum after irradiation and in vitro culture of pedicels and petals epidermis. Euphytica 35 (1): 137-148.
- Donini, B. and Micke, A. 1984. Use of induced mutations in improvement of vegetatively propagated crops. I.A.E.A., 305: 79- 98.

- Dowrick and El-Bayoumi. 1966. The induction of mutations in chrysanthemum using X and gamma radiation. *Euphytica* 15 (2): 204-210.
- Gupta, M. N. and Jugran, H. M. 1978. Mutation breeding of chrysanthemum II. Detection of gamma ray induced somatic mutation in VM₂. *J. Nuclear Agric. Biol.* 7: 50-54.
- Lata, P. 1980. Effect of ionizing radiation on roses: Induction of somatic mutations. *Environmental and Experimental Botany* 20: 325-333.
- Latado, R. 1993. Inducao e uso de mutacoes "in vivo" e "in vitro" no melhoramento do *Chrysanthemum morifolium* Ram. Dissertacao apresentada a Escola Superior na Agricultura "Luis de Queiroz" da Universidade de Sao Paulo, para obtacao do título e Mestre en Agronomía, Area de Concentracao: Genética e Melhoramento de Plantas. Piracicaba. Estado de Sao Paulo, Brasil. 102 pp.
- Matsumoto, H. and Onozawa, Y. 1989. Development of nonchimaeric mutation lines through *in vitro* culture of florets in *Chrysanthemum*. Scientific Report of de Faculty of Agriculture, Ibaraki University. N° 37, p. 63 – 69.
- Otahola, G., V. A. 1999. Radiosensibilidad de las semillas y diferentes tipos de explantes en cultivo "in vitro" de parchita (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg.) a radiaciones gamma. Trabajo de Grado para Magíster Scientiarum en Agricultura Tropical. Centro de Estudios de Post-grado del Núcleo Monagas. 155 pp.
- Roest, S. Y. and Bokelmann, G. S. 1975. Vegetative propagation of *Chrysanthemum morifolium* Ram. *in vitro*. *Sci. Horticultura* 3: 317-330.
- Salinger, J. P. 1991. Producción comercial de flores. Editorial Acribia, S. A. Zaragoza, España. 324 p.
- Sokal R. R. y Rohlf, F. J. 1969. Biometría. Principios y métodos estadísticos en la investigación biológica. Traducido por M. Lahoz León. H. Blume Ediciones. Madrid, España. 832 pp.
- Tulmann, N., A. 1997. Mutaciones en el mejoramiento de plantas de propagación sexual. Curso Internacional de Mutaciones Inducidas en el Mejoramiento de las Plantas, Estado Monagas, Venezuela (s/p).
- Yamaguchi, T. 1987. Mutation breeding of ornamental plants. *Bulletin of the Institute of Radiation Breeding* 7: 49-67.