

Caracterización morfo-anatómica y protocolo para estimar la viabilidad de semillas de *Psidium guajava*

Morpho-anatomical characterization and protocol to estimate the viability of *Psidium guajava* seeds

Jorge Ernesto Guevara Ohara ¹, Carlos Iván Cardozo Conde ¹, Luis Guillermo Santos Meléndez ¹

¹Universidad Nacional de Agricultura, Honduras. ✉ jeguevarao@unal.edu.co

²Universidad Nacional de Colombia-sede Palmira, Colombia. ✉ cicardozoc@unal.edu.co

³Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). ✉ l.g.santos@cgiar.org

Rec: 25-05-2017 Acept: 11-02-2020

Resumen

Los estudios con guayaba (*Psidium guajava*) han estado orientadas principalmente a conocer la composición nutricional de los frutos y el uso de tratamientos pregerminativos para la liberación de latencia presente en la semilla de algunos materiales genéticos. No obstante, son escasos los protocolos para la determinación de viabilidad de la semilla; mediante el uso de tetrazolio como indicador. En el presente estudio, se caracterizó la composición morfo-anatómica de semilla de las variedades de *P. guajava* Palmira ICA-I, Cimpa Pulpa Roja, Manzana y CI-0440^a, de gran importancia económica para el Banco de Germoplasma en CORPOICA. Además, se realizó un ensayo factorial para determinar los efectos de la concentración y el tiempo de exposición a Tetrazolio y los efectos de la temperatura. Las semillas de este fruto tienen una testa de consistencia dura, lo cual no es impedimento para que se produzca el proceso de imbibición. Estas presentan diferentes formas (obovada, dentada, clavada, oblonga, ovoide y reniforme). El embrión es de tipo periférico y posee estructuras completamente desarrolladas al momento de la extracción de la semilla de frutos que presentan madurez fisiológica. Los diámetros, grosor y peso unidad (gramos/100 semillas) de la semilla de guayaba varían de acuerdo con la variedad, lo que probablemente está relacionado con el número de semillas que contiene cada fruto. El conocimiento de la concentración y tiempo de exposición de las semillas a Tetrazolio es de una alta importancia para la valoración de la calidad fisiológica de la semilla. La exposición a una concentración de 0.1% de este producto, durante 12 horas a 26 ± 2°C y 40% humedad relativa, y 1% durante 3 horas, en condiciones controladas de temperatura 40 °C permite la valoración segura de la calidad fisiológica de la semilla de esta especie.

Palabras clave: Calidad fisiológica; *P. guajava*; semillas; Tetrazolio; Viabilidad.

Abstract

Most research on *P. guajava* has been oriented to analyze nutritional composition of the fruits and some are related to the use of pre-germinative treatments for the release of seed dormancy in some genetic materials. However, no protocols have been developed that allow the determination of the viability of the seed; by using tetrazolium as an indicator. For the morfo-anatomical characterization of the *P. guajava* seed, four varieties of great economic importance for the CORPOICA Germplasm Bank were analyzed (Palmira ICA I, Cimpa Pulpa Roja, Manzana and CI-0440A). A factorial test was performed to determine the concentration of Tetrazolium, exposure time and temperature effects. Guava seeds have a hard consistency testa, which is not an impediment to the imbibition process. The seed exhibits different forms (oboved, dentate, nailed, oblong, ovoid and reniform). The embryo is peripheral and has its fully developed structures at the time of seed extraction of fruits that have physiological maturity. The diameters, thickness and unit weight (g/100 seeds) of the guava seed vary according to the variety, which is probably related to the number of seeds contained in each fruit. The knowledge of the concentration and exposure time of the seeds to the Tetrazolium is of paramount importance for the evaluation of the physiological quality of the seed. A concentration of 0.1% for 12 hours of exposure under temperature conditions 26 ± 2 °C and 40% relative humidity and 1% for 3 hours of exposure under controlled temperature conditions 40 °C allows unambiguous assessment of physiology quality of the seed of this species.

Keywords: Physiological Quality; *P. guajava*; Seed; Tetrazolium; Viability

Introducción

La guayaba (*Psidium guajava*) es una especie nativa de América Central que pertenece a la familia Myrtaceae y se cultiva en la mayor parte de las regiones tropicales y subtropicales (Rojas-Garbanzo et al., 2016). Se adapta en zonas con temperatura entre 16°C y 34°C, precipitación entre 800mm y 1000 mm, y humedad relativa entre 36% y 96 %. En Colombia y Venezuela algunas variedades se cultivan hasta 1800 m.s.n.m. (García, 2010).

Castano Cano y Montes Ballesteros (2014) encontraron que las semillas de este cultivo tardan entre 2 y 3 semanas para germinar; además, presentan una testa lignificada, que posiblemente se asocia con los bajos porcentajes de germinación en condiciones naturales (Santos, Novembre, y Marcos-Filho, 2007). La latencia presente en las semillas de algunas especies limita la germinación de la misma y al mismo tiempo los programas de mejoramiento genético (Ruiz, 2018).

En la actualidad no existe información sobre la morfoanatomía de semillas de *P. guajava*, una información importante para la valoración de la viabilidad o calidad fisiológica de éstas. La prueba topográfica de Tetrazolio (Cloruro 2,3,5, Trifenil Tetrazolio) es utilizada para realizar evaluaciones rápidas sobre la viabilidad de semillas que presentan latencia profunda o de semillas no germinadas después de la prueba de germinación; de igual forma, esta prueba es utilizada para detectar daños mecánicos o daños producidos por insectos en determinados lotes de semillas. Para esta prueba es necesario que las semillas sean completamente cubiertas con la solución de Tetrazolio y no estén expuestas a la luz. La temperatura y el tiempo de tinción dependen de la especie evaluada (ISTA, 2016). Esta prueba ha sido utilizada con éxito en semillas de tomate (Marín-Sánchez et al., 2007), Soja (Craviotto et al., 2011), y *Pinus pinea* (Benito-Matías et al., 2004).

Durante la prueba, las semillas son expuestas en una solución incolora que se utiliza como indicador para mostrar el proceso de reducción al interior de las células vivas. En este proceso, los iones H⁺ liberados durante el proceso de respiración de los tejidos vivos son transferidos por un grupo de enzimas, especialmente deshidrogenasa, que interactúan con Tetrazolio el cual es reducido a formazán, un compuesto estable rojo no difusible (AOSA, 2010). En el presente trabajo se describen las características morfo-anatómicas y se desarrolla un protocolo para la valoración fisiológica (Viabilidad) de la semilla de las variedades de *P. guajava*: Palmira ICA-I, Cimpa Pulpa Roja, Manzana y Cl-0440^a, el cual no está disponible en los manuales del ISTA (2016) y AOSA (2010).

Materiales y métodos

La investigación se realizó en el Laboratorio de Fisiología Vegetal de la Universidad Nacional de Colombia sede Palmira, a 26 ± 2 °C y 40% de humedad relativa. Para la conformación morfo-anatómica de la semilla se registraron caracteres morfológicos externos como forma, color, textura y tamaño. Se midieron el diámetro polar, el diámetro ecuatorial y el grosor de la semilla de las variedades en estudio. Para estas determinaciones se tomaron tres repeticiones cada una de 50 semilla por variedad. Para calcular el Peso Unidad (PU) (gramos/100 semilla) de cada material se utilizó la metodología del octaneo. Así mismo se identificó la conformación morfo-anatómica de la semilla.

Se utilizaron semillas de *P. guajava* de la variedad Palmira ICA I, con un contenido de humedad del 10% (base húmeda). Para establecer los parámetros clave del protocolo de Tetrazolio se midieron el tipo de corte, la concentración de Tetrazolio, el tiempo de exposición y la temperatura. Para determinar la concentración de Tetrazolio y el tiempo de exposición se realizaron dos ensayos en ambientes diferentes: (1) condiciones normales de laboratorio (Temperatura 26 ± 2 °C y 40% humedad relativa), y (2) en condiciones controladas de temperatura (estufa a 40 °C) (Tabla 1).

Para la determinación de viabilidad, las semillas fueron colocadas en imbibición en agua destilada durante 12 h, antes de un corte longitudinal lateral y posterior inmersión en las diferentes concentraciones de Tetrazolio para ser colocadas en condiciones de oscuridad. Al final del tiempo de exposición a Tetrazolio, las semillas fueron retiradas y lavadas con abundante agua destilada hasta eliminar el exceso de solución. El análisis topográfico de las estructuras y su reacción a Tetrazolio se realizó con un estereoscopio provisto de una cámara fotográfica adaptada a sus lentes. En cada ensayo se valoraron nueve tratamientos mediante el uso de un diseño completo al azar con arreglo factorial (3 x 3) con tres repeticiones de 50 semilla por tratamiento para un total de 1350 semillas por ensayo.

Tabla 1 Factores evaluados en el ensayo 1 y 2, utilizando Tetrazolio como indicador de Viabilidad en Condiciones normales de laboratorio (Temperatura 26±2°C y 40% Humedad Relativa) y condiciones controladas de temperatura (estufa 40°C)

Factor	Descriptor	Niveles	Descripción
1	Concentraciones de Tetrazolio.	3	0,1% ,0,5% y 1%
2	Tiempo de exposición	3	4, 8 y 12 horas
Condiciones controladas de temperatura (estufa 40°C)			
	Descriptor	Niveles	Descripción
1	Concentraciones de Tetrazolio.	3	0,1% ,0,5% y 1%
2	Tiempo de exposición	3	1, 2 y 3 horas

Para el análisis de los datos de características morfológicas se utilizaron estadísticas descriptivas. Los efectos de los tratamientos con Tetrazolio fueron sometidos a análisis de varianza y para determinar diferencias entre medias de tratamientos se utilizó la prueba de Duncan con un nivel de probabilidad de 5%. Los resultados fueron analizados en el paquete estadístico SAS (Statistical Analysis System 9.4).

Resultados y discusión

El conocimiento de la morfo-anatomía de las semillas es de importancia para la valoración de la calidad fisiología (viabilidad) de las semillas, especialmente para aquéllas que presentan latencia fisiológica profunda, lo que dificulta la valoración de la calidad fisiológica por medio de la prueba de germinación.

Las semillas de *P. guajava* presentan una testa ligeramente lisa de color crema y formas obovada, dentada, clavada, oblonga, ovoide y reniforme (Figura 1; Tabla 2) (Sánchez-Urdaneta y Peña-Valdivia, 2011). La forma obovada fue predominante en las semillas de los cuatro materiales, siendo de 60% en la variedad Palmira ICA I, 57% en Cimpa Pulpa Roja, 53% en CI-0440A y 64% para la variedad Manzana) (Tabla 2). La forma ovoide de la semilla exhibo los porcentajes más altos en comparación con las otras categorías, pero inferiores a la forma obovada.

Las semillas de guayaba contienen un embrión de tipo periférico, radícula, hipocótilo y hojas cotiledonales, las cuales están completamente desarrollados al momento de la extracción de la semilla de frutos en madurez fisiológica (Figura 2c), por lo que se descarta la presencia de latencia morfológica en semillas de la especie.

Las semillas de la variedad CI-0440A presentaron el mayor diámetro polar y ecuatorial en comparación con las otras variedades. La variedad Manzana exhibió el mayor grosor con respecto a los otros materiales (Tabla 3). Estos datos muestran que el tamaño de las semillas

de *P. guajava*, varía de acuerdo con la variedad y concuerdan con los encontrados por Meza y Bautista (2007).

El Peso Unidad (PU) (g/100 semillas) fue mayor para la variedad CI-0440A (1.28 ± 0.05) y el menor (1.04 ± 0.05) para la variedad Palmira ICA, lo que está relacionado con las diferencias en tamaños de las semillas de las variedades (Tabla 3); como lo muestra el hecho que los frutos de la variedad CI-0440A contiene menor número de semillas con respecto a los demás materiales.

Protocolo de viabilidad en semilla de *Psidium guajava*

Los protocolos para estimar la viabilidad de las semillas comprenden la determinación del tipo de corte, la temperatura en la que se realiza la prueba, la concentración de la solución con sal

Tabla 2. Forma de las semillas de cuatro variedades de Guayaba (*Psidium guajava*)

Variedades	Clases	Categoría	Frecuencia Absoluta	Frecuencia Relativa
Palmira ICA I	1	obovada	90	0,60
	2	dentada	7	0,05
	3	clavada	19	0,13
	4	oblonga	10	0,07
	5	ovoide	20	0,13
	6	reniforme	4	0,03
Cimpa Pulpa Roja	1	obovada	85	0,57
	2	dentada	9	0,06
	3	clavada	14	0,09
	4	oblonga	14	0,09
	5	ovoide	20	0,13
	6	reniforme	8	0,05
CI-0440A	1	obovada	80	0,53
	2	dentada	14	0,09
	3	clavada	18	0,12
	4	oblonga	12	0,08
	5	ovoide	24	0,16
	6	reniforme	2	0,01
Manzana	1	obovada	96	0,64
	2	dentada	16	0,11
	3	clavada	6	0,04
	4	oblonga	4	0,03
	5	ovoide	26	0,17
	6	reniforme	2	0,01



Figura 1. Formas de las semillas de las cuatro variedades de guayaba. A. obovada, B dentada, C clavada, D oblonga E. Ovoide F. Reniforme

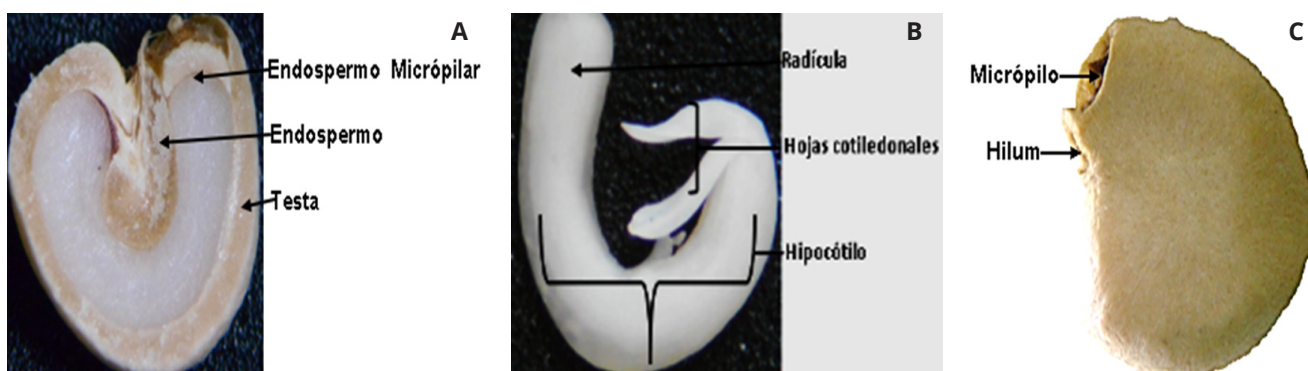


Figura 2. Descripción Anatómica de las semillas de *Psidium guajava*. A. Componentes internos de la semilla; B. Componentes externos de la semilla C. Partes esenciales del embrión

Tabla 3. Características morfológicas y peso de las semillas de cuatro variedades de Guayaba (*Psidium guajava*)

Variables	Palmira ICA I			Cimpa Pulpa Roja			CI-0440 ^a			Manzana		
	X	σ	CV	X	σ	CV	X	σ	CV	X	σ	CV
Diámetro polar (mm)	3,46	0,13	3,67	3,36	0,04	1,25	3,60	0,12	3,46	3,31	0,11	3,18
Diámetro ecuatorial (mm)	2,62	0,06	2,47	2,57	0,08	3,06	3,01	0,11	3,79	2,69	0,13	4,95
Grosor de semilla (mm)	1,55	0,07	4,63	1,49	0,06	4,19	1,71	0,09	5,20	1,99	0,04	1,78
Peso unidad (gramos/100 semillas)	1,04	0,05	4,51	1,11	0,03	2,28	1,28	0,05	3,89	1,06	0,03	2,4

n: número de semilla; x: media; σ Desviación Estándar; CV: Coeficiente de Variación

de Tetrazolio (Tz) y el tiempo de exposición que permita una valoración inequívoca de la viabilidad con base en la interpretación de la reacción del Tz en las estructuras esenciales de la semilla.

En la Tabla 4 se presentan los resultados de la concentración de Tetrazolio y el tiempo de exposición en condiciones de laboratorio (Temperatura 26 ± 2 °C y 40% de humedad relativa) y en condiciones controladas de temperatura en estufa (40°C).

Discusión

Los resultados obtenidos en condiciones de laboratorio no presentaron diferencias significativas, mientras que en condiciones controladas de temperatura (estufa 40°C) indican que el tiempo mínimo de exposición de 1 h con la solución de 0.1% es suficiente para obtener interpretaciones topográficas razonables con el fin de estimar la viabilidad de la semilla (93%); resultados igualmente aceptables se obtuvieron con un tiempo de exposición de 3 h y una solución al 1% (Tabla 4). Una concentración de 0,1% durante 1 hora en condiciones controladas de temperatura (estufa 40°C) (Tabla 4), podrían proporcionar datos no confiables al momento de determinar la viabilidad de las semillas de esta especie.

En condiciones de laboratorio (T 26 ± 2 °C) el tiempo de exposición, 8 horas con la solución del 0.1% fue suficiente para lograr interpretaciones topográficas razonables para estimar la viabilidad

Tabla 4. Resultados de viabilidad (Tetrazolio) obtenidos en condiciones de laboratorio (Temperatura 26 ± 2 °C y 40% Humedad Relativa) y bajo condiciones controladas de temperatura 40°C.

Tratamiento	Condiciones de laboratorio (T 26 ± 2 °C)		
	Concentración de Tz (%)	Tiempo de Exposición (h)	Viabilidad (%)
T1	0,10	4,00	94,00 ^A
T2	0,10	8,00	96,67 ^A
T3	0,10	12,00	98,00 ^A
T4	0,50	4,00	97,33 ^A
T5	0,50	8,00	97,33 ^A
T6	0,50	12,00	98,00 ^A
T7	1,00	4,00	97,33 ^A
T8	1,00	8,00	98,00 ^A
T9	1,00	12,00	98,00 ^A
Tratamiento	Condiciones controladas de temperatura (40°C)		
	Concentración de Tz (%)	Tiempo de Exposición (h)	Viabilidad (%)
T1	0,10	1,00	93,33 ^B
T2	0,10	2,00	96,00 ^A
T3	0,10	3,00	96,67 ^A
T4	0,50	1,00	96,00 ^A
T5	0,50	2,00	96,67 ^A
T6	0,50	3,00	96,67 ^A
T7	1,00	1,00	97,33 ^A
T8	1,00	2,00	97,33 ^A
T9	1,00	3,00	98,00 ^A

*Promedios con la misma letra en la misma columna no difieren significativamente al nivel de $P < 0,05$. Según la prueba de Duncan.

de la semilla. Sin embargo, cuando se utilizó 12 horas la lectura mejoró en 1.4% (96.6 y 98% respectivamente). Esta última no fue diferente con 0.5% de concentración con 12 horas de exposición (98%); de la misma manera con 1% y 8 horas de exposición (98%). Estos resultados indican que bajo condiciones de laboratorio (T $26^{\circ}\pm 2C$ y 40% HR) la concentración de 0.1% y 12 horas de exposición sería la más recomendable (por menos costos del Tz) pero que si se quiere reducir el tiempo a 4-8 horas se podría con incrementos de la concentración de Tetrazolio hasta 1%. Una concentración de 0.1% y 4 horas de exposición podrían proporcionar datos no confiables para la determinación de la viabilidad de las semillas evaluadas.

Los patrones topográficos asociados con la viabilidad de las semillas de *Psidium guajava*, fueron determinados con base la tinción roja, rosada y naranja de las semillas, en sus tejidos esenciales como ser radícula, hipocótilo, y hojas cotiledonales, siendo clasificadas como viables. Las semillas que no presentaban coloración >50% en uno de sus tejidos esenciales (radícula, hipocótilo y hojas cotiledonales) fueron clasificadas como no viables; y las semillas libres de coloración en los tejidos esenciales fueron clasificadas como no viables.

Los ensayos factoriales fueron soportados con las imágenes obtenidas con las diferentes concentraciones de Tetrazolio y tiempos de exposición en los dos ambientes. Los diferentes grados de tinción en el embrión, área donde se concentra la mayor actividad metabólica de la semilla, fue total para las semillas que fueron catalogadas como viables dentro de los parámetros definidos para realizar esta evaluación. Lo utilidad de la prueba también es definido por otros autores en el sentido de que las semillas viables de un lote determinado, tienen el potencial para germinar bajo condiciones ambientales favorables. La viabilidad determinada, mediante la prueba de Tetrazolio es el porcentaje o proporción de semillas viables de un lote de semillas (Sawma & Mohler, 2002). Por otra parte, Carvalho, Grzybowski, Ohlson, & Panobianco, (2014) mencionan, que esta prueba facilita resultados fiables y precisos de la viabilidad de las semillas; aunque presenta dificultades para aplicarse en semillas pequeñas (Borza, Westerman, & Liebman, 2007).

La prueba de Tetrazolio; ofrece rápida determinación de la viabilidad de 24-48 horas, lo cual es de suma importancia para la determinación de la viabilidad en semillas de especies que presentan latencia (Nogueira Soares, Elías, Gadotti, & Villela, 2016. Carvalho, Krzyzanowski, Ohlson, & Panobianco, 2013). Las semillas de *Psidium guajava* exhiben el fenómeno de latencia, lo que es un obstáculo para obtener rápidamente

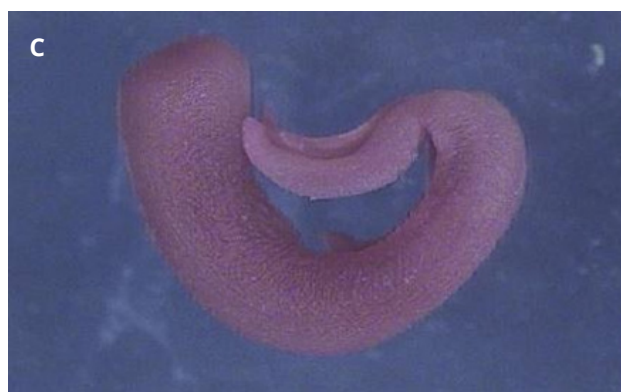
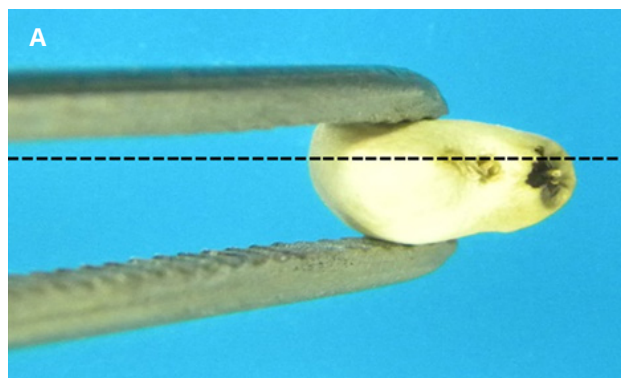


Figura 3. Procedimiento para la determinación de la viabilidad en semillas de Guayaba utilizando tetrazolio como indicador. A. Corte longitudinal lateral, B. Semillas después de la realización del corte, C. Embrión después de la exposición al Tetrazolio, D. Semillas con diferentes grados de tinción después de la exposición al Tetrazolio.

de resultados asociados a la viabilidad de las semillas mediante una prueba de germinación; es por esto, la importancia de determinar la concentración de tetrazolio y tiempo de exposición de las semillas de guayaba en las dos condiciones estudiadas.

Los protocolos que permiten evaluar la viabilidad utilizando Tetrazolio como indicador, permiten que los estudios relacionados con la condición fisiológica de las semillas avancen rápidamente, no siendo obstaculizados por la latencia que presente en la semilla. Igualmente resulta útil para los bancos de genes como el de la Corporación Colombiana de investigación Agropecuaria. La correcta interpretación de las pruebas de Tetrazolio depende del conocimiento de las estructuras esenciales de la semilla, la precisión en la preparación de las semillas y la experiencia como también de la comprensión de los mecanismos de la prueba y sus limitaciones (AOSA, 2010).

Con base en todas las pruebas desarrolladas, se propone un protocolo de Tetrazolio establecido para evaluar la calidad fisiológica (viabilidad) de la semilla de guayaba (Tabla 5; Figura 3).

Tabla 5. Protocolo de Tetrazolio establecido para evaluar la calidad fisiológica (Viabilidad) de la semilla de guayaba (*Psidium guajava*). Familia: Myrtaceae; Especie: *Psidium guajava*

Pre-condicionamiento de la semilla			
Método	Tiempo (h)	Temperatura (°C)	
Imbibición en agua	12	26 - 28	
Preparación de la prueba de Tetrazolio			
Método	Concentración TZ (%)	Tiempo (h)	Temperatura (°C)
Realizar un corte longitudinal lateral, dejando intacto el eje-embriionario	0,1	12	26-28
Realizar un corte longitudinal lateral, dejando intacto el eje-embriionario	1	3	40

Conclusiones

Los caracteres morfológicos cualitativos y cuantitativos de las semillas de *P. guajava* varían de acuerdo con la variedad. La viabilidad de las semillas de los diferentes materiales genéticos de este cultivo, puede ser determinada en condiciones normales de laboratorio (Temperatura 26±2°C y 40% Humedad Relativa) y bajo condiciones controladas de temperatura (estufa 40°C).

Referencias

- AOSA. 2010. AOSA/SCST. *Tetrazolium Testing Handbook*. Editorial Association of Official Seed Analysts Ithaca, New York, USA.32 p.
- Benito-Matías, L.; Herrero-Sierra, N.; Jiménez, I.; Peñuelas-Rubira, J. 2004. Aplicación de métodos colorimétricos Para la determinación de la viabilidad en semillas de *Pinus pinea*: test de tetrazolio e indigo carmín. *Cuadernos de la Sociedad Española de Ciencias Forestales*. 17, 23-28. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=2978417>
- Borza, J. K.; Westerman, P. R.; Liebman, M. 2007. Comparing Estimates of Seed Viability in Three Foxtail (*Setaria*) Species Using the Imbibed Seed Crush Test with and Without Additional Tetrazolium Testing. *Weed Technology*, 21(2), 518–522. <https://doi.org/10.1614/WT-06-110>
- Carvalho, T. C.; Grzybowski, C. R.; Ohlson, O. de C.; Panobianco, M. 2014. Adaptation of the tetrazolium test method for estimating the viability of sorghum seeds. *Journal of Seed Science*. 36(2), 246–252. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v32n2713>
- Carvalho, T. C.; Krzyzanowski, F. C.; Ohlson, O. D. C.; Panobianco, M. 2013. Tetrazolium test adjustment for wheat seeds. *Journal of Seed Science*. 35(3), 361–367. <https://doi.org/10.1590/S2317-15372013000300013>
- Castaño Cano, J. L.; Montes Ballesteros, J. C. 2014. *Estudio integral de Psidium guajava en un sistema silvopastoril en el municipio de Turbo Antioquia*. Tesis de pregrado. Universidad Nacional Abierta y a Distancia UNAD, Colombia. 82 p. <https://repository.unad.edu.co/handle/10596/8569>
- Craviotto, R. M.; Arango-Perearnau, M. R.; Gallo, C. 2011. *Novedades de la prueba de viabilidad por Tetrazolio en soja*. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Argentina. 6 p. <https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-novedades-prueba-viabilidad-tetrazolio-en-soja.pdf>
- García, M. A. 2010. *Guía técnica del cultivo de la guayaba*. Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal Enrique Álvarez Córdova. 32 p. <http://www.centa.gob.sv/docs/guias/frutales/GUIA CULTIVO GUAYABA.pdf>
- ISTA-International Seed Testing Association. 2016. *International Rules for Seed Testing*. Ed. International Seed Testing Association. Bassersdorf, Suiza. 46 p. https://www.seedtest.org/en/international-rules-for-seed-testing-_content---1--1083.html
- Marín-Sánchez, J.; Mejía-Contreras, J. A.; Hernández-Livera, A.; Peña-Lomeli, A.; Carballo-Carballo, A. 2007. Acondicionamiento osmótico de semillas de tomate de cáscara. *Agricultura Técnica en México*. 33(2), 115–123. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0568-25172007000200001
- Meza, N.; Bautista, D. 2007. Morfología de semillas de guayabo (*Psidium guajava* L.), germinación y emergencia después del remojo en agua. *Rev. Fav. Agron. (LUZ)*. 24(Suppl. 1), 265–270. https://www.revfacagronluz.org.ve/PDF/supl_mayo_2007/v24supl46.pdf

- Nogueira Soares, V.; Elias, S. G.; Gadotti, G. I.; Villela, F. A. 2016. Can the Tetrazolium Test be Used as an Alternative to the Germination Test in Determining Seed Viability of Grass Species? *Crop Science*, 56(2), 707-715. <https://doi.org/10.2135/cropsci2015.06.0399>
- Rojas-Garbanzo, C.; Zimmermann, B. F.; Schulze-Kaysers, N.; Schieber, A. 2016. Characterization of phenolic and other polar compounds in peel and flesh of pink guava (*Psidium guajava* L. cv. 'Criolla') by ultra-high performance liquid chromatography with diode array and mass spectrometric detection. *Food Research International*. 100 (3), 445-453. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.12.004>
- Ruiz, C. 2018. Influencia de tratamientos pregerminativos en semillas de chile manzano (*Capsicum pubescens* Ruiz & Pav.). *Acta Agron*, 67(4), 531-537. <http://dx.doi.org/10.15446/acag.v67n4.73426>
- Sánchez-Urdaneta, A. B.; Peña-Valdivia, C. B. 2011. Descriptor morfológico para la caracterización del género *Psidium*. *Rev. Fac. Agron (LUZ)*, 28 (3), 303-343. <https://produccioncientificaluz.org/index.php/agronomia/article/view/26886>
- Santos, M. A. O.; Novembre, A. D. L. C.; Marcos-Filho, J. 2007. Tetrazolium test to assess viability and vigour of tomato seeds. *Seed Science and Technology*, 35(1), 213-223. <https://doi.org/10.15258/sst.2007.35.1.19>
- Sawma, J. T.; Mohler, C. L. 2002. Evaluating seed viability by an unimbibed seed crush test in comparison with the tetrazolium test. *Weed Technology*, 16(4), 781-786. <https://www.jstor.org/stable/3989152>