

ANÁLISIS DE LA CALIDAD DE SEMILLAS EN HIBRIDOS DE MAÍZ. IDENTIFICACIÓN DE UN MÉTODO DE VIGOR MÁS RÁPIDO Y COMPARABLE AL TRADICIONAL *COLD TEST*

Aranguren, M.B.¹; Arango Perearnau, M.R.²; Agüero, C.³; Argüello, J.A.³; Cuatrin, A.L.⁴

¹Corteva Agriscience Argentina. Venado Tuerto. Argentina.

²INTA. Estación Experimental Agropecuaria Oliveros. Oliveros. Argentina.

³Universidad Nacional de Córdoba. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Escuela para Graduados. Córdoba. Argentina.

⁴INTA. Estación Experimental Agropecuaria Paraná. Oro Verde. Argentina.

maria.aranguren@corteva.com

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue identificar una prueba de vigor en semilla de maíz que sea más rápida que el Cold Test para la toma rápida de decisiones. Del análisis de los resultados surge que la Prueba de inmersión en agua a 25°C (PIA25) puede reemplazar al CT como método de vigor, disminuyendo el tiempo de ejecución del ensayo en 5 días, lo que permite agilizar la toma de decisión respecto al lote. Por otro lado, el nivel de respuesta de los métodos de vigor aplicados va a depender de la genética del material a evaluar y de la calidad intrínseca del lote de maíz. En relación con la genética, los híbridos templados evidenciaron una mejor respuesta al estrés por frío, lo que puede ser explicado en términos de la existencia de mecanismos adaptativos que ejercen una función protectora durante el estrés producido por la prueba.

Palabras clave: Prueba de inmersión en agua, emergencia de radícula, híbrido de maíz subtropical, híbrido de maíz templado.

INTRODUCCIÓN

La producción y utilización de semillas de alta calidad resultan ser clave para el éxito de la producción de los cultivos. Por ello, los programas de control de calidad de la industria de semillas deben ser versátiles y dinámicos, proporcionando resultados precisos de manera oportuna (França-Neto y Krzyzanowski, 2019). En el sistema de producción de semillas, la post cosecha, constituye una etapa de suma importancia para la obtención de bolsas comerciales de calidad. En ese contexto, una de las dificultades es la de no disponer de pruebas rápidas validadas de evaluación de calidad de semilla que permitan tomar decisiones en el corto plazo. En tal sentido, la prueba de Frío comúnmente llamada *Cold Test* (CT) insume entre 12 y 14 días para determinar el vigor y éste es un período largo de tiempo, que no permite dar la celeridad que el sistema de producción de semillas necesita. Consecuentemente, se plantea la necesidad de identificar otras pruebas de vigor que sean más rápidas para la toma de decisiones, pero tan eficientes como el CT.

En relación con el CT, es una de las pruebas de vigor más antigua (Hampton y TeKrony, 1995) y continúa siendo en la actualidad la más utilizada en la industria de semillas de maíz para casi todos los lotes de semillas vendidos en

América del Norte y Europa (Hampton y TeKrony, 1995). De hecho, la mayoría de las empresas de maíz híbrido conducen sus propias versiones de esta prueba (Burriss y Navratil, 1979). Hasta la actualidad, han sido numerosas las variantes que se han practicado en esta técnica con respecto al tipo de sustrato utilizado, diferentes temperaturas y tiempos de estrés. Todo esto ha llevado que no haya un acuerdo generalizado en la técnica que permita hacer comparables los resultados y que sirva de herramienta para posibles reclamos de calidad (Marcos-Filho, 2015; Navarro et al., 2015). Esto ha conducido a que el CT aún no se haya estandarizado y por lo tanto no esté incorporado al capítulo de vigor de las Reglas ISTA (2023). Por otra parte, según Bowden y Landais (2018), se ha demostrado que la prueba de Emergencia de Radícula (ER) da resultados que son reproducibles en todos los laboratorios (Powell et al., 2014; Powell y Mavi, 2016) y que predice la emergencia en el campo (Matthews et al., 2012). Asimismo, Arango Perearnau (2018) menciona que la prueba de ER reúne características valiosas: a) es rápida, ya que el resultado puede estar disponible después de 30 horas, dependiendo de la especie que se trate; b) es económica, ya que solo se requiere el equipamiento necesario para conducir una prueba de germinación y c) es fácil o sencilla de llevar a cabo. En función de lo precedente es claro pensar que la técnica de

ER, para el caso de maíz, puede plantearse como una alternativa posible respecto de la prueba de CT.

Además, Arango Perearnau (2018) menciona que existen otras técnicas como la Prueba de Inmersión en Agua (PIA) que simula condiciones de inundación y anaerobiosis para la semilla. Las semillas sumergidas en el agua a diferentes temperaturas sufren daños por la rápida entrada de agua a las células (Crawford, 1978; Castro et al., 2004). De esta manera, las semillas o frutos como en el caso del maíz, que posean algún daño tendrán una menor disponibilidad de energía para el proceso de la germinación lo que resulta en un menor vigor (Richard et al., 1991). Además, en numerosos trabajos se ha estudiado el efecto de la inmersión en agua a diferentes temperaturas y tiempos de imbibición sobre la germinación y el vigor en distintas especies como en maíz (Méndez-Natera, et al., 2007; Grzybowski, 2012); en poroto (Custódio et al., 2002, 2009; Bertolin, 2010) y en soja (Arango Perearnau *et al.*, 2010; Theodoro, 2013). Los mencionados autores indicaron que aquellos lotes que muestran una mayor producción de plántulas normales luego de la ejecución de la PIA tendrán mayor capacidad de soportar el estrés y por ende podrán clasificarse como de mayor vigor. Es una técnica interesante porque reúne características de economía, sencillez y relativa rapidez, aunque tampoco está estandarizada por ISTA.

En base a lo mencionado, se plantea que las pruebas de ER y de PIA son técnicas rápidas, económicas y sencillas de evaluación de vigor que pueden reemplazar a la tradicional técnica del CT en el mercado y acortar los tiempos de análisis en maíz.

El objetivo del presente trabajo es identificar una prueba de vigor en semilla de maíz que sea más rápido que el CT y pueda reemplazarlo como prueba de referencia de calidad en el mercado.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material Biológico

El material biológico usado fueron 100 lotes de semilla híbrida de *Zea mays* L, propiedad del semillero Corteva Agriscience Argentina SRL. El 50% de los mismos corresponden a diez diferentes lotes de híbridos de germoplasma subtropical (identificados como S1 a S10) producidos en las provincias norteñas de Tucumán y Catamarca de la Argentina. El restante 50%, corresponde a diez diferentes híbridos de germoplasma templado (T1 a T10) producidos en la zona central del país, en las provincias de Santa Fe (sur) y Buenos Aires (noroeste). Las muestras de semillas de los lotes se almacenaron hasta el momento de los ensayos en sobres de papel en una cámara con ambiente controlado, con temperaturas entre 16-20°C y humedades relativas entre 70 y 75%.

Prueba de germinación

La prueba de Germinación (PG) se realizó siguiendo la metodología propuesta por las Reglas ISTA (2021). Se usó medio de crecimiento arena (capacidad de retención de humedad: 30%). Se sembraron cuatro repeticiones, de 100 semillas cada una, en un recipiente plástico con tapa de cierre hermético. Se incubaron en cámara de germinación a 25°C ±2°C (temperatura constante). Una vez transcurridos los siete días de permanencia en la cámara de germinación, se evaluó el ensayo siguiendo los criterios establecidos en el Manual de Evaluación de Plántulas (ISTA, 2018). La tolerancia estadística entre repeticiones de la misma muestra se controló con la Tala 5B Parte 1 (ISTA,2021) y se repitió en caso de encontrarse fuera de tolerancia. El resultado final por muestra analizada se expresó como porcentaje en número, siguiendo el criterio de redondeo establecido por ISTA (2021).

Prueba de Cold Test

Se analizaron 200 semillas en cuatro repeticiones de 50 semillas cada una para todas las muestras bajo estudio. Se realizó el método de CT en rollos de Corteva Agriscience Argentina SRL. Se utilizó como medio de crecimiento papel de germinación Anchor (12 x 24 38# Seed Germination Paper) y terrina (mezcla tierra/arena en proporción 1:1). Las hojas de papel se hidrataron a saturación el día anterior a la siembra y se las colocó en cámara fría a 10°C ±1°C. Sobre una plataforma fría se colocaron dos hojas de papel como base, 50 semillas distribuidas con la ayuda de una placa de acrílico, una delgada capa de terrina (sólo sobre las semillas) y se taparon con una hoja de papel. Luego se enrollaron y colocaron en un contenedor hermético que permaneció siete días en total oscuridad a 10°C ±1°C y, posteriormente, por cinco días a 25°C ± 2°C en oscuridad. Se evaluó el ensayo considerando plántula vigorosa a toda aquella que: a) mostró una longitud total mayor a 3 cm (desde el extremo superior de la parte aérea hasta el extremo inferior de la raíz), b) fue evidente que tiene hoja primaria, aunque se encuentre dentro del coleóptilo y esté extendida menos del 50% de la longitud de este y, c) por lo demás, cumplió con los criterios de “plántula normal” establecido por las reglas ISTA (2021). Los resultados de cada repetición se registraron como número de plántulas vigorosas. La tolerancia estadística entre repeticiones de una misma muestra se controló según la Tabla 15F (ISTA, 2021) y se repitió la muestra que estuvo fuera de tolerancias. El resultado final se expresó como porcentaje en número de las cuatro repeticiones realizadas por lote.

Método de Emergencia de radícula

Se realizó siguiendo la metodología descrita para la especie maíz en las Reglas ISTA (2021).

Los lotes de los diferentes híbridos se sembraron en rollos de papel de germinación Anchor (12 x 24 38# Seed Germination Paper). Se utilizaron 200 semillas por muestra, sembradas en ocho repeticiones de 25 semillas cada una. El papel se hidrató con agua a saturación. Los rollos tuvieron dos hojas de papeles abajo y una sobre las semillas. Se utilizaron las dos condiciones de ensayo de ER sugeridas por las Reglas:

- ER66: 66 horas \pm 15 minutos de incubación a $20^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ (2,75 días).

- ER144: 144 horas \pm 1 h de incubación a $13^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ (6 días) Transcurrido el tiempo en la cámara de incubación indicado, se evaluó el ensayo. Se consideró plántula vigorosa a aquellas que produjeron una radícula de al menos dos milímetros de longitud. La radícula incluyó las partes que están dentro de la coleoriza, así como aquellas que emergieron de ella (ISTA, 2021).

Como último paso, se analizó la diferencia entre repeticiones utilizando la tabla de tolerancia Tabla 15I (ISTA, 2021) y se repitieron aquellas muestras fuera de tolerancias. El resultado final se expresó como porcentaje en número de las ocho repeticiones realizadas por muestra.

Método de Prueba de inmersión en agua

Para la ejecución de esta prueba se utilizaron dos repeticiones de 100 semillas de cada uno de los lotes de híbridos en estudio.

Se ejecutaron dos métodos cuya única diferencia fue la temperatura del agua durante la etapa de inmersión para la semilla, a saber:

- PIA10: a $10^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ por 24 horas \pm 15 minutos.

- PIA25: a $25^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ por 24 horas \pm 15 minutos.

El primer paso fue sumergir dos repeticiones de 100 semillas cada una en un contenedor plástico con tapa y con 200 cc de agua desmineralizada estabilizada a la temperatura del ensayo correspondiente (PIA10 o PIA25). Los contenedores se incubaron en cámaras, calibradas a las temperaturas del estrés: $10^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ una (PIA10) y la otra a $25^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ (PIA25) durante 24 h \pm 15 minutos.

Terminada la incubación, se filtró el agua y cada repetición fue sembrada inmediatamente en medio de crecimiento arena siguiendo los pasos de la prueba de germinación e incubando en cámara a 25°C durante seis días. Es importante mencionar que la evaluación siguió los criterios establecidos por ISTA (2021).

Finalmente, se controló que los resultados de las repeticiones obtenidas por muestra se encontrasen en tolerancia estadística según Tabla15F (ISTA, 2021) y se repitió aquella muestra fuera de tolerancias. El resultado

final se expresó como porcentaje en número de las dos repeticiones realizadas por muestra.

Análisis estadístico

Se realizó un análisis exploratorio multivariado a través de matrices de correlación y de componentes principales (ACP). Allí se incluyó la evaluación de germinación y los métodos de vigor aplicados a los 100 lotes de maíz. El tipo de germoplasma (templado y subtropical), el tamaño de la semilla (grande y pequeño) y su forma (chata y redonda) se incluyeron como variables ilustrativas del análisis.

Para establecer el grado de asociación estadística entre los métodos estudiados y el CT, se determinó el coeficiente de correlación de Pearson.

Además, se aplicó la prueba estadística no paramétrica de Mann Whitney para determinar diferencias entre tipos de germoplasmas respecto del vigor (CT).

Para hacer los análisis estadísticos se utilizó el software JMP.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la **Figura 1**, se observa la distribución de las componentes principales obtenidas del análisis exploratorio multivariado realizado sobre los seis métodos utilizados en este ensayo. Como se observa, la componente principal 1 (CP1) explica el 77,2% de la varianza total de los datos y la componente principal 2 (CP2) el 12,05% de los mismos. Por lo tanto, con las dos primeras componentes se explica casi el 90% de la variabilidad (Martinez, 2018). Debido a la baja contribución de las componentes restantes, se avanzó con análisis a través de las dos primeras componentes.

Por su parte, en la **Figura 2** se muestra la representación gráfica de la ubicación espacial de los métodos de análisis aplicados a los lotes de maíz, el tipo de germoplasma, el tamaño y forma de la semilla en función de la CP1 y CP2. En este tipo de gráfico, las variables positivamente correlacionadas se agrupan juntas o próximas (Martínez, 2018). Los germoplasmas se ubican de izquierda a derecha dentro del biplot en un gradiente creciente para todos los métodos evaluados. Se observa una correlación positiva entre los métodos siendo las más fuertemente correlacionadas la germinación con el CT ($r=0.7296$) y este último con el PIA25 $^{\circ}\text{C}$ ($r=0.7720$). Además, es importante destacar que la primera componente distribuye a los materiales evaluados de izquierda a derecha según el valor que adoptan en los diferentes análisis realizados en las semillas. Esto coincide con el tipo de material (Subtropical y Templado). Con respecto a la segunda componente, ésta posiciona los materiales según el tipo de análisis oponiendo aquellos que tienen mayor PG y CT en relación con las otras pruebas. En la **Figura 2** se

observa claramente que los dos tipos de germoplasma se ubican en posiciones opuestas al origen, evidenciando un comportamiento marcadamente distinto entre sí. Esto fundamenta la necesidad de discriminar el análisis de métodos para cada tipo de germoplasma.

En lo concerniente a las variables “forma” y “tamaño” de semillas, ubicadas en el centro del biplot (**Figura 2**), indican que no se observa una polarización de los germoplasmas debido a ellas. Por lo tanto, no se avanzó en el estudio de estas en el presente ensayo.

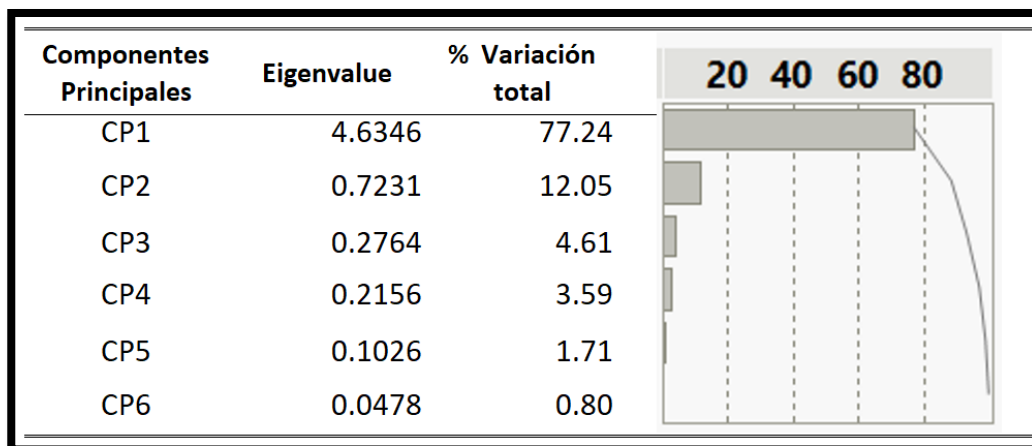


Figura 1. Porcentaje de la variación total explicada por cada componente principal del análisis multivariado sobre 6 métodos de análisis y, como variables suplementarias, germoplasma, forma y tamaño de semillas en 100 lotes de maíz híbrido.

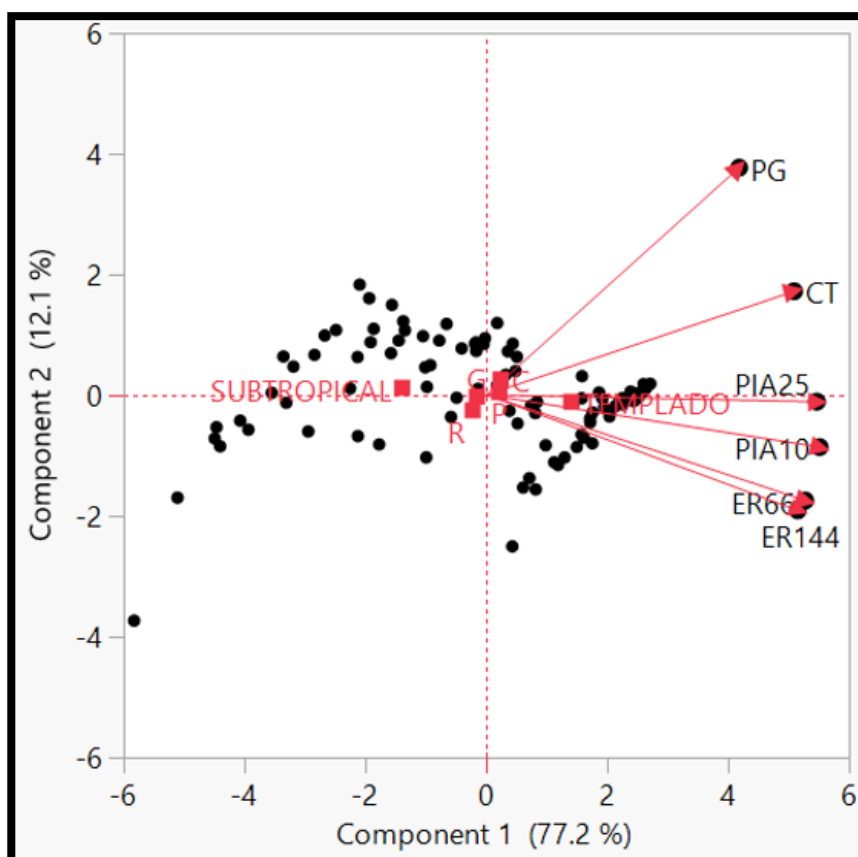


Figura 2. Representación gráfica de los análisis de germinación, vigor, forma y tamaño de semilla en función de la CP1 y CP2. Referencias: PG (germinación estándar), CT (*Cold Test*), ER66 (Emergencia de Radícula de 66 horas), ER144 (Emergencia de Radícula de 144 horas), PIA10°C (Prueba de Inmersión en agua a 10°C), PIA25°C (Prueba de Inmersión en agua a 25°C); C (semilla de forma Chata), R (semilla de forma Redonda), G (semilla grande), P (semilla pequeña), SUBTROPICAL (lotes de semillas de germoplasma subtropical), TEMPLADO (lotes de semillas de germoplasma templado).

Si bien el coeficiente de correlación de Pearson entre CT y PIA25 fue mayor para los materiales templados ($r=0,8723$) que para los subtropicales ($r=0,5811$) es importante destacar que la PIA25 presentó la correlación más alta dentro de cada germoplasma, comparada con la

correlación del CT con los otros métodos de vigor ensayados. En la **Figura 3** el diagrama de dispersión de los resultados entre el método de CT y la PIA25 para ambos tipos de germoplasma muestra una relación lineal.

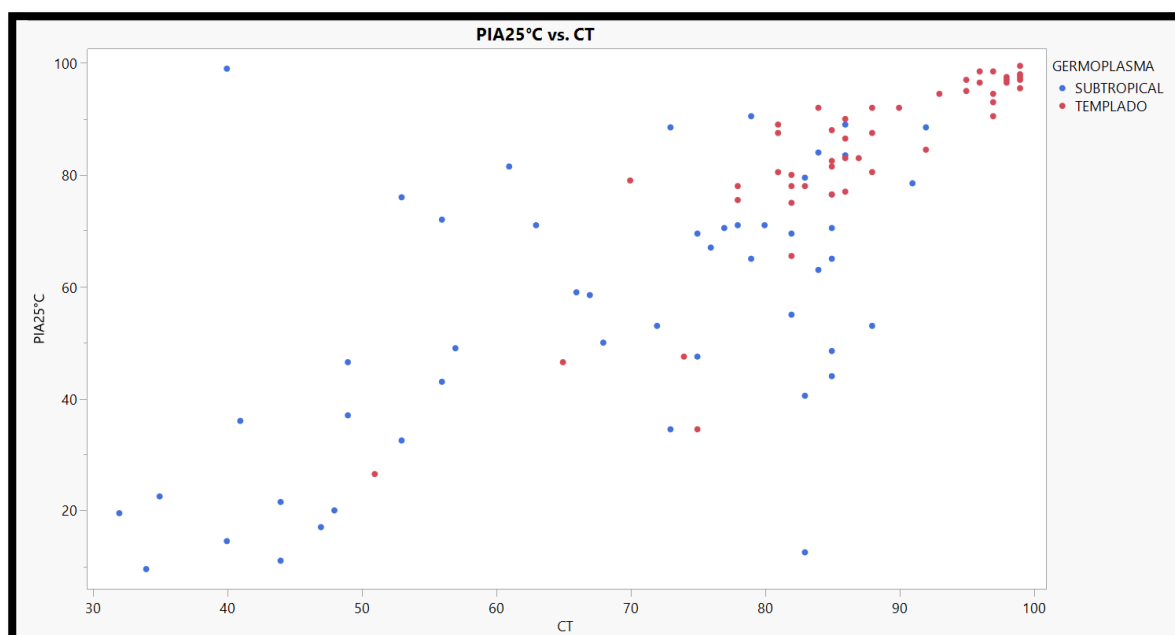


Figura 2. Diagrama de dispersión del método de vigor CT en relación con el método de vigor PIA25 para 50 muestras de germoplasma subtropical ($r = 0,5811$) y 50 muestras de germoplasma templado ($r = 0,8723$). Referencias: CT (*Cold Test*), PIA25°C (Prueba de Inmersión en Agua a 25°C); r (coeficiente de correlación).

En lo concerniente al vigor, se observa que los dos germoplasmas tienen comportamientos distintos para la prueba de CT ($p < 0,05$, según Mann Whitney). En germoplasmas subtropicales, los resultados de CT fueron significativamente más bajos y con una variabilidad aún mayor que los obtenidos en germoplasma templado, lo que evidencia una mayor sensibilidad de la respuesta al estrés por frío en los primeros. Respecto a este tema, Rezvani y otros (2017) indican la baja efectividad del CT para evaluar el vigor para híbridos de regiones subtropicales y tropicales. De lo que surge que, para el germoplasma subtropical utilizado en dichas regiones, el CT ejerce una condición de estrés por frío que no se relaciona con la existente en los campos de dichas zonas productivas. Por el contrario, diferentes estudios han revelado la alta correlación entre los resultados de vigor del CT y la emergencia de semillas de maíz en el campo, en suelos fríos y húmedos de las regiones templadas de Europa y América (Marcos-Filho, 2015; Navarro *et al.*, 2015; Rezvani *et al.*, 2017).

En virtud de lo planteado, surge la pregunta respecto del por qué existe esta diferencia de comportamiento con relación al CT en el material de estudio. Así, esto puede ser explicado en términos de los aspectos bioquímicos y fisiológicos, debido a la existencia de *Heat Shock Proteins* (Hsp). Esta respuesta al estrés por calor ha sido observada

en una amplia variedad de tejidos vegetativos en maíz (Dupuis & Dumas, 1990). Al respecto, Young *et al.* (2001) han informado que en maíz la función de chaperona de algunas Hsp, como Hsp100, promueve la desagregación de proteínas luego de un estrés térmico, mientras que la de otras, como Hsp70, promueve el replegamiento de proteínas desnaturalizadas. Por otro lado, Altschuler y Mascarenhas (1982) agregan que la respuesta al choque térmico parece tener relevancia para las plantas en el campo. Por lo tanto, la existencia de un proceso adaptativo al factor adverso producido por el frío en materiales templados explica los resultados de CT significativamente mayores a los obtenidos en las muestras de germoplasma subtropical.

CONCLUSIÓN

Del análisis de los resultados surge que la Prueba de inmersión en agua a 25°C por 24 horas (PIA25) puede reemplazar al CT como método de vigor. Dicha prueba permite disminuir el período del ensayo en 5 días, acortar el tiempo entre la recepción del lote de semilla y la toma de decisión respecto al mismo.

Por otro lado, el nivel de respuesta a los métodos de vigor aplicados va a depender de la genética del material a evaluar y de la calidad intrínseca del lote de maíz. Con

relación a la genética, el material templado evidenció una mejor respuesta al estrés por frío.

BIBLIOGRAFÍA

- ALTSCHULER, M.; MASCARENHAS, J.P. 1982. Heat shock proteins and effects of heat shock in plants. *Plant Mol Biol* 1, 103–115.
<https://doi.org/10.1007/BF00024974>
- ARANGO PEREARNAU M.R.; GALLO, C.; CRAVIOTTO, R.M. 2010. Prueba de inmersión como indicador de vigor en semillas de soja. XXII Seminario Panamericano de Semillas. Asunción del Paraguay. En: Actas del congreso.
- ARANGO PEREARNAU, M.R. 2018. Caracterización de la calidad de lotes de maíz (*Zea mays* L.) para su uso como semiente a través de ensayos fisiológicos y bioquímicos. Tesis Doctoral en Ciencias Agrarias. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Rosario. ra
- BERTOLIN, D. C. 2010. Teste de alagamento, deterioração controlada e envelhecimento acelerado para avaliação do vigor de sementes de feijão. Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira. Especialidade: Sistemas de Produção. 112 pp.
- BOWDEN, L.; LANDAIS, L. 2018 The impact of light and high light on seed germination and the radicle emergence test. *Seed Science & Technology* 46 (3):465,471.
- BURRIS, J.S.; NAVRATIL, R.J. 1979. Relationship Between Laboratory Cold-Test Methods and Field Emergence in Maize Inbreds. *Agronomy Journal*, 71: 985-988.
- CASTRO, R.D.; BRADFORD, K.J.; HILHORST, H.W.M. 2004. Embebição e reativação do metabolismo. In: Ferreira, A.G.; Borghetti, F. (Ed.). Germinação: Do básico ao aplicado. Porto Alegre: Artmed, 9: 146-162.
- CRAWFORD, R.M.M. 1978. Metabolic adaptations to anoxia. In: Hook, D.D.; Grawford, R.M.M. (Ed.). *Plant life in anaerobic environments*. Ann Arbor, Ann Arbor Sciences, p. 119-136.
- CUSTÓDIO, C.C; MACHADO NETO, N.B.; ITO, H.M.; VIVAN, M.R. 2002. Efeito da submersão em água de sementes de feijão na germinação e no vigor. *Revista Brasileira de Sementes*, 24 (2): 49-54.
- CUSTÓDIO, C.C; MACHADO NETO, N.B.; MORENO, E.L.C.; VUOLO, B.G. 2009. Water submersion of bean seeds in the vigour evaluation. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, 4 (3): 261-266.
- DUPUIS, I.; DUMAS, C. 1990. Influence of temperature stress on in vitro fertilization and heat shock protein synthesis in maize (*Zea mays* L.) reproductive tissues. *Plant physiology*, 94(2), 665-670.
- FRANÇA-NETO, J. D. B.; KRZYZANOWSKI, F. C. 2019. Tetrazolium: an important test for physiological seed quality evaluation. *Journal of Seed Science*, 41, 359-366.
- GRZYBOWSKI, C.R.S. 2012. Respostas de sementes de milho a testes alternativos de vigor. Tesis Mestre en Ciencias. Universidade Federal do Paraná. Curitiba. 46 pp.
- HAMPTON, J.G.; TEKRONY, D.M. 1995. Handbook of Vigour Test Methods. ISTA Vigour Test Committee. 3er. Edition. 117 pp
- ISTA. INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION. 2018. ISTA Handbook on Seedling Evaluation. 4ª Edition by Ronnie Don and Sylvie Ducournau. ISTA Bassersdorf, CH- Switzerland. 300 pp.
- ISTA. INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION. 2021. International Rules for Seed Testing. Zurich. 300 pp.
- ISTA. INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION. 2023. International Rules for Seed Testing. Zurich. 308 pp.
- MARCOS FILHO, J. 2015. Seed vigor testing: an overview of the past, present and future perspective. *Scientia agricola*, 72, 363-374.
- MARTÍNEZ, C. G. 2018. Análisis de componentes principales (PCA). Apuntes personales sobre análisis de componentes principales, con un ejemplo en R aplicado sobre datos de expresión génica.
- MATTHEWS, S.; WAGNER, M.; KERR, L.; MCLAREN, G.; POWELL, A.A. 2012. Automated determination of germination time courses by image capture and early counts of radicle emergence lead to a new vigour test for winter oilseed rape (*Brassica napus*). *Seed Science and Technology*, 40, 413-424.
<https://doi.org/10.15258/sst.2012.40.3.12>
- MÉNDEZ-NATERA, J.R.; YSAVIT-MARCANO, L.; MERAZO-PINTO, J.F. 2007. Efecto de la inmersión de semillas de maíz (*Zea mays* L.) en agua a 100 °C sobre la germinación y crecimiento de plántulas bajo condiciones de laboratorio. *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 10 (2): 56-64.
- NAVARRO, M.; FEBLES, G.; HERRERA, R. S. 2015. Vigor: essential element for seed quality. *Cuban Journal of Agricultural Science*, 49(4).
- POWELL, A.A.; MATTHEWS, S.; KERR, L.; MCLAREN, G.; WAGNER, M. 2014. Early counts of radicle emergence as a vigour test for oil seed rape. *Method Validation Report for The International Rules for Seed Testing 2015*, pp. 42-50, International Seed Testing Association, Bassersdorf, Switzerland.
- POWELL, A.A.; MAVI, K. 2016. Application of the radicle emergence test to radish (*Raphanus sativus*) seed. *Method Validation Report for The International Rules*

- for Seed Testing 2016*, pp. 65-72, International Seed Testing Association, Bassersdorf, Switzerland.
- REZVANI, E.; GHADERI-FAR, F.; HAMIDI, A.; SOLTANI, E. 2017. Appropriate Vigor Tests for Evaluating Maize Seed for Subtropical and Tropical Areas. *Seed Technology*, 38(1), 57–67.
<http://www.jstor.org/stable/26625394>.
- RICHARD, B.; RIVOAL, J.; SPITERI, A.; PRADET, A. 1991. Anaerobic stress induces the transcription and translation of sucrose synthase in rice. *Plant Physiology*, 95 (3): 669-674.
- THEODORO, J. V. C. 2013. Avaliação do potencial fisiológico de sementes de soja pelos testes de pH do exsudato, alagamento e índice de resistência ao enrugamento. Universidade Federal De Mato Grosso Do Sul Câmpus De Chapadão Do Sul. Programa De Pós- Graduação Em Agronomia. Mestrado Em Produção Vegetal. Tesis. 52 pp.
- YOUNG, T. E.; LING, J.; GEISLER-LEE, C. J.; TANGUAY, R. L.; CALDWELL, C.; GALLIE, D. R. 2001. Developmental and Thermal Regulation of the Maize Heat Shock Protein, HSP101. *Plant Physiology*, Volume 127, Issue 3, Pages 777–791, <https://doi.org/10.1104/pp.010160>.