USO DE MUTAGÊNESE NO MELHORAMENTO GENÉTICO DE PLANTAS

Gabriel Brom Vilela^{1,2}
João Pedro Novais Queiroz Guimaraes²
Thiago Resende Carvalho³
Eric Mateus Nascimento de Paula⁴

Resumo: Mutagênese é um processo de modificação do ácido desoxirribonúcléicos (DNA) de um organismo que resulta em uma alteração genética permanente e hereditária. Ocorrendo de forma espontânea ou induzida através dos resultados mutagênicos. Sendo utilizada muito na agricultura para aumentar a produtividade das lavouras através de plantas mais produtivas, resistentes e adaptáveis, tornando essas características importante nos rendimentos em diversas lavouras. Este trabalho objetivou descrever os aspectos que envolve a mutagênese no melhoramento de plantas e consequentemente o aumento da produtividade nas lavouras. Para tanto, desenvolveu-se aqui uma pesquisa bibliográfica sobre o tema, em bases de dados como Google Acadêmico, Scielo e Periódicos Capes, fazendo uso das palavras-chave: mutagênese, plantas e melhoramento genético. Os agentes mutagênicos que são os agentes de mutações ocorrem de forma natural e artificial (químico e físico), podendo ser modificado em todas as partes das plantas, sendo a semente o material mais utilizado. Os materiais de partida para a indução de mutações são cortes vegetativos, mudas ou tecidos cultivados in vitro. O efeito mutagênico resulta na quebra da fita de DNA, onde estabelece e prioriza as características desejáveis das plantas. Dessa forma conclui-se que a mutagênese favorece e contribui no surgimento de novos cultivares, através de melhoramento genético, proporcionando um maior rendimento nas lavouras. Sendo por tanto necessários intensificações da pesquisa afim de ampliar os conhecimentos bem como os benefícios dessa técnica.

Palavras-chave: Melhoramento vegetal. Mutação genética. Produtividade.

⁴ Docente do Centro Universitário de Mineiros – UNIFIMES.









¹ Agente de Serviço Administrativo do Centro Universitário de Mineiros – UNIFIMES. E-mail: gabrielbrom@hotmail.com

² Discente do Programa de Pós-graduação em Agronomia (Área de concentração: Agronomia Sustentável), nível mestrado, da Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul – UEMS.

³ Discente do Curso de Agronomia do Centro Universitário de Mineiros – UNIFIMES.

INTRODUÇÃO

Os caçadores-coletores pré-históricos dependem de suas habilidades de caça e da abundante vegetação natural para obter frutas, tubérculos, sementes e outros alimentos nãovenenosos e nutritivos. Com o crescimento da população humana, suprimentos de alimentos maiores e mais seguros tiveram que ser encontrados e, gradualmente, sistemas de produção em larga escala baseados na domesticação de plantas foram desenvolvidos. O meio pelo qual novas variedades de plantas foram desenvolvidas para cultivo e usadas por humanos é chamado de melhoramento de plantas. Primeiramente, a simples seleção da prole desejável foi o primeiro método de reprodução e este selecionou a ocorrência de mutações espontâneas (OLADOSU et al., 2016).

O desenvolvimento agrícola sempre esteve em movimento no sentido de aumentar a produtividade das culturas. O uso sustentável dos recursos naturais deve ser sabiamente administrado em combinação com o enriquecimento do conhecimento adquirido da ciência e tecnologia. Comida global a segurança continua a ser a primeira questão e os melhoristas de plantas são obrigados a sustentar a produção de alimentos para atender a demanda de a crescente população humana do mundo (BEZIE et al., 2021).

É bem sabido que a evolução e o melhoramento prático dependem da variação genética. As variações encontradas na natureza não representam os espectros originais das mutações espontâneas. Em vez disso, eles são o resultado da recombinação de genótipos dentro de populações e de sua interação contínua com fatores ambientais. As plantas verdes são essenciais para a existência humana como fonte de alimentos, roupas e recursos energéticos (OLADOSU et al., 2016).

A mutagênese dirigida ao local é uma das ferramentas moleculares recentes entre as tecnologias de melhoramento de culturas (SAUER et al., 2016). O principal objetivo da reprodução assistida por mutação é desenvolver e melhorar variedades de plantas bem adaptadas por modificar um ou dois traços principais (OLADOSU et al., 2016). O desenvolvimento de mutação direcionada tornou-se uma fonte de variação genética que, por sua vez, se tornou um recurso para a planta criadores. Portanto, o melhoramento de plantas com suporte de mutação pode desempenhar um papel crucial na abordagem as incertezas das









mudanças climáticas globais e os desafios da insegurança alimentar (MOHAN JAIN; SUPRASANNA, 2011).

Desta forma, o objetivo do presente trabalho é abordar os principais aspectos que envolvem a mutagênese em plantas e sua aplicação no melhoramento genético vegetal.

METODOLOGIA

Trata-se de uma revisão de literatura em que foram consultadas as bases de dados como Google Acadêmico, Scielo e Periódicos Capes, fazendo uso das palavras-chave: mutagênese, plantas e melhoramento genético. A pesquisa foi realizada nos idiomas português e inglês, durante o período de outubro e novembro de 2021.

REVISÃO DE LITERATURA

Definição de Mutagênese

Mutagênese é o processo pelo qual os ácidos desoxirribonucléicos (DNA) de um organismo mudam, resultando em uma mutação genética. Uma mutação é uma mudança permanente e hereditária no material genético, que pode resultar em função proteica alterada e mudanças fenotípicas. O DNA consiste em nucleotídeos que contêm uma estrutura de fosfato, um açúcar desoxirribose e uma das quatro bases contendo nitrogênio (adenina [A], guanina [G], citosina [C] e timina [T]). A mutagênese do DNA ocorre espontaneamente na natureza ou como resultado de mutagênicos (agentes com predisposição para alterar o DNA). Além disso, técnicas de genética molecular, como a reação em cadeia da polimerase (PCR), revolucionaram a forma como as mutações são obtidas e estudadas. A mutagênese é a força motriz da evolução; no entanto, também pode causar câncer e doenças hereditárias (DURLAND; AHMADIAN-MOGHADAM; 2021).

Aplicabilidade da Mutagênese no Melhoramento de Plantas

As tecnologias de melhoramento genético de mutagênese originaram-se na década de 1930 e têm mais de 80 anos de aplicação global no desenvolvimento de novas culturas agrícolas e variedades de vegetais. A reprodução mutagênica expõe as plantas a produtos











químicos ou radiação, que são então cultivados para determinar quais mudanças genéticas ocorreram. A mutagênese, como resultado, é comumente referida como melhoramento convencional de plantas (WILLIAMS; GLEIM; SMYTH, 2021).

A mutagênese induzida pode criar características desejáveis em altas taxas para os melhoristas de plantas para iniciar programas de melhoramento de safras e produzir novas variedades de safras por meio da reprodução por mutação. Os procedimentos de reprodução por mutação têm contribuído enormemente para o melhoramento das culturas, desenvolvendo e lançando oficialmente milhares de variedades de culturas melhoradas. A mutagênese induzida, pode contribuir comprovadamente para liberar o potencial dos recursos genéticos vegetais e, assim, disponibilizar aos melhoristas de plantas as matérias-primas necessárias para gerar as variedades de culturas inteligentes previstas. As variedades de culturas geradas por meio de explorações de reprodução por mutação estão contribuindo significativamente para a segurança alimentar e nutricional global e melhores meios de subsistência (BHAT, 2021).

Atualmente, os desafios globais de rápido crescimento populacional, mudanças climáticas abruptas, aquecimento global, redução da fertilidade do solo e terras agrícolas foram os principais contribuintes para a redução da produtividade das lavouras e subsequente segurança alimentar. O melhoramento de plantas é uma das ferramentas utilizadas para alterar os caracteres das plantas para melhorar a qualidade de vida humana. A mutagênese no melhoramento de plantas é a fonte para a incorporação de características desejáveis nas lavouras para a produção de novas variedades. Essas variedades modificadas são geralmente superiores às anteriores em termos de rendimento, qualidade e resistência contra estresses bióticos e abióticos (YOUSAF; REHMAN; QAISAR, 2021).

As técnicas tradicionais de melhoramento de plantas são responsáveis pelo desenvolvimento de novas variedades de plantas cultivadas. Em certos casos em que as técnicas convencionais de melhoramento de plantas falham, as mutações induzidas são as fontes de trazer características desejáveis nas plantas de cultivo (KHAN; WANI, 2004).

História da Mutagênese em Plantas

Foi sugerido que a história de mutação de planta pode ser rastreada até 300 a.C, com relatos de safras mutantes na China. As mutações como mecanismo de criação de











variabilidade foram identificadas pela primeira vez por Hugo de Vries no final do século XIX, enquanto fazia experiências na "redescoberta" das leis de herança de Mendel (KHARKWAL, 2012).

Ele considerou essa variabilidade como mudanças hereditárias por mecanismos muito distintos da segregação e recombinação. Ele descreveu essa ocorrência como mudanças rápidas nos organismos, que eram hereditárias e, portanto, produziram efeitos relativamente grandes na aparência fenotípica do organismo. Ele então cunhou o termo "mutação" e apresentou um conceito integrado relativo à ocorrência de mudanças repentinas e semelhantes a choques (saltos) de características existentes que levam ao desenvolvimento de uma nova espécie e variação. Mutações induzidas por radiação como uma ferramenta para gerar nova variabilidade genética em plantas avançadas como um campo após a descoberta da ação mutagênica de raios-X demonstrada em milho, cevada e trigo por Stadler (OLADOSU et al., 2016).

A primeira variedade mutante comercial foi produzida no tabaco em 1934. Antes de 1995, relatou 77 cultivares que foram desenvolvidas por meio de mutagênese. Em 1995, o número de variedades lançadas comercialmente aumentou para 484. Esse número aumentou drasticamente, com novas variedades mutantes sendo continuamente relatadas em diferentes continentes (Figura 1). Algumas das plantas incluem árvores frutíferas (por exemplo, maçã, cítrico, pêssego), plantas ornamentais (por exemplo, crisântemo, dália, poinsétia), culturas alimentares (por exemplo, arroz, cevada, trigo, milho, ervilha), etc (ACQUAAH, 2006).

Características agronômicas modificadas devido a reprodução por mutação inclui resistência ao alojamento, maturidade precoce, robustez no inverno, qualidade do produto (por exemplo, conteúdo de proteína e lisina) e numerosos mutantes ornamentais. Como uma ferramenta de melhoramento, a mutagênese se tornou muito popular a partir da década de 1950, quando uma grande variedade de espécies de plantas ornamentais e de cultivo foram predominantemente tratadas por irradiação para aumentar a variação de características (LEITÃO, 2012).

Agentes mutagênicos

Os agentes de mutações artificiais são chamados de mutagênicos. Eles são geralmente agrupados em duas categorias amplas, ou seja, mutagênicos químicos e mutagênicos físicos











(MBA et al., 2010). Tradicionalmente, para induzir mutações em safras, os materiais de plantio são expostos a agentes mutagênicos físicos e químicos. A mutagênese pode ser realizada com todos os tipos de materiais de plantio, plantas inteiras, geralmente mudas e células cultivadas in vitro. No entanto, o material vegetal mais comumente usados é a semente. Múltiplas formas de propágulos vegetais, como bulbos, tubérculos, rebentos e rizomas (WANI et al., 2014) e, mais recentemente, a indução de mutações em plantas propagadas vegetativamente está se tornando mais eficiente à medida que os cientistas aproveitam a totipotência (capacidade de uma única célula se dividir e produzir todas as células diferenciadas em um organismo para se regenerar em plantas inteiras) usando células únicas e outras formas de tecidos vegetais cultivados in vitro (MBA, 2013).

Os materiais de partida para a indução de mutações são cortes vegetativos, mudas ou tecidos cultivados in vitro como explantes de folhas e caule, anteras, calli, culturas de células, micrósporos, óvulos, protoplastos etc. Gâmetas, geralmente dentro das inflorescências, também são visados para tratamentos mutagênicos por meio da imersão de pontas, borlas, etc (Wani et al., 2014) Enquanto os mutagênicos químicos são preferencialmente usados para induzir mutações pontuais, os mutagênicos físicos induzem lesões macroscópicas, como abreviações cromossômicas ou rearranjos (KHARKWAL; SHU, 2009).

A frequência e os tipos de mutações são resultados diretos da dosagem e da taxa de exposição ou administração do mutagênico, e não de seu tipo. No final, a escolha de um mutagênico será baseada na maioria das vezes nas circunstâncias particulares do pesquisador, como segurança de uso, facilidade de uso, disponibilidade de mutagênicos, eficácia na indução de certas alterações genéticas, tecido adequado, custo e disponibilidade infraestrutura, entre outros fatores (MBA, 2013).

Agentes mutagênicos físicos

Nos últimos 80 anos, mutagênicos físicos, principalmente radiações ionizantes, têm sido amplamente usados para induzir alterações hereditárias e mais de 70% das variedades mutantes foram desenvolvidas usando mutagênese física (MBA; AFZA; SHU, 2012). A radiação é definida como energia viajando por uma distância na forma de ondas ou partículas. Esses são níveis de energia relativamente alta do espectro eletromagnético, que são capazes de desalojar elétrons das órbitas nucleares dos átomos sobre os quais eles impactam.











Os átomos impactados, portanto, tornam-se íons. Daí o termo radiação ionizante. Esses componentes ionizantes do espectro eletromagnético incluem raios cósmicos, gama (γ) e raios-X (MBA, 2013).

Os raios-X foram os primeiros a serem usados para induzir mutações. Desde então, várias partículas subatômicas (nêutrons, prótons, partículas beta e partículas alfa) foram geradas usando reatores nucleares (ACQUAAH, 2006). A radiação gama de cobalto radioativo é amplamente utilizada. Possui alto potencial de penetração e é perigoso. No entanto, pode ser usado para irradiar plantas inteiras e materiais delicados, como grãos de pólen. Vários mutantes foram desenvolvidos por meio da radiação gama (OLADOSU et al., 2016).

O efeito mutagênico resulta principalmente de quebras de fita dupla de DNA. Os mutantes apresentam maior potencial para melhorar a arquitetura da planta, levando a um melhor aprimoramento da cultura, e são usados como uma ferramenta complementar no melhoramento de plantas (KHIN, 2006). Os raios gama têm um comprimento de onda mais curto e, portanto, possuem mais energia do que os prótons e os raios X, o que lhes dá a capacidade de penetrar mais profundamente no tecido (AMANO, 2006). Os nêutrons são perigosos e, portanto, têm menos capacidade de penetração, mas são conhecidos por causar sérios danos aos cromossomos. Eles são mais usados para materiais, como sementes secas (ACQUAAH, 2006).

Várias formas de nêutrons também foram estudadas extensivamente para uso em mutagênese nas décadas de 1960 e 1970. Embora tenha sido provado ser um mutagênico eficaz, particularmente para a produção de grandes deleções de fragmentos de DNA, a aplicação de nêutrons na mutagênese induzida é limitada (KHARKWAL, 2012). O efeito mutagênico da luz ultravioleta foi descoberto por meio da irradiação das células da capa polar de ovos de mosca da fruta. O potencial mutagênico desses raios já foi confirmado em muitos organismos. Nesses organismos, o tecido germinativo pode ser facilmente exposto à luz ultravioleta de baixa penetração, o que resultou na dimerização covalente da pirimidina adjacente (NAITO et al., 2005).

A emissão de luz UV (250-290 nm) tem uma capacidade modesta de infiltrar os tecidos em comparação com radiação ionizante. A emissão ionizante penetra mais profundamente no tecido e pode causar muitas variações na composição química. A principal











vantagem de usar mutagênese física em comparação com a mutagênese química é o grau de precisão e reprodutibilidade suficiente, particularmente para raios gama, que têm um poder de penetração uniforme no tecido (YAMAGUCHI et al., 2003).

Os feixes de íons por implantação ou irradiação se tornaram um novo tipo de mutagênico físico, em vez dos amplamente usados raios gama, raios X e nêutrons (MATSUMURA et al., 2010). Eles consistem em partículas que viajam ao longo de um caminho que varia em massa, de um simples próton a um átomo de urânio, que são gerados por meio de aceleradores de partículas (ABE et al., 2002). Os íons carregados positivamente são acelerados em alta velocidade (cerca de 20% -80% da velocidade da luz) e formam radiação de alta transferência linear de energia (LET). A radiação LET causa efeitos biológicos significativos, como aberração cromossômica, letalidade, etc., em comparação com outros tipos de radiação usados na mutagênese física. O dano causado pelos feixes de íons às fitas duplas do DNA é menos reparável quando comparado ao induzido pelos raios gama devido à deleção de fragmentos de DNA de vários tamanhos (BUGHIO et al., 2007).

Mais recentemente, para estudar os meandros da indução de mutação no espaço, materiais vegetais foram enviados ao aeroespacial. Especula-se que o ambiente especial do vôo espacial, como radiação cósmica, microgravidade, campo geomagnético fraco etc. contém os agentes potenciais de indução de mutação. No entanto, o conhecimento da genética subjacente à mutagênese aeroespacial é ainda escasso (KHARKWAL, 2012).

Do passado ao presente, as doses que levam a 50% de letalidade (LD50) costumam ser escolhidas. Pode-se argumentar que o LD50 é bastante arbitrário e pode levar a um alto número de mutações (principalmente deletérias) em cada planta. Isso poderia ir ao ponto de as mutações desejáveis serem perdidas ou negligenciadas devido à mortalidade da planta ou ao desempenho agronômico pobre em gerações após a mutagênese. Portanto, uma taxa de mutação direcionada a um LD inferior (por exemplo, LD20) com uma taxa de sobrevivência de 80% parece ser mais adequada para a criação de mutações em espécies de plantas autofecundadas (OLDACH, 2011). As doses finais para o tratamento mutagênico devem ser bastante baixas se o objetivo é adicionar novas características a um fundo genético já de alta qualidade, como variedades ou linhagens de elite. Eles concluíram que as doses com um LD50 geralmente aplicadas nos programas de melhoramento genético das décadas de 1960 e











1970 eram muito altas e, portanto, não levaram ao sucesso esperado com essa tecnologia (MALUSZYNSKI et al., 2009).

As radiações ionizantes causam mutações ao quebrar ligações químicas na molécula de DNA, deletando um nucleotídeo ou substituindo-o por um novo. A importância de a radiação ser aplicada na dose adequada, fator que depende da intensidade da radiação e do tempo de exposição. A dosagem de radiação é comumente medida em unidades Roentgen (r ou R). A exposição pode ser crônica (dose baixa contínua administrada por um longo período) ou aguda (dose alta por um curto período). A qualidade da mutação (proporção de mutações úteis) não está necessariamente correlacionada positivamente com a taxa de dose. É do conhecimento comum que uma dose elevada não produz necessariamente os melhores resultados (ACQUAAH, 2006).

A dose de mutagênico usada deve ser um meio-termo entre a carga de mutação e a chance de encontrar as mutações desejáveis, e isso depende muito do custo-benefício da seleção. A triagem de populações mutantes maiores que se originam de uma dose mais baixa de mutagênico pode ser viável para características com critérios de seleção fenotípica simples, como maturidade precoce. Por outro lado, a triagem da mesma população para características fenotípicas complexas, como a qualidade da proteína da semente, não seria viável (OLADOSU et al., 2016).

Agentes mutagênicos químicos

O efeito de mutagênicos químicos em materiais vegetais é geralmente considerado mais brando. Uma vantagem dos agentes químicos mutagênicos é que eles podem ser aplicados sem equipamentos ou instalações complicadas. A proporção de modificações mutacionais para indesejáveis é geralmente maior para mutagênicos químicos do que para mutagênicos físicos (ACQUAAH, 2006).

Normalmente, o material é embebido em uma solução do mutagênico para induzir mutações. No entanto, os mutagênicos químicos são geralmente cancerígenos e, portanto, cuidados extras devem ser tomados para a proteção da saúde durante o procedimento. As fichas de dados de material e segurança para o mutagênico químico específico escolhido devem ser lidas cuidadosamente e o agente deve ser adequadamente inativado antes do











descarte. Apesar do grande número de compostos mutagênicos, apenas um pequeno número foi testado em plantas (WANI et al., 2014).

Entre eles, apenas um grupo muito restrito de agentes alquilantes encontrou grande aplicação na mutagênese experimental de plantas e no melhoramento de mutações de plantas. Mais de 80% das novas variedades de plantas mutantes registradas no banco de dados da International Atomic Energy Association (IAEA) obtidas por meio de mutagênese química foram induzidas por agentes alquilantes (IAEA, 2021). Destes, três compostos são significativos: etilmetanossulfonato (EMS), 1-metil-1-nitrosoureia e 1-etil-1-nitrosoureia, que representam 64% dessas variedades. Para revisão, consulte (WANI et al., 2014).

Os agentes alquilantes podem ser encontrados entre uma grande variedade de classes de compostos, incluindo mostardas de enxofre, mostardas de nitrogênio, epóxidos, etilenoiminas, etilenoimidas, alquil metanossulfonatos, alquilnitrosoureias, alquilnitrosoaminas, alquilnitrosoamidas, haletos de alquil, sulfatos de alquil, alquilfosfatos, cloroetil-sulfatos, cloroetilaminas, diazoalcanos etc. (WANI et al., 2014). Um dos grupos mutagênicos químicos mais eficazes é o grupo de agentes alquilantes (estes reagem com o DNA alquilando os grupos fosfato, bem como as purinas e pirimidinas) (ACQUAAH, 2006).

Outro grupo é o dos análogos de base (eles estão intimamente relacionados com as bases do DNA e podem ser incorporados incorretamente durante a replicação. Uma vantagem clara das mutações pontuais criadas por mutagênicos químicos é seu potencial de gerar não apenas fenótipos de perda de função, mas também de ganho de função, se a mutação levar a uma atividade ou afinidade de proteína modificada (OLDACH et al., 2008). A concentração do mutagênico, a duração do tratamento e a temperatura na qual o experimento é realizado afetam a eficiência da mutagênese. Como os mutagênicos químicos são muito reativos, é importante usar novos lotes de produtos químicos que foram armazenados adequadamente (OLADOSU et al., 2016).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O tema abordado descreve os aspectos que os agentes de mutação são submetidos para que ocorra a mutagênese no melhoramento vegetal, sendo eles físicos e químicos. Além de ensinar as formas e os materiais que podem ser trabalhados para fazer essas alterações no









material genético. Com a mutação no melhoramento vegetal, ocorreu uma grande evolução no campo, a produtividades nas lavouras torna-se cada vez mais altas devido os benefícios, com a existências de plantas mais produtivas, resistentes e adaptáveis as variações climáticas. A mutagênese vem em uma linha crescente sendo umas das alternativas cada vez mais eficiente na questão de diminuir a fome no planeta devido seu aumento na produção de alimentos no campo.

REFERÊNCIAS

ABE, T.; MATSUYAMA, T.; SEKIDO, S.; YAMAGUCHI, I.; YOSHIDA, S.; KAMEYA, T. Chlorophyll-deficient mutants of rice demonstrated the deletion of a DNA fragment by heavy-ion irradiation. **Journal of Radiation Research**, v. 43, n. S, p. S157-S161, 2002.

AMANO, E. Use of induced mutants in rice breeding in Japan. **Plant Mutation Reports**, v. 1, n. 1, p. 21–24, 2006.

BEZIE, Y.; TILAHUN, T.; ATNAF, M.; TAYE, M. The potential applications of site-directed mutagenesis for crop improvement: A review. **Journal of Crop Science and Biotechnology**, v. 24, n. 3, p. 229-244, 2021.

BHAT, T. A. Mutagenesis, Cytotoxicity and Crop Improvement: Revolutionizing Food Science, Cambridge Scholars Publishing: Cambridge, p. 413, 2021

BUGHIO, H. R.; ASAD, M. A.; ODHANO, I. A.; BUGHIO, M. S.; KHAN, M. A.; MASTOI, N. N. Sustainable rice production through the use of mutation breeding. **Pakistan Journal of Botany**, v. 39, n. 7, p. 2457-2461, 2007.

DURLAND, J.; AHMADIAN-MOGHADAM, H. Genetics, Mutagenesis. [Updated 2021 Sep 21]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): **StatPearls Publishing**; jan., 2021.









IAEA. International Atomic Energy Agency. **IAEA mutant database.** Vienna: International Atomic Energy Agency; 2021. Disponível em: http://mvd.iaea.org/

KHAN, S.; WANI, M. R. Studies on the effect of EMS and MMS on biological damage and quantitative characters of mungbean. **Vegetos**, v. 17, p. 15-20, 2004.

KHARKWAL, M. C. **A brief history of plant mutagenesis**. *In:* SHU, Q. Y.; FORSTER, B. P.; NAKAGAWA, H. Plant mutation breeding and biotechnology. Wallingford: CABI; 2012. p. 21–30.

KHARKWAL, M. C.; SHU, Q. Y. The role of induced mutations in world food security. In: Shu QY, editor. Induced plant mutations in the genomics era. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, p. 33–38, 2009.

KHIN, T. N. Rice mutation breeding for varietal improvement in Myanmar. Plant Mutation Reports, n. 1, p. 34–36, 2006.

LEITĀO, J. M. **Chemical mutagenesis.** *In:* SHU, Q. Y.; FORSTER, B. P.; NAKAGAWA, H. Plant mutation breeding and biotechnology. Wallingford: CABI; 2012. p. 135–158.

MALUSZYNSKI, M.; SZAREJKO, I.; BHATIA, C. R. Methodologies for generating variability. *In:* CECCARELLI S, GUIMAR EP, WELTZIEN E. **Plant breeding and farmer participation.** Rome: Food and Agriculture Organization (FAO); 2009. Disponível em: http://www.fao.org/docrep/012/i1070e/i1070e00.htm

MATSUMURA, A.; NOMIZU, T.; FURUTANI, N.; HAYASHI, K.; MINAMIYAMA, Y.; HASE, Y. Ray florets color and shape mutants induced by 12C5+ ion beam irradiation in chrysanthemum. **Scientia Horticulturae**, v. 123, n. 4, p. 558-561, 2010.

MBA, C.; AFZA, R.; BADO, S.; JAIN, S. M. Induced mutagenesis in plants using physical and chemical agents. **Plant cell culture: essential methods**, v. 20, p. 111-130, 2010









MBA, C., AFZA, R., SHU, Q. Y. Mutagenic radiations: X-rays, ionizing particles and ultraviolet. *In:* SHU, Q. Y.; FORSTER, B. P.; NAKAGAWA, H. Plant mutation breeding and biotechnology. Wallingford: CABI; 2012. p. 83–90.

MBA, C. Induced mutations unleash the potentials of plant genetic resources for food and agriculture. **Agronomy**, v. 3, n. 1, p. 200-231, 2013.

MOHAN JAIN, S.; SUPRASANNA, P. Induced mutations for enhancing nutrition and food production. **Gene Conserve**, v. 10, n. 41, 2011.

NAITO, K.; KUSABA, M.; SHIKAZONO, N.; TAKANO, T.; TANAKA, A.; TANISAKA, T.; NISHIMURA, M. Transmissible and nontransmissible mutations induced by irradiating Arabidopsis thaliana pollen with γ -rays and carbon ions. **Genetics**, v. 169, n. 2, p. 881-889, 2005.

OLADOSU, Y.; RAFII, M. Y.; ABDULLAH, N.; HUSSIN, G.; RAMLI, A.; RAHIM, H. A.; GOUS, M.; USMAN, M. Principle and application of plant mutagenesis in crop improvement: a review. **Biotechnology & Biotechnological Equipment**, v. 30, n. 1, p. 1-16, 2016.

OLDACH, K. H.; PECK, D. M.; CHEONG, J.; WILLIAMS, K. J.; NAIR, R. M. Identification of a chemically induced point mutation mediating herbicide tolerance in annual medics (Medicago spp.). **Annals of Botany**, v. 101, n. 7, p. 997-1005, 2008.

OLDACH, K. H. **Mutagenesis.** *In:* PRATAP, A.; KUMAR, J. Biology and breeding of food legumes. Wallingford: CABI; 2011. p. 208–219.

SAUER, N. J.; MOZORUK, J.; MILLER, R. B.; WARBURG, Z. J.; WALKER, K. A.; BEETHAM, P. R.; SCHÖPKE, C. R.; GOCAL, G. F. Oligonucleotide-directed mutagenesis for precision gene editing. **Plant Biotechnology Journal**, v. 14, n. 2, p. 496-502, 2016.











WANI, M. R.; KOZGAR, M. I.; TOMLEKOVA, N.; KHAN, S.; KAZI, A. G.; SHEIKH, S. A.; AHMAD, P. Mutation breeding: a novel technique for genetic improvement of pulse crops particularly Chickpea (Cicer arietinum L.). **Improvement of crops in the era of climatic changes**, p. 217-248, 2014.

WILLIAMS, C.; GLEIM, S.; SMYTH, S. J. Canadian perspectives on food security and plant breeding. **CABI Agriculture and Bioscience**, v. 2, n. 1, p. 1-11, 2021.

YAMAGUCHI, H.; NAGATOMI, S.; MORISHITA, T.; DEGI, K.; TANAKA, A.; SHIKAZONO, N.; HASE, Y. Mutation induced with ion beam irradiation in rose. **Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms**, v. 206, p. 561-564, 2003.







