

Vigor: essential element for seed quality

El vigor, elemento indispensable de la calidad de las semillas

Marlen Navarro¹, G. Febles² and R. S. Herrera²

¹*Estación Experimental "Indio Hatuey". Universidad de Matanzas "Camilo Cienfuegos".*

Central España Republicana. CP44280. Matanzas, Cuba.

²*Instituto de Ciencia Animal. Mayabeque, Cuba*

Email: boulandier@ihatuey.cu

In order to find methodologies with enough sensitivity to determine more precisely the degree of deterioration of seeds, several procedures have been developed under the conventional name of "vigor tests". There are profound debates and suppositions with regard to the concept and processes related to vigor. One idea is that vigor tests were developed in order to provide only additional information to that obtained with the germination test and they also allow to estimate the potential of emergency in the field in a wide range of environmental conditions. In this article, the authors offer a review on vigor, its concept and the most commonly used tests to evaluate it. At the same time, these researchers try to highlight that vigor is not a simple and isolated characteristic from the general performance of a seed feature, but it is the interaction of those biotic and abiotic properties, which influence on seeds and determine the activity level and their performance in time, such as the expressions of viability, dormancy, germination and emergence. Therefore, the term vigor is an integrated and dynamic concept, which cannot be separated because it is an essential part of seed quality.

Key words: *vigor, quality, seeds*

INTRODUCTION

The seed is a living organism and, as such, is subjected to gradual degenerative processes that end with its death. The concept of vigor arises from the need to distinguish among seed lots with different potential, capable of producing normal, vigorous, and healthy seedlings and of establishing in the field under a wide range of environmental conditions (Heydecker 1972, Delouche 1976 and Perry 1984). Although there is no universally accepted definition of vigor, there is general consensus to consider it as the most important factor in seed quality.

From a biochemical point of view, vigor involves the ability of an organism for the biosynthesis of energy and metabolic compounds such as proteins, nucleic acids, carbohydrates and lipids, all associated with cell activity, integrity of cell membranes and transport or use of reserve substances (Bewley 1986 and Bewley and Black 1994). Meanwhile, the appearance of vigor in germination is demonstrated in the speed, consistency and intensity of this process, as well as the plantlet tolerance to unfavorable environmental conditions (Marcos Filho 2005).

En la búsqueda de metodologías con sensibilidad suficiente para determinar con mayor precisión el grado de deterioro de las semillas, se han desarrollado diversos procedimientos con el nombre convencional de "pruebas de vigor". Con respecto al concepto y los procesos vinculados al vigor, se especula y se debate profusamente. Una de las ideas es que las pruebas de vigor se desarrollaron con la finalidad de ofrecer solo información complementaria a la obtenida por la prueba de germinación y que, a su vez, permiten estimar el potencial de emergencia en el campo en una amplia gama de condiciones ambientales. En este artículo, se ofrece una revisión sobre el vigor, su concepto y las pruebas más utilizadas para evaluarlo. Se intenta resaltar que el vigor no es una característica simple y aislada del comportamiento general de una simiente, sino que es la interacción de aquellas propiedades bióticas y abióticas, que influyen en las semillas y que determinan el nivel de actividad y el comportamiento de las mismas en el tiempo: expresión de la viabilidad, la dormancia, la germinación y la emergencia. Por ello, el término vigor es un concepto integrado y dinámico, que no se puede desvincular como parte esencial de la calidad de las semillas.

Palabras clave: *vigor, calidad, semillas*

INTRODUCCIÓN

La semilla es un organismo vivo y, como tal, está sujeto a procesos degenerativos graduales que culminan con su muerte. El concepto de vigor surge por la necesidad de distinguir entre lotes de semillas con diferentes potenciales, capaces de producir plántulas normales, vigorosas, sanas, que se establecen en el campo en amplia gama de condiciones ambientales (Heydecker 1972, Delouche 1976 y Perry 1984). A pesar de que no hay una definición de vigor universalmente aceptada, existe consenso general en el sentido de considerarlo como el factor más importante de la calidad de la semilla.

Desde el punto de vista bioquímico, el vigor involucra la capacidad que tiene un organismo para la biosíntesis de energía y compuestos metabólicos, como proteínas, ácidos nucleicos, carbohidratos y lípidos. Todo ello asociado a la actividad celular, la integridad de las membranas celulares y el transporte o utilización de sustancias de reserva (Bewley 1986 y Bewley y Black 1994). La manifestación del vigor en la germinación se manifiesta con rapidez, uniformidad e intensidad, al igual que la tolerancia de las plántulas a las condiciones ambientales desfavorables (Marcos Filho 2005).

Considering that vigor tests should estimate the quality of seeds with higher reliability than germination test, the evaluation, through integral studies, of any of the factors that antecede the lost of viability and are closely related to deterioration, may, theoretically, be used as tests for evaluating vigor.

Al considerar que las pruebas de vigor deben estimar la calidad de las semillas con mayor confiabilidad que las de germinación, la evaluación mediante estudios integrales de cualquiera de los factores relacionados estrechamente con el deterioro, y que anteceden a la pérdida de viabilidad pueden servir teóricamente como prueba para evaluar el vigor.

VIGOR

The concept seed quality, besides being related to the germination response, also involves morphological, physiological and genetic aspects (Carvalho and Nakagawa, 2012). Therefore, germination test is not enough for expressing quality degree of seeds. On the other hand, Marcos Filho (2005) stated that this test has no ability to detect differences in quality among the lots of seeds with high percentage of germination, while the analyses of vigor show higher sensitivity to find such differences.

The Association of Official Seed Analysts (AOSA) and the International Seed Testing Association (ISTA) offer their own concept of vigor:

- Vigor is considered as those seed properties that determine the fast and uniform emergence for the development of normal plantlets under a wide range of nursery or field conditions (AOSA 1983).

- Seed vigor is the sum of those properties that determine the level of activity and performance of seed lots with acceptable germination in a wide range of environments, and it is related to the rate and uniformity of germination and growth of plantlets, the ability for their emergence under unfavorable environmental conditions and seed performance after storage, mainly in the retention of the germination capacity (Hampton and Tekrony, 1995).

The evolution of seed vigor test has been a slow hard and still incomplete process because it is hard to reach an agreement on vigor definition and which tests are more adequate for each species (Marcos Filho 1999b). However, detailed descriptions of commonly used vigor tests appear in publications from AOSA (Baalbaki *et al.* 2009) and ISTA (Hampton and Tekrony 1995).

Likewise, the Brazilian Association of Seed Technologies (ABRATES) has a publication that offers vigor tests and concepts, which is edited by Krzyzanowski, Vieira and França Neto (1999).

Ferguson (1995), in an attempt to conceptualize seed vigor, stated that it is based on the physical and physiological performance of a seed lot, and includes: 1) changes on biochemical process; 2) rate and uniformity of germination and growth of plantlets; and 3) germination or emergence ability of seeds after being exposed to stress conditions. However, this author never developed any experimental procedure for integrating these three principles.

El concepto calidad de la semilla, además de estar relacionado con la respuesta germinativa, también implica aspectos genéticos, fisiológicos y morfológicos (Carvalho y Nakagawa 2012), por lo que la prueba de germinación no es suficiente para expresar el grado de calidad de las simientes. Marcos Filho (2005) planteó que este último examen es incapaz de encontrar las diferencias en calidad entre los lotes de semillas con altos porcentajes de germinación; mientras que los análisis del vigor muestran mayor sensibilidad para encontrar estas diferencias.

La Asociación de Analistas Oficiales de Semillas (AOSA) y la Asociación Internacional de Análisis de Semillas (ISTA) ofrecen su propio concepto de vigor:

- El vigor comprende aquellas propiedades de las semillas que determinan la rápida y uniforme emergencia para el desarrollo de plántulas normales en un amplio rango de condiciones de campo o de vivero (AOSA 1983).

- El vigor es la suma de aquellas propiedades que determinan la actividad y el nivel de desempeño de lotes de semillas de aceptable germinación en un amplio rango de ambientes y está relacionado con la tasa y uniformidad de la germinación y el crecimiento de plántulas; la habilidad para la emergencia en condiciones ambientales desfavorables y el desempeño de las semillas posterior al almacenamiento, particularmente en la retención de la capacidad germinativa (Hampton y Tekrony 1995).

La evolución del examen de vigor en las semillas ha sido un proceso lento, arduo y todavía incompleto, pues resulta difícil llegar a un acuerdo sobre la definición de vigor y los exámenes adecuados para cada especie (Marcos Filho 1999b). Sin embargo, las descripciones detalladas de las pruebas de vigor que se utilizan comúnmente aparecen en publicaciones de la AOSA (Baalbaki *et al.* 2009) como del ISTA (Hampton y Tekrony 1995) mediante sus respectivos comités de vigor. Del mismo modo, la Asociación Brasileña de Tecnologías de Semillas (ABRATES) dispone de una publicación, editada por Krzyzanowski *et al.* (1999), que ofrece conceptos y pruebas de vigor.

Ferguson (1995) en un intento por conceptualizar el vigor de semillas, dijo que este se basa en el comportamiento físico o fisiológico de un lote de semillas. El vigor incluye, siguiendo a Ferguson: cambios en los procesos bioquímicos; tasa y uniformidad de germinación y crecimiento de las plántulas y germinación o capacidad de emergencia de las semillas, al ser expuestas a condiciones de estrés. Sin embargo, este autor nunca desarrolló experimentalmente ningún procedimiento para integrar estos tres principios.

Detection of seed deterioration through vigor tests may be understood as an important component on the evaluation of physiological quality and, according to Tekrony (2006), it contributes to the solution of problems from seed industry, such as storage, and there are other elements involved, like optimal moment for harvest, sweating and drying.

Researches, including those of biological nature, related to vigor and the creation of appropriate methodologies, focus, essentially, on horticultural species from different environments, mainly from temperate areas. However, the work on this direction is generally scarce and fragmented as it would be seen later in tropical grass species and even more in shrub and tree legumes.

Therefore, Navarro (2009), after conceptualizing the term vigor, reached a new approach, as an integrated and dynamic concept that can be considered as the interaction of those biotic and abiotic properties, influencing on seeds and determining their activity level and performance during the time, such as the expressions of viability dormancy, germination and emergence. That is why vigor cannot be separated because it is an essential part of seed quality.

La detección del deterioro de las semillas mediante pruebas de vigor puede ser entendida como un componente importante en la evaluación de la calidad fisiológica. De acuerdo con Tekrony (2006), contribuye a la solución de problemas de la industria semillera, como es el caso del almacenamiento. Se agregan también a ello otros elementos que pueden estar involucrados, como el momento óptimo de cosecha, el sudado y el secado.

Las investigaciones, incluso las de naturaleza biológica, relacionadas con el vigor y la confección de metodologías apropiadas insisten, fundamentalmente, en especies hortícolas de diferentes ambientes, principalmente en áreas de clima templado. Sin embargo, el trabajo en esta dirección es, en general, escaso y fragmentado, como se verá más adelante en especies tropicales praterenses y aún más en plantas de leguminosas de hábito de crecimiento arbustivo y arbóreo.

Navarro (2009), al conceptualizar el término vigor logró un enfoque nuevo, como concepto integrado y dinámico. Según refiere, el vigor se puede considerar como la interacción de aquellas propiedades bióticas y abióticas que influyen en las semillas y que determinan su nivel de actividad y su comportamiento en el tiempo: las expresiones de viabilidad, la dormancia, la germinación y la emergencia. Por ello, el vigor no se puede desvincular como parte esencial de la calidad de las semillas.

METHODS AND TESTS FOR EVALUATING VIGOR IN SEEDS MÉTODOS Y PRUEBAS PARA EVALUAR EL VIGOR EN SEMILLAS

Vigor effects may remain and influence on growth of an adult plant, on harvest uniformity, and on yield of species. Therefore, several methods are used to characterize seed vigor (Tekrony 2003). Additionally, vigor may affect viability of the seed, germination speed, growth, plantlet sensitivity to external factors and storing capacity of different seed lots (Corbineau, 2012).

Seed vigor tests are based on concepts such as resistance to stress, germination speed, integrity of membranes and plantlet development (Matthews *et al.*, 2012). Based on the available technologies and recent physiological discoveries, evaluation methods are constantly improving (Kodde *et al.* 2012).

For a better understanding and interpretation, vigor tests were divided into four types:

a) *Plantlet growth test*. Plantlet evaluation tests are based on the statements of Popinigis (1977) and Marcos Filho *et al.* (1987). Specifically, the analysis of plantlet growth as a vigor test implies the germination under controlled standard conditions and includes measurements of plantlet size and weight, or the classification of plantlets into vigor types (Krzyzanowski *et al.* 1999). It is important to point out that there are few research studies with this type of test in tree seeds.

b) *Stress tests*. The evaluation of vigor through stress tests requires the seed samples to germinate under stressing conditions or under the standard test of

Los efectos del vigor pueden persistir e influir en el crecimiento de la planta adulta, en la uniformidad de la cosecha y en el rendimiento de la especie, por lo que se utilizan varios métodos para caracterizar el vigor de las semillas (Tekrony 2003). Adicionalmente, el vigor afecta la viabilidad de la semilla, la velocidad de germinación, el crecimiento, la sensibilidad de las plántulas a los factores externos y la capacidad de almacenamiento de diferentes lotes de semillas (Corbineau 2012).

Las pruebas de vigor de semillas están basadas en conceptos tales como la resistencia al estrés, la velocidad de germinación, la integridad de las membranas y el desarrollo de plántulas (Matthews *et al.* 2012). Sobre la base de las tecnologías disponibles y los descubrimientos fisiológicos recientes, los métodos de evaluación están en constante mejora (Kodde *et al.* 2012).

Para un mejor entendimiento e interpretación, las pruebas de vigor se agrupan en cuatro tipos

a) *Pruebas de crecimiento de plántulas*. Las pruebas de evaluación de plántulas se basan en los enunciados de Popinigis (1977) y Marcos Filho *et al.* (1987). Específicamente, el análisis del crecimiento de plántulas como prueba de vigor implica la germinación en condiciones estándares controladas. Incluye mediciones del tamaño de las plántulas y el peso o la clasificación de plántulas en clases de vigor (Krzyzanowski *et al.* 1999). Resulta oportuno señalar que existen pocos trabajos de investigación con este tipo de prueba en semillas de árboles.

germination followed by a separated stress treatment (Lima and Marcos Filho, 2011).

Accelerated aging. One of the most used stress tests for evaluating vigor is the accelerated aging (AA), which is based on the increase of deterioration of seeds when they are exposed to adverse conditions of high temperature and high relative humidity (McDonald 1999). Under these conditions, low quality seeds deteriorate faster than the vigorous ones, so it is possible to establish differences among the evaluated samples. However, this requires a standard procedure for each species.

The need of a precise control over the environment and procedures, makes the AA to look more difficult than what it really is (Tekrony 1995). Bonner (1998), in a review on vigor tests, concluded that the results of biochemical studies on tree seeds during the aging treatments confirm that the fast use of energy reserves during the time of AA test is accompanied by the declining of germination and vigor. This supports the concept that seeds and trees react similarly when they are under AA conditions.

The key to these accelerate aging tests lies on the exposition period of seeds to the process and this is achieved through trials with several temperatures and amount of hours of seeds within the aging chamber (Tekrony 1995). One of those deficiencies is that, depending on the species, and at the same temperature, the increase of exposition period provides gains in the percentages of seed water (Marcos Filho 1999a). In order to counteract this factor, the use of salt saturated solutions (NaCl, KCl or NaBr) during the test is suggested, with the objective of reducing relative humidity within individual compartments, delaying water absorption by the seed.

This modification to the test is called Salt Saturated Accelerate Aging test (SSAA) and it was proposed by Jianhua and McDonald (1996). The inclusion of salts within the procedure for the accelerate aging test allows to discard that the increase of humidity content of seeds is the cause of seed deterioration, assuring that deterioration effects are a consequence of temperature and exposition period. Therefore, McDonald (1999) states that SSAA test facilitates the obtaining of more precise measurements of seed vigor.

Despite the diverse studies regarding the adequate exposition periods and temperature for AA test, there is a lack of information about several species of economic interest (Corte *et al.* 2010) and how to standardize the different parts of the method.

Controlled deterioration. For the evaluation of vigor, the test of controlled deterioration (Powell and Matthews 1984) may also be used. According to Krzyzanowski and Vieira (1999), this is an aging technique with similar bases to AA and includes a better

b) *Pruebas de estrés.* La evaluación del vigor mediante pruebas de estrés requiere que las muestras de semillas germinen en condiciones estresantes o en la prueba estándar de germinación, seguida de un tratamiento separado de estrés (Lima y Marcos Filho 2011).

Envejecimiento acelerado. Una de las pruebas de estrés más utilizadas para la evaluación del vigor es el de envejecimiento acelerado (EA). Se basa en el aumento del deterioro de las simientes cuando se exponen a condiciones adversas de alta temperatura y alta humedad relativa (McDonald, 1999). En dichas condiciones, las semillas de baja calidad se deterioran más rápidamente que aquellas más vigorosas, de modo que esto brinda la posibilidad de establecer diferencias entre las muestras evaluadas, aunque requiere de estandarización para cada especie.

La necesidad de control preciso del ambiente y los procedimientos hacen que la prueba de EA pueda parecer más difícil de lo que en realidad es (Tekrony 1995). Bonner (1998), en su revisión acerca de las pruebas de vigor, concluyó que los resultados de estudios bioquímicos en las simientes arbóreas durante los tratamientos de envejecimiento, confirman que la utilización rápida de las reservas de energía durante el tiempo de la prueba de EA está acompañada por la declinación de la germinación y el vigor. Esto apoya el concepto de que las semillas agrícolas y los árboles reaccionan de manera similar cuando se les somete a las condiciones de EA.

La clave de estas pruebas de envejecimiento acelerado está en el período de exposición de las simientes al proceso. Esto se logra mediante ensayos con variadas temperaturas y números de horas de permanencia de las semillas en la cámara de envejecimiento (Tekrony 1995). Una de sus deficiencias radica en que, en dependencia de la especie, para una misma temperatura el aumento del período de exposición proporciona ganancias en los porcentajes del tenor de agua de las simientes (Marcos Filho 1999a). Para contrarrestar este factor, se sugiere el uso de soluciones saturadas de sales (NaCl, KCl o NaBr) durante la realización de la prueba, con el objetivo de reducir la humedad relativa en el interior de los compartimientos individuales y retardar la absorción de agua por la semilla.

Esta modificación de la prueba se denomina test de envejecimiento acelerado con uso de soluciones saturadas de sal (SSAA por sus siglas en inglés) y fue propuesto por Jianhua y McDonald (1996). La inclusión de las sales en el procedimiento para el montaje de la prueba de envejecimiento acelerado permite descartar que el aumento del contenido de humedad en las semillas sea la causa de su deterioro, y asegura que los efectos del deterioro son consecuencia de la temperatura y el período de exposición. Por ello, McDonald (1999) asevera que el test de SSAA facilita la obtención de mediciones más precisas para determinar el vigor de semillas.

A pesar de los diversos estudios conducidos, en cuanto a la temperatura y los períodos adecuados de exposición de la prueba de EA, no se dispone de información para varias especies de interés económico (Corte *et al.* 2010) acerca

control of humidity degree of seeds and temperature during the aging period.

In the AA, seeds gain humidity during the initial period of the test due to the high temperature and different degrees of humidity, which results in different aging intensities during the same period of time (Matthews 1980).

Cold test. This test is based on the principle that seeds of low vigor have a slow germination in suboptimal temperatures (low temperatures), mainly at the beginning of imbibition, because negative effects for germination, emergence and growth of plantlets are stimulated (Barros *et al.* 1999).

Its main advantage is that it is a stress method that does not require additional equipment, even though it is a test of simple implementation. Up to this moment, there are no reports of this test for evaluating vigor of seeds from tropical and subtropical shrubs and trees.

c) *Biochemical tests.* These tests evaluate indirectly the integrity of the cell membranes system, which is an extremely important aspect for guaranteeing the normal functioning of vital tissues of seeds (Marcos Filho 2011).

Tetrazolium salt test. It is most known biochemical test for evaluating vigor and it is frequently used as a fast test to estimate viability (França Neto and Krzyzanowski 2009), which is its main objective.

The theoretical supposition, in which this test is based, was stated by Harrington (1972), after assuming that maximum viability is associated with the maximum value of vigor and that both are closely related to the maximum point of physiological maturity (Tekrony and Egli 1997). It is known that the loss of viability is usually accompanied by the loss of respiration capacity, non-saturated fatty acids and lipids in the membrane, as well as reductions of energy from adenylate, enzymatic activity and content of messenger RNA (Smith and Berjak 1995).

The determination of viability through tetrazolium test do not detect the presence of pathogens or phytotoxic effects and its difficult the visual identification of abnormal plantlets (Milošević, Vujakovic and Karagic, 2010).

Electric conductivity. The operating technique starts when seeds are soaked up in distilled or de-ionized water at a certain temperature and during a previously determined period and, later, a conductivity meter is used for the reading. The principles of this test establishes that less vigorous (more deteriorated) seeds show lower velocity of reestablishment of cell membrane integrity during imbibition and, as a consequence, release larger amounts of solutes (Vieira and Krzyzanowski 1999 and Carvalho *et al.* 2009). Results are expressed in

de cómo estandarizar las diferentes partes del método.

Deterioro controlado. Para la evaluación del vigor, también se puede emplear la prueba de deterioro controlado (Powell y Matthews 1984). Según Krzyzanowski y Vieira (1999), esta es una técnica de envejecimiento similar en su fundamento al EA e incorpora un mejor control del grado de humedad de las semillas y de la temperatura durante el período de envejecimiento.

En el EA, las semillas ganan humedad durante el período inicial de la prueba, debido a la elevada temperatura y diferentes grados de humedad, lo que trae como resultado diferentes intensidades de envejecimiento durante el mismo período de tiempo (Matthews 1980).

Prueba de frío. Se fundamenta en el principio de que semillas de menor vigor germinan lentamente a temperatura subóptima. Es decir, a temperaturas bajas, particularmente en el inicio de la imbibición, pues se estimulan efectos negativos para la germinación, la emergencia y el crecimiento de plántulas (Barros *et al.* 1999).

Su principal ventaja es ser un método de estrés que no requiere equipamiento adicional, aun cuando es una prueba de simple ejecución. Hasta la actualidad, no se encuentran reportes de esta prueba para evaluar el vigor de las semillas de árboles y arbustos tropicales y subtropicales.

c) *Pruebas bioquímicas.* Evalúan indirectamente la integridad del sistema de membranas celulares, aspecto extremadamente importante para la garantía del funcionamiento normal de los tejidos vitales de las semillas (Marcos Filho 2011).

Ensayo topográfico con tetrazolium (tz). Es la prueba bioquímica más conocida para evaluar el vigor. Se usa más frecuentemente como una prueba rápida para estimar la viabilidad (França Neto y Krzyzanowski 2009) que es su objetivo fundamental.

El supuesto teórico en que se basa fue enunciado por Harrington (1972), al asumir que la viabilidad máxima está asociada al valor máximo de vigor, y que ambos se relacionan estrechamente con el punto máximo de madurez fisiológica (Tekrony y Egli 1997). Se conoce que, a menudo, la pérdida de la viabilidad está acompañada por las pérdidas en la capacidad de respiración, los ácidos grasos no saturados y los lípidos en la membrana, así como las reducciones en la carga de energía de adenilato, la actividad enzimática y el contenido de ARN mensajero (Smith y Berjak 1995).

La determinación de la viabilidad mediante la prueba de tetrazolium tiene como limitante que no encuentra la presencia de patógenos o de efectos fitotóxicos y dificulta la identificación visual de plántulas anormales (Milošević *et al.* 2010).

Conductividad eléctrica. La técnica operatoria se inicia cuando las semillas son embebidas en agua destilada o desionizada a una temperatura y durante un período previamente determinados para efectuarse luego la lectura en un conductímetro. El principio de esta prueba establece que las semillas menos vigorosas (más deterioradas) presentan menor velocidad de restablecimiento de la

$\mu\text{S}/\text{cm}/\text{g}$ or $\mu\text{mho}/\text{cm}/\text{g}$. The lack of reference values to characterize the high or low vigor, the limiting aspects of the test of seeds with relatively small embryos and the expression of results in units that are less familiar to the user, have made difficult its use at a larger scale.

Protein electrophoresis. The main challenge of the studies on vigor tests is to identify indicators related to seed deterioration, which precedes the loss of protein capacity. Within this concept, the technique of electrophoresis is important because it makes possible the detection of initial stages of deterioration through the activity of enzymes related to degradation and oxidation of reserve substances, as well as biosynthesis of new substances (Corte *et al.* 2010).

Priestley (1986) associated the loss of isoenzymes, such as peroxidase, acid phosphatase, dehydrogenase, esterase and amino peptidase, with a severe aging of seeds within a group of species.

Chauhan *et al.* (1985), when studying the electrophoretic variation of proteins and enzymes of soy bean and barley in relation to seed quality, observed that the bands of proteins and enzymes (esterase, phosphatases and transaminases) work as molecular brands in the evaluation of quality. In addition, Vieira (1996) considered the electrophoretic variations of proteins and enzymes like glutamate dehydrogenase, malate dehydrogenase, acid phosphatase, malic enzyme, peroxidase and 6-phosphogluconate as promising indicators of the state of deterioration of cotton seeds.

Electrophoretic profiles of proteins show a high number of polypeptides that are possible to be analyzed, propitiating the identification of characteristic groups and their alterations with aging and physiological events. Electrophoresis, through detection of alterations in the protein composition and specific enzymes, may be an efficient tool for accompanying the quality of seeds during storage.

d) *Numeric variables based on results of germination and emergence tests.* It is known that germination rate is positively related to the fast emergence in the field and to plantlet development of many species, including tree seeds. The most used method for tree seeds, for instance, was developed by Czabator (1962), who proposed the combination of germination rate with germination integrity in only one numeric index, which was known as germination value (GV). It was determined through the calculation of the maximum value (MV), which consists on the maximum value of germinated seeds in a day and daily mean germination (DMG) and it is calculated through the division of daily germination into the number of days since the beginning of test. Many studies have evaluated GV and MV as indicators of vigor in tree seeds (Poulsen *et al.* 1998).

Cuban Journal of Agricultural Science, Volume 49, Number 4, 2015
integridad de membranas celulares durante la imbibición y, como consecuencia, liberan mayores cantidades de solutos (Vieira y Krzyzanowski 1999 y Carvalho *et al.* 2009). Los resultados son expresados en $\mu\text{S}/\text{cm}/\text{g}$ o $\mu\text{mho}/\text{cm}/\text{g}$. La falta de valores de referencia para caracterizar el alto o bajo vigor, las limitantes de la prueba para semillas con embrión relativamente pequeño y la expresión de los resultados en unidades poco familiares al usuario han dificultado su uso en mayor escala.

Electroforesis de proteínas. El principal desafío de las pesquisas sobre pruebas de vigor está en la identificación de indicadores relacionados con el deterioro de las semillas, que preceden a la pérdida de la capacidad germinativa. En este concepto se destaca la técnica de la electroforesis de proteínas, que puede posibilitar la detección de los estadios iniciales del deterioro mediante la actividad de las enzimas asociadas con la degradación y oxidación de sustancias de reserva, así como con la biosíntesis de nuevas sustancias (Corte *et al.* 2010).

Priestley (1986) asoció la pérdida de algunas formas de isoenzimas, tales como peroxidasa, fosfatasa ácida, dehidrogenasa, esterasa y aminopeptidasa, con el envejecimiento severo de las semillas en un grupo de especies.

Chauhan *et al.* (1985), al estudiar la variación electroforética de proteínas y enzimas de soja y cebada en relación con la calidad de las semillas, constataron que las bandas de proteínas y enzimas (esterasas, fosfatasa y transaminasas) funcionan como marcas moleculares en la evaluación de la calidad. También Vieira (1996) encontró como indicadores promisorios del estado de deterioro de semillas de algodón, las variaciones electroforéticas de proteínas y de las enzimas glutamato deshidrogenasa, malato deshidrogenasa, fosfatasa ácida, enzima málica, peroxidasa y 6- fosfogluconato.

Los perfiles electroforéticos de proteínas muestran gran número de polipéptidos posibles de analizar, que posibilitan la identificación de grupos característicos y de alteraciones con el envejecimiento y los eventos fisiológicos. La electroforesis, mediante la detección de alteraciones en la composición proteica y de enzimas específicas, puede ser una herramienta eficiente para el acompañamiento de la calidad de las semillas durante el almacenamiento.

d) *Variables numéricas basadas en resultados de pruebas de germinación y emergencia.* Se conoce, desde hace tiempo, que la tasa de germinación se relaciona positivamente con la rápida emergencia en el campo y con el desarrollo de las plántulas de muchas especies, las que incluyen las simientes de árboles. El método más utilizado para las semillas arbóreas, por ejemplo, fue desarrollado por Czabator (1962), quien propuso combinar la tasa de germinación y la integridad de la germinación en un solo índice numérico, al que llamó valor de germinación (VG). Este se determina mediante el cálculo del valor máximo (VM), que consiste en el valor máximo de semillas germinadas en un mismo día y la germinación media diaria (GMD), que se calcula al dividir la germinación diaria entre el número de días desde el inicio de la prueba. Numerosos

Modified Weibull function. It was proposed by Brown and Mayer (1988), after analyzing a group of non-linear, linear fitted and logistic functions, as a model of data processing to compare vigor, based on frequency of accumulated germination. Previously, Scott *et al.* (1984) concluded that the parameters contained within it partially define the main characteristics of germination and emergence process. From the study performed by Brown and Mayer (1988) to Weibull function, it began to be known as modified Weibull function, in the area of seeds.

This non-linear function is regularly used to describe the dynamics of germination from the effect (in this indicator and in the emergence of plantlets) of the temperatures, stratification periods, pre-germination treatments, seminal characteristics and different species, cultivar and hybrid, optionally through the analysis of their parameters (Huang and Yang 1995, Hernández and Paoloni 1998, and Cerabolini *et al.* 2004).

In a review, Gardarin *et al.* (2011) detected that the three parameters of Weibull have been evaluated in 25 arvense species with different characteristics in seeds.

Other results obtained by Casco *et al.* (2008) show the usefulness of Weibull model for studies the seed bank of the soil, as well as the suitability of the function to describe distributions of size and number of seeds.

Navarro *et al.* (2013) also used Weibull function in order to estimate vigor of *Albizia lebbek* (L.) Benth seeds, and perform comparisons when cropping is developed under three environmental conditions and with seeds of different storage times.

Germination speed. The first counting of germination test can be used as a vigor test, once the germination speed is related to evolution of seed deterioration. Likewise, samples presenting the highest germination values in the first counting can be considered as more vigorous. It is a simple test with an easy implementation, but generally shows low sensitivity because it does not detect small differences of vigor among lots (Marcos Filho 2011).

Germination percentage only includes the percentage of seeds that germinate during the test period, without taking into account whether the germination occurred during the first or last stage of the test. However, under field conditions (nursery), the fast germination is obviously an advantage for the establishment of plantlets. Therefore, germination speed takes part of vigor expression, and it is known that seeds with high vigor germinate faster than those of low vigor under any condition (van de Venter 2000).

Germination speed, known as “germination energy”, may be expressed in several ways, according to the daily

estudios han evaluado VG y VM, como indicadores del vigor en las semillas de arbóreas (Poulsen *et al.* 1998).

Función Weibull modificada. Fue propuesta por Brown y Mayer (1988), luego de analizar un conjunto de funciones no lineales, lineales ajustadas y logísticas, como modelo de procesamiento de datos para comparaciones de vigor basadas en la frecuencia de la germinación acumulada. Antes, Scott *et al.* (1984) concluyeron que los parámetros contenidos en ella definen parcialmente las principales características del proceso germinativo y de la emergencia. A partir del estudio realizado por Brown y Mayer (1988) a la función de Weibull, en el ámbito semillero se le comenzó a designar como Weibull modificada.

Esta función no lineal se utiliza, con regularidad, para describir la dinámica de la germinación a partir del efecto, en este indicador y en la emergencia de plántulas, de las temperaturas, los períodos de estratificación, los tratamientos pregerminativos, las características seminales, las diferentes especies, cultivares e híbridos, de manera optativa por medio del análisis de sus parámetros (Huang y Yang 1995, Hernández y Paoloni 1998 y Cerabolini *et al.* 2004).

En una revisión de literatura, Gardarin *et al.* (2011) encontraron que los tres parámetros de Weibull se han evaluado en 25 especies de arvenses con características contrastes en las semillas.

Otros resultados de Casco *et al.* (2008) ilustran la utilidad del modelo de Weibull para estudios en el banco de semillas del suelo, además de la idoneidad de la función para describir distribuciones de tamaño y número de semillas.

Navarro *et al.* (2013) también utilizaron la función Weibull, con el objetivo de estimar el vigor de las semillas de *Albizia lebbek* (L.) Benth y realizar comparaciones del mismo, cuando las siembras se realizan en tres condiciones ambientales y con simientes de diferentes tiempos de almacenaje.

Velocidad de germinación. El primer conteo de la prueba de germinación se puede utilizar como una prueba de vigor, una vez que la velocidad de germinación está relacionada con la evolución del deterioro de la semilla. Asimismo, las muestras que presentan mayores valores de germinación en el primer conteo se pueden considerar más vigorosas. Se trata de una prueba simple y de fácil ejecución, pero que generalmente presenta baja sensibilidad, al no encontrar pequeñas diferencias de vigor entre los lotes (Marcos Filho 2011).

El porcentaje germinativo solo contempla el porcentaje de las semillas que germinan durante el período de la prueba, sin tener en cuenta si la germinación ocurrió durante la primera o la última parte del examen. Sin embargo, en condiciones de campo (vivero), la germinación rápida es obviamente una ventaja para el establecimiento de las plántulas. Por ello, la velocidad de germinación forma parte de la expresión del vigor. Se conoce que, en cualquier condición, las semillas de buen vigor germinan más rápido que aquellas que no lo tienen (van de Venter 2000).

germination records (Schmidt 2000):

- The percentage of analyzed seeds that germinate within a determined period (called energy period)
- The percentage of seeds from a sample that germinate up to the moment of maximum germination
- The number of days required to reach the percentage of final germination
- Germination speed average in the total period of the test

Combination of biological variables and mathematical tools. The evaluation of vigor during germination, emergence and growth of plantlets consists of two phases: the expression of vigor as such, and the vigor reflected in time, through storage. In order to establish the importance and efficiency of the whole performance of biological variables per each time of storage, apart from the scarification method, Navarro *et al.* (2012) adjusted the statistical method for measuring the impact of innovation and technological transfer in the agricultural and livestock field, stated by Torres *et al.* (2008), in order to achieve an original and integral methodology for estimating seed vigor as an indicator of quality and later success of the harvest. Therefore, it was decided that the statistics named by Torres *et al.* (2008) as “impact index” should change to “efficiency index”, and it is interpreted as the efficiency of evaluated variables in storage times, in their relation with vigor variability.

e) *Computer analysis of seeds and plantlets.* Silva *et al.* (2013) stated that integration of image analysis systems with vigor tests, considered as traditional, may contribute to the development of methodologies that will help on the standardization of the previously mentioned tests.

Automated evaluation of X-ray test. The X-ray test is recommended in the rules of ISTA (ISTA, 2004) and in the Rules of Seed Analysis (RAS) from Brazil (BRASIL, 2009). This technique, because it is a non-destructive method, favors the performance of physiological assays with seeds exposed to radiation, which allows the establishment of cause and effect relations (Cicero and Banzatto Junior, 2003) among the damages or changes observed in the interior of seeds and the prejudices caused to germination (Cicero *et al.*, 1998).

A considerable amount of researches with X-rays in seeds relate the study of internal morphology with physiological potential of seeds from several species (Cicero, 2010). Gomes Junior (2010) provides a review of the most outstanding results, per species, for the evaluation of the internal morphology of seeds with the use of X-rays and their interpretation with the use of Tomato Analyzer and Image-Pro® software, which can determine the embryonic area or empty spaces inside the seed and establish relationships with vigor.

La velocidad germinativa, denominada energía de germinación, se puede expresar de varias formas a partir de los registros de germinación diaria (Schmidt 2000):

- Como el porcentaje de semillas analizadas que germinan en un período determinado (período de energía)
- Como el porcentaje de las semillas de una muestra que germinan hasta llegar al momento de germinación máxima
- Como el número de días requerido para alcanzar el porcentaje de germinación final
- Como el promedio de la velocidad de germinación en el período total de la prueba

Combinación de variables biológicas y artificios matemáticos. La evaluación del vigor durante la germinación, la emergencia y el crecimiento de las plántulas, consta de dos partes: la expresión del vigor puntualmente y el vigor visto en el tiempo mediante el almacenamiento. Para establecer la importancia y eficiencia del comportamiento global de las variables biológicas para cada tiempo de almacenamiento, independientemente del método de escarificación, Navarro *et al.* (2012) adecuaron el modelo estadístico para la medición del impacto de la innovación o transferencia tecnológica en la rama agropecuaria de Torres *et al.* (2008), con el propósito de lograr una metodología original e integral para estimar el vigor de las semillas como indicador de la calidad y el éxito posterior de una plantación. Se decidió que el estadístico designado por Torres *et al.* (2008) como “índice de impacto” se denomine “índice de eficiencia”. Este se interpreta como la eficiencia de las variables evaluadas en los tiempos de almacenamiento, en su relación con la variabilidad del vigor.

e) *Análisis computarizados de semillas y plántulas.* Silva *et al.* (2013) aseveran que la integración de los sistemas de análisis de imágenes con las pruebas de vigor tradicionales puede contribuir al desarrollo de metodologías que permitan auxiliar en la estandarización de las mencionadas pruebas.

Evaluación automatizada de la prueba de rayos X. La prueba de rayos X está recomendada en las Reglas del ISTA (ISTA 2004) y en las Reglas de Análisis de Semillas (RAS) de Brasil (BRASIL 2009). Esa técnica, por tratarse de un método no destructivo, posibilita la realización de ensayos fisiológicos con las semillas sometidas a radiación, lo que permite el establecimiento de relaciones de causa y efecto (Cicero y Banzatto Junior 2003) entre los daños o alteraciones observadas internamente en las simientes y los prejuicios causados a la germinación (Cicero *et al.* 1998).

Una cantidad considerable de investigaciones con rayos X en semillas relacionan el estudio de la morfología interna con el potencial fisiológico de las simientes de diversas especies (Cicero 2010). Gomes Junior (2010) ofrece una reseña de los resultados más sobresalientes por especie para la evaluación de la morfología interna de las semillas con la utilización de rayos X y su interpretación con los programas Tomato Analyzer e Image-ProPlus, que permiten determinar el área embrionaria o de espacios vacíos en el interior de la semilla y establecer relaciones con el vigor.

Análisis de imágenes de plántulas. Varios sistemas

Analysis of plantlet images. Several systems of image analysis of plantlets have been proposed for the analysis of seed vigor. One of the first systems described in the literature was developed by Keys (1982) and improved by Keys *et al.* (1984).

Later, Geneve and Kester (2001) obtained promising results using image analysis to evaluate the size of plantlets as a vigor indicator. Meanwhile, Sako *et al.* (2001) proposed an automated method for evaluating vigor of lettuce seeds, by capturing images of plantlets and simultaneously determining the length of hypocotyl, primary root, the entire plantlet and root/hypocotyl relationship. The technique includes image processing with the use of "Seed Vigor Imaging System" (SVIS®) software, developed at Ohio State University.

The SVIS® was modified and adapted by Hoffmaster *et al.* (2003) and Marcos Filho *et al.* (2009), for evaluating vigor of soy bean seeds. An additional advantage of the system is its low cost, compared to traditional vigor tests.

According to Marcos Filho (2010), image processing of plantlets, or their parts, allows establish indexes of vigor, uniformity and growth of plantlets.

Despite the reliability of the available seed vigor tests, there are still opportunities to improve or develop new methods (Marcos Filho *et al.* 2009). In addition, there is a considerable interest in the development of methods and equipment that enable a rapid and automated evaluation of seed quality.

CONCLUSIONS

The detection of seed deterioration through vigor tests can be understood as an important component in the evaluation of quality and contributes to the solution of problems among them the storage and the characterization of the seed industry, such as storage. The main challenge for researches on vigor tests is to identify indicators related to seed deterioration, preceding the loss of germination capacity and quality.

In the last 50 years, seed specialists have proposed, studied and used different methods for evaluating vigor. Various methods have been studied in order to verify the possibility of their implementation and standardization for different species, in isolation or combined. Both, seed producer and the consumer need more information regarding the physiological quality of seeds than those provided by the germination test.

One of the symbols of the rapid progress of scientific researches in seed sector is the analysis of digital images of seeds and plantlets. This new generation of analysis has demonstrated high potential of use for several purposes of seed industry because

de análisis de imágenes de plántulas han sido propuestos para el análisis del vigor de semillas. Uno de los primeros sistemas descritos en la literatura fue desarrollado por Keys (1982) y mejorado por Keys *et al.* (1984).

Posteriormente, Geneve y Kester (2001) obtuvieron resultados promisorios con el uso de análisis de imágenes para la evaluación del tamaño de las plántulas como indicador del vigor. Mientras que Sako *et al.* (2001) propusieron un método automatizado para la evaluación del vigor de semillas de lechuga, por medio de la captura de imágenes de plántulas y determinaciones simultáneas de la longitud del hipocótilo, de la raíz primaria, de la plántula entera y de la relación raíz/hipocótilo. La técnica incluye el procesamiento de las imágenes con el uso del software "Seed Vigor Imaging System" (SVIS®), desarrollado en la Ohio State University.

El SVIS® fue modificado y adaptado para la evaluación del vigor de semillas de soja por Hoffmaster *et al.* (2003) y Marcos Filho *et al.* (2009). Una ventaja adicional del sistema es su bajo costo, con respecto al de las pruebas de vigor tradicionales.

De acuerdo con Marcos Filho (2010), el procesamiento de imágenes de plántulas o de sus partes permite establecer índices de vigor, de uniformidad y de crecimiento de las plántulas.

A pesar de la fiabilidad de las pruebas de vigor de semillas disponibles, aún existen oportunidades para mejorar o desarrollar nuevos métodos (Marcos Filho *et al.* 2009). Además, existe un interés considerable por el desarrollo de métodos y equipos que permiten una evaluación rápida y automatizada de la calidad de semillas.

CONCLUSIONES

La detección del deterioro de las semillas mediante las pruebas de vigor es un componente importante en la evaluación de la calidad y contribuye a la solución de problemas, entre ellos el almacenamiento, además de posibilitar la caracterización de la industria semillera. El principal desafío de las investigaciones sobre pruebas de vigor está en la identificación de indicadores relacionados con el deterioro de las semillas, que preceden a la pérdida de la capacidad germinativa y la calidad.

En los últimos 50 años, los especialistas en semillas propusieron, estudiaron y usaron diferentes métodos para evaluar el vigor. Varios de ellos han sido estudiados con el propósito de verificar la posibilidad de su aplicación y estandarización para las diferentes especies, de forma aislada o combinada. Las pruebas de vigor aportan al productor y al consumidor de semillas más información acerca de la calidad fisiológica de estas, si se compara con lo que puede aportar la prueba de germinación.

Uno de los símbolos del progreso vertiginoso de las investigaciones científicas en el sector semillero es el análisis de imágenes digitales de semillas y plántulas. Esta tecnología ha demostrado alto potencial de utilización para

the automatization of the analyses favors the fast obtaining of results, reduces human errors that occur during the interpretation of analysis based on visual estimates.

diversas finalidades de la industria semillera, debido a que la automatización favorece la obtención de resultados y reduce los errores humanos en que se incurre durante la interpretación de análisis basados en estimaciones visuales.

REFERENCES

- AOSA 1983. Seed Vigor Testing Handbook. Contribution 32. Association of Official Seed Analysts. 93 pp.
- Baalbaki, R., Elias, S., Marcos Filho, J. & McDonald, M. 2009. Seed vigor testing handbook. Contribution 32. Association of Official Seed Analysts. Ithaca, New York 346 pp.
- Barros, A.S. do R., Dias, M.C.L. de L. & Cícero, S. M. 1999. Testes de frio. In: Vigor de sementes: conceitos e testes. (F.C. Krzyzanowski, R.D. Vieira & J.B. França Neto, Eds.) ABRATES. Londrina, Brasil
- Bewley, J. D. 1986. Membrane changes in seeds as related to germination and the perturbations resulting from deterioration in seed storage. In: Physiology of the seed deterioration. M.B. McDonald Jr. & C.J. Nelson Eds.).CCSA: Madison, USA. p. 22
- Bewley, J. D. & Black, M. 1994. Seeds: Physiology of development and germination. 2nd Ed. Plenum Press. New York, USA. 367 pp.
- Bonner, F.T. 1998. Testing tree seeds for vigor: A Review. Seed Technology 20:5
- BRASIL. 2009. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regras para análise de sementes. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA/ACS. 395 pp
- Brown, R.F. & Mayer, D.G. 1988. Representing cumulative germination. 2. The Use of the Weibull function and other empirically derived curves. Ann. Bot. 61:127
- Carvalho, L.F., Sediya, C.S., Dias, D.C.F.S., Reis, M.S. & Moreira, M.A. 2009. Teste rápido de condutividade elétrica e correlação com outros testes de vigor. Revista Brasileira de Sementes. 31:239
- Carvalho, N.M. & Nakagawa, J. 2012. Sementes: ciência, tecnologia e produção. Jaboticabal: FUNEP. 5ta Ed. 590 pp.
- Casco, H., Dias, A.S., Dias, L.S. 2008. Modeling size-number distributions of seeds for use in soil bank studies. J. Integr Plant Biol. 50:531
- Cerabolini, B., de Andreis, R., Ceriani, R.M., Pierce, S. & Raimondi, B. 2004. Seed germination and conservation of endangered species from the Italian Alps. *Physoplexis comosa* and *Primula glaucescens*. Biological Conservation. 117:351
- Chauhan, K.P.S., Gopinathan, M.C. & Babu, C.R. 1985. Electrophoretic variations of proteins and enzymes in relation to seed quality. Seed Science and Technology 13:629
- Cícero, S.M. 2010. Aplicação de imagens radiográficas no controle de qualidade de sementes. Informativo ABRATES 20:48
- Cícero, S.M. & Banzatto Junior, H.L. 2003. Avaliação do relacionamento entre danos mecânicos e vigor, em sementes de milho, por meio da análise de imagens. Revista Brasileira de Sementes 25:29
- Cícero, S.M., van der Heijden, G.W.A.M., van der Burg, W.J. & Bino, R.J. 1998. Evaluation of mechanical damage in seeds of maize (*Zea mays* L.) by X-ray and digital imaging. Seed Science and Technology. 26:603
- Corbineau, F. 2012. Markers of seed quality: from present to future. Seed Science Research. 22:61
- Corte, V.B., Borges, E.E.L., Leite, H.G., Pereira, B.L.C. & Gonçalves, J.L.C. 2010. Estudo enzimático da deterioração de sementes de *Melanoxylon brauna* submetidas ao envelhecimento natural e acelerado. Revista Brasileira de Sementes. 32:83
- Czabator, F.J. 1962. Germination value: An index combining speed and completeness of pine seed germination. Forest Science. 8:386
- Delouche, J.C. 1976. Standardization of vigor tests. J. Seed Technology. 1:75
- Ferguson, J. 1995. An introduction to seed vigour testing. In: Seed vigour testing seminar (H. A. van de Venter, Ed.). International Seed Testing Association. Zurich. p. 14
- França Neto, J.B. & Krzyzanowski, F.C. 2009. Seed vigor tests; general procedures - Tetrazolium vigor test. In: Seed vigor testing handbook. (R.Z. Baalbaki *et al.* Eds.). AOSA. Ithaca, USA. p.227
- Gardarin, A., Dürr, C. & Colbach, N. 2011. Prediction of germination rates of weed species: Relationships between germination speed parameters and species traits. Ecological Modelling. 222: 626
- Geneve, R. & Kester, S.T. 2001. Evaluation of seedling size following germination using computer-aided analysis of digital images from a flatbed scanner. Hort Science 36:117
- Gomes-Junior, F. G. 2010. Aplicação da análise de imagens para avaliação da morfologia interna de sementes. Informativo ABRATES 20:33
- Hampton, J.G. & Tekrony, D.M. 1995. Handbook of vigour test methods. 3rd Edition. International Seed Testing Assoc. Zürich, Switzerland. 117 p.
- Harrington, J.F. 1972. Seed storage and longevity. In: Seed Biology Vol. 3. (T.T. Kozłowski, Ed.). Academic Press. London, U.K. p. 145
- Hernández, L.F. & Paoloni, P.J. 1998. Germinación y emergencia de cuatro híbridos de Girasol (*Helianthus annuus* L.) con diferente contenido lipídico y en relación con la temperatura. Invest. Agr. Prod. Prot. Veg. 13:345
- Heydecker, W. 1972. Vigor. In: Viability of seeds. (E. Roberts, Ed.). Syracuse University Press. New York, USA. p. 204
- Hoffmaster, A. L., Fujimura, K., McDonald, M. B. & Bennet, M. A. 2003. An automated system for vigor testing three-day-old soybean seedlings. Seed Science and Technology 31:701
- Huang, C.H. & Yang, C.M. 1995. Use of Weibull function to quantify temperature effect on soybean germination. Chinese

- Agronomy Journal. 5:25
- ISTA. 2004. International Rules for Seed Testing. Seed Science and Technology. Supplement. 174 pp.
- Jianhua, Z. & McDonald, M.B. 1996. The saturated salt accelerated aging test for small-seeded crops. Seed Science and Technology 25:123
- Keys, R.D. 1982. Computerized Automated Seed Analysis System (CASAS): an approach to the analysis and testing of seed. Journal of Seed Technology 7:23
- Keys, R.D., Margapuram, R.G. & Reusche, G.A. 1984. Automated seedling length measurement for germination, vigor estimation using CASAS (Computerized Automated Seed Analysis System). J. Seed Technology 9:41
- Kodde, J., Buckley, W.T., Groot, C.C., Retiere, M., Zamora, A. M. V. & Groot, S.P.C. 2012. A fast ethanol assay to detect seed deterioration. Seed Science Research. 22:55
- Krzyzanowski, F.C. & Vieira, R.D. 1999. Deterioração Controlada. In: Vigor de sementes: conceitos e testes. (F.C. Krzyzanowski, R.D. Vieira & J.B. França Neto, Eds.). ABRATES. Londrina, Brasil
- Krzyzanowski, F.C., Vieira, R.D. & França Neto, J.B. 1999. Vigor de sementes: conceitos e testes. ABRATES. Londrina, Brasil. 218 pp.
- Marcos Filho, J. 1999a. Teste de envelhecimento acelerado. In: Vigor de sementes: conceitos e testes. (F.C. Krzyzanowski, R.D. Vieira & J.B. França Neto, Eds.). ABRATES. Londrina, Brasil
- Marcos Filho, J. 1999b. Testes de vigor: importância e utilização. In: Vigor de sementes: conceitos e testes. (F.C. Krzyzanowski, R.D. Vieira & J.B. França Neto; Eds.). ABRATES. Londrina, Brasil.
- Marcos Filho, J. 2005. Fisiologia de sementes das plantas cultivadas. Piracicaba: FEALQ. Brasil. 495 p.
- Marcos-Filho, J. 2010. Sistema computadorizado de análise de imagens de plântulas (SVIS®) para avaliação do vigor de sementes. Informativo ABRATES. 20:40
- Marcos Filho, J. 2011. Testes de vigor: dimensão e perspectivas. Seed News. jan/fev 2011 - Ano XV - N. 1
- Marcos Filho, J., Cicero, S.M. & Silva, W.R. 1987. Avaliação da qualidade das sementes. FEALQ. Piracicaba, Brasil. 230 pp.
- Marcos Filho, J., Kikuti, A. L.P. & Lima, L.B. 2009. Métodos para avaliação do vigor de sementes de soja, incluindo a análise computadorizada de imagens. Revista Brasileira de Sementes. 31:102
- Matthews, S. 1980. Controlled deterioration: a new vigour test for crop seeds. In: Seed production (P. D. Herbbblethwaite, Ed.). Butterworths. London. p. 647
- Matthews, S., Noli, E., Demir, I., Khajehhosseini, M. & Wagner, M.H. 2012. Evaluation of seed quality: from physiology to international standardization. Seed Science Res. 22:69
- McDonald, M.B. 1999. Seed deterioration: physiology, repair and assessment. Seed Science and Technology 27:177
- Milošević M., Vujaković, M. & Karagić, D. 2010. Vigour tests as indicators of seed viability. Genetika 42:103
- Navarro, M. 2009. Comportamiento interactivo de la germinación, la dormancia, la emergencia y el crecimiento inicial como atributos biológicos para evaluar el vigor de las semillas de *Albizia lebbbeck* (L.) Benth. PhD Thesis. Universidad Agraria de La Habana. Cuba. 101 pp.
- Navarro, M., Febles, G. & Torres, V. 2012. Bases conceptuales para la estimación del vigor de las semillas a través de indicadores del crecimiento y el desarrollo inicial. Pastos y Forrajes. 35:233
- Navarro, M., Mesa, A.R., Torres, V. & Jay, O. 2013. Empleo de la función Weibull para evaluar la emergencia de las plántulas de *Albizia lebbbeck* (L.) Benth. Pastos y Forrajes 36:215
- Perry, D.A. 1984. Manual de métodos de ensayos de vigor. Instituto Nacional de Semillas y Plantas de Vivero. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Madrid, España. p. 56.
- Popinigis, F. 1977. Fisiologia da semente. Brasília, DF: AGIPLAN. 289 pp.
- Poulsen, K., Parrat, M. & Gosling, P. 1998. Tropical and subtropical tree and shrub seed handbook. 1st edition. International Seed Testing Association. Zürich, Switzerland. 204 pp.
- Powell, A.A. & Matthews, S. 1984. Application of the controlled deterioration vigour test to detect seed lots of Brussels sprouts with low potential for storage under commercial conditions. Seed Science and Technology. 12:649
- Priestley, D.A. 1986. Seed aging. Comstock Publishing Associates. Ithaca NY-London 129 pp.
- Sako, Y., McDonald, M.B., Fujimura, K., Evans, A.F. & Bennett, M.A. 2001. A system for automated sees vigour assessment. Seed Science and Technology 29:625
- Schmidt, L. 2000. Handling of tropical and subtropical forest tree seed. DFSC. Hummleback, Denmark. 511 pp.
- Scott, S.T., Jones, R.A. & Williams, W.A. 1984. Review of data analysis methods for seed germination. Crop Science 24:1192
- Silva, V.N., Cicero, S.M. & Gomes-Junior, F.G. 2013. Análise de imagens na avaliação da qualidade fisiológica de sementes. In: Sementes: produção, qualidade e inovações tecnológicas (L.O.B. Schuch, J.F. Vieira, C.A. Rufino, J.S. Abreu Junior, Eds.). Editora e Gráfica Universitária. Pelotas, Brasil. p. 249
- Smith, M.T. & Berjak, P. 1995. Deteriorative changes associated with the loss viability of stored desiccation tolerant and desiccation-sensitive seeds. In: Seed development and germination (J. Kigel & G. Galili, Eds.). Marcel Dekker, Inc. New York. p. 701
- Tekrony, D.M. 1995. Accelerated aging. In: Seed vigour testing seminar. (H.A. van de Venter, Ed.). ISTA. Copenhagen. P. 53
- Tekrony, D.M. 2003. Review: Precision is an essential component of seed vigour testing. Seed Science and Technology 31:435
- Tekrony, D.M. 2006. Seeds: The Delivery System for Crop Science. Crop Science. 46:2263
- Tekrony, D.M. & Egli, D.B. 1997. Accumulation of seed vigour during development and maturation. In: Basic and Applied Aspects of Seed Biology (R.H. Ellis, M. Black, A.J. Murdoch & T.D. Hong, Eds.). Klumer Academic Publishers. Dordrecht, Netherlands. p.369

- Torres, V., Ramos, N., Lizazo, D., Monteagudo, F. & Noda, A. 2008. Statistical model for measuring the impact of innovation or technology transfer in agriculture. Cuban J. Agric. Sci. 42:133
- Van de Venter, H.A. 2000. What is seed vigour?. ISTA News Bulletin. 121:12-17
- Vieira, M.G.G.C. 1996. Utilização de marcadores moleculares no monitoramento da qualidade sanitária e nível de deterioração de sementes de algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.). Lavras. Tese (Doutorado) Universidade Federal de Lavras. 114 pp.
- Vieira, R.D. & Krzyzanowski, F.C. 1999. Teste de condutividade elétrica. In: Vigor de sementes: conceitos e testes. (F.C. Krzyzanowski, R.D. Vieira & J.B. França Neto, Eds.) ABRATES. Londrina, Brasil
- Wang, B.S.P., Downie, B., Wetzel, S., Palamarek, D. & Hamilton, R. 1992. Effects of cone scorching on germinability, and vigour of lodgepole pine (*Pinus contorta* var. latifolia) seeds in Alberta. Seed Science and Technology 20:409
- Weibull, W. 1951. A statistical distribution functions of wide applicability. J. Appl. Mech. 18:293

Received: October 15, 2015