

Nota Técnica

EVALUACION DEL VIGOR EN SEMILLA DE *Phaseolus vulgaris* Y SU RELACION CON LA EMERGENCIA EN EL CAMPO¹

Ramiro Alizaga *
Vera D.C. Mello **
Dora S.B. dos Santos **
Diana L. Irigon **

ABSTRACT

Relationship between field emergence and induced seed vigor in *Phaseolus vulgaris*. Bean seed of cultivars Rio Tibagi, Turrialba-4 and EMPASC-201 were artificially aged by storage in sealed plastic jars at 16% moisture content and 35°C. Seed samples were removed from storage at six-day intervals to obtain different vigor levels. The samples were submitted to standard germination test, first germination count, seedling vigour classification, cold germination test, accelerated aging test, seedling length, aminoacids leakage and field emergence. Standard germination, first count germination and cold germination tests tended to overestimate the field emergence, while the accelerated aging tests tended to underestimate it. The latter and the aminoacid leakage test were not only the most sensitive to differentiate the quality level among seed samples, but also the best correlated to field emergence.

INTRODUCCION

La calidad fisiológica de la semilla constituye uno de los factores que afectan, en mayor proporción, el rendimiento potencial de un cultivar y, por lo tanto, el éxito en la actividad agrícola.

En el cultivo del frijol el agricultor costarricense emplea con frecuencia parte del grano obtenido en la cosecha anterior como semilla para el próximo ciclo de cultivo. Desafortunadamente, en la mayoría de los casos, el manejo que recibe esta "semilla" es inapropiado, debido a

que no se emplean técnicas de producción ni de conservación que permitan mantener su calidad fisiológica (Sterling, 1981).

La calidad fisiológica de las semillas está determinada por su historial. Durante ese período, la calidad puede ser afectada por diversos factores, entre los cuales cabe mencionar las condiciones climáticas y nutricionales durante el desarrollo y formación de las mismas, los métodos de cosecha, el secado, el beneficiamiento, el contenido de humedad y las condiciones de almacenamiento (Harrington, 1973). Por lo tanto, la calidad de las semillas es un fenómeno dinámico y complejo que resulta de la interacción entre factores genéticos y ambientales a través del tiempo, los cuales determinan su viabilidad y vigor (AOSA, 1983; Ching, 1973).

Las semillas poseen el más alto grado de calidad al alcanzar la madurez fisiológica, sin embargo esta no se mantiene y declina gradualmente como consecuencia del proceso natural de envejecimiento,

1/ Recibido para publicación el 24 de agosto de 1994.

* Centro para Investigaciones en Granos y Semillas, Facultad de Agronomía, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica. El autor es beneficiario del Programa de Apoyo Financiero a Investigadores del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICIT) de Costa Rica.

** Universidade Federal de Pelotas, Faculdade de Agronomia, Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil.

el cual acarrea una serie de transformaciones degenerativas de origen bioquímico, fisiológico y físico que están asociadas con la reducción del vigor (AOSA, 1983; Abdul-Baki, 1980).

La prueba de germinación se realiza bajo condiciones óptimas de temperatura, humedad y sustrato para permitir que las semillas expresen su máximo potencial de producir plántulas normales; sin embargo, debido a que el vigor declina con mayor rapidez que la germinación, esta prueba no evalúa la naturaleza progresiva del deterioro y según Perry (1981), desde un punto de vista práctico, la reducción del poder germinativo es una consecuencia avanzada del proceso de deterioro. Por lo anterior, se han desarrollado varios métodos para evaluar el vigor con el fin de determinar con mayor precisión el grado de vigor de lotes de semillas que presentan porcentajes de germinación similares.

El objetivo de este experimento fue evaluar la eficacia de varias pruebas de vigor para evaluar la calidad fisiológica de semillas de frijol, así como determinar su relación con la emergencia en campo.

MATERIALES Y METODOS

Tratamientos

Este trabajo se realizó en el laboratorio Didáctico de Análisis de Semillas y en el Laboratorio de Fisiología de Semillas de la Universidad Federal de Pelotas-UFPel (Brasil). Se usaron semillas de frijol (*Phaseolus vulgaris*) recién cosechadas, de los cultivares Río Tibagi, Turrialba-4 y EMPASC-201 con porcentajes de germinación inicial superiores a 90%, suministradas por la Empresa de Pesquisa Agropecuaria de Santa Catarina (EMPASC). Para obtener una humedad inicial uniforme, 5 muestras de 2 kg se semilla de cada cultivar se colocaron en una cámara húmeda hasta que alcanzaron 16% de humedad. Seguidamente, para obtener 5 niveles de vigor diferentes representados por los números 1, 2, 3, 4 y 5 (ordenados de mayor a menor vigor), las semillas de cada cultivar se almacenaron en recipientes de plástico cerrados durante 0, 6, 12, 18 y 24 días, respectivamente, a 35°C. Posteriormente, el contenido de humedad de las semillas se redujo hasta 12% mediante una corriente de aire a temperatura ambiente y se almacenaron a 7°C durante la realización de las pruebas.

Pruebas de laboratorio

Germinación y primer recuento. Se usaron 4 repeticiones de 50 semillas por tratamiento,

en un germinador a temperatura constante de 25°C. Como sustrato se usó papel para germinación en la modalidad de papel enrollado. Las evaluaciones se hicieron a los 5 y 9 días de iniciada la prueba, según los criterios establecidos en las Reglas Internacionales de Análisis de Semillas (ISTA, 1976). La prueba de primer recuento se hizo conjuntamente con la prueba anterior, y en este caso, se evaluó el porcentaje de plántulas normales al quinto día del inicio de la prueba.

Clasificación de plántulas según el vigor.

Se emplearon 8 repeticiones de 25 semillas por tratamiento sembradas en papel enrollado. La prueba se realizó a 25°C y para la clasificación de las plántulas se siguió la metodología descrita por la AOSA (1983). Los resultados se expresaron en porcentaje de plántulas normales fuertes.

Germinación a baja temperatura. Se colocaron 4 repeticiones de 50 semillas por tratamiento en la modalidad de papel enrollado, a 15°C. Se evaluó el porcentaje de plántulas normales al noveno día de la prueba.

Envejecimiento acelerado. Se realizó con semillas sin tratar y tratadas con thiram al 70% a una dosis de 2 g/kg de semillas. En ambos casos se colocaron 4 repeticiones de 50 semillas en bolsas de tela y se mantuvieron en una cámara a 42°C y 100% de humedad relativa. Concluido este período, se realizó una prueba de germinación común, conforme lo antes descrito.

Longitud de hipocótilo, raíz y plántula.

Se puso a germinar 4 repeticiones de 16 semillas por tratamiento a 25°C y en oscuridad. Las semillas se colocaron en papel para germinación a 6 cm de la parte superior de los rollos y con el hilum hacia arriba. Las evaluaciones se realizaron en las plántulas normales, a los 5 días de iniciada la prueba.

Lixiviación de aminoácidos. En cada repetición se sumergieron 50 semillas en 50 ml de agua destilada a 25°C y durante 30 min. Seguidamente, se determinó la cantidad de aminoácidos lixiviados en la solución. Para esto se usó el método descrito por Ching (1986) modificado. Los resultados se expresan en µg/ml/g de semilla.

Prueba de campo

Emergencia en campo. Se sembraron 4 repeticiones de 100 semillas por tratamiento. La siembra se hizo en hileras separadas por 50 cm entre sí y se colocaron 15 semillas/m lineal. El porcentaje de plántulas emergidas se determinó a los 21 días después de la siembra.

Análisis estadístico

En las pruebas de laboratorio se usó un diseño irrestricto al azar con un arreglo factorial A x B con 4 repeticiones, donde A correspondió a los cultivares y B a los niveles de vigor. En la prueba de emergencia en campo se utilizó un diseño de bloques completos al azar, con el arreglo factorial antes mencionado.

En cada prueba, las medias obtenidas en los diferentes niveles de vigor, se compararon mediante la prueba de rango múltiple de Duncan ($\alpha=0,05$). Además, para cada cultivar se hizo un análisis de correlación simple. Sin embargo, sólo se presenta la correlación de cada prueba con respecto a la emergencia en campo.

RESULTADOS Y DISCUSION

Pruebas a temperatura y humedad óptimas

Los resultados obtenidos en la prueba de germinación (Cuadro 1) indican que la reducción en el vigor de las semillas afectó significativamente ($\alpha=0,05$) la germinación de los cultivares Río Tibagi y EMPASC-201 a partir del nivel de vigor 3. En el cultivar Turrialba-4 prácticamente no hubo efecto. En general la prueba no mostró sensibilidad suficiente como para detectar las diferencias en la calidad fisiológica de las semillas según el nivel de vigor. Esto probablemente se debe a que la

prueba se hizo bajo condiciones ideales de temperatura y humedad, lo que permitió a las semillas de bajo vigor expresar su máximo potencial de germinación, y por lo tanto, comportarse de manera similar a otras de mayor vigor. Resultados similares fueron obtenidos por Roos y Manalo (1971) en frijol y por Teckrony y Egli (1977) en soya.

Con base en los resultados obtenidos en las pruebas de primer recuento, clasificación de plántulas y germinación a baja temperatura (Cuadro 2), se verifica en general, una reducción significativa ($\alpha=0,05$) en el porcentaje de plántulas normales en función de la merma en el vigor de las semillas. Sin embargo, en el cultivar Turrialba-4, la prueba de primer recuento fue absolutamente insensible para diferenciar los niveles de vigor. Al respecto, Marcos Filho *et al.* (1984) trabajando con semilla de soya, observaron que el primer recuento no permitió clasificar los lotes estudiados según su calidad. La prueba de clasificación de plántulas presentó un comportamiento similar al antes mencionado, excepto para Río Tibagi, en el cual se logró una mejor diferenciación en función de la calidad de las semillas. Cabe mencionar que en estas 2 pruebas no se consiguió separar adecuadamente los niveles de vigor, debido posiblemente a que, al igual que la prueba de germinación, se realizó bajo condiciones óptimas de temperatura y humedad.

Prueba a baja temperatura

La prueba de germinación a baja temperatura, resultó más eficiente que las anteriores en lo que respecta a la clasificación de los niveles de vigor en los cultivares estudiados. Resultados que discrepan de los obtenidos por Boaro *et al.* (1984) en frijol, ya que según el autor la germinación a baja temperatura no mostró ventajas sobre las

Cuadro 1. Porcentaje de plántulas normales obtenidas en la prueba de germinación en semillas de tres cultivares de frijol con diferentes niveles de vigor.

Cultivar	Nivel de vigor					Promedio
	1	2	3	4	5	
Río Tibagi	93a	93a	89a	84b	78c	87
Turrialba-4	93a	88b	91ab	90ab	91ab	91
EMPASC-201	96a	95a	89b	88b	87b	91
Promedio	94	92	90	87	85	

Valores seguidos por la misma letra en las líneas no difieren estadísticamente según la prueba de Duncan ($\alpha = 0,05$).

Cuadro 2. Porcentaje de germinación obtenido en las pruebas de primer recuento, clasificación de plántulas y germinación a baja temperatura en semillas de tres cultivares de frijol con diferentes niveles de vigor.

Variable	Cultivar	Nivel de vigor					Promedio
		1	2	3	4	5	
Primer recuento	R. Tibagi	92a	91a	88a	82b	76b	86
	Turrialba-4	90a	86a	86a	85a	88a	87
	EMPASC-201	94a	93a	87b	88b	86b	90
	Promedio	92	90	87	85	83	
Clasificación de plántulas	R. Tibagi	82a	80a	77a	69b	62c	74
	Turrialba-4	80a	74b	74b	69b	71b	74
	EMPASC-201	83a	81ab	77b	78ab	78ab	79
	Promedio	82	78	76	72	70	
Germinación a baja temperatura	R. Tibagi	91	91	88	87	82	88A
	Turrialba-4	92	87	84	79	81	85 B
	EMPASC-201	94	93	91	85	77	88A
	Promedio	92A	90AB	88B	84C	80C	

Valores seguidos por la misma letra mayúscula o minúscula en las líneas y por mayúsculas en las columnas, no difieren estadísticamente según la prueba de Duncan ($\alpha = 0,05$).

pruebas de germinación y de primer recuento. El cultivar EMPASC-201 fue el que sufrió mayor estrés provocado por la baja temperatura, pues mostró un crecimiento de las plántulas muy lento con respecto a los otros cultivares. En forma similar, Kooistra (1971) observó un respuesta diferencial entre cultivares de frijol sometidos a estrés por baja temperatura.

Prueba de envejecimiento

Los resultados obtenidos en las pruebas de envejecimiento acelerado con semillas tratadas y sin tratar (Cuadro 3), indican claramente que mediante el almacenamiento en condiciones adversas empleado en este ensayo, fue posible obtener muestras de semillas con diferentes niveles de vigor en los 3 cultivares. Además, la expresión del poder germinativo fue baja, principalmente en las semillas de menor calidad (almacenamiento por 12, 18 y 24 días). Cuando la prueba se hizo con semillas tratadas, el porcentaje de germinación resultó generalmente mayor, debido a que el tratamiento limitó el desarrollo y proliferación de hongos, hecho que permitió una evaluación más confiable de la germinación. En las semillas menos vigorosas (vigor 5) el uso de fungicida no mostró efecto por el avanzado grado de deterioro alcanzado por las mismas. En concordancia con lo anterior, Marcos Filho y Shioya (1981) observaron

que las semillas de soya tratadas con fungicida presentaron mayor porcentaje de germinación en la prueba de envejecimiento acelerado.

En relación con la respuesta de los cultivares al almacenamiento en condiciones adversas, resulta interesante que el cultivar EMPASC-201 fue el que sufrió la mayor reducción en el porcentaje de plántulas normales, a pesar de que presentó la mejor calidad inicial (Cuadro 3).

Longitud del hipocótilo

En el cultivar Río Tibagi, los niveles de vigor tuvieron poco efecto sobre la longitud del hipocótilo, la raíz y la plántula (Cuadro 4), mientras que en los otros 2 cultivares se observó una reducción significativa ($\alpha=0,05$) en las 3 variables a partir de los niveles 3 y 4. Según Copeland (1976) el crecimiento de la plántula es muy variable y fuertemente influenciado por factores genéticos y ambientales. En relación con su eficiencia para diferenciar niveles de calidad fisiológica, sólo sirvieron para distinguir entre semillas con muy alto y muy bajo vigor, lo que coincide con lo informado por Edje y Burris (1970) en semilla de soya. La prueba de longitud del hipocótilo tiene una desventaja adicional, debido a que la curvatura que presentan las plántulas en la zona de inserción de los cotiledones dificulta su evaluación.

Cuadro 3. Porcentaje de germinación obtenido en la prueba de envejecimiento acelerado sin y con fungicida en semillas de tres cultivares de frijol con diferentes niveles de vigor.

Variable	Cultivar	Nivel de vigor					Promedio
		1	2	3	4	5	
Envejecimiento acelerado sin fungicida	R. Tibagi	75a	69b	53c	41d	32e	54
	Turrialba-4	83a	70b	59c	52d	53d	63
	EMPASC-201	87a	76b	61c	42d	28e	59
	Promedio	82	72	58	45	38	
Envejecimiento acelerado con fungicida	R. Tibagi	83a	70b	57c	44d	30e	57
	Turrialba-4	86a	78b	67c	55d	51d	67
	EMPASC-201	93a	85b	74c	48d	28e	66
	Promedio	87	78	66	49	36	

Valores seguidos por la misma letra en las líneas no difieren estadísticamente según la prueba de Duncan ($\alpha = 0,05$).

Cuadro 4. Longitud del hipocótilo, de la raíz y de la plántula en semillas de tres cultivares de frijol con diferentes niveles de vigor.

Variable	Cultivar	Nivel de vigor					Promedio
		1	2	3	4	5	
Longitud del hipocótilo (cm)	R. Tibagi	9,8a	9,5a	9,8a	10,2a	8,9a	9,6
	Turrialba-4	12,8a	11,5ab	11,3bc	10,0cd	9,5d	11,0
	EMPASC-201	11,6a	11,6a	11,0b	9,2b	8,3b	9,8
	Promedio	11,4	10,7	10,1	9,5	9,0	
Longitud de la raíz (cm)	R. Tibagi	13,6	12,9	13,0	13,4	13,0	13,6AB
	Turrialba-4	13,8	14,0	12,6	11,7	11,7	12,8 B
	EMPASC-201	15,6	14,5	12,4	12,7	13,2	13,7A
	Promedio	14,3A	13,8A	12,7B	12,6B	12,6B	
Longitud de la plántula (cm)	R. Tibagi	23,4a	22,4a	22,7a	23,6a	21,8a	22,8
	Turrialba-4	26,6a	25,5a	23,9ab	21,8b	21,1b	23,8
	EMPASC-201	27,1a	25,6a	21,6b	21,0b	21,9b	23,4
	Promedio	25,7	24,5	22,7	22,1	21,6	

Valores seguidos por la misma letra mayúscula o minúscula en las líneas y por mayúsculas en las columnas no difieren estadísticamente según la prueba de Duncan ($\alpha = 0,05$).

Lixiviación de solutos

La lixiviación de solutos a través de las membranas celulares se ha usado en la evaluación del vigor de semilla de arveja (Mullett y Wilkinson, 1979), de frijol (Brower y Mulder, 1982) y de soya (Miranda, 1981). Como puede observarse en el

Cuadro 5, hubo un aumento en la pérdida de aminoácidos conforme se redujo el vigor de las mismas. Al respecto Chauhan *et al.* (1984) y Alizaga (1990) opinan que la lixiviación de compuestos citoplasmáticos puede asociarse con alteraciones en la estructura de las membranas celulares, en

Cuadro 5. Lixiviación de aminoácidos ($\mu\text{g/ml/g}$ de semilla) obtenida con 30 min de imbibición en semillas de tres cultivares de frijol con diferentes niveles de vigor.

Cultivar	Nivel de vigor					Promedio
	1	2	3	4	5	
Río Tibagi	10,92	12,75	12,42	14,52	15,35	13,19 B
Turrialba-4	8,64	9,20	13,21	12,92	12,85	11,37 C
EMPASC-201	12,28	12,68	13,68	15,68	18,56	14,56A
Promedio	10,61C	11,54C	13,10B	14,37AB	15,59A	

Valores seguidos por la misma letra mayúscula en las líneas o en las columnas no difieren estadísticamente según la prueba de Duncan ($\alpha = 0,05$).

Cuadro 6. Porcentaje de emergencia en campo obtenida en semillas de tres cultivares de frijol con diferentes niveles de vigor.

Cultivar	Nivel de vigor					Promedio
	1	2	3	4	5	
Río Tibagi	88a	85a	82a	77b	76c	82
Turrialba-4	89a	86ab	82b	84ab	74c	83
EMPASC-201	87a	85a	83a	71b	62c	78
Promedio	88	85	82	77	71	

Valores seguidos por la misma letra en las líneas no difieren estadísticamente según la prueba de Duncan ($\alpha = 0,05$).

función de que el deterioro de las semillas provoca daños en los mecanismos de restauración de las mismas. La prueba de lixiviación permitió en los 3 cultivares, clasificar las muestras según su calidad fisiológica en 3 categorías de vigor. Resultados similares fueron obtenidos por Alizaga (1990) pero sumergiendo la semilla de frijol durante 4 h.

Prueba de campo

Los resultados de la prueba de emergencia a campo (Cuadro 6) muestran que como consecuencia de la reducción del vigor de las semillas, hubo disminución en el porcentaje de emergencia de las plántulas en los 3 cultivares. Un comportamiento similar fue observado por Alizaga *et al.* (1992) en semilla de maíz. Los cultivares se desempeñaron de manera similar en los niveles de vigor 1, 2 y 3, mientras que en los siguientes niveles los cultivares Río Tibagi y EMPASC-201 mostraron una emergencia significativamente menor ($\alpha=0,05$). Este comportamiento se debe, probablemente, a un efecto deletéreo mayor de las condiciones desfavorables de almacenamiento usadas, sobre la

calidad de las semillas. Además, los resultados obtenidos en la prueba de envejecimiento acelerado sustentan esta observación.

En general, en las pruebas de germinación, primer recuento y germinación a baja temperatura, el desempeño de las semillas en cada nivel de vigor, fue superior al respectivo nivel en condiciones de campo. Esto pudo deberse a que en el campo las semillas y plántulas sufrieron una condición de estrés causada por exceso de agua en el suelo, debido a que se presentó un período de alta precipitación durante las 2 semanas siguientes a la siembra; mientras que en el laboratorio las condiciones fueron menos drásticas. Por el contrario, las pruebas de clasificación de plántulas y especialmente las de envejecimiento acelerado con y sin tratamiento, fueron muy severas al evaluar la calidad fisiológica de las semillas, pues los resultados de plántulas normales fueron menores que los obtenidos en la prueba de emergencia, en especial si se considera que las condiciones de campo no fueron favorables. Al respecto, Marcos Filho *et al.* (1984) concluyeron que la prueba de envejecimiento

Cuadro 7. Coeficientes de correlación simple (r) entre los resultados obtenidos en la prueba de emergencia en campo y los resultados de las pruebas de laboratorio, en tres cultivares de frijol.

	Cultivares		
	Río Tibagi	Turrialba-4	EMPASC-201
Germinación	0,71**	0,02	0,49*
Primer recuento	0,60**	0,33	0,61**
Clasificación de plántulas	0,71**	0,37	0,37
Germinación a baja temperatura	0,74**	0,32	0,63**
Envejecimiento acelerado sin fungicida	0,80**	0,74**	0,86**
Envejecimiento acelerado con fungicida	0,78**	0,61**	0,87**
Longitud del hipocótilo	0,02	0,59**	0,64**
Longitud de la raíz	0,29	0,48*	0,47*
Longitud de la plántula	0,20	0,56*	0,58**
Lixiviación de aminoácidos	-0,70**	-0,49	-0,79**

subestimó la calidad de algunos lotes de semilla de soya, debido a los efectos drásticos del mismo.

En el cultivar Río Tibagi, con excepción de la longitud del hipocótilo, de la raíz y de la plántula, las demás pruebas mostraron una correlación altamente significativa con la emergencia en el campo. En Turrialba-4 las pruebas que presentaron una correlación altamente significativa con la emergencia fueron el envejecimiento acelerado con y sin tratamiento y la longitud del hipocótilo. En EMPASC-201, solamente la germinación, la clasificación de plántulas y la longitud de la raíz no mostraron correlación altamente significativa con la emergencia (Cuadro 7).

Cabe señalar que la prueba de envejecimiento acelerado mostró una gran sensibilidad ($\alpha=0,05$) para diferenciar los niveles de calidad o vigor de las semillas en los 3 cultivares y que al mismo tiempo, fue la que mejor se correlacionó con la emergencia a campo. Esto coincide con los trabajos de Krzyzanowski *et al.* (1982) y de Sartori (1976), en los cuales esta prueba permitió evaluar adecuadamente el grado de deterioro de lotes de semilla de frijol durante el período de almacenamiento al que fueron sometidos. Además, los autores constataron diferencias en la respuesta de los cultivares al almacenamiento y atribuyeron este comportamiento a las características genéticas de cada cultivar. Este último aspecto coincide con lo observado en el este experimento (Cuadro 3). También, Kulik y Yaklich (1982) destacan la utilidad del envejecimiento acelerado para detectar

diferencias en la calidad de las semillas de soya, tanto en lotes de alto como de bajo vigor. En términos generales, los resultados obtenidos en este experimento corroboran la manifestado por Alizaga *et al.* (1992), quienes opinan que al ser las condiciones de campo extremadamente variables, la verdadera utilidad de las pruebas de vigor es suministrar información útil y confiable que complemente la prueba de germinación, con respecto a la calidad fisiológica de diferentes lotes de semillas.

RESUMEN

Semillas de frijol común (*Phaseolus vulgaris*) de los cultivares Río Tibagi, Turrialba-4 y EMPASC-201 se deterioraron gradualmente almacenándolas en recipientes de plástico cerrados a 35°C durante 0, 6, 12, 18 y 24 días. Seguidamente, se sometieron a las pruebas de germinación, primer recuento, clasificación de plántulas, germinación a baja temperatura, envejecimiento acelerado, longitud del hipocótilo, de la raíz y de la plántula, lixiviación de aminoácidos y emergencia a campo. Las pruebas de germinación, primer recuento y germinación a baja temperatura sobrestimaron el desempeño de las semillas en el campo, mientras que las pruebas de envejecimiento acelerado y de clasificación de plántulas lo subestimaron. Sin embargo, la prueba de envejecimiento acelerado fue la que mejor diferenció los niveles de vigor de las semillas y la que mejor se correlacionó con la emergencia en campo.

LITERATURA CITADA

- ABDUL-BAKI, A. 1980. Biochemical aspects of seed vigor. *Hort Science* 15(6):765-771.
- ALIZAGA, R. 1990. Alteraciones fisiológicas y bioquímicas en semillas de 3 cultivares de *Phaseolus vulgaris* L. de alto y bajo vigor inducido. *Agromía Costarricense* 14(2):161-168.
- ALIZAGA, R.; STERLING, F.; HERRERA, J. 1992. Evaluación del vigor en semillas de maíz y su relación con el comportamiento en el campo. *Agromía Costarricense* 16(2):203-210.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS (AO-SA). 1983. Seed vigour testing handbook. Contribution No 32 to the handbook on seed testing. 88 p.
- BOARO, C.S.; CARVALHO, V.L.; BICUDO, L.R.; NAKAGAWA, J. 1984. Estudo de testes em laboratório para avaliar a qualidade fisiológica de sementes de feijão. *Revista Brasileira de Sementes* 6(2): 77-86.
- BROWER, H.M.; MULDER, J.C. 1982. Reduced steeping for the conductivity vigor test of *Phaseolus vulgaris* L. seed. *Journal of Seed Technology* 7(1):84-91.
- CHAUHAN, C.S.; PURKAR, J.K.; BANERJEE, S.K. 1984. Aging induced changes in seeds. *Seed Research* 12(1):56-88.
- CHING, T.M. 1973. Biochemical aspects of seed vigor. *Seed Science and Technology* 1(1):73-88.
- CHING, T.M. 1986. Fisiologia do desenvolvimento da semente. Pelotas, Departamento de Botânica, Universidade Federal de Pelotas, Brasil. (mimeografiado).
- COPELAND, L.O. 1976. Principles of Seed Science and Technology. Minneapolis (Minn). Burgess Publishing. 369 p.
- EDJE, O.T.; BURRIS, J.S. 1970. Physiological and biochemical changes in deteriorating soybean seeds. Proceedings of the Association of Official Seed Analysts 60:158-168.
- HARRINGTON, J.F. 1973. Biochemical basis of seed longevity. *Seed Science and Technology* 1(2):453-461.
- INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION (ISTA). 1976. International rules for seed testing. *Seed Science Technology* 4(1):1-77.
- KOOISTRA, E. 1971. Germinability of beans (*Phaseolus vulgaris* L.) at low temperatures. *Euphytica* 20(2):208-213.
- KRZYZANOWSKI, F.C.; COSTA, J.D.; SCOTTI, C.A.; SILVEIRA, J.F. da. 1982. O envelhecimento precoce na avaliação de lotes de sementes de feijoeiro. *Revista Brasileira de Sementes* 4(1):45-58.
- KULIK, M.M.; YAKLICH, R.W. 1982. Evaluation of vigor tests in soybean seeds: relationship of accelerated aging, cold, sand bench and speed of germination tests to field performance. *Crop Science* 22(4):766-770.
- MARCOS FILHO, J.; PESCARIN, H.M.C.; KOMATSU, Y.H.; DEMETRIO, C.G.B.; FRANCELLI, A. 1984. Testes para avaliação do vigor de sementes de soja e suas relações com a emergência das plântulas em campo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 19(1):605-613.
- MARCOS FILHO, J.; SHIOGA, P.S. 1981. Tratamento fungicida de sementes de soja no teste de envelhecimento rápido. *Revista Agrícola* 56(3):163-172.
- MIRANDA, M. 1981. Evaluation of an electrical conductivity method for rapid estimating germination and assessing deterioration of soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) seed. Thesis Ph.D. Mississippi State University, EEUU. 96 p.
- MULLETT, J.H.; WILKINSON, R.I. 1979. The relationship between amounts of electrolyte lost on leaching seeds of *Pisum sativum* and some parameters of plant growth. *Seed Science and Technology* 7(3):393-398.
- PERRY, D.A. 1981. Introduction; methodology and application of vigour tests; seedling growth and evaluation tests. In *Handbook of Vigour Tests Methods*. Ed. by D.A. Perry. Zurich, International Seed Testing Association. p. 3-20.
- ROOS, E.E.; MANALO, J.R. 1971. Testing vigor of beans following unfavorable storage conditions. *HortScience* 6(4):347-348.
- SARTORI, M.R. 1976. Deterioration of bean seed (*Phaseolus vulgaris* L.) and its consequences. In *Collection of thesis and dissertation abstracts on seeds*. Ed. by F. Popinigis and C.L. Rosal. Brasília, M.A./BID. p. 283-188.
- STERLING, F. 1981. Estudio sobre la calidad de semilla y otros factores limitantes de la producción de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en el cantón de Pérez Zeledón. Tesis Ing. Agr. Escuela de Fitotecnia Facultad de Agronomía, Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica. 46 p.
- TECKRONY, D.M.; EGLI, D.B. 1977. Relationship between laboratory indices of soybean seed vigor and field emergence. *Crop Science* 17(4):573-577.