

# Concentración óptima de azida sódica en semillas de *Sesamum indicum* var. *escoba blanca* para inducción a mutaciones.

Carrillo, V.

Cita:

Carrillo, V. (2017). *Concentración óptima de azida sódica en semillas de Sesamum indicum* var. *escoba blanca* para inducción a mutaciones (Tesis de Licenciatura). Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Asunción, Asunción, Paraguay.

Dirección estable: <https://www.aacademica.org/violeta.carrillo/2>

ARK: <https://n2t.net/ark:/13683/pxkD/pQE>



Esta obra está bajo una licencia de Creative Commons.  
Para ver una copia de esta licencia, visite  
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>.

*Acta Académica* es un proyecto académico sin fines de lucro enmarcado en la iniciativa de acceso abierto. *Acta Académica* fue creado para facilitar a investigadores de todo el mundo el compartir su producción académica. Para crear un perfil gratuitamente o acceder a otros trabajos visite: <https://www.aacademica.org>.

**Universidad Nacional de Asunción**  
**Facultad de Ciencias Exactas y Naturales**  
**Departamento de Biología**



**“CONCENTRACIÓN ÓPTIMA DE ÁZIDA SÓDICA EN *Sesamum indicum* var.  
*escoba blanca* PARA INDUCCIÓN A MUTACIONES”**

PRESENTA

**VIOLETA CARRILLO PORTILLO**

**Orientador:** Prof. Luis Francisco Marín Insfrán

**Co-orientador:** Dr. Héctor David Nakayama

Trabajo de Grado presentado en el Departamento de Biología de la Facultad de Ciencias  
Exactas y Naturales – Universidad Nacional de Asunción

San Lorenzo, Paraguay

Año 2017

Violeta Carrillo Portillo

Concentración óptima de ázida sódica en *Sesamum indicum* var. *escoba blanca*  
para inducción a mutaciones

**Total de páginas:** 42

**Orientador:** Prof. Lic Luís Marín Insfrán.

**Co-Orientador:** Dr. Hector Nakayama

Trabajo de Grado de Licenciatura en Ciencias Mención Biología.

Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Exáctas y Naturales

San Lorenzo, Paraguay. 2017

Dedicado a:

Mi mamá y mi papá por ser mi mayor soporte a lo largo de este trayecto. Cumplieron y siguen cumpliendo un papel esencial en toda mi vida.

Mi hermano por la paciencia infinita y los consejos.

A todos mis amigos, los que estuvieron desde el principio y a los que llegaron en diversos momentos de este camino.

Agradecimientos:

A mis padres por el incondicional apoyo en todo momento

A mis tutores el profesor Luis Marin y al doctor Héctor Nakayama por guiar mi camino en la realización de éste trabajo

A Alcides Rojas por el apoyo en un momento vital de la elaboración de este material.

A Dayssy Franco por su ayuda en el proceso experimental

Al CEMIT por proveer de los materiales necesarios para llevar a cabo la experimentación.

## Resumen

*Sesamum indicum* es una especie perteneciente a la familia Pedaliaceae, posee un ciclo que oscila entre 80 y 130 días dependiendo de las condiciones climáticas y el entorno el general, cuyo centro de origen se encuentra en la India, sin embargo, hoy día es un cultivo ampliamente distribuido en el mundo. Paraguay es el décimo tercer mayor productor de sésamo en el mundo, mientras que los mayores productores son países como India y China. El sésamo representa una importante fuente de proteínas, aceites y es un cultivo con una fuerte presencia entre los pequeños productores, por lo que mejoramientos en relación al rendimiento y la resistencia son y serán una necesidad en la medida que la demanda vaya en aumento. El uso de mutágenos en general busca generar, comprender y cuantificar frecuencias y patrones de determinados cambios, sea cual sea el elemento de investigación. El ázida de sodio es un mutágeno químico que produce variaciones tanto a nivel fisiológico como morfológico. El objetivo del presente trabajo fue determinar la dosis ideal de ázida sódica para la inducción a mutaciones en semillas de *Sesamum indicum* var. *escoba blanca*. Fueron empleados semillas de sésamo de la variedad *Escoba*, sometidas a concentraciones crecientes de ázida sódica. Se tomaron medida del porcentaje de germinación, la altura de la planta y la longitud de la raíz. En cuanto al porcentaje de germinación se destaca la disminución del mismo a dosis altas y la similitud entre la altura de la planta entre los tratamientos control y 0,3mM de ázida sódica. El tratamiento mutagénico más cercano al  $GR_{40}$  que sería de 2,71875 cm, está dado por el tratamiento 5 (T5) de 0,5. Se recomienda elaborar ensayos con mayores dosis de ázida sódica a las empleadas y mayor tiempo de exposición al mismo, además de ampliar el número de muestras a estudiar.

## Abstract

*Sesamum indicum* is a species that belongs to the Pedaliaceae family, it has a cycle that varies between 80 to 130 days depending on weather and environment. Its center of origin is found in India, however, today it is a crop widely distributed around the world. Paraguay is the thirteenth largest producer of sesame in the world, while the largest producers are countries like India and China. Sesame is an important source of proteins and oils and is a crop with a strong presence among small producers, so that improvements in relation to yield and resistance are and will be a necessity as the demand increases. The use of mutagens in general seeks to generate, understand and quantify frequencies and patterns of certain changes, whatever the research element. Sodium azide is a chemical mutagen that produces variations both physiologically and morphologically. The main goal of the present work was to determine the ideal dose of sodium azide for the induction to mutations in seeds of *Sesamum indicum* var. *escoba blanca*. Sesame seeds of the *escoba* variety were used, submitted to increasing concentrations of sodium azide. The percentage of germination, the height of the plant and the length of the root were measured. Regarding the percentage of germination, the decrease of germination at high doses and the similarity between the height of the plant between the control treatments and 0.3mM of sodium azide stand out. The mutagenic treatment closest to the GR40, that would be 2.71875 cm, is given by the treatment 5 (T5) of 0.5 mM. It is recommended to develop trials with higher doses of sodium azide to those used in this research and longer time of exposure, in addition to expanding the number of samples to be studied.

## Índice general

Introducción .....	1
Pregunta de investigación .....	3
Justificación.....	3
Hipótesis.....	3
Objetivo general .....	3
Objetivos específicos .....	4
Marco teórico .....	4
Mutación y mejoramiento vegetal .....	4
Ázida sódica .....	6
<i>Sesamum indicum</i> .....	7
Clasificación taxonómica .....	9
<i>Var. escoba blanca</i> .....	9
Antecedentes de dosimetría con ázida sódica .....	10
Análisis estadístico .....	13
Metodología .....	14
Resultados .....	16
Discusión.....	30
Conclusión .....	33
Recomendaciones.....	34
Referencias bibliográficas.....	34

## Índice de tablas y figuras

Tabla 1. Medición en centímetros variable altura de la planta.....	17
Tabla 2. Medición en centímetros variable longitud de la raíz.....	17
Figura 1. Porcentaje de germinación.....	18
Figura 2. Promedios de altura de la planta.....	18
Figura 3. Promedios de Longitud de la raíz.....	19
Tabla 3. Estadísticos descriptivos.....	20
Tabla 4. Pruebas de normalidad.....	21
Tabla 5. Estadístico de prueba Kruskal Wallis.....	22
Tablas comparativas U Mann Whitney.....	22
Tabla 6. Estadísticos de contraste para T Control y T0.....	22
Tabla 7. Estadísticos de contraste para T Control y T1.....	23
Tabla 8. Estadísticos de contraste para T Control y T2.....	23
Tabla 9. Estadísticos de contraste para T Control y T3.....	23
Tabla 10. Estadísticos de contraste para T Control y T4.....	24
Tabla 11. Estadísticos de contraste para T Control y T5.....	24
Tabla 12. Estadísticos de contraste para T0 y T1.....	24
Tabla 13. Estadísticos de contraste para T0 y T2.....	25
Tabla 14. Estadísticos de contraste para T0 y T3.....	25
Tabla 15. Estadísticos de contraste para T0 y T4.....	25
Tabla 16. Estadísticos de contraste para T0 y T5.....	26
Tabla 17. Estadísticos de contraste para T1 y T2.....	26
Tabla 18. Estadísticos de contraste para T1 y T3.....	26
Tabla 19. Estadísticos de contraste para T1 y T4.....	27
Tabla 20. Estadísticos de contraste para T1 y T5.....	27
Tabla 21. Estadísticos de contraste para T2 y T3.....	27
Tabla 22. Estadísticos de contraste para T2 y T4.....	28
Tabla 23. Estadísticos de contraste para T2 y T5.....	28

Tabla 24. Estadísticos de contraste para T3 y T4.....	28
Tabla 25. Estadísticos de contraste para T3 yT5.....	29
Tabla 26. Estadísticos de contraste para T4 y T5.....	29

## Introducción

El *Sesamum indicum*, es una planta perteneciente a la familia Pedaliacea, es una oleaginosa que posee un ciclo que oscila entre los 80 y 130 días (Torres & Cristaldo, 2013). Paraguay se ubica como el décimo tercer mayor productor de sésamo en el mundo dentro de una lista liderada por China e India, y es una industria impulsada básicamente por pequeños productores (Ipgri & NBPGR<sub>1</sub>. 2004). La variedad Escoba es la más cultivada en el país y está sujeta, al igual que la mayoría de los cultivos, a factores ambientales (Torres & Cristaldo, 2013). Esta es la razón por la que es necesaria la realización de estudios y trabajos de investigación centrados en la adaptabilidad y mejoramiento del rendimiento de los mencionados cultivos.

La domesticación de los cultivos representa el pilar de la agricultura en la humanidad; a partir de esto el hombre fue seleccionando individuos que reunían las características idóneas para el consumo (Casas & Caballero, 1995) .Esto fue evolucionando con el paso del tiempo, hasta encontrarnos con lo que conocemos como variedades de cultivos, que se caracterizan por la homogeneidad de caracteres dirigidos al consumo humano o al mayor rendimiento del mismo.

Por el continuo crecimiento poblacional y la limitada cantidad de recursos naturales, es que hoy día se utilizan herramientas como la mutagénesis en la producción agrícola para obtener un mayor rendimiento del cultivo en un espacio limitado o mayor resistencia a plagas y a enfermedades, así como también se utiliza para la identificación de genes específicos mediante biología molecular (Ipgri & NBPGR. 2004).

El ázida de sodio es un mutágeno químico, utilizado con frecuencia en el mejoramiento genético, en busca de variabilidad en cultivos en general, y produce variaciones tanto a nivel fisiológico como morfológico (Silva, 1998). Este compuesto se caracteriza por generar mutaciones puntuales al azar, sin producir daños cromosómicos (Sander & Auer, 1977), generando de ésta manera una gran variabilidad que a su vez se traduce en resultados que pueden ser útiles a la hora de

obtener una variante que permita un mayor rendimiento del cultivo de interés (Al-Qurainy & Khan, 2009).

Actualmente existen pocas investigaciones en cuanto a la determinación de dosis ideales de ázida sódica como mutágeno en *Sesamum indicum*. Este trabajo se centrará entonces, en determinar la concentración óptima de ázida sódica para inducir mutaciones al azar en semillas de *Sesamum indicum* de la var. *escoba*.

## **Pregunta de investigación**

¿Cuál es la dosis eficaz de ázida sódica para obtener el GR<sub>40</sub> e inducir mutaciones en semillas de *Sesamum indicum* de la var. *escoba blanca*?

## **Justificación**

La presente investigación se centró en el aporte de un nuevo enfoque en el ámbito del fitomejoramiento en nuestro país, mediante la inducción a mutaciones a través de agentes químicos con la finalidad de generar más variabilidad en la búsqueda de la obtención de variedades que otorguen un mayor rendimiento en el cultivo *Sesamum indicum* var. *escoba blanca*, que es la más cultivada en el país. De esta forma se lograría beneficiar a los pequeños productores agrícolas de la mencionada variedad, pudiendo ellos obtener mayores ganancias con una producción más eficiente y se conseguiría por otro lado, utilizar la ciencia para beneficiar a estos sectores sociales por lo general olvidados.

## **Hipótesis**

A través del ensayo de dosimetría se puede identificar la dosis capaz de disminuir en un cuarenta por ciento el desarrollo de plantines de sésamo, cuando se somete a ázida sódica.

## **Objetivo general**

Determinar la dosis ideal de ázida sódica para la inducción a mutaciones en semillas de *Sesamum indicum* var. *escoba blanca*.

## Objetivos específicos

Establecer el porcentaje de germinación de semillas de sésamo sometidas a dosis crecientes de ázida sódica.

Analizar las variables altura de la planta y longitud de la raíz de plantines provenientes de semillas sometidas a concentraciones crecientes de ázida sódica.

Examinar la GR<sub>40</sub> en los plantines de sésamo de la *var. escoba blanca* sometidos a ázida sódica.

## Marco teórico

### Mutación y mejoramiento vegetal

Se refiere a los cambios en el ADN que pueden ser heredados y no causados por recombinación y son responsables de la variabilidad genética existente (Salas, 2015) pudiendo ser éstos cambios beneficiosos o perjudiciales, que a su vez se ven sometidos a factores ambientales para la supervivencia de determinados caracteres (Novak & Brunner, 1992). Cualquier agente que eleva la tasa de mutación por encima de la tasa de mutación espontánea es considerada un mutágeno (Pierce, 2011).

La fitotecnia en sí requiere de variabilidad para la mejora de determinados cultivos, sin embargo, no siempre se logra la variación deseada, por lo que se recurre a métodos como la radiación o el uso de mutágenos químico para generar una mayor variabilidad a la hora de buscar nuevos caracteres de alguna variedad de cultivo (Micke, 1981).

Pueden existir hasta 100.000 genes dentro de la célula de una planta superior, y como por lo general resulta complicado determinar la existencia de mutaciones génicas sin expresión fenotípica visible, es que se recurre a la inducción de mutaciones como herramienta alternativa (Novak & Brunner, 1992).

Cuando se inició el proceso de inducción a mutaciones de plantas los investigadores constataron que las mutaciones producidas por radiaciones en dosis elevadas no producían los fenotipos deseados, y disminuía en demasía el porcentaje de germinación, por lo que ésta rama de la fitotecnia fue evolucionando en la búsqueda de mutágenos que causaran mutaciones más específicas y puntuales (Novak & Brunner, 1992).

Alrededor del mundo, son varios los proyectos de mejora vegetal orientados al desarrollo de nuevas variedades y cultivares de plantas con mayor resistencia a determinadas plagas y enfermedades, lo que las libera del uso de agrotóxicos que comprometen al ambiente y afecta en sobremanera al desarrollo sostenible (Novak & Brunner, 1992); así también cuando se habla de la obtención de “mejores variedades” se refiere a la obtención de genotipos mejor adaptados a determinadas condiciones climáticas o de suelo, las mejoras de variedades siempre apuntan a un mayor rendimiento de la planta (Micke, 1981).

Las mutaciones pueden ser somáticas cuando éstas se producen en tejidos somáticos o mutaciones de la línea germinal cuando ocurren en células que darán lugar a los gametos. Por lo general las primeras dan lugar a clones, mientras que la segunda genera individuos sin mutación alguna e individuos en los que todas sus células portan la mutación (Pierce, 2011).

Las mutaciones se pueden dar por sustitución de bases, inserciones o deleciones de uno o más nucleótidos y cuando éstas afectan genes que codifican proteínas, se hablan de mutaciones en el marco de lectura (Pierce, 2011).

Para la inducción a mutaciones en plantas, ya sea con mutágenos químicos o físicos, se utilizan propágulos, ya sean semillas o esquejes, y tanto la dosis como la intensidad de la misma dependerán de la planta elegida para realizar las experimentaciones y si las mismas se realizaran in vitro o en el campo (Penna & Mirajkar, 2015).

## Ázida sódica

El ázida sódica es un mutágeno químico que se encuentra dentro de los agentes alquilantes, y consistente en una sustancia química que donan grupos alquilo o metilo a las bases nucleotídicas, produciendo transiciones y/o transversiones en la molécula de ADN (Olsen, 1993; Pierce, 2011).

En los años 70<sup>''</sup> iniciaron los primeros experimentos con ázida sódica, donde se observó que la frecuencia de mutaciones aumentaba en un 80%, demostrando así ser más efectivo que la irradiación (Shu, 2009).

El ázida sódica ( $\text{NaN}_3$ ) es un potente mutágeno químico en microorganismos y plantas, y levemente mutagénico en mamíferos y es ampliamente utilizado en el mejoramiento genético de cultivos en busca de variabilidad. Sus efectos son comparables a los agentes alquilantes (Gruszka, Szarejko, & Maluszynski, 2012).

Es uno de los agentes mutagénicos preferidos a la hora de generar variabilidad por la facilidad de manejo que éste representa, generando mayormente transiciones AT GC y en menor medida GC AT, a nivel del ADN (Olsen, Wang, & Wettstein, 1993).

Estudios anteriores definen que la influencia del ázida sódica en el porcentaje de germinación y en la altura de la planta están determinadas por la acidez de la solución amortiguadora con la que acciona el mutágeno, pues en soluciones buffer básicas, el ázida sódica es inefectivo (Gruszka *et al.*, 2012).

Al trabajar con diferentes dosis de ázida sódica hay que tener en cuenta la efectividad y eficiencia del mutágeno para determinar la dosis idónea para generar variabilidad; por lo que, en cuanto a efectividad se refiere, se tienen en cuenta las mutaciones puntuales producidas por el mutágeno, mientras que la eficiencia se refiere a las mutaciones puntuales relativas a efectos biológicos producidos por el mutágeno (Begum & Dasgupta, 2010) y por lo general se tienen en cuenta medidas de daño como esterilidad y letalidad.

De fórmula  $\text{NaN}_3$ , el ázida de sodio es mejor conocido como bactericida y pesticida, además de ser altamente mutagénico en numerosos organismos entre los que se encuentran animales y plantas, a excepción de los mamíferos, en los que es marginalmente mutagénico y en *Drosophila*, *Neurospora* y *Arabidopsis* no genera ningún tipo de mutación (Sadiq & Owais, 2000).

El ázida de sodio produce un rango muy bajo de aberraciones cromosómicas, en comparación con los mutágenos físicos (Gruszka *et al.*, 2012), es por esto que por lo general son los mutágenos químicos, que afectan directamente al ADN los que se utilizan a la hora de realizar estudios genómicos que buscan la comprensión del funcionamiento o localización de determinados genes dentro del genoma de la planta (Shu, 2009).

### ***Sesamum indicum***

Es una oleaginosa que se encuentra ampliamente distribuida en los trópicos, de la que se desconocen poblaciones silvestres y es cultivada desde hace más de 4000 años (León, 1987).

De la familia Pedaliaceae, el género *Sesamum*, posee alrededor de 30 especies, siendo cultivada solamente *Sesamum indicum*. Se caracteriza además por ser una planta autógama y entre los aspectos citológicos existen tres grupos:  $2n=26$ ,  $2n=32$  y  $2n=64$ . Esta especie se encuentra dentro del primero (Janick, 1998). Con un 40-60% de aceites y 19-31% de proteína, el sésamo posee un centro de origen primario en África y dos centros secundarios: India y China (Silva, 2014).

Existe cierta controversia en cuanto al nombre científico correspondiente al sésamo o ajonjolí. *Sesamum indicum* y *Sesamum orientale* son los dos nombres científicos que se utilizan indistintamente en diversas investigaciones.

Sin embargo, Seegeler (2014) establece que el nombre correcto del sésamo se corresponde con *Sesamum orientale* L. Destacando que la única diferencia entre ambas radica en la forma de la hoja, y se corresponde con un carácter influenciado por factores ambientales, lo cual no implica que sean especies diferentes. Los

registros posicionan al *Sesamum orientale* antes que el *Sesamum indicum*, por lo que Seegeler (2014) propone la utilización de *Sesamum orientale* L en la publicaciones y trabajos científicos a realizar respecto a éste cultivo.

Por otro lado, existen autores que prefieren la utilización de *Sesamum indicum* L, por una cuestión de practicidad, ya que la mayoría de las publicaciones que utilizan la planta como material de investigación, al citarla, lo hacen con ese nombre científico (Nicolson & Wiersema, 2004).

Es una hierba anual que puede medir de 1 a 2,5 metros de altura, posee tallo cuadrangular y junto con las hojas están cubierto de una pubescencia viscosa (León, 1987). Se siembran en el mundo alrededor de 3000 variedades adaptadas a las diferentes condiciones locales, con distintos hábitos de crecimiento o determinados caracteres que mejoran el rendimiento de la producción de sésamo (Roca, 1999).

Es una planta autógena, lo que facilita la producción de variedades y cultivares específicos. Su ciclo oscila entre los 80 y 130 días dependiendo de las condiciones ambientales a la que se exponga (Gonzalez & Cristaldo, 2011).

De entre los caracteres morfológicos se destaca la raíz pivotante muy ramificada, tallo cuadrangular y pubescente, que puede alcanzar hasta los 2 m de altura, las hojas lanceoladas o acorazonadas por lo general de color verde, sin embargo, puede variar a una coloración parda rojiza en variedades expuestas al sol. Las flores salen de las axilas de las hojas y poseen un color blanco o levemente morado, pudiendo medir hasta 4 cm de longitud. El fruto es capsular que puede alcanzar hasta 8 cm, con 4 celdas en las que se encuentran las semillas, de carácter dehiscente (IPGRI & NBPGR, 2004; Villar Vera, 2008).

Por lo general, las clasificaciones se basan primariamente en el color de las semillas, pudiendo ser éstos blancos o negros. Cabe destacar la existencia de ejemplares de producción pardos a rojizos, pero se los considera de menos valor que las anteriores. El rendimiento por lo general varía de 1000 a 1500 kilogramos por hectárea (León, 1987).

### Clasificación taxonómica

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Asteridae
Orden	Lamiales
Familia	Pedaliaceae
Género	<i>Sesamum</i>
Especie	<i>Sesamum indicum</i>

(Villar Vera, 2008)

#### *Var. escoba blanca*

En Paraguay la variedad más cultivada se corresponde con la denominada escoba blanca, cuya época de siembra va de octubre a diciembre (Zárate, Oviedo, & González, 2011). Se caracteriza por su alto y ramificado porte glabro, las flores de color blanco o blanco crema y granos del mismo color y sabor dulce (Mussi, 2016; Torres & Cristaldo, 2013). Así también se caracteriza por la morfología aplanada y el color verde de los cotiledones; las hojas verdaderas poseen un color verde claro y pubescente en el envés. La capsula del fruto es oblonga, estrecha con dos carpelos por capsula, posee un ciclo largo de aproximadamente 120 días o más dependiendo de la época de siembra (Van Humbeeck Acuña & Oviedo de Cristaldo, 2012). Destaca además la presencia de pubescencia en las hojas.

Entre los factores que pueden afectar el rendimiento del cultivo de sésamo de ésta variedad en particular, se encuentra la densidad de plantas por unidad de área, por la competencia de recursos como el agua, la radiación o nutrientes, como también el uso de la siembra convencional, en lugar de la siembra directa (Leite., Roa., & Cristaldo, 2013; Van Humbeeck Acuña & Oviedo de Cristaldo, 2012), sin

embargo, representa uno de los cultivos que ha reemplazado al algodón y es impulsado principalmente por los pequeños productores (Ayala Aguilera *et al.*, 2010).

### **Antecedentes de dosimetría con ázida sódica**

Los efectos de mutágenos físicos o químicos repercuten en el polen, semillas, raíces, etc. y los parámetros que se analizan son por lo general el crecimiento de las plantas, ya sea evaluando la altura de la planta, la longitud de la raíz o el número de raíces secundarias, además de alteraciones histológicas o morfológicas (Casarett, 1968).

La GR<sub>40</sub> (*growth reduction*) se define como la dosis de mutágeno necesaria para reducir la altura media de la planta en un 40% (de Barros & Arthur, 2005). Este parámetro se utiliza también a la hora de definir dosis de herbicidas necesarias para determinados cultivos (Diez De Ulzurrun & Leaden, 2012).

Un estudio con *Pisum sativum*, que utilizó ázida sódica como mutágeno, no demostró alteraciones en variables analizadas en relación a la raíz, sin embargo, si presentó variaciones en relación a altura de la planta y porcentaje de germinación (Divanli-Türkan & Khawar, Ciftçi, 2006).

Se evidenciaron estudios en donde el GR<sub>50</sub>, la reducción de la altura media de la planta en un cincuenta por ciento, se encuentra entre las dosis más elevadas del mutágeno utilizado. (de Barros & Arthur, 2005).

Otro ejemplo que representa los efectos del ázida de sodio en la variable altura de la planta en ejemplares de arroz demostró que, a medida que aumentaba la dosis del mutágeno, se reducía la altura de la planta (Awan, Konzak, Rutger, & Nilan, 1980).

En un trabajo experimental, Salas (2015) utilizó como modelo biológico *Salvia farinacea* observando que el porcentaje de germinación de las semillas expuestas exclusivamente al buffer a un pH ácido de 3 descendía un 67% respecto

al control, concluyendo que al utilizar el ázida sódica como mutágeno, se debe tener en cuenta que el buffer representa un factor determinante en el porcentaje de germinación de las plantas tratadas con el mutágeno.

Así también, resalta el hecho de que el tamaño de las radículas se veía fuertemente influenciado por la presencia del mutágeno, destacando diferencias estadísticamente significativas respecto del testigo, ya que las longitudes disminuían en la medida que las dosis de ázida sódica aumentaban (Salas, 2015)

Al utilizar *Doisporys lotus* bajo los efectos de la sustancia mutagénica, se distinguieron cambios relevantes a nivel morfológico al comparar los ejemplares expuestos al mutágeno, respecto al control. En éste caso particular, las variable altura de la planta aumentó en la medida que aumentaban las dosis de ázida sódica (0,1% al 0,5%), mientras que los caracteres lámina de la hoja y largo del peciolo de la hoja decrecieron en la medida que las dosis aumentaban (Kochanová, Ražná, Zuriaga, Badenes, & Brindza, 2012).

Exponiendo *Pisum sativum* a dosis crecientes del mutágeno químico y al aumentar las horas de exposición de 3 a 4 horas, el porcentaje de germinación se vio reducido. Distingue particularmente la considerable reducción en esta variable una vez extendida la cantidad de horas de exposición al mutágeno, por lo que se considera que el tiempo es un factor de gran importancia para la penetración del mutágeno (Sander & Auer, 1977). Así también, compara los efectos de la sustancia mutagénica y las radiaciones gamma particularizando que las lesiones cromosómicas son producidas por las radiaciones y no así por el ázida sódica, lo que destaca su eficiencia como mutágeno con una alta especificidad al generar mutaciones intragénicas, sin lesiones cromosómicas (Sander & Auer, 1977).

Un trabajo similar, realizado con *Avena sativum*, que comparó los efectos del ázida sódica y el cobalto 60 como mutágenos, acentúa que el primero representa un mutágeno con mayor potencial, por las micromutaciones que puede generar y el reducido efecto deletéreo que genera en las plantas, además de la fácil manipulación que caracteriza a este químico (Nascimento Junior, Felix de Carvalho, Barbosa Neto, & Federizzi, 1994).

Al-Quarainy (2009) destaca la capacidad del ázida sódica en generar mutaciones puntuales y que se ha convertido en una herramienta importante en el mejoramiento de cultivos en general, generando cultivares capaces de sobrevivir a condiciones adversas e incrementando su rendimiento general (Al-Quarainy & Khan, 2009).

En *Triticum aestivum*, al realizar un estudio experimental comparativo entre dos mutágenos químicos: ázida sódica y EMS, se demostraron efectos drásticos en cuanto al porcentaje de germinación causando letalidad, y así también en la altura de la planta disminuyendo las medidas de manera inversamente proporcional al aumento de las dosis. Este estudio concluye que bajo las dosis más elevadas de ázida sódica se observan diferencias significativas (Simone, Fernando, & Jefferson, 1998).

Comparando dos mutágenos: ázida sódica y colchicina, un estudio realizado en semillas de *Sesamum indicum*, destaca el hecho de que variables como, altura de la planta, sobrevivencia, porcentaje de germinación y esterilidad del polen, disminuían en la medida que aumentaban las dosis del primero; no así del segundo, que presentaba valores aleatorios, sin mostrar tendencia alguna. Sin embargo, también recalca el hecho de que variables en relación al rendimiento tales como número y tamaño de frutos se vieron favorecidos cuando se los sometió a concentraciones de 0,125% de colchicina (Mensah, Obadoni, Akomeah, Ikhajiagbe, & Ajibolu, 2007).

En cuanto a la altura de la planta, número de semillas producidas, número de capsula por plantas y el largo de las capsulas en dos variedades de *Sesamum indicum*, son variables que fueron estimuladas ante concentraciones bajas de ázida sódica al 0,02 % y 0,03 % de cinco dosis utilizadas, en la búsqueda de definir dosis idóneas para la obtención de nuevas variedades de la mencionada oleaginosa (Birara, Muthuswamy, & Andargie, 2013).

Cabe resaltar, que de todos los trabajos citados recientemente la variable “altura de la planta” representa un factor determinante a la hora de definir y analizar el efecto de las diferentes dosis del mutágeno (Nascimento Junior *et al.*, 1994).

## **Análisis estadístico**

Para determinar si existen o no diferencias significativas en los trabajos de investigación se recurren a metodologías estadísticas que determinan, matemáticamente, si dentro de la muestra utilizada y entre las variables existen diferencias notorias y de interés para la investigación en sí.

Una herramienta comúnmente utilizada como punto de partida, representan los estadísticos descriptivos o inferenciales, que busca demostrar relaciones o diferencias significativas entre las variables tenidas en cuenta en la investigación (Martínez, Sánchez, & Faulín, 2006).

Mediante ésta herramienta se obtienen valores de gran relevancia, como lo son las medidas de centralización: la media aritmética, que es el valor promedio de las muestras para cada variable, la mediana, que divide las muestras en dos partes iguales, luego de ordenarse de menor a mayor, la moda, el valor más repetido de la distribución y la desviación estándar, una medida de dispersión que indica cuánto se apartan los datos de la media aritmética. Por otro lado, el rango, que calcula el intervalo entre el menor valor observado y el mayor, es también considerado una medida de dispersión (Borrego del Pino, 2008).

Los gráficos se utilizan con el objetivo de plasmar información concentrada, es un recurso que permite tener una noción visual rápida y clara de las observaciones y resultados de la investigación (Montanero Fernández, 2003).

En caso que el valor de  $p$  sea inferior a 0,05, tanto en la prueba de Kolmogorov- Smirnov como el Test Shapiro Wilk, indica que los datos no siguen una distribución normal (Martínez et al., 2006). Este último se utiliza para muestras menores a 30 individuos (Rivas-Ruiz, Moreno-Palacios, & Talavera, 2013), y es a partir de los resultados obtenidos de estos donde se definen las pruebas comparativas a realizar.

Para definir si existen diferencias significativas entre 3 o más grupos de datos de carácter no paramétrico se recurre a la prueba de Kruskal-Wallis (Rivas-

Ruiz *et al.*, 2013). El chi cuadrado de independencia se usa para determinar si existe relación o no entre dos variables, y es a partir de éste que se define la existencia o no de diferencias significativas (Baron Lopez & Tellez Montiel, 2013; Gómez-Gómez, Danglot-Banck, & Vega-Franco, 2013), el grado de libertad (gl), por su parte, se define como  $gl=n-1$ , es decir, el número de grupos o sub conjuntos, restado uno (De La Cruz-Oré, 2013). El nivel de significancia, también conocido como significancia asintótica o p-valor, es el valor mayor o menor a 0,05 y rechaza o acepta las hipótesis de igualdad o diferencia estadística entre muestras (Montanero Fernández, 2003).

El estadístico U de Mann y Whitney compara todos los individuos de un grupo con otro y arroja el número de veces que dentro de un grupo se presenta un valor superior al otro. Esta prueba se utiliza cuando los sub grupos contienen menos de 30 muestras (Martinez *et al.*, 2006) y tiene se basa en la diferencia de rangos, es decir, el intervalo entre el valor máximo y el valor mínimo (Rivas-Ruiz *et al.*, 2013). Es una alternativa para variables cuantitativas, continuas, no normales para establecer si entre los grupos de estudio que se comparan, existen diferencias significativas a nivel estadístico (Gómez-Gómez *et al.*, 2013). Cuando la significancia asintótica, posee valores inferiores a 0,05, se rechaza la hipótesis nula o de homogeneidad (Núm & Canela, 2015). En los estadísticos de contraste, cabe destacar que el valor de Z en esta prueba posee un valor que no es válido si se trata de muestras con menos de 20 observaciones y por lo general, los valores de significancia bilateral y exacta se caracterizan por valores similares, sin embargo, es la bilateral la que define las diferencias significativas a nivel estadístico entre los grupos (Martinez *et al.*, 2006).

## **Metodología**

El trabajo se desarrolló en el laboratorio de Biotecnología del Centro Multidisciplinario de Investigaciones Tecnológicas (CEMIT), en el campus de la Universidad Nacional de Asunción, desde abril/2017 a octubre/2017.

Se trabajó con semillas de *Sesamum indicum* de la var. *escoba blanca*.

Previamente a la exposición al mutágeno, 300 semillas fueron embebidas en 500 mL de agua destilada durante 8 horas, con el objetivo de romper la latencia en las mismas y permitir el ingreso del ácido al interior de la semilla. Aquellas que, posteriormente a las ocho horas de imbibición, se encontraban flotando en el agua fueron descartadas por ser inviables (Coa Urbaez, Mendez Natera, Silva Acuña, & Mundarain Padilla, 2014; Sánchez-Soto *et al.*, 2016). Fueron seleccionadas 210 semillas para la realización de la experimentación.

Se utilizó buffer fosfato a un pH de 3; a esta solución se le agregaron 4 M de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  y 0,0635 de  $\text{H}_3\text{PO}_4$ , por litro de solución buffer.

Se trabajó con 5 concentraciones de solución ácida sódica: 0,1 mM, 0,2 mM, 0,3 mM, 0,4 mM, 0,5 mM, 30 semillas por cada concentración del mutágeno. Se utilizaron 7 frascos de vidrio en total; un frasco para cada tratamiento con el mutágeno, otro que contenía la solución buffer o T0 y otro que contenía exclusivamente agua, el T Control. Posteriormente se procedió al cultivo de las mismas en bandejas de 50 pocillos con humus de lombriz al 50%, ubicando tres semillas por pozo.

El primer tratamiento (T Control) es aquel en el que las semillas fueron tratadas exclusivamente con agua, a éste, le sigue el tratamiento de las semillas con la solución buffer (T0). El tratamiento 1 (T1) correspondió con la concentración a 0.1 mM de ácido sódico, el tratamiento 2 (T2) con la concentración de 0,2 mM, así hasta llegar al tratamiento 5 (T5), con la concentración de 0,5 mM del mutágeno. Las semillas fueron sembradas dentro del invernadero de la institución. Transcurridos 20 días posteriores a la germinación se realizaron las mediciones correspondientes a esta investigación (altura de la planta y longitud de la raíz). Para realizar el porcentaje de germinación se evaluó toda la población, mientras que para realizar los promedios de la variable altura de la planta se midieron 16 individuos de cada tratamiento.

Las pruebas estadísticas se realizaron con ayuda del programa SPSS versión 24.0, mientras que las mediciones de las variables analizadas y los gráficos se realizaron con el programa Microsoft Excel 2013.

## Resultados

La germinación se dio a los seis días posteriores del cultivo de las semillas de *Sesamum indicum var. escoba*.

Los resultados obtenidos a los 20 días posteriores a la germinación fueron los siguientes:

El porcentaje de germinación para cada dosis de ázida sódica se corresponde con: 86,66% para T1, 90% para T2 y T3, 83,33% para T4, 60% para T5, 80% para T0 y 86,66% para T Control. Figura 1.

Los promedios obtenidos de las mediciones en centímetros de la altura de la planta de los 7 tratamientos son: para T1: 3,91, T2: 4,145; T3: 4,285; T4: 3,465; T5: 3,1; T0: 3,895 y T Control: 4,435. Figura 2.

Por otro lado, el promedio de la longitud de las raíces para cada tratamiento corresponde a: 3,89 para T1; 3,77 para T2; 3,305 para T3; 4,015 para T4; 4,14375 para T5; 3,915 para T 0 y 5,035 para T Control. Figura 3.

No se observaron variaciones en la coloración, forma y bordes de las hojas, así también todas presentaban pilosidades en el tallo y envés de las hojas.

En la siguiente página se detallan las mediciones obtenidas de los plantines de las semillas de sésamo de la *var. escoba blanca*

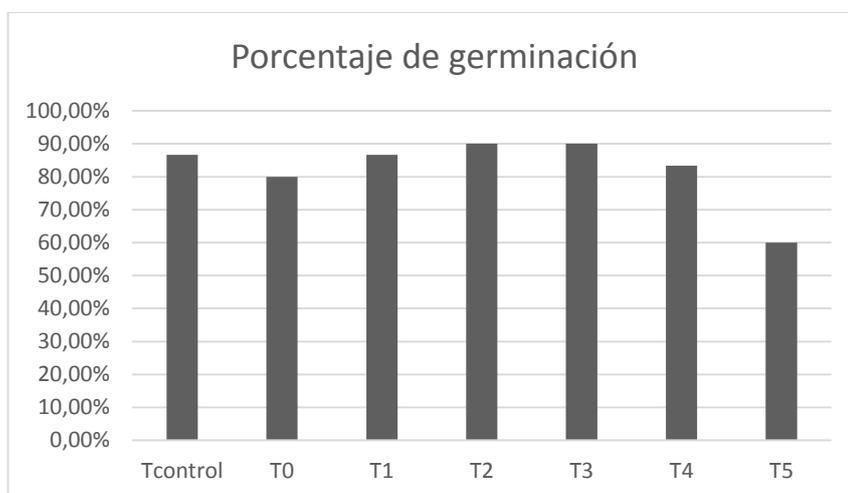
**Tabla 1. Medición en centímetros de la variable altura de la planta**

<b>N° de muestra</b>	<b>T1</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>	<b>T4</b>	<b>T5</b>	<b>T0</b>	<b>T Control</b>
1	4	4,7	4,5	2,5	2,5	4	3,5
2	4	4,5	4	3,5	2,5	2,8	4,5
3	4,5	4,8	4,5	4,1	3,8	3,9	5
4	3,5	4,5	5	3,4	4,2	3,4	5,5
5	3,8	4	4,5	3,3	3,8	3,7	4
6	4,5	4,3	4,3	3,6	3,2	3,6	5
7	4,2	1,5	4,5	3,6	4,1	4	5
8	4,5	4,5	4,3	3,3	3	4	4,5
9	4,5	4,5	3,7	3,5	2,5	3,8	4
10	4,8	4	4,5	3,6	2,6	3,3	4,5
11	4,6	5	4,8	2,5	3,5	5,4	5
12	3,5	4	4	4,3	2	3,2	4,5
13	3,3	4	3,6	4,5	3	3,8	4,5
14	4,2	3,5	5	3,8	3,5	5	4
15	3	4,5	4	2,7	2,9	3,5	4,5
16	3,5	3,8	4,5	4,7	2,5	4,5	4,5
<b>PROMEDIO</b>	<b>4,025</b>	<b>4,13125</b>	<b>4,35625</b>	<b>3,55625</b>	<b>3,1</b>	<b>3,86875</b>	<b>4,53125</b>

**Tabla 2. Medición en centímetros de la variable longitud de la raíz**

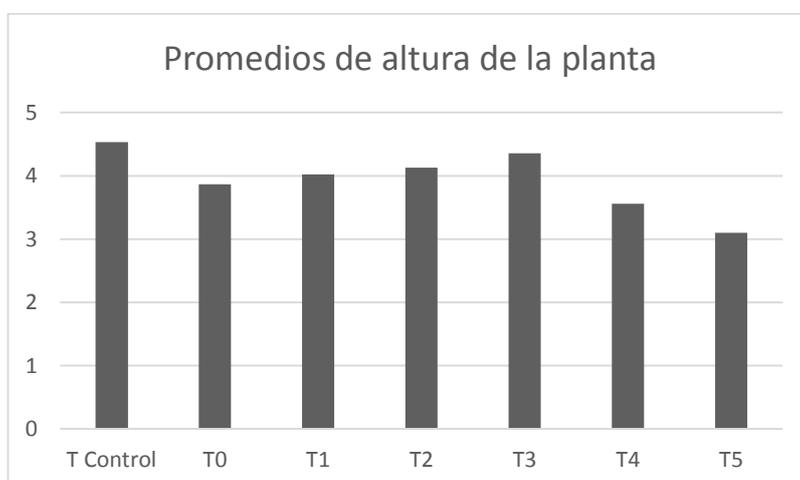
<b>N° de muestra</b>	<b>T1</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>	<b>T4</b>	<b>T5</b>	<b>T0</b>	<b>T Control</b>
1	2	6	1,8	2	2	1,3	7,5
2	2,5	3	4,7	4	7,3	2,9	7,5
3	3,5	3,5	4	5	4	3,2	6,5
4	3,5	3,5	2,3	3	3,5	2,5	8,5
5	3,3	1,3	2	2,8	2	3	8
6	3,4	2,4	3	3,2	3,5	2,5	8,5
7	3	3	3,5	4,3	6	2	6,5
8	5	5	4,5	3,1	3,5	3,9	3
9	3	5	4	4	3	7,5	7
10	3,2	3	3,5	2	6	2,5	4,5
11	3,7	6	2,5	3,5	5	3,9	3
12	4	4,5	3	3,4	4,5	5,6	2,5
13	5	5	4,7	7,6	4	7	3
14	5,2	3	3	4	3	10,7	3,5
15	4	3	2,8	5	3	3	4
16	3,5	2,5	4	4,3	6	3	2,5
<b>PROMEDIO</b>	<b>3,6125</b>	<b>3,73125</b>	<b>3,33125</b>	<b>3,825</b>	<b>4,14375</b>	<b>4,03125</b>	<b>5,375</b>

**Figura 1. Porcentaje de germinación a diferentes concentraciones de Ázida sódica**



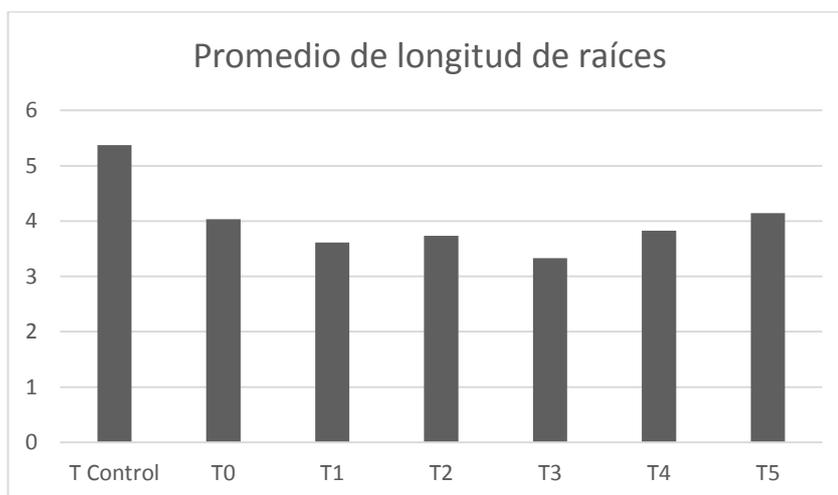
El porcentaje más alto corresponde a los tratamientos con 0,2 mM y 0,3 mM (T2 y T3) del mutágeno. A estos dos valores le sigue el porcentaje del tratamiento control (T Control). Luego de este último se observa una disminución en el porcentaje de germinación de las semillas tratadas exclusivamente con buffer (T0), seguido éste de un aumento con tendencia ascendente en los tratamientos con 0,1 mM, 0,2 mM y 0,3 mM (T1, T2 y T3) del agente mutagénico. Por otra parte, en los tratamientos con 0,4 y 0,5 mM se detalla una disminución paulatina en el porcentaje de germinación, siendo el último (T5) quien presento el menor valor de entre todos los tratamientos realizados.

**Figura 2. Promedios de Altura de la planta a concentraciones de Azida sódica**



Gráficamente se encuentran plasmados los resultados obtenidos de las mediciones correspondientes a la Tabla 1. Se observó que el mayor valor en promedio, corresponde al tratamiento control (T Control) y tratamiento con 0,3 mM (T3). Luego del T Control se identifica un aumento escalonado en los promedios del tratamiento buffer, el tratamiento con 0,1 mM, el tratamiento 0,2 mM, hasta el valor de T3. Posteriormente al T3 se detalla una disminución significativa en los tratamientos con 0,4 mM y 0,5 mM, éste último representa el promedio más bajo obtenido de entre todos los tratamientos.

**Figura 3. Promedios de Longitud de la raíz a diferentes concentraciones de Ázida**



Al igual que en el caso anterior, esta gráfica representa los valores obtenidos de la Tabla 2. El promedio más alto obtenido para la variable longitud de la raíz corresponde al tratamiento control (T Control); posterior a éste se observa una tendencia descendente en los tratamientos T0 y T1. A partir del tratamiento con 0,2 mM hasta el 0,5 mM se detallan fluctuaciones, si tendencia alguna.

Tabla 3. Estadísticos descriptivos

		Altura de la planta (cm) a 0,1 mM	Longitud de la raíz (cm) a 0,1 mM	Altura de la planta (cm) a 0,2 mM	Longitud de la raíz (cm) a 0,2 mM	Altura de la planta (cm) a 0,3 mM	Longitud de la raíz (cm) a 0,3 mM
N	Válido	16	16	16	16	16	16
	Perdidos	0	0	0	0	0	0
Media		4,025	3,613	4,131	3,731	4,356	3,331
Mediana		4,100	3,500	4,400	3,250	4,500	3,250
Desviación estándar		0,5385	0,8801	0,8056	1,3588	0,4115	0,9307
Rango		1,8	3,2	3,5	4,7	1,4	2,9
Mínimo		3,0	2,0	1,5	1,3	3,6	1,8
Máximo		4,8	5,2	5,0	6,0	5,0	4,7

		Altura de la planta (cm) a 0,4 mM	Longitud de la raíz (cm) a 0,4 mM	Altura de la planta (cm) a 0,5 mM	Longitud de la raíz (cm) a 0,5 mM	Altura de la planta (cm) con Buffer	Longitud de la raíz (cm) con Buffer
N	Válido	16	16	16	16	16	16
	Perdidos	0	0	0	0	0	0
Media		3,556	3,825	3,100	4,144	3,869	4,031
Mediana		3,550	3,750	3,000	3,750	3,800	3,000
Desviación estándar		0,6449	1,3454	0,6573	1,5397	0,6560	2,4711
Rango		2,2	5,6	2,2	5,3	2,6	9,4
Mínimo		2,5	2,0	2,0	2,0	2,8	1,3
Máximo		4,7	7,6	4,2	7,3	5,4	10,7

		Altura de la planta (cm) Control	Longitud de la raíz (cm) Control
N	Válido	16	16
	Perdidos	0	0
Media		4,531	5,375
Mediana		4,500	5,500
Desviación estándar		0,4990	2,3130
Rango		2,0	6,0
Mínimo		3,5	2,5
Máximo		5,5	8,5

Se observa en la Tabla 3, que para cada subconjunto con una N igual a 16, la media no varía en demasía intergrupalmente, así mismo la desviación estándar para cada grupo tampoco representa un valor elevado, es decir, los datos de cada una de las mediciones no se desvían en gran proporción en relación a la media, por lo que se infiere que los valores son relativamente similares intragrupalmente. Asimismo, se observan los valores mínimos y máximo de las mediciones para cada tratamiento y el rango representa la diferencia entre éstos.

**Tabla 4. Pruebas de normalidad**

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
<b>Altura de la planta (cm)</b>	0,130	112	0,000	0,962	112	<b>0,003</b>
<b>Longitud de la raíz (cm)</b>	0,180	112	0,000	0,891	112	<b>0,000</b>

a. Corrección de significación de Lilliefors

En la Tabla 4 de prueba de normalidad, se observan los valores de significancia correspondientes a las variables altura de la planta y longitud de la raíz de la prueba de Shapiro Wilk, ambos con valores inferiores a 0,05 por lo que se rechaza la hipótesis nula de normalidad, es decir, los datos relativos a ésta investigación no poseen una distribución normal.

**Tabla 5. Estadístico de prueba Kruskal Wallis****Estadísticos de prueba<sup>a,b</sup>**

	Altura de la planta (cm)	Longitud de la raíz (cm)
Chi- cuadrado	42,031	8,260
gl	6	6
<b>Sig. asintótica</b>	<b>0,000</b>	<b>0,220</b>

a. Prueba de Kruskal Wallis

b. Variable de agrupación: Tratamientos

Esta prueba define si existen diferencias a nivel intergrupar de las dos variables analizadas. Se observan los valores correspondientes a la significancia asintótica con un valor de **0,000** para la variable altura de la planta, inferior a 0,05, por ende, una diferencia significativa, por otro lado la variable longitud de la raíz posee un valor de **0,220**, superior a 0,05, lo que se traduce en que no existen diferencias a nivel intergrupo.

**Tablas comparativas U Mann Whitney****Tabla 6. Estadísticos de contraste para T Control y T0**

	Altura de la planta (cm)	Longitud de la raíz (cm)
U de Mann-Whitney	48,500	79,000
W de Wilcoxon	184,500	215,000
Z	-3,036	-1,858
<b>Sig. asintótica (bilateral)</b>	<b>0,002</b>	<b>0,063</b>
Significación exacta [2*(sig. unilateral)]	0,002	0,067

**Tabla 7. Estadísticos de contraste para T Control y T1**

	Altura de la planta (cm)	Longitud de la raíz (cm)
U de Mann-Whitney	67,500	82,500
W de Wilcoxon	203,500	218,500
Z	-2,337	-1,721
<b>Sig. asintótica (bilateral)</b>	<b>0,019</b>	<b>0,085</b>
Significación exacta [2*(sig. unilateral)]	0,021	0,086

**Tabla 8. Estadísticos de contraste para T Control y T2**

	Altura de la planta (cm)	Longitud de la raíz (cm)
U de Mann-Whitney	88,000	77,000
W de Wilcoxon	224,000	213,000
Z	-1,560	-1,940
<b>Sig. asintótica (bilateral)</b>	<b>0,119</b>	<b>0,052</b>
Significación exacta [2*(sig. unilateral)]	0,138	0,056

**Tabla 9. Estadísticos de contraste para T Control y T3**

	Altura de la planta (cm)	Longitud de la raíz (cm)
U de Mann-Whitney	99,500	67,500
W de Wilcoxon	235,500	203,500
Z	-1,120	-2,292
<b>Sig. asintótica (bilateral)</b>	<b>0,263</b>	<b>0,022</b>
Significación exacta [2*(sig. unilateral)]	0,287	0,021

**Tabla 10. Estadísticos de contraste para T Control y T4**

	Altura de la planta (cm)	Longitud de la raíz (cm)
U de Mann-Whitney	31,500	88,500
W de Wilcoxon	167,500	224,500
Z	-3,674	-1,493
<b>Sig. asintótica (bilateral)</b>	<b>0,000</b>	<b>0,136</b>
Significación exacta	0,000	0,138
[2*(sig. unilateral)]		

**Tabla 11. Estadísticos de contraste para T Control y T5**

	Altura de la planta (cm)	Longitud de la raíz (cm)
U de Mann-Whitney	11,000	90,500
W de Wilcoxon	147,000	226,500
Z	-4,445	-1,421
<b>Sig. asintótica (bilateral)</b>	<b>0,000</b>	<b>0,155</b>
Significación exacta	0,000	0,160
[2*(sig. unilateral)]		

**Tabla 12. Estadísticos de contraste para T0 y T1**

	Altura de la planta (cm)	Longitud de la raíz (cm)
U de Mann-Whitney	100,000	106,500
W de Wilcoxon	236,000	242,500
Z	-1,061	-,813
<b>Sig. asintótica (bilateral)</b>	<b>0,289</b>	<b>0,416</b>
Significación exacta	0,305	0,423
[2*(sig. unilateral)]		

**Tabla 13. Estadísticos de contraste para T0 y T2**

	Altura de la planta (cm)	Longitud de la raíz (cm)
U de Mann-Whitney	74,500	118,500
W de Wilcoxon	210,500	254,500
Z	-2,035	-,361
<b>Sig. asintótica (bilateral)</b>	<b>0,042</b>	<b>0,718</b>
Significación exacta	0,043	0,724
[2*(sig. unilateral)]		

**Tabla 14. Estadísticos de contraste para T0 y T3**

	Altura de la planta (cm)	Longitud de la raíz (cm)
U de Mann-Whitney	59,500	127,500
W de Wilcoxon	195,500	263,500
Z	-2,605	-,019
<b>Sig. asintótica (bilateral)</b>	<b>0,009</b>	<b>0,985</b>
Significación exacta	0,008	0,985
[2*(sig. unilateral)]		

**Tabla 15. Estadísticos de contraste para T0 y T4**

	Altura de la planta (cm)	Longitud de la raíz (cm)
U de Mann-Whitney	95,500	103,000
W de Wilcoxon	231,500	239,000
Z	-1,228	-,944
<b>Sig. asintótica (bilateral)</b>	<b>0,219</b>	<b>0,345</b>
Significación exacta	0,224	0,361
[2*(sig. unilateral)]		

**Tabla 16. Estadísticos de contraste para T0 y T5**

	Altura de la planta (cm)	Longitud de la raíz (cm)
U de Mann-Whitney	55,500	99,500
W de Wilcoxon	191,500	235,500
Z	-2,740	-1,079
<b>Sig. asintótica (bilateral)</b>	<b>0,006</b>	<b>0,280</b>
Significación exacta	0,005	0,287
[2*(sig. unilateral)]		

**Tabla 17. Estadísticos de contraste para T1 y T2**

	Altura de la planta (cm)	Longitud de la raíz (cm)
U de Mann-Whitney	102,500	121,500
W de Wilcoxon	238,500	257,500
Z	-,976	-,247
<b>Sig. asintótica (bilateral)</b>	<b>0,329</b>	<b>0,805</b>
Significación exacta	0,341	0,809
[2*(sig. unilateral)]		

**Tabla 18. Estadísticos de contraste para T1 y T3**

	Altura de la planta (cm)	Longitud de la raíz (cm)
U de Mann-Whitney	85,500	106,000
W de Wilcoxon	221,500	242,000
Z	-1,631	-,834
<b>Sig. asintótica (bilateral)</b>	<b>0,103</b>	<b>0,404</b>
Significación exacta	0,110	0,423
[2*(sig. unilateral)]		

**Tabla 19. Estadísticos de contraste para T1 y T4**

	Altura de la planta (cm)	Longitud de la raíz (cm)
U de Mann-Whitney	77,500	120,500
W de Wilcoxon	213,500	256,500
Z	-1,912	-,284
<b>Sig. asintótica (bilateral)</b>	<b>0,056</b>	<b>0,776</b>
Significación exacta	0,056	0,780
[2*(sig. unilateral)]		

**Tabla 20. Estadísticos de contraste para T1 y T5**

	Altura de la planta (cm)	Longitud de la raíz (cm)
U de Mann-Whitney	37,000	105,500
W de Wilcoxon	173,000	241,500
Z	-3,446	-,854
<b>Sig. asintótica (bilateral)</b>	<b>0,001</b>	<b>0,393</b>
Significación exacta	0,000	0,402
[2*(sig. unilateral)]		

**Tabla 21. Estadísticos de contraste para T2 y T3**

	Altura de la planta (cm)	Longitud de la raíz (cm)
U de Mann-Whitney	113,500	105,500
W de Wilcoxon	249,500	241,500
Z	-,561	-,856
<b>Sig. asintótica (bilateral)</b>	<b>0,575</b>	<b>0,392</b>
Significación exacta	0,590	0,402
[2*(sig. unilateral)]		

**Tabla 22. Estadísticos de contraste para T2 y T4**

	Altura de la planta (cm)	Longitud de la raíz (cm)
U de Mann-Whitney	56,000	121,500
W de Wilcoxon	192,000	257,500
Z	-2,728	-,246
<b>Sig. asintótica (bilateral)</b>	<b>0,006</b>	<b>0,805</b>
Significación exacta	0,006	0,809
[2*(sig. unilateral)]		

**Tabla 23. Estadísticos de contraste para T2 y T5**

	Altura de la planta (cm)	Longitud de la raíz (cm)
U de Mann-Whitney	32,000	106,500
W de Wilcoxon	168,000	242,500
Z	-3,634	-,821
<b>Sig. asintótica (bilateral)</b>	<b>0,000</b>	<b>0,412</b>
Significación exacta	0,000	0,423
[2*(sig. unilateral)]		

**Tabla 24. Estadísticos de contraste para T3 y T4**

	Altura de la planta (cm)	Longitud de la raíz (cm)
U de Mann-Whitney	37,500	100,500
W de Wilcoxon	173,500	236,500
Z	-3,435	-1,042
<b>Sig. asintótica (bilateral)</b>	<b>0,001</b>	<b>0,297</b>
Significación exacta	0,000	0,305
[2*(sig. unilateral)]		

**Tabla 25. Estadísticos de contraste para T3 y T5**

	Altura de la planta (cm)	Longitud de la raíz (cm)
U de Mann-Whitney	14,000	90,000
W de Wilcoxon	150,000	226,000
Z	-4,318	-1,443
<b>Sig. asintótica (bilateral)</b>	<b>0,000</b>	<b>0,149</b>
Significación exacta	0,000	0,160
[2*(sig. unilateral)]		

**Tabla 26. Estadísticos de contraste para T4 y T5**

	Altura de la planta (cm)	Longitud de la raíz (cm)
U de Mann-Whitney	80,500	115,000
W de Wilcoxon	216,500	251,000
Z	-1,799	-,493
<b>Sig. asintótica (bilateral)</b>	<b>0,072</b>	<b>0,622</b>
Significación exacta	0,073	0,642
[2*(sig. unilateral)]		

En las recientes tablas se observan los estadísticos de contraste, en donde se define la diferencia estadística significativa o no a través de la significancia asintótica o bilateral. Por el test anterior de Kruskal-Wallis, se descarta la posibilidad de existencia de diferencias estadísticas en la variable longitud de la raíz, sin embargo, en la variable altura de la planta se observan diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos: T Control y T0, T Control y T4, T Control y T5, T0 y T2, T0 y T3, T0 y T5, T1 y T5, T2 y T4, T2 y T5, T3 y T4 y por último entre T3 y T5. Todos los tratamientos presentan diferencia significativa con el tratamiento de 0,5 mM, a excepción del tratamiento 0,4mM. Por otra parte, no se identificaron diferencias en los tratamientos: T Control y T1, T Control y T2, T Control y T3, T0 y T1, T0 y T4, T1 y T2, T1 y T3, T1 y T4, T2 y T3, y entre T4 y T5.

## Discusión

Los mutágenos en general pueden generar efectos colaterales en la planta como reducción de germinación, hojas débiles incluso esterilidad (Silva, 1998), siendo el caso de las concentraciones de 0,4 mM y 0,5 mM, en las que se observa una evidente disminución de la altura de la planta en comparación con los primeros tratamientos de ázida sódica y el tratamiento control de la población M<sub>1</sub> analizada en esta investigación. Así también, esa evidente disminución se ve traducida numéricamente en el método comparativo para datos no paramétricos U de Mann y Whitney, específicamente en las comparaciones relativas a T5 con los demás tratamientos, en los que la significancia asintótica o bilateral presentaba un valor inferior a 0,05, a excepción de la comparación entre éste y T4, sin embargo, resalta el hecho que éste corresponde al segundo valor mínimo, luego de T5, registrados en esta investigación. Kochanova (2012) con *Diospyros lotus* como material biológico, constató un aumento de la variable altura de la planta en la medida que incrementaban las dosis de ázida sódica, similar a lo observable en la primera porción del gráfico de la mencionada variable en esta investigación, específicamente desde el tratamiento T0 con buffer hasta el tratamiento con 0,3 mM del mutágeno, es donde se observa una tendencia ascendente, sin embargo, los tratamientos T4 y T5 coinciden con resultados obtenidos según Birara (2013) y Mensah (2007), que detallaron que con las dosis más elevadas de ázida en semillas de sésamo, la media de la variable altura de la planta presentan valores mínimos respecto a las demás muestras. En las primeras dosis del compuesto mutagénico no se observa tendencia decreciente alguna en la altura de la planta, lo cual coincide con los resultados en relación a esta variable en la tesis de Salas (2015) con *Salvia farinasea*, lo que puede indicar, que dichas dosis no son significativas para inducir mutaciones.

En un estudio con *Pisum* (Sander, 1976), *Oriza sativa* (Asfar, Konzak, Rutger y Nilan 1980) y Mensah (2007), el porcentaje de germinación se ve reducido en la medida que aumentan las concentraciones de ázida sódica, lo cual coincide

parcialmente con los resultados obtenidos, ya que en la figura 1, se observa que a partir del tratamiento 3, la tendencia apunta a una disminución de dicho porcentaje en la medida que aumenta la concentración del mutágeno, siendo los tratamientos con 0,4 mM y 0,5 mM, las dosis más altas utilizadas en este trabajo. Así también al igual que en el trabajo de Salas (2015), el menor porcentaje de germinación coincide con la dosis más alta utilizada. Sin embargo, en la primera porción de la figura, desde el tratamiento con buffer T0 hasta T3, la tendencia del gráfico es ascendente, resultado similar a lo obtenido por Salas (2014) con *Salvia farinasea*, en donde, a pesar de la exposición al ázida de sodio el porcentaje de germinación aumentó. Asimismo, según Birara (2014), que trabajó con distintas variedades de sésamo, detalló la evidente disminución del porcentaje de germinación una vez expuestas a las dosis más elevadas del mutágeno. Cabe resaltar que el porcentaje de germinación entre las semillas tratadas solamente con agua y las semillas tratadas con el menor porcentaje de ázida sódica es el mismo, lo que sugiere que dicha concentración de 0,1 mM, seguida de las dosis de 0,2 mM, 0,3 mM y 0,4 mM del mutágeno, al igual que en la variable altura de la planta, no representan una dosis mutagénica significativa para generar disminución alguna en la abundancia relativa de las muestras de sésamo de la variedad *escoba* ya que según Gruzka (2012) el mutágeno es un conocido inhibidor de enzimas de metales pesados, lo que influencia en el metabolismo y la respiración de las células vivas. Así también según Nascimento (1994) la reducción del porcentaje de germinación puede deberse a los efectos colaterales del ázida sódica, que modifica la funcionalidad de proteínas, teniendo como consecuencia efectos deletéreos, que se traducen en consecuencias letales en la viabilidad de las semillas de la población estudiada.

Al observar y contrastar los gráficos de porcentaje de germinación y altura de la planta, es posible constatar que ambos prosiguen una misma tendencia, es decir, ambos presentan un valor alto en el tratamiento control, seguido éste de una disminución drástica por la presencia del tratamiento exclusivamente con buffer, a éste a su vez le sigue un sucesivo aumento hasta el tratamiento con 0,3 mM y finalmente decrecer nuevamente hasta valores mínimos en los tratamientos con 0,4 mM y 0,5 mM respectivamente. Esto evidencia un efecto relativamente

proporcional, respecto a éstas dos variables del ázida sobre las semillas de *Sesamum indicum* utilizadas

Específicamente el trabajo de Sander (1976) halla una relación entre las horas de exposición al mutágeno y la altura de la planta, siendo una exposición por 4 horas la más eficiente en generar alteraciones en esa variable, que igualmente coincide con los resultados obtenidos.

Según Gruszka (2012) por la fuerte influencia del mutágeno en el metabolismo y la respiración celular, es que se produce una disminución en la altura de la planta y el porcentaje de germinación, tal como se observó entre los resultados obtenidos en esta investigación.

En cuanto a los resultados obtenidos del tratamiento con buffer a un pH de 3, donde el químico es altamente mutagénico (Tomlinson, 1980) tanto del porcentaje de germinación como la altura de la planta de las semillas sometidas a esta variable evidencian que el mismo produce un impacto nocivo en el sésamo de la *var. escoba*, lo que desenmascara el efecto de un medio ácido, como lo fue el buffer fosfato a un pH de 3, sobre la planta. El uso del mismo es estrictamente necesario a la hora de inducir mutaciones ya que a valores bajos de pH, la cantidad de azida sódica disociada a ácido hidrozóico, que está involucrado directamente con las mutaciones en plantas con éste agente, es altamente superior al producido en un medio básico o neutro (Al-Qurainy & Khan, 2009).

En la variable longitud de la raíz no se identifica una gran variación al igual que en el trabajo de Divanli-Türkan & Khawar, Ciftçi (2006) con *Pisum sativum*, sin embargo, se debe enfatizar la notable disminución de mencionada variable en los ejemplares sometidos al mutágeno respecto al control, siendo el tratamiento de 0,3 mM con el promedio más bajo, pero esto, según la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis para datos no paramétricos utilizada, esto no representa una diferencia estadísticamente significativa. Sin embargo, al observar la tendencia decreciente del gráfico respecto al control, se destacan trabajos con resultados similares, como en el de Mensah (2007) donde se detalló una tendencia fuertemente decreciente en ésta variable, o en el trabajo con *Salvia farinacea* de Salas (2015) quien obtuvo como resultado un gráfico fluctuado pero de tendencia decreciente

respecto al control. Un fenómeno semejante ocurrió con el trabajo de Birara (2013) con sésamo. Presentaba gráficos oscilantes respecto a ésta variable, sin embargo resalta el hecho que las dosis más altas utilizadas en esa investigación coinciden con el valor más bajo obtenido respecto a la variable longitud de la raíz.

Teniendo en cuenta el promedio de altura de la planta del tratamiento control, exclusivamente con agua, se observó que el tratamiento mutagénico más cercano al GR<sub>40</sub> que sería de 2,71875 cm, está dado por el tratamiento 5 (T5) de 0,5 mM del mutágeno, con el valor de 3,1. Lo cual implica que las dosis utilizadas generan variaciones a nivel morfológico, específicamente en esta variable, sin embargo no alcanzan el porcentaje de reducción esperado.

### **Conclusión**

De las cinco dosis de ázida sódica utilizadas con las semillas de *Sesamum indicum var. escoba*, se observaron las tendencias de los gráficos en relación al porcentaje de germinación, altura de la planta a partir de la tercera dosis del mutágeno. Respecto a la variable de mayor importancia en inducción a mutaciones, la altura de la planta, mediante la prueba de Kruskal-Wallis se constató la existencia de diferencias estadísticamente significativas a nivel intergrupar, posteriormente con ayuda del estadístico de contraste U de Mann-Whitney, se destacaron las diferencias significativas del grupo de semillas expuesto a 0,5mM del mutágeno respecto a los demás tratamientos, a excepción del tratamiento 0,4 mM, con quien no tuvo diferencias significativas. Por otra parte, en la variable longitud de la raíz no se presentaron evidencias de diferencias estadísticamente significativas de acuerdo a la prueba de Kruskal-Wallis para datos no paramétrico, sin embargo, de igual manera en el gráfico se detalla una tendencia decreciente respecto al tratamiento control. Relativo al porcentaje de germinación y a la variable altura de la planta se destaca la tendencia similar de ambos gráficos, lo que contrasta un efecto proporcional del ázida sódica respecto a éstas dos variables. Así también del porcentaje de germinación se detalló una notable disminución respecto al control, y a los demás, en el tratamiento de 0,5mM del químico mutagénico, respecto al

control. Con los resultados obtenidos de ésta investigación, se rechaza la hipótesis planteada y se determina de que las dosis requeridas para reducir el tamaño de la altura de la planta de sésamo en un 40% e inducir mutaciones deben ser superiores a 0,5 mM.

### **Recomendaciones**

Si bien se obtuvieron tendencias similares a otros trabajos de investigación, se recomienda elaborar ensayos con mayores dosis de ázida sódica a las empleadas y mayor tiempo de exposición al mismo, además de ampliar el número de muestras a estudiar.

### **Referencias bibliográficas**

- Al-Qurainy, F., & Khan, S. (2009). Mutagenic Effects of Sodium Azide and its Application in Crop Improvement. *World Applied Science Journal*, 6(12), 1589–1601.
- Awan, M. A., Konzak, C. F., Rutger, J. N., & Nilan, R. A. (1980). Mutagenic Effects of Sodium Azide in Rice. *Crop Science*, 20, 663–668.
- Ayala Aguilera, L., Rossana Barrios, L., Borsy, P., Delgado, V., Florentín, M., Gadea, R., Talavera, N. (2010). Buenas prácticas en manejo del sésamo Una orientación para técnicos y productores, 23.
- Baron Lopez, F. J., & Tellez Montiel, F. (2013). Independencia de variables categóricas, 6. Recuperado de <http://www.bioestadistica.uma.es/baron/apuntes/ficheros/cap07.pdf>
- Begum, T., & Dasgupta, T. (2010). A comparison of the effects of physical and chemical mutagens in sesame ( *Sesamum indicum* L .), 766, 761–766.

- Birara, A., Muthuswamy, M., & Andargie, M. (2013). Effect of Chemical Mutation by Sodium Azide on Quantitative Traits Variations in Sesamum indicum L. *Asian Journal of Biological Sciences*, 6(8), 356–362.  
<https://doi.org/10.3923/ajbs.2013.356.362>
- Borrego del Pino, S. (2008). Estadística Descriptiva E Inferencial I. *Revista Digital Universitaria*, N° 13(August), 1–12. Recuperado de [http://www.csi-csif.es/andalucia/modules/mod\\_ense/revista/pdf/Numero\\_13/SILVIA\\_BORREGO\\_2.pdf](http://www.csi-csif.es/andalucia/modules/mod_ense/revista/pdf/Numero_13/SILVIA_BORREGO_2.pdf)
- Casas, A., & Caballero, J. (1995). Domesticación de plantas y origen de la agricultura en Meoamérica. *Ciencia*, 40, 36–45.  
<https://doi.org/10.17129/botsci.1537>
- Coa Urbaez, M., Mendez Natera, J. R., Silva Acuña, R., & Mundarain Padilla, S. (2014). Evaluación de métodos químicos y mecánicos para promover la germinación de semillas y producción de fosforitos en café (Coffea arábica) var. Catuaí Rojo. *Idesia (Arica)*, 32(1), 43–53.  
<https://doi.org/10.4067/S0718-34292014000100006>
- de Barros, A., & Arthur, V. (2005). Determinação experimental da dose de redução do crescimento (GR50) e da dose letal (LD50) de soja irradiada por raios gama. *Arq. Inst. Biol., São Paulo*, 72(2), 249–253. Recuperado de <http://pintassilgo2.ipen.br/biblioteca/2005/11378.pdf>
- De La Cruz-Oré, J. L. (2013). ¿Qué significan los grados de libertad? *Revista Peruana de Epidemiología*, 17(1), 1–6. <https://doi.org/1609-7211>
- Diez De Ulzurrun, P., & Leaden, M. I. (2012). Análisis de la sensibilidad de biotipos de Lolium multiflorum a herbicidas inhibidores de la enzima ALS, ACCasa y Glifosato. *Planta Daninha*, 30(3), 667–673.  
<https://doi.org/10.1590/S0100-83582012000300024>
- DIVANLI-TÜRKAN, A., & KHALID MAHMOOD KHAWAR, CEMALETTIN YAŞAR ÇİFTÇİ, S. Ö. (2006). Effects of Mutagenic Sodium Azide ( NaN<sub>3</sub>) on In Vitro Development of Four Pea ( Pisum sativum L .) Cultivars. *INTERNATIONAL JOURNAL OF AGRICULTURE & BIOLOGY*, 3, 349–

353.

- Gómez-Gómez, M., Danglot-Banck, C., & Vega-Franco, L. (2013). Cómo seleccionar una prueba estadística (Primera de dos partes). *Revista Mexicana de Pediatría*, 80(1), 30–34.
- Gonzalez, D., & Cristaldo, R. M. O. De. (2011). Variabilidad fenotípica de plantas de sésamo (*Sesamum indicum* L.), variedad Escoba, con tres ciclos de depuración. *Investigación Agraria*, 13(1), 5–12.
- Gruszka, D., Szarejko, I., & Maluszynski, M. (2012). Sodium Azide as a Mutagen, (January 2012), 159–166. <https://doi.org/10.13140/2.1.2105.8560>
- IPGRI, & NBPGR. (2004). *Descriptors for Sesame (Sesamum spp.)*. Rome, Italy.
- Kochanová, Z., Ražná, K., Zuriaga, E., Badenes, M. L., & Brindza, J. (2012). Sodium Azide Induced Morphological and Molecular Changes in Persimmon (*Diospyros Lotus* L.). *Agriculture*, 58(2), 57–64. <https://doi.org/10.2478/v10207-012-0007-6>
- Leite., G. M., Roa., M. Á. K. M., & Cristaldo., R. M. De. (2013). RENDIMIENTO DEL SÉSAMO *Sesamum indicum* L. VARIEDAD ESCOBA, EN SUELOS DEGRADADOS, EN EL SISTEMA DE SIEMBRA DIRECTA. *Investigación Agraria*, 5(2), 37–44.
- León, J. (1987). *Botánica de los Cultivos Tropicales*. S. E. IICA, Ed. 2° Edición. Turrialba, Costa Rica.
- Martinez, M., Sanchez, A., & Faulín, J. (2006). *Bioestadística Amigable* (2°). España: Ediciones Diaz de Santos.
- Mensah, J. K., Obadoni, B. O., Akomeah, P. A., Ikhajiagbe, B., & Ajibolu, J. (2007). The effects of sodium azide and colchicine treatments on morphological and yield traits of sesame seed (*Sesame indicum* L.). *African Journal of Biotechnology*, 6(5), 534–538.
- Micke, A. (1981). Mejoramiento de las plantas mediante mutaciones inducidas. *OIEA*, 23(3), 40–51.

- Montanero Fernández, J. (2003). Manual de bioestadística, 3<sup>a</sup> ed, XIII, 337 :  
gráf. ; 21 cm. Recuperado de  
<http://matematicas.unex.es/~jmf/Archivos/Bioestadistica.pdf>
- Mussi, C. (2016). VARIABILIDAD FENOTÍPICA EN POBLACIONES M 1 DE  
SÉSAMO ( *Sesamum indicum* L . ) IRRADIADO CON RAYOS GAMMA  
Phenotypic variability in M 1 populations of sesame ( *Sesamum indicum* L . )  
with gamma ray irradiated Carlos Mussi ) , Héctor Nakayama y Rosa Oviedo  
de Cr. *Cultivos Tropicales*, 37, 74–80.  
<https://doi.org/10.13140/RG.2.1.3749.3362>
- Nascimento Junior, A. do, Felix de Carvalho, F. I., Barbosa Neto, J., & Federizzi,  
L. C. (1994). Agentes mutagenicos e a intensidade de variabilidade genetica  
no caracter estatura d plantas de aveia (*Avena sativa* L.). *Ciencia Rural*,  
24(2), 291–297.
- Nicolson, D. H., & Wiersema, J. H. (2004). ( 1618 ) Proposal to conserve  
*Sesamum indicum* against *Sesamum orientale* ( *Pedaliaceae* ). *International  
Association for Plant Taxonomy*, 53(February), 210–211.
- Novak, F., & Brunner, H. (1992). Fitotecnia : Tecnología de mutación inducida  
para el mejoramiento de los cultivos. IAEA Bull. 4:25-33. Recuperado de  
[https://www.iaea.org/sites/default/files/34405682533\\_es.pdf](https://www.iaea.org/sites/default/files/34405682533_es.pdf)
- Núm, D., & Canela, A. (2015). SPSS para Windows y alternativamente con  
EPIINFO y EPIDAT : ( II ) Asociación entre una variable cuantitativa y una  
categórica. *Family Business Review*, 2(Ii), 1–20.
- Olsen, O. L. E., Wang, X., & Wettstein, D. V. O. N. (1993). Olsen, O. L. E.,  
Wang, X., & Wettstein, D. V. O. N. (1993). Sodium azide mutagenesis :  
Preferential generation of A T - > GC transitions in the barley Antl8 gene,  
90(September), 8043–8047. Sodium azide mutagenesis : Preferential  
generation of A T - > GC tr, 90(September), 8043–8047.
- Pierce, B. (2011). Fundamentos de genética: conceptos y relaciones. Editorial  
Médica Panamericana. Buenos Aires, Argentina. pp. 321-339

- Rivas-Ruiz, R., Moreno-Palacios, J., & Talavera, J. O. (2013). Diferencias de medianas con la U de Mann-Whitney. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc*, 51(4), 414–9. Recuperado de <http://www.medigraphic.com/pdfs/imss/im-2013/im134k.pdf>
- Roca, W. (1999). Biotecnología y seguridad alimentaria países en desarrollo. *Revista Corpoica*, 3, 3–5.
- Salas, L. (2015). *La azida de sodio aplicada a semillas de salvia (Salvia farinaceae Benth. Var Blue Bedder) para cambios genéticos*. Recuperado de <http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/1605/Q54.B9D-T.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Sánchez-Soto, B. H., Pacheco-Aispuro, E., Reyes-Olivas, Á., Lugo-García, G. A., Casillas-Álvarez, P., & Saucedo-Acosta, C. P. (2016). Ruptura de latencia física en semillas de *Caesalpinia platyloba* S. Watson. *Interciencia*, 41(10), 691–695.
- Sander, C., & Auer, F. J. M. (1977). MUTAGENIC EFFECTS OF SODIUM AZIDE AND GAMMA IRRADIATION IN PISUM \*, 17, 43–46.
- Silva, R. (1998). Estimación De La Heterosis Y Heredabilidad En Una Población Indehiscente De Ajonjolí Tipo Chino, *Agronomía Tropical*. 48(2):177-192
- Simone, A., Fernando, L. C., & Jefferson, L. M. (1998). Efeito dos mutagênicos azida sódica e metano sulfonato de etila , na geração m 1 , em trigo (*Triticum aestivum* L .), 125–129.
- SPSS Inc. Released 2016. PASW Statistics for Windows, Versión 24.0. Chicago: SPSS Inc
- Tomlinson, C. R. (1980). Effects of ph on the mutagenicity of sodium azide in *Neurospora crassa* AND *Salmonella typhimurium*, 70, 179–191.
- Torres, M. I. C., & Cristaldo, R. M. O. De. (2013). Caracterización agronómica de cuatro variedades de sésamo (*Sesamum indicum* L.), sembradas en el departamento Central. *Investigación Agraria*, 10(2), 10–15.

- Van Humbeeck Acuña, M. A., & Oviedo de Cristaldo, R. M. (2012). Población de plantas y su efecto en el desarrollo vegetativo y rendimiento del sésamo (*Sesamum indicum* L.) variedad Escoba. *Investigación Agraria*, 14(1), 25–30.
- Villar Vera, L. (2008). Cultivo de Sésamo. *Compilación Agricultura II. Ministerio de Agricultura Y Ganaderia*, 27–39.
- Zárate, C., Oviedo, R., & González, D. (2011). Rendimiento del cultivo de sésamo (*Sesamum indicum* L.), variedad Mbarete, en diferentes épocas de siembra y poblaciones de plantas Sesame. *Investigación Agraria*, 13(2), 67–74.