



Avances en Investigación Agropecuaria
ISSN: 0188-7890
revaia@ucol.mx
Universidad de Colima
México

Evaluación de la calidad fisiológica de las semillas de *Linum usitatissimum* L. con la prueba de tetrazolio

Salazar Mercado, Seir Antonio; Maldonado Bayona, Hanner Alejandra; Quintero Caleño, Jesús David
Evaluación de la calidad fisiológica de las semillas de *Linum usitatissimum* L. con la prueba de tetrazolio
Avances en Investigación Agropecuaria, vol. 22, núm. 3, 2018
Universidad de Colima, México

Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=83758178005>

INFORMACIÓN LEGAL AVANCES EN INVESTIGACIÓN AGROPECUARIA, volumen 22, número 3, septiembre de 2018 es una Publicación cuatrimestral editada por la Universidad de Colima, Av. Universidad # 333, Col. Las Víboras, Colima, Colima, México. CP 28045. Teléfono: (312) 3161000. Ext. 40011, www.ucol.mx/revaia, revaia@ucol.mx, aiaagropecuarias@yahoo.com.mx. Director responsable José Manuel Palma García. Reserva de Derechos al Uso Exclusivo No. 04-2016-112411015200-203, ISSN digital "en trámite", ambos otorgados por el Instituto Nacional del Derecho de Autor. Responsable de la última actualización, MC. Rosa Alejandra del Viento Camacho e Ing. Manuel Gutiérrez Gómez, Av. Universidad # 333, Col. Las Víboras, Colima, Colima, México. CP 28045, fecha de última modificación 20 de febrero de 2019. Las opiniones expresadas por los autores no necesariamente reflejan la postura del editor de la publicación. Se autoriza la reproducción total o parcial de los textos aquí publicados siempre y cuando se cite la fuente completa y la dirección electrónica de la publicación.



Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial 4.0 Internacional.

Evaluación de la calidad fisiológica de las semillas de *Linum usitatissimum* L. con la prueba de tetrazolio

Evaluation of the physiological quality of the *Linum usitatissimum* L. seeds using tetrazolium test

Seir Antonio Salazar Mercado
Facultad de Ciencias Básicas, Francisco de Paula
Santander., Colombia
salazar663@hotmail.com

Redalyc: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=83758178005>

Hanner Alejandra Maldonado Bayona
Facultad de Ciencias Agrarias y del Medio Ambiente.
Universidad Francisco de Paula Santander., Colombia

Jesús David Quintero Caleño
Facultad de Ciencias Agrarias y del Medio Ambiente.
Universidad Francisco de Paula Santander., Colombia

Recepción: 27 Febrero 2018
Aprobación: 17 Diciembre 2018

RESUMEN:

La linaza es una planta herbácea de la familia de las lináceas que corresponde a la semilla del lino (*Linum usitatissimum* L.) utilizada tradicionalmente como oleaginosa. El interés por estas semillas aumenta por el reconocimiento de algunos de sus componentes con potenciales beneficios para la salud. En este estudio se determinó la eficacia de la prueba de viabilidad de tetrazolio en semillas de *L. usitatissimum*. En consecuencia, se sometieron semillas de *L. usitatissimum* a cuatro tratamientos, los cuales consistieron en dos concentraciones (0.5 % y 1 %) y dos tiempos de exposición (24h y 48h). Posteriormente, se evaluó la tinción de las semillas con la ayuda de un microscopio estereoscópico, tomando como semillas viables las que presentaron coloración roja en el embrión, de esta forma se pudo obtener diferencias estadísticamente significativas ($P \leq 0,05$: Tukey HSD) para el tratamiento T1 (0.5 %, 24h) con un 65% de semillas viables. Del mismo modo, no se observaron diferencias entre los tratamientos T2 (1 %, 24h), T3 (0.5 %, 48h) con viabilidad del 86% y T4 (1 %, 48h) con 89 % de viabilidad. En cuanto a la prueba de germinación, en promedio se obtuvo un 86 % en las cinco repeticiones con una desviación estándar de 9.63. Se concluye que la evaluación de la viabilidad en semillas de linaza mediante ensayo de tetrazolio es eficiente para las concentraciones de 1 % durante 24 y 48 horas y para 0.5 % a 48 horas de exposición.

PALABRAS CLAVE: Cloruro de trifeniltetrazolio, linaza, viabilidad, germinación.

ABSTRACT:

Flaxseed is a herbaceous plant of the Linnaceae family that corresponds to the flax seed (*Linum usitatissimum* L.) it is traditionally used as oil-seed. The interest for these seeds increases due to the recognition of some components with the health benefits. In this study, the effectiveness of the tetrazolium viability test in *L. usitatissimum* seeds was determined. Consequently, seeds of *L. usitatissimum* were presented to four treatments, which consisted of two (0.5 % and 1 %) and two exposure times (24h and 48h). Subsequently, the duration of the seeds was evaluated with the help of a stereoscope microscope, as the viable seeds of the red coloration in the embryo, in this way statistically significant differences can be obtained ($P \leq 0.05$: Tukey HSD) for the T1 treatment (0.5 %, 24h) with 65 % viable seeds. Similarly, no differences were observed between treatments T2 (1 %, 24h), T3 (0.5 %, 48h) with viability of 86 % and T4 (1 %, 48h) with 89 % of viability. In the germination test, an average of 86 % was obtained in the five replicates with a standard deviation of 9.63. Concluding that the evaluation of viability in flax seed by means of the tetrazolium assay is efficient for the responses of 1 % for 24 and 48 hours and for 0.5 % at 48 hours of exposure.

KEYWORDS: Triphenyltetrazolium chloride, flaxseed, viability, germination.

INTRODUCCIÓN

El género *Linum* hace parte de la familia *Linaceae* y comprende alrededor de 200 especies, las cuales presentan una amplia diversidad bioquímica y morfológica (Gul *et al.*, 2016). El nombre del género *linum* proviene del llin que significa rojo; la palabra *usitatissimum* proviene del latín y significa muy útil (Fonnegra, 2007). La semilla de linaza (*L. usitatissimum*) posee un historial extenso de consumo en Europa y Asia. Se cultiva desde por lo menos 5,000 años a.C; hoy en día se cultiva principalmente por su aceite (Liu *et al.*, 2016). En Brasil, esta oleaginosa está siendo adicionada a diversos alimentos tales como: cereales, barras energéticas y otros productos para la alimentación (Lenzi de Almeida *et al.*, 2008). Su origen es del mediterráneo; hasta hace un tiempo fue considerada como una oleaginosa industrial debido a sus diversos usos en alimentación, salud y su gran valor nutritivo en grasa, fibra y proteínas hacen que se despierte un interés por esta semilla en diversas industrias como lo son la de alimentos y por parte del consumidor (Cuevas y Sangronis, 2012). La linaza se reconoce como una fuente vegetal de ácidos grasos esenciales omega-3 (Soni *et al.*, 2017; Jiménez *et al.*, 2013), los cuales son importantes para la salud humana, además contiene diversos nutrientes como proteínas, fibras y antioxidantes como lignanos, fenoles, tocoferoles y flavonoides (Herchi *et al.*, 2015; Zaa *et al.*, 2012).

Las semillas son esenciales para la multiplicación de diversas especies de plantas (Victoria *et al.*, 2006) y la calidad de estas semillas es crucial para obtener buenas cosechas (Ávila-Marioni *et al.*, 2012). Existen especies que requieren mayor investigación pues poseen características importantes para el bienestar de los seres humanos (Victoria *et al.*, 2006), tal es el caso de la linaza, por ello resulta apropiado realizar estudios con el objetivo de optimizar la producción.

La viabilidad de semillas es comúnmente evaluada utilizando el test de tetrazolio (Vudala y Ribas, 2017). En donde, esta se implementa en una gran variedad de especies (Salazar y Botello, 2018; Pereira *et al.*, 2017; Sarmiento *et al.*, 2013; Salazar, 2012), debido a que se requiere muy poco tiempo para la identificación de las semillas viables y no viables (Scherwinski *et al.*, 2010). A través del tiempo se enfatiza en obtener mejores resultados a la hora de cultivar para obtener los mayores índices de cosecha posibles. El test de Tetrazolio es un identificador funcional a la hora de la determinación de la viabilidad de las semillas (Salazar y Cancino, 2012; Salazar *et al.*, 2013). De acuerdo a lo anterior, el test de tetrazolio es uno de los más utilizados por investigadores con el propósito de evaluar la viabilidad de las semillas de cualquier especie (Hosomi *et al.*, 2012). Esta prueba se basa en la actividad de las enzimas hidrolasas, particularmente deshidrogenasas del ácido málico que reduce la sal de tetrazolio a formazan en los tejidos viables de las semillas (Prieto *et al.*, 2015). De acuerdo con lo anterior, la solución de tetrazolio debido a la reducción causa coloración rojiza en los tejidos vivos de la semilla (embrión) lo cual indica que la semilla es viable, los tejidos muertos (no viables) no reaccionan con la solución conservando su color natural (Lazarotto *et al.*, 2011). También, son varios los factores que interfieren con el test del tetrazolio, especialmente aquellos relacionados con la metodología como la preparación de las semillas (Pereira *et al.*, 2017).

El periodo en el cual la semilla está inmersa en la solución de tetrazolio posee una influencia en los resultados, pues el exceso del tiempo de contacto del embrión con la solución puede resultar en una coloración incluso si las semillas no son viables (Pereira *et al.*, 2017; Sarmiento *et al.*, 2013). Por otra parte, para confirmar la actividad de la prueba del Tetrazolio es necesario que se realicen ensayos de germinación que permiten evaluar el poder germinativo y reconocer el valor potencial para la siembra en campo (Rodríguez y Redman, 2008). El presente estudio evalúa la viabilidad de las semillas de *L. usitatissimum* utilizando la prueba de tetrazolio con diferentes concentraciones y tiempos de exposición, además su comparación con la prueba de germinación.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Las semillas de linaza (*Linum usitatissimum*), se adquirieron en zonas de cultivo en el sector el “Morro” de la ciudad de Mérida, Venezuela en agosto del 2017. Posteriormente se almacenaron en sobres de papel kraft a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ y humedad relativa del 60 %. El estudio se realizó en las instalaciones de la Universidad Francisco de Paula Santander, en el laboratorio de fisiología vegetal ubicado en la Facultad de Ciencias Agrarias y del Ambiente.

Viabilidad de semillas

Para estudiar óptimamente la viabilidad de las semillas de linaza, se realizó un corte longitudinal a las semillas y la testa se retiró para exponer el embrión a la solución de tetrazolio (figura 1). Las semillas fueron evaluadas según las categorías de tinción determinadas por Maldonado-Peralta *et al.* (2016).

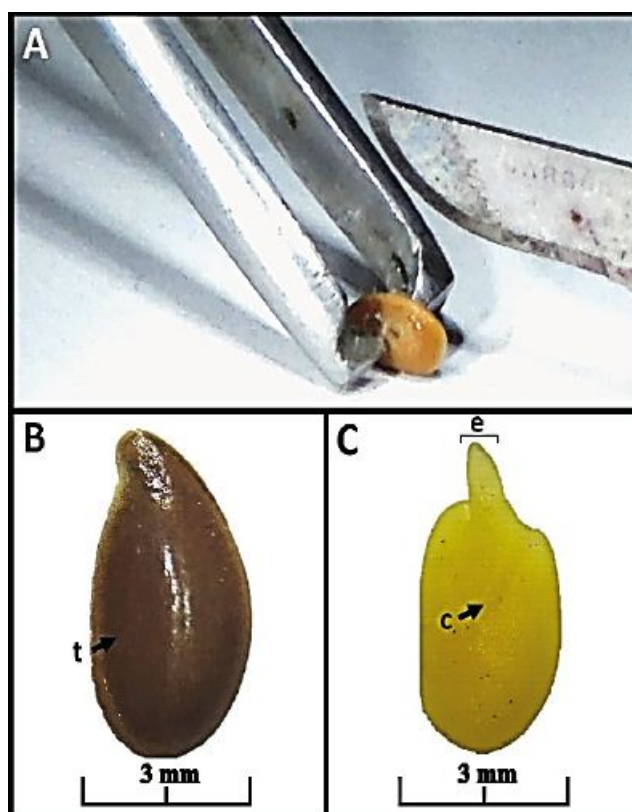


FIGURA 1

Semillas de *L. usitatissimum* para la evaluación de la viabilidad. (A) Corte longitudinal de la semilla, (B) semilla con testa y (C) semilla sin testa (c: endospermo, e: embrión y t: testa).

Se sumergieron 100 semillas de linaza con cinco repeticiones en una solución de tetrazolio (2, 3, 5-cloruro trifeníl tetrazolio) con diferentes concentraciones (0.5 % y 1.0 %) y tiempos de exposición (24 y 48h), en la oscuridad (cuadro 1). La viabilidad de las semillas se evaluó con un microscopio estereoscopio LEICA EZ4. De cada tratamiento se desarrollaron cinco réplicas. Las semillas viables se tiñeron de rojo por consecuencia de la reducción del tetrazolio debido a la actividad respiratoria de las células. (Salazar y Gélvez-Manrique, 2015). La viabilidad de las semillas se clasificó según la coloración del embrión (ISTA, 2010). Se considera

que es viable cuando posee una coloración rojiza ya sea intensa (roja) o parcial (rosada) en el embrión (figura 2; A, B, C, D, E, F, G, H) y aquellas semillas que no son viables se constatan mediante el análisis de la no tinción del embrión (figura 2; I, J, K, L).

CUADRO 1
Tratamientos de *L. usitatissimum* con diferentes concentraciones y tiempos de exposición con tetrazolio.

Tratamientos	Concentraciones de tetrazolio (%)	Tiempo de exposición (horas)
T1	0.5	24
T2	1.0	24
T3	0.5	48
T4	1.0	48

Germinación

Para propósitos de estudio de la germinación de las semillas, el método utilizado fue el descrito por las reglas internacionales ISTA (2012). Utilizando como sustrato toallas de papel, a una temperatura alterna entre 20 y 30 °C, correspondiendo la temperatura baja al ciclo de noche (16 horas) y alta al ciclo de día (8 horas). Con una humedad relativa del 80 % (Pollock y Ross, 1972). Las repeticiones fueron sembradas siguiendo la metodología empleada por Patil *et al.* (2015). Para la evaluación de la germinación en semillas de *Linum usitatissimum*, se utilizaron bandejas de plástico con una proporción de 35 ml de agua por gramo de papel, donde se humedecieron a diario. Estas fueron sometidas a oscuridad durante tres días, se evaluaron 100 semillas con cinco repeticiones. Las semillas que germinaron fueron contadas para la determinación del porcentaje de germinación, que posteriormente se compararon con los porcentajes de viabilidad.

Diseño experimental

El diseño experimental fue factorial 2 x 2, completamente al azar (dos concentraciones de tetrazolio y dos tiempos de exposición) y 100 semillas con cinco repeticiones. Los datos arrojados en la prueba de tetrazolio se analizaron con ANDEVA, del mismo modo, en la comparación hecha entre el porcentaje de germinación y la prueba de viabilidad con tetrazolio. Posteriormente, las medidas fueron comparadas utilizando la prueba de rangos múltiples de Tukey con el propósito de determinar las diferencias significativas a un nivel de $P \leq 0.05$. En la evaluación del análisis estadístico, fue utilizado el software Statgraphic Centurion® versión 17. Para la elaboración de las gráficas se utilizó el software KyploT 2.0.

RESULTADOS

Viabilidad y germinación de las semillas de *Linum usitatissimum*

De acuerdo a la evaluación de la coloración en las semillas de *Linum usitatissimum* se encontró variación en los tratamientos aplicados. No se observó diferencias estadísticamente significativas ($P: 0.0005$, Tukey HSD)

entre los tratamientos T2 (1 %, 24h) con un 86 %, T3 (0.5 %, 48h) con un 86 %, y T4 (1 %, 48h) mostrando un 89 % de semillas viables (cuadro 2). Así mismo se visualizaron diferencias estadísticamente significativas entre el uso de solución de tetrazolio al 0.5 % por un tiempo de exposición de 24h (T1), y el resto de los tratamientos (T2, T3, y T4) con una media de 65 %, dato muy por debajo del resto. Lo que demuestra que tanto el tiempo, como la concentración de tetrazolio intervienen directamente en los resultados de la tinción.

CUADRO 2
Porcentaje de la viabilidad de semillas de *L. usitatissimum* utilizando la prueba de tetrazolio.

Tratamientos	% Viabilidad de semillas de <i>L. usitatissimum</i>	
	Viables	No viables
T1 (0.5%, 24h)	65 ± 1.0 ^b	35 ± 1.0 ^b
T2 (1%, 24h)	86 ± 3.8 ^a	14 ± 3.8 ^a
T3 (0.5%, 48h)	86 ± 3.8 ^a	14 ± 3.8 ^a
T4 (1%, 48h)	89 ± 3.0 ^a	11 ± 3.0 ^a
P	0.0005	0.0005

Los valores de las medias con diferente letra de cada columna, indican diferencias estadísticamente significativas, según la prueba de Tukey HSD ($P \leq 0.05$). $\pm$: Error estándar.

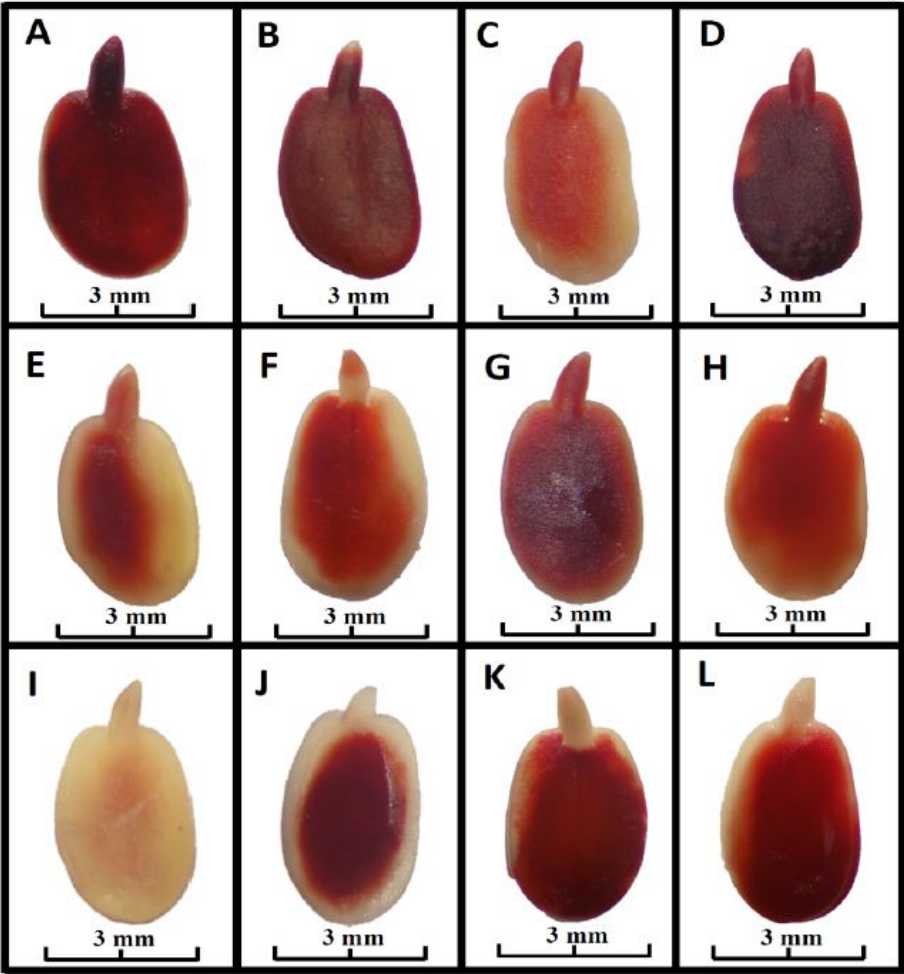


FIGURA 2
Evaluación de la viabilidad de semillas de *L. usitatissimum* utilizando la prueba de tetrazolio (A, B, C, D, E, F, G, H) semillas viables (I, J, K, L) semillas no viables.

CUADRO 3
Porcentaje de germinación de *L. usitatissimum*

Repeticiones	Germinación %
R1	96
R2	80
R3	88
R4	72
R5	92
Media	86
Desviación estándar	9.63

En la prueba de germinación se obtuvo un porcentaje promedio del 86 % en la evaluación del porcentaje de germinación (cuadro 3), valor que concuerda estadísticamente con los porcentajes obtenidos de viabilidad en T2, T3 y T4 (cuadro 4).

CUADRO 4
Comparación entre el porcentaje de viabilidad y porcentaje de germinación de *Linum usitatissimum*

Tratamientos	% Viabilidad	P
T1	65 ^a ±1.0	0.0001
T2	86 ^b ±3.8	1.0000
T3	86 ^b ±3.8	1.0000
T4	89 ^b ±3.0	0.3559
Media	81.5	0.0005
Germinación (%)	86 ^b	

Los valores con diferente letra dentro de cada ensayo de viabilidad y germinación, demuestran diferencias estadísticamente significativas, de acuerdo a la prueba de Tukey HSD ($P \leq 0.05$).

DISCUSIÓN

Comparación de viabilidad y germinación

Los patrones de tinción identificados en las semillas de *L. usitatissimum* fueron similares a los reportados en otras especies como *Chromolaena odorata* y *Cariniana pyriformis*, datos obtenidos en el estudio realizado por Espitia-Camacho *et al.* (2017). Las variaciones en la intensidad de tinción (figura 2), ocurren debido a que la sal de tetrazolio permite determinar también la presencia, localización y por ende naturaleza de las alteraciones de los tejidos de las semillas (Lima *et al.*, 2010; ISTA, 2014). De esta forma la coloración roja intensa indica la presencia de actividad celular en el embrión y la no coloración indica que no hay presencia de actividad celular, por lo tanto, es una semilla no viable (Monroy *et al.*, 2017). Por tal razón, la prueba del tetrazolio se utiliza en programas de control de calidad de semillas, aquella pequeña tinción débil que presentan las semillas en algunas partes del embrión indican que poseen una disminuida actividad respiratoria y, por lo tanto, menor actividad de las enzimas deshidrogenasas (Rao *et al.*, 2007).

En otras especies como *Acca sellowiana* (Sarmiento *et al.*, 2013) y *Ceiba speciosa* (Lazarotto *et al.*, 2011), se encontraron resultados similares, permitiendo constatar la eficiencia de los tratamientos utilizados para la determinación de la viabilidad de las semillas de *L. usitatissimum*, lo que concuerda con lo reportado por Grzybowski *et al.* (2012) en *Hordeum vulgare*. En diversas especies el método más utilizado para la determinación de viabilidad es la prueba bioquímica de tetrazolio (Johnson *et al.*, 2007). Aunque, no todas las semillas responden de la misma forma a la prueba, ya que esta se basa en la actividad de las deshidrogenasas (Salazar *et al.*, 2013). Según un estudio realizado por Elizalde *et al.* (2017), se identificó que es posible determinar en las semillas su viabilidad por la tinción del tejido vivo (coloración roja) y analizar si está parcialmente dañado (tonalidades rosadas) o en dado caso no viable o muerto (ISTA, 2010).

La prueba de germinación ayuda a discriminar entre las semillas que no germinaron por ser latentes, abortadas, o tener embrión dañado (Elizalde *et al.*, 2017). Dicha prueba mostró un 86 % de germinación en promedio para las cinco repeticiones con una desviación estándar de 9.63 (cuadro 3), siendo más bajo en comparación a la viabilidad obtenida en T4 (1 %, 48h) (cuadro 2), encontrándose igualdad con T2 (1 %,

24h) y T3 (0.5 %, 48h), donde la viabilidad fue del 86 % para cada uno (cuadro 4). Resultados similares a los descritos por Zaghdoudi *et al.* (2015), donde semillas de *L. ussitassimum*, presentaron un 97 % germinación en condiciones similares a este estudio, siendo conveniente en el ámbito agronómico, ya que se observa una tendencia en los resultados del estudio realizado por Patil *et al.* (2015) en semillas de *L. ussitassimum*, donde la germinación fue del 92 % para la variedad NL-97 y de 96 % para la variedad NL-260. Según Nasri *et al.* (2017), las fluctuaciones de factores como la temperatura influyen en la germinación de las semillas, no obstante, la prueba con tetrazolio, permitió determinar que las semillas analizadas, tenían potencial germinativo, indicando que en promedio el 81.5 % de las semillas de la muestra tenían posibilidad de germinar.

Las semillas de la mayoría de las plantas precisan de un periodo de letargo o dormancia antes de que estas puedan germinar; este letargo puede interrumpirse con la acción de la temperatura o la luz (Ramírez *et al.*, 2016). Los ensayos de germinación permiten determinar el potencial que posee un lote de semillas y por lo tanto determinar su capacidad para la siembra en campo (Rodríguez *et al.*, 2008). Sin embargo, la germinación puede verse afectada por factores externos, internos y del medio ambiente (Stefanello *et al.*, 2017; Arenas y Heredia, 2017). De acuerdo con lo anterior, la validez de la evaluación de la viabilidad de las semillas debe ser confirmada con la prueba de germinación (Johnson *et al.*, 2007). Dentro de los factores internos se encuentra la viabilidad, la cual se midió a través de la prueba bioquímica del tetrazolio, que permite la diferenciación de los tejidos vivos y muertos por la tinción roja del formazan sobre las células vivas (Canuto, 2012). Según Elizalde *et al.* (2017) la prueba de germinación permite reconocer aquellas semillas que germinaron y aquellas que no, por ser latentes o tener el embrión dañado. La prueba del tetrazolio es rápida al momento de estimar la viabilidad de semillas y su vigor basado en las alteraciones de color (coloración roja) en los tejidos vivos en contacto con la solución de tetrazolio, lo que refleja el grado de actividad del sistema enzimático de la deshidrogenasa relacionado estrechamente con la respiración celular y por tanto indica la viabilidad de las semillas (Corbineau, 2012). La germinación es un factor importante con el cual se comprueban los valores de viabilidad obtenidos con el tetrazolio como se demostró en este estudio. La finalidad de estas dos pruebas es identificar las diferencias más importantes de las semillas en el potencial fisiológico (Filho, 2015).

CONCLUSIÓN

Se determinó que la evaluación de la viabilidad mediante la prueba de tetrazolio es eficiente ya que, gracias a esta, se puede conocer el potencial germinativo de un lote de semillas, presentando una alternativa rápida para determinar la calidad fisiológica de semillas de *L. usitatissimum*. Del mismo modo, se concluye que las concentraciones de 0.5 % a 48h, 1 % a 24 y 48h de exposición, mostraron un alto grado de eficiencia con respecto al porcentaje de germinación.

RECOMENDACIÓN

Realizar estudios adicionales de viabilidad usando concentraciones mayores a 0.5 % y tiempos de 24h y/o más horas de exposición a la sal de tetrazolio, buscando llegar a una mayor exactitud en la determinación de la eficacia de la prueba de tetrazolio en semillas de *L. usitatissimum*.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Francisco de Paula Santander por su valiosa colaboración.

LITERATURA CITADA

- Arenas, L. C. y Heredia, A. K. (2017). *Calidad y germinación de semillas de quinua *Chenopodium quinoa* willd. almacenadas artesanalmente por productores*. Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A. Facultad de ingeniería. Bogotá, Colombia.
- Ávila-Marioni, M.R.; Jacobo-Cuellar, J.L.; Rosales-Serna, R.; Espinoza-Arellano, J. J.; González-Ramírez, H. and Pajarito-Ravelero, A. (2012). Influencia de la calidad de semilla en la producción de frijol en el norte centro de México. [Seed quality influence in bean production in the northern-central Mexico]. *Tecnociencia Chihuahua* 6(3): 158-164.
- Canuto, R.A. (2012). *Dehydrogenases*. InTech Design Team. Croatia. 366 p.
- Corbineau, F. (2012). Markers of seed quality: from present to future. *Seed Science Research* 22(S1): S61-S68.
- Cuevas, Z. O. y Sangronis, E. (2012). Caracterización de semillas de linaza (*Linum usitatissimum* L.) cultivadas en Venezuela. *Archivos latinoamericanos de nutrición* 62(2): 192.
- Elizalde, V.; García, J.; Peña, C.; barra, M.; Leyva, O. y Trejo, C. (2017). Viabilidad y germinación de semillas de *Hechtia perotensis* (Bromeliaceae). *Revista de Biología Tropical* 65 (1): 153-165.
- Espitia-Camacho, M.; Araméndiz-Tatis, H. y Cardona-Ayala, C. (2017). Características morfométricas, anatómicas y viabilidad de semillas de *Cedrela odorata* L. y *Cariniana pyriformis* Miers1. *Agronomía Mesoamericana* 28(3): 605-617.
- Filho, M. (2015). Seed vigor testing: an overview of the past, present and future perspective. *Scientia Agricola* 72(4): 363-374. Doi: <https://dx.doi.org/10.1590/0103-9016-2015-0007>.
- Fonnegra, R. (2007). *Plantas Medicinales aprobadas en Colombia*. 2ª. ed. Universidad de Antioquia. 368 p.
- Gul, S.; Rajper, A. A.; Kalhor, F. A.; Kalhor, S. A.; Ali, A.; Shah, F. y Ahmed, M. (2016). Screening Selected Linseed (*Linum usitatissimum* L.) Genotypes for Yield Performance in Sindh, Pakistan. *Natural Science* 8(2): 53-65.
- Herchi, W.; Bahashwan, S.; Sakouhi, F. y Boukhchina, S. (2015). Influence of harvest year in the physico-chemical properties and antioxidant activity of flaxseed hull oils from Tunisia. *Food Science and Technology* 35(1): 175-182. <http://dx.doi.org/10.1590/1678-457X.6579>.
- Hosomi, S. T.; Custódio, C. C.; Seaton, P. T.; Marks, T. R. & Machado-Neto, N. B. (2012). Improved assessment of viability and germination of *Cattleya* (Orchidaceae) seeds following storage. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant* 48(1): 127-136.
- International Seed Testing Association (ISTA). (2010). *International Rules for Seed Testing*. Bassersdorf, CH Switzerland. 300 p.
- International Seed Testing Association (ISTA). (2014). *International Rules for Seed Testing*, Fiona Hay (Chief Editor). Bassersdorf, CH Switzerland. Pp 15-70.
- International Seed Testing Association (ISTA). (2012). *International Rules for Seed Testing*. Seed science and Technology 31. Supplement. Zürich.
- Jiménez, P. Masson, S.; L. & Quitral, R. V. (2013). Composición química de semillas de chía, linaza y rosa mosqueta y su aporte en ácidos grasos omega-3. *Revi. Chil. Nutri.* 40(2): 155-160.
- Johnson, T. R.; Stewart, S. L.; Dutra, D.; Kane, M. E. y Richardson, L. (2007). Asymbiotic and symbiotic seed germination of *Eulophia alta* (Orchidaceae) preliminary evidence for the symbiotic culture advantage. *Plant cell, Tissue and organ culture* 90(3): 313-323.
- Lazarotto, M.; Piveta, G.; Brião Muniz, M. F. & Rejane, L. (2011). Adequação do teste de tetrazólio para avaliação da qualidade de sementes de *Ceiba speciosa*. *Semina: Ciências Agrárias* 32(4): 1243-1250.
- Lenzi de Almeida, K. C.; Spreafico Fernandes, F.; Teles Boaventura, G. & Guzmán-Silva, M. A. (2008). Efecto de la semilla de linaza (*Linum usitatissimum*) en el crecimiento de ratas Wistar. *Rev. Chil. Nutr.* 35(4): 443-451.
- Lima, L.B.; Pinto, T.L. & Novembre, A.D. (2010). Avaliação da viabilidade e do vigor de sementes de pepino pelo teste de tetrazolio. *Rev. Bras. Sementes* 32(1): 60-68.

- Liu, J.; Shim, Y. Y.; Poth, A. G. & Reaney, M. J. T. (2016). Conlinin in flaxseed (*Linum usitatissimum* L.) gum and its contribution to emulsification properties. *Food Hydrocolloids* 52: 963-971. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.09.001>.
- Maldonado-Peralta, M. A.; De Los Santos, G. G.; García-Nava, J. R.; Ramírez-Herrera, C.; Hernández-Livera, A.; Valdez-Carrasco, J. M. y Cetina-Alcalá, V. M. (2016). Seed viability and vigour of two nanche species (*Malpighia mexicana* and *Byrsonima crassifolia*). *Seed Science and Technology* 44(1): 168-176.
- Monroy, M. E.; Peña, C. B.; García, J. R.; Solano, E.; Campos, H. & García, E. (2017). Imbibición, viabilidad y vigor de semillas de cuatro especies de Opuntia con grado distinto de domesticación. *Agrociencia* 51(1): 27-42.
- Nasri, N.; Maatallah, S.; Saidi, I y Lachaâl M. (2017). Influence of Salinity on Germination, Seedling Growth, Ion Content and Acid Phosphatase Activities of *Linum Usitatissimum* L. *The J. Anim. Plant Sci.* 27(2): 517-521.
- Patil, N.; Datir, S y Shah, P. (2015). Salt-Induced Physiological and Biochemical Changes in two varieties of *Linum usitatissimum* L. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 4(9): 296-304.
- Pereira, E.; Torres, J.; Almeida, J. y Ramayane, R. (2017). Tetrazolium test for the viability of gherkin seeds. *Revista Ciência Agronômica* 48(1): 118-124. Doi <https://dx.doi.org/10.5935/1806-6690.20170013>.
- Pollock, B. M. y Ross, E. E. (1972). Seed and seedling vigour. In *Seed biology* T. T. Kozlowski (ed.) vol.1. Academic Press. Nueva York. 387 p.
- Prieto, I.; Violle, C.; Barre, P.; Durand, J. L.; Ghesquiere, M. & Litrico, I. (2015). Complementary effects of species and genetic diversity on productivity and stability of sown grasslands. *Nature Plants*. 1: 15033.
- Ramírez, L. A. B.; Hernández, D. C. D.; Sarmiento, J. E. F.; Bautista, M. Á. L.; y Vesga, R. A. L. (2016). Evaluación de tratamientos pregerminativos en semillas de café (*Coffea arabica* L.) variedad Castillo. *Revista del Sistema de Ciencia Tecnología e Innovación* (SENNOVA) 2(1): 136-161.
- Rao, N.K.; J. Hanson, M.E.; Dulloo, K.; Ghosh, D. y Larinde, M. (2007). *Manual para el manejo de semillas en bancos de germoplasma*. No. 8. Bioversity International, Roma, ITA. 182 p.
- Rodríguez, I.; Adam, G. y Durán, J. M. (2008). Ensayos de germinación y análisis de viabilidad y vigor en semillas. *Agricultura: Revista Agropecuaria* 78(912): 836-842.
- Rodriguez, R. & Redman, R. (2008). More than 400 million years of evolution and some plants still can't make it on their own: plant stress tolerance via fungal symbiosis. *Journal of Experimental Botany* 59(5): 1109-1114.
- Salazar, S. & Botello, E. (2018). Viabilidad de semillas de *Glycine max* (L.) utilizando la prueba de tetrazolio. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental* 9(2): DOI: <https://doi.org/10.22490/21456453.2270>.
- Salazar, S. & Cancino, G. (2012). Evaluación del efecto de dos suplementos orgánicos en la germinación *in vitro* de orquídeas nativas de la provincia de Pamplona Colombia. *Rev. Colomb. biotecnol* 14(1): 53-59.
- Salazar, S. A. (2012). Germinación asimbiótica de semillas y desarrollo *in vitro* de plántulas de *Cattleya mendelii* Dombrain (Orchidaceae). *Acta Agronómica* 61(1): 69-78.
- Salazar, S. A. & Gélvez-Manrique, J. D. (2015). Determinación de la viabilidad de semillas de orquídeas utilizando la prueba de Tetrazolio e Índigo Carmin. *Revista de Ciencias* 19(2): 59-69.
- Salazar, S.; Zulay, A. y Barrientos, F. (2013). Evaluation of different *in vitro* culture media in the development of *Phalaenopsis hybrid* (Orchidaceae). *Rev. Colomb. biotecnol.* 15(2): 97-105.
- Sarmiento, M.B.; A.C. Silva, F.; Amaral, K. y Santos, L. (2013). Teste de tetrazólio para avaliação da qualidade fisiológica em sementes de goiabeira-serrana (*Acca sellowiana* O. Berg Burret). *Rev. Bras. Frutic.* 35: 270-276.
- Scherwinski, J. E.; da Guedes, R. S.; Fermino, P. C. P.; Silva, T. L. & Costa, F. H. S. (2010). Somatic embryogenesis and plant regeneration in oil palm using the thin cell layer technique. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant.* 46(4): 378-385.
- Soni, E.; Figueroa, J.; Sánchez, M.; Martínez, J.; Cordero, J.; Hernández, A.; y Copado-Bueno, J. (2017). Semilla de linaza (*Linum usitatissimum*) en dietas de cerdos para modificar la composición lipídica de la carne. *Agrociencia* 51(7): 709-724.
- Stefanello, R.; Viana, B. B. y das Neves, L. A. S. (2017). Resposta fisiológica de sementes de chia e linhaça ao estresse hídrico. *Iheringia. Série Botânica* 72(2): 161-163.

- Victoria, J.; Bonilla, C.; y Sánchez, M. (2006). Viabilidad en tetrazolio de semillas de caléndula y eneldo. [Tetrazolium viability marigold seeds and dill]. *Acta Agronómica* 55: 1-15.
- Vudala, S. M. y Ribas, L. L. F. (2017). Seed storage and asymbiotic germination of *Hadrolaelia grandis* (Orchidaceae). *South African Journal of Botany* 108: 1-7.
- Zaa, C.; Valdivia, M. y Marcelo, A. (2012). Efecto antiinflamatorio y antioxidante del extracto hidroalcohólico de *Petiveria alliacea*. Facultad de Ciencias Biológicas UNMSM. *Rev. peru. biol.* 19(3): 329-334.
- Zaghdoudi, M.; Baatour O.; Bensalem N., y Ouerghi abidi, Z. (2015). Effect of saline conditions on germination and enzymatic activity in two varieties of *Linum usitatissimum*. *Journal of new sciences, Agriculture and Biotechnology* 17(6): 629-638.
- Grzybowski, C.; Alves-de-Oliviera, J.; Silva, R y Panobianco, M. (2012). Viability of barley seeds by the tetrazolium test. *Rev. Bras. Sementes* 34: 47-54.

Apéndices



Linaza+Tetrazolio

Autora: Marisol Herrera Sosa

Tamaño: 12.5 x18 cm

Técnica: Acuarela