

Metodologías para el ensayo de envejecimiento acelerado en semillas de triticale

César Iván Suárez Castellanos¹, Elisa Souza Lemes¹, Andréia da Silva Almeida¹, Geri Eduardo Meneghello¹, Lilian Madruga de Tunes¹

¹Programa de posgrado en Ciencia y Tecnología de Semillas – UFPel/FAEM. Campus Universitario, Capão do Leão, RS/Brasil. Correo electrónico: cesarivansuarez@gmail.com

Recibido: 21/12/2016 - Aceptado: 25/04/2017

Resumen

El triticale es una Poaceae ampliamente usada en la región sureste de Brasil en el periodo de invierno. Sin embargo, las semillas de esta especie pueden presentar bajo vigor por exposición a factores adversos, ya sea bióticos o abióticos, durante su formación. Esto hace que la evaluación del vigor sea imprescindible para estimar el potencial fisiológico de los lotes de semillas destinados al cultivo de esta forrajera. El objetivo del trabajo fue evaluar la metodología del ensayo de envejecimiento acelerado para determinar el potencial fisiológico de semillas de triticale. Se determinaron el porcentaje de humedad, el porcentaje y velocidad de emergencia de plántulas y el porcentaje de germinación antes y después del envejecimiento acelerado, que fue realizado usando agua, solución salina saturada y solución salina no saturada durante 48, 72 y 96 horas a 42 °C. La interpretación de los resultados permitió concluir que el ensayo de envejecimiento acelerado durante 48 horas con solución salina, saturada o no, es eficiente para evaluar el vigor de semillas de triticale.

Palabras clave: emergencia de plántulas, germinación, NaCl, vigor

Methodologies for the Accelerated Aging Test in Triticale Seeds

Summary

Triticale is a Poaceae widely used in the southeastern region of Brazil in the winter period. However, the seeds of this species may have low vigor as consequence of exposure to adverse factors, either biotic or abiotic, during their formation. This means that the evaluation of the vigor is essential to estimate the physiological potential of the seed lots destined to the cultivation of this forage. The objective of this work was to evaluate the methodology of the accelerated aging test to determine the physiological potential of triticale seeds. We determined the percentage of moisture, percentage and seedling emergence speed, and percent germination before and after accelerated aging, which was performed using water, saturated saline solution, and unsaturated saline solution for 48, 72 and 96 hours at 42 °C. The interpretation of the results allowed us to conclude that the accelerated aging test for 48 hours with saline solution, saturated or not, is efficient to evaluate the vigor of triticale seeds.

Keywords: seedling emergence, germination, NaCl, vigor

Introducción

El triticale (*X. Triticosecale* Wittmack) es una Poaceae ampliamente usada en la región sur este de Brasil en el periodo de invierno. Es obtenida del cruzamiento entre trigo (*Triticum aestivum* L.) y centeno (*Secale cereale*) y puede ser usada de varias formas, como forraje en la alimentación animal, en la producción de granos, en sistemas de rotación de cultivos para fertilización verde o como cobertura vegetal (Lopes et al., 2008), sin embargo, debido a la baja calidad de su panificación predomina en la alimentación animal (Steiner et al., 2011) en función de su alta concentración de proteína.

Las semillas de triticale presentan bajo vigor debido a la alta actividad de las enzimas α -amilasa y fosfatasas ácidas durante el periodo de llenado de los granos, esto resulta en la reducción de la masa y en el arrugamiento de las semillas, y en consecuencia, en el menor desarrollo inicial de las plántulas (Rocha, Nedel y Baier, 1998). De esta forma, es imprescindible la determinación del vigor de los lotes de semillas para usar esta información en conjunto con los resultados del análisis de germinación (Marcos Filho, 2005). Según Marcos Filho (2015), el vigor es uno de los parámetros que caracterizan el potencial fisiológico de las semillas y permite identificar lotes con mayor o menor probabilidad de presentar alto desempeño durante el almacenamiento o después de la siembra en campo bajo diversas condiciones ambientales. De acuerdo con França Neto, Krzyzanski y Henning (2010), semillas de alta calidad fisiológica poseen alto desempeño, en términos de germinación y emergencia, generando plántulas vigorosas que se establecen en diferentes condiciones edafoclimáticas. Por estas razones, el potencial fisiológico de las semillas ha sido intensamente estudiado después del punto de madurez fisiológica, cuando la semilla está sujeta a una serie de mudanzas degenerativas (Tunes et al., 2011b).

El ensayo de envejecimiento acelerado es uno de los métodos más sensibles, eficientes y utilizados para evaluar el vigor de semillas en varias especies cultivadas (Marcos Filho, 2015), permitiendo identificar el comportamiento de las semillas sometidas a estrés provocado por alta temperatura y humedad relativa durante un periodo determinado (Marcos Filho, 2005), haciendo que las semillas de mayor vigor conserven su capacidad de originar plántulas normales, mientras que semillas con menor vigor tienen una reducción acentuada de su viabilidad (Tunes et al., 2008). Esto permite observar diferencias del potencial fisiológico entre lotes de semillas (Panobianco y Marcos Filho, 2001),

ya que lotes con menor vigor presentan una disminución de viabilidad más acentuada que lotes con mayor vigor (Marcos Filho, 2005). Sin embargo, la absorción de agua de las semillas puede interferir en la interpretación de los resultados del ensayo (Marcos Filho, 2015), por tal razón, están siendo estudiadas alternativas para la realización de este ensayo, por ejemplo, la sustitución de agua por soluciones salinas, con el objetivo de controlar el proceso de deterioro de las semillas sin reducir la sensibilidad del análisis (Pedroso et al., 2010).

De esta forma y considerando que es poca la información en triticale, este trabajo tuvo como objetivo evaluar procedimientos para la ejecución del ensayo de envejecimiento acelerado, buscando determinar el potencial fisiológico de semillas de triticale.

Materiales y métodos

El trabajo fue realizado en el Laboratorio Didáctico de Análisis de Semillas del Departamento de Fitotecnia, Facultad de Agronomía «Eliseu Maciel» de la Universidad Federal de Pelotas, localizada en el municipio de Capão do Leão, RS, Brasil.

Se usaron cuatro lotes de semillas de triticale, a los cuales se determinó el porcentaje de humedad inicial por el método de estufa a 105 ± 3 °C durante 24 horas, de acuerdo con las «Reglas para Análisis de Semillas – RAS» (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2009). La calidad fisiológica inicial se determinó a través de los siguientes análisis:

Germinación (G): realizado en rollos de papel para germinación humedecidos en 2,5 veces su peso seco de agua destilada. Para cada lote se utilizaron 200 semillas por repetición, distribuidas en cuatro rollos con 50 semillas cada uno. Los rollos fueron transferidos a germinador a 20 °C y el conteo de plántulas normales se hizo ocho días después de la siembra, de acuerdo con las RAS (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2009), expresando los resultados en porcentaje.

Emergencia de plántulas (EP): se evaluaron cuatro repeticiones de 50 semillas para cada lote, distribuidas a dos centímetros de profundidad en bandejas de plástico con arena, que se mantuvieron a 20 °C. Las bandejas se regaron diariamente en el periodo de la mañana y la evaluación fue realizada 15 días después de la siembra, cuando la emergencia se tornó constante. También se hizo un conteo diario del número de plántulas emergidas hasta la estabilización de la emergencia. Para cada repetición se calculó el

índice de velocidad de emergencia, sumando el número de plántulas emergidas en cada día y dividiendo por el respectivo número de días transcurridos a partir de la siembra: $IVE = (E1/N1) + (E2/N2) + \dots + (En/Nn)$, siendo: IVE = índice de velocidad de emergencia; E1, E2, En = número de plántulas emergidas computadas en el primer, segundo y último conteo; N1, N2, Nn = número de días transcurridos desde la siembra hasta el primer, segundo y último conteo.

Después de la evaluación de la calidad fisiológica inicial, los cuatro lotes de semillas fueron sometidos a los ensayos de envejecimiento acelerado tradicional y modificado, de acuerdo con la siguiente metodología.

Envejecimiento acelerado tradicional (EAT): realizado en cajas de plástico (gerbox) que contenían 40 mL de agua destilada; las semillas fueron depositadas en una única capa sobre una tela metálica suspendida dentro de la caja. Posteriormente, las cajas fueron tapadas y transferidas para una cámara BOD a 42 °C por 48, 72 y 96 horas. Después de esos periodos, las semillas fueron colocadas para germinar, de acuerdo con la metodología descrita anteriormente para el análisis de germinación. El conteo de plántulas normales fue realizado al cuarto día después de la siembra.

Envejecimiento acelerado con solución salina no saturada (EASNS): realizado de forma semejante al ensayo de envejecimiento acelerado tradicional, pero usando 40 mL de solución de NaCl (11g de NaCl en 100 mL de agua destilada), estableciendo un ambiente con humedad relativa de 94 %.

Envejecimiento acelerado con solución salina saturada (EASS): realizado con una metodología similar al ensayo de envejecimiento acelerado tradicional, pero usando 40 mL de solución salina saturada de NaCl (40 g de NaCl en 100 mL de agua destilada), estableciendo un ambiente con humedad relativa de 76 %, de acuerdo con Jianhua y McDonald (1996).

Finalmente, se determinó el porcentaje de humedad de las semillas de los cuatro lotes después de cada periodo de envejecimiento para verificar la uniformidad de las condiciones de ensayo, de acuerdo con Marcos Filho (2005).

Los datos en porcentaje fueron sometidos a transformación de arco seno $Hx/100$ antes del análisis estadístico. El experimento fue ejecutado bajo un diseño experimental completamente al azar con cuatro repeticiones, realizando la comparación de medias por el test de Tukey ($p < 0,05$). Para los cálculos estadísticos fue usado el Sistema de Análisis Estadística WinStat 1.0

Resultados

Los datos referentes a la calidad fisiológica inicial de los cuatro lotes de semillas de triticale estudiados se presentan en el Cuadro 1. Se observa que no hubo diferencias significativas entre los lotes en los análisis de germinación y emergencia de plántulas, mientras que en el índice de velocidad de emergencia se observó que el lote cuatro fue inferior a los demás.

Cuadro 1. Porcentaje de humedad (H) y calidad fisiológica de cuatro lotes de semillas de triticale, evaluada mediante los ensayos de porcentaje de germinación (G), Porcentaje de emergencia de plántulas (EP) e índice de velocidad de emergencia (IVE).

Lotes	H %	G %	EP %	IVE
1	11,08	91 A	92 A	12,24 A
2	11,19	93 A	91 A	14,47 A
3	11,45	93 A	94 A	14,20 A
4	11,22	91 A	92 A	10,37 B
CV (%)		2,33	2,45	4,02

Medias seguidas por la misma letra en la columna no difieren entre sí por el test de Tukey ($p < 0,05$).

El Cuadro 2 presenta los porcentajes de humedad de las semillas después del envejecimiento acelerado. Se verificó que el envejecimiento acelerado usando el método tradicional por 48 horas incrementó el porcentaje de humedad en 17,28; 16,25; 15,77 y 16,93 % para los lotes 1, 2, 3 y 4, respectivamente, en relación al porcentaje de humedad inicial. Estos porcentajes permanecieron prácticamente inalterados en los periodos de 72 y 96 horas. Igualmente, se observó que la variación del porcentaje de humedad entre los diferentes lotes en los diferentes tiempos de envejecimiento evaluados fue inferior de 2 %. Cuando se usó solución salina no saturada por 48 horas se observó un incremento del porcentaje de humedad de las semillas de 15,09; 13,19; 12,76 y 13,90 para los lotes 1, 2, 3 y 4, respectivamente. En el periodo de envejecimiento de 72 horas, las variaciones en el porcentaje de humedad fueron de 10,69; 7,95; 7,64 y 8,89 puntos porcentuales. Esos resultados fueron mantenidos prácticamente inalterados para el periodo de envejecimiento por 96 horas (Cuadro 2). Finalmente, en el

ensayo de envejecimiento acelerado con solución salina saturada, se observó que la diferencia del porcentaje de humedad obtenido entre la evaluación inicial y las evaluaciones a las 48 y 72 horas fue inferior a 4 % para todos los lotes, mientras que en el periodo de envejecimiento por 96 horas la diferencia entre los porcentajes de humedad inicial y final fue de 9,07; 4,07; 3,74; 8,12 puntos porcentuales para los lotes 1, 2, 3 y 4 respectivamente (Cuadro 2).

El porcentaje de germinación de las semillas después del envejecimiento acelerado es presentado en el Cuadro 3. Se observó que el envejecimiento acelerado tradicional durante 48 y 72 horas consiguió separar los lotes en dos clases de vigor, una de mayor vigor representada por los lotes 2 y 3 y otra de menor vigor representada por los lotes 1 y 4. El período de envejecimiento de 96 horas separó los

lotes en tres clases de vigor, siendo los lotes 2 y 3 los que mostraron desempeño superior y el lote 4 el de menor vigor.

El ensayo de envejecimiento acelerado por 48 y 72 horas usando solución salina no saturada de NaCl permitió separar los lotes en tres clases de vigor, agrupando los lotes 2 y 3 en una clase de vigor superior e identificando el lote 4 como de menor vigor. En el periodo de envejecimiento de 96 horas se observó una separación en dos clases, siendo el lote 2 el que mostró mayor vigor y los lotes 1, 2 y 4 los que mostraron menor vigor (Cuadro 3).

Cuando se usó solución salina saturada, se dieron los mismos resultados en los tres periodos de incubación, observándose dos clases de vigor: una que presentó mejor vigor, compuesta por los lotes 1, 2 y 3 y otra con menor vigor representada por el lote 4 (Cuadro 3). A pesar que la

Cuadro 2. Porcentaje de humedad de semillas de triticale después del ensayo de envejecimiento acelerado. Ensayo de envejecimiento acelerado tradicional (Tradicional), Ensayo de envejecimiento acelerado usando solución salina no saturada (EASNS), Ensayo de envejecimiento acelerado usando solución salina saturada (EASS).

Lotes	Tradicional			EASNS			EASS		
	48 h	72 h	96 h	48 h	72 h	96 h	48 h	72 h	96 h
Porcentaje de Humedad									
1	28,36	28,31	29,46	26,17	21,77	21,86	13,88	14,09	20,15
2	27,44	26,11	26,21	24,38	19,14	20,08	12,75	13,95	15,26
3	27,22	27,76	26,07	24,21	19,19	20,82	12,89	13,16	15,19
4	28,15	28,44	29,33	25,15	20,11	21,19	13,97	14,52	19,34

Cuadro 3. Porcentaje de germinación de cuatro lotes de semillas de triticale después del ensayo de envejecimiento acelerado tradicional (Tradicional), usando solución salina no saturada (EASNS) y usando solución salina saturada (EASS).

Lotes	Tradicional			EASNS			EASS		
	48 h	72 h	96 h	48 h	72 h	96 h	48 h	72 h	96 h
%									
1	78 B	68 B	53 B	88 B	85 B	70 B	90 A	90 A	88 A
2	87 A	79 A	61 A	93 A	90 A	78 A	91 A	90 A	89 A
3	91 A	75 A	59 A	90 A	90 A	74 B	92 A	90 A	91 A
4	76 B	71 B	22 C	81 C	76 C	68 B	84 B	84 B	78 B
CV (%)	6,27			8,57			5,18		

Medias seguidas por la misma letra en la columna no difieren entre sí por el test de Tukey ($p < 0,05$).

emergencia de plántulas no permitió la clasificación entre los lotes, el índice de velocidad de emergencia presentó la misma separación de lotes observada con el uso de solución salina saturada.

Discusión

Los resultados obtenidos de la calidad fisiológica inicial fueron similares a los reportados por Tunes, Tavares y Barros (2012), que destacan la baja sensibilidad de los análisis de germinación, emergencia en campo e índice de velocidad de emergencia para clasificar lotes de acuerdo con su potencial fisiológico, justificando la necesidad de realizar más de un ensayo de vigor con el objetivo de identificar diferencias en la calidad fisiológica de lotes de semillas, pues cada ensayo de vigor puede ofrecer informaciones complementares para determinar el destino final de un lote de semillas.

En cuanto al porcentaje de humedad inicial, todos los lotes presentaron valores próximos a 11 % (Cuadro 1), observándose una variación mínima entre los lotes de 0,37 puntos porcentuales, valor que es inferior a la diferencia máxima de 2 % sugerida por Marcos Filho (2005). Esa variación en el porcentaje de humedad entre lotes de semillas debe ser la menor posible. Semillas más húmedas son más afectadas por las condiciones de temperatura y humedad del ensayo de envejecimiento acelerado, comprometiendo la precisión de los resultados del análisis (Marcos Filho, 2005).

Después de los periodos de envejecimiento, se observó que la diferencia en el porcentaje de humedad entre algunos lotes superó los límites tolerables (2 %), lo que no es recomendable para comparar los resultados del análisis. Esos resultados también fueron observados por Rodo, Panobianco y Marcos Filho (2000) en semillas de zanahoria. Por otra parte se observó que semillas envejecidas con solución saturada de NaCl durante 48 y 72 horas presentaron un porcentaje de humedad menor al observado con el uso de los demás procedimientos, lo cual atenuó el deterioro de las semillas en comparación con el método tradicional. Torres (2004) trabajando con anís (*Pimpinella anisum*) y Tunes et al. (2011b) trabajando con semillas de cilantro, obtuvieron resultados similares con una solución saturada de sal.

Al analizar los valores obtenidos en el porcentaje de germinación después del envejecimiento acelerado tradicional por 96 horas, se observó que el porcentaje de plántulas normales disminuyó considerablemente, comparando con el porcentaje de germinación inicial (Cua-

dro 1), indicando que ese periodo de envejecimiento reduce drásticamente el vigor de las semillas de triticale en relación a los otros periodos evaluados. Ese resultado concuerda con los obtenidos por Tunes et al. (2009) en semillas de cebada envejecidas tradicionalmente a 42 °C por 96 horas y por Pedroso et al. (2010) en semillas de trigo envejecidas a 41 °C por 96 horas. Por otro lado Lopes et al. (2010) encontraron que el envejecimiento acelerado tradicional durante 72 horas a 41 °C es una alternativa para encontrar diferencias de vigor de semillas de oca (*Abelmoschus esculentus*).

En referencia a los resultados obtenidos en el envejecimiento acelerado con solución salina no saturada por 48 horas, se observó que estos concuerdan con los obtenidos por Cantos et al. (2011), quienes verificaron que el ensayo de envejecimiento acelerado con solución salina durante 48 horas demostró sensibilidad suficiente para evaluar el potencial fisiológico de semillas de avena blanca. Ya en el periodo de envejecimiento por 96 horas, se observó una alta disminución de la germinación, comparada con la germinación inicial de las semillas, sugiriendo que el periodo de 96 horas de EASNS no es el mejor método como ensayo de vigor en semillas de triticale.

Los resultados obtenidos en el envejecimiento acelerado con solución salina saturada fueron semejantes a los encontrados por Tunes et al. (2011a) en azevém, Torres et al. (2014) en oca (*Abelmoschus esculentus*), Panobianco y Marcos Filho (2001) en tomate, Torres (2004) en anís (*Pimpinella anisum*) y Tunes et al. (2009) en cebada. Esto puede ser ocasionado porque la velocidad de absorción de agua por parte de las semillas es menor, llevando a un deterioro menos acentuado y resultados más uniformes que los obtenidos con el EAT.

De forma general, se puede observar que el ensayo de envejecimiento acelerado con solución saturada de sal puede ser usado en el control de calidad de semillas de triticale, una vez que las condiciones del ensayo favorecen la imbibición más uniforme. Además de esto, el menor grado de humedecimiento no permite el desarrollo acentuado de hongos que dificultan la interpretación del análisis (Jianhua y McDonald, 1996). De la misma forma, se debe considerar que al obtener resultados semejantes en los tres periodos de envejecimiento evaluados, la ejecución del ensayo durante 48 horas es la mejor opción usada, ya que entregó resultados en un periodo más corto.

Por último, el ensayo de envejecimiento acelerado usando solución salina no saturada por 48 horas consiguió diferenciar los lotes de semillas en tres clases de vigor.

Conclusión

Los ensayos de envejecimiento acelerado con solución de NaCl saturada o no durante 48 horas son los más indicados para evaluar el vigor de semillas de triticale.

Bibliografía

- Cantos, A. A., Tunes, L. M., Barbieri, A. P. P. y Tavares, L. C. (2011). Avaliação de testes de vigor em sementes de aveia branca *Avena sativa* L. *Revista da Faculdade de Zootecnia Veterinária e Agronomia*, 18(2), 1-11. Recuperado de <http://revistaseletronicas.pucrs.br/ojs/index.php/fzva/article/view/7591/7357>
- França Neto, J. B., Krzyzanowski, F. C. y Henning, A. A. (2010). A importância do Uso de Semente de Soja de Alta Qualidade. *Informativo ABRATES*, 20(1), 037-038. Recuperado de http://www.abrates.org.br/img/informations/b4da4695-fbe3-42ce-9577-ce0e06dd1e6b_INFORMATIVO%20FINAL.pdf
- Jianhua, Z. y McDonald, M. B. (1996). The saturated salt accelerated aging test for small seed crops. *Seed Science and Technology*, 25(1), 123-131.
- Lopes, F. C. F., Oliveira, J. S., Lanes, E. C. M., Duque, A. C. A. y Ramos, C. R. (2008). Valor nutricional do triticale (*X Triticosecale* Wittmack) para uso como silagem na Zona da Mata de Minas Gerais. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 60(6), 1484-1492. doi:10.1590/S0102-09352008000600027
- Lopes, M. M., Sader, R., Paiva, A. S. y Fernandes, A. C. (2010). Teste de envelhecimento acelerado em sementes de quiabo. *Bioscience Journal*, 25(4), 491-501. Recuperado de <http://www.seer.ufu.br/index.php/biosciencejournal/article/view/7126/5121>
- Marcos Filho, J. (2005). *Fisiologia de sementes de plantas cultivadas*. Piracicaba: FEALQ.
- Marcos Filho, J. (2015). *Fisiologia de sementes de plantas cultivadas* (2 ed.). Londrina: ABRATES.
- Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. (2009). *Regras para análise de sementes*. Brasília: MAPA/ACS. Recuperado de http://www.agricultura.gov.br/assuntos/insumos-agropecuarios/arquivos-publicacoes-insumos/2946_regras_analise_sementes.pdf
- Panobianco, M. y Marcos Filho, J. (2001). Envelhecimento acelerado e deterioração controlada em sementes de tomate. *Scientia Agricola*, 58(3), 525-531. doi:10.1590/S0103-90162001000300014
- Pedroso, D. C., Tunes, L. M., Barbieri, A. P. P., Barros, A. C. S. A., Muniz, M. F. B. y Menezes, V. O. (2010). Envelhecimento acelerado em sementes de trigo. *Ciência Rural*, 40(11), 2389-2392. Recuperado de <http://www.scielo.br/pdf/cr/2010nahead/a760cr3738.pdf>
- Rocha, J. A. G., Nedel, J. L. y Baier, A. C. (1998). Teste de envelhecimento precoce para sementes de triticale (*Triticosecale* Wittmack). *Revista Brasileira de Agrociência*, 4(3), 206-210.
- Rodo, A. B., Panobianco, M. y Marcos Filho, J. (2000). Metodologia alternativa do teste de envelhecimento acelerado para sementes de cenoura. *Scientia Agricola*, 57(1), 289-292. doi:10.1590/S0103-9016200000200015
- Steiner, F., Oliveira, S. S. C., Martins, C. C. y Cruz, S. J. S. (2011). Comparação entre métodos para a avaliação do vigor de lotes de sementes de triticale. *Ciência Rural*, 41(2), 200-204. doi:10.1590/S0103-84782011005000011
- Torres, S. B. (2004). Teste de envelhecimento acelerado em sementes de erva-doce. *Revista Brasileira de Sementes*, 26(2), 20-24. doi:10.1590/S0101-31222004000200004
- Torres, S. B., Silva, F. G., Gomes, M. D. A., Benedito, C. P., Pereira, F. E. C. B. y Silva, E. C. (2014). Diferenciação de lotes de sementes de quiabo pelo teste de envelhecimento acelerado. *Ciência Rural*, 44(12), 2104-2110. Recuperado de <http://www.scielo.br/pdf/cr/v44n12/0103-8478-cr-44-12-02103.pdf>
- Tunes, L. M., Badinelli, P. G., Olivo, F. y Barros, A. C. S. A. (2009). Teste de envelhecimento acelerado em cevada. *Magistra*, 21(2), 111-119.
- Tunes, L. M., Olivo, F., Badinelli, P. G., Cantos, A. y Barros, A. C. S. A. (2008). Testes de vigor em sementes de aveia branca. *Revista da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia*, 15(2), 94-106. Recuperado de <http://revistaseletronicas.pucrs.br/ojs/index.php/fzva/article/view/2854>
- Tunes, L. M., Pedroso, D. C., Badinelli, P. G., Tavares, L. C., Rufino, C. A., Barros, A. C. S. A. y Muniz, M. F. B. (2011a). Envelhecimento acelerado em sementes de azevém com e sem solução salina e saturada. *Ciência Rural*, 41(1), 33-37. Recuperado de <http://www.scielo.br/pdf/cr/v41n1/a842cr4040.pdf>
- Tunes, L. M., Pedroso, D. C., Barbieri, A. P. P., Conceição, G. M., Roething, E., Muniz, M. F. B. y Barros, A. C. S. A. (2011b). Envelhecimento acelerado modificado para sementes de coentro (*Coriandrum sativum* L.) e sua correlação com outros testes de vigor. *Revista Brasileira de Biociências*, 9(1), 12-17. Recuperado de <http://www.ufrgs.br/seerbio/ojs/index.php/rbb/article/view/1645/990>
- Tunes, L. M., Tavares, L. C. y Barros, A. C. S. A. (2012). Envelhecimento acelerado como teste de vigor para sementes de arroz. *Revista de Ciências Agrárias*, 35(1), 120-127. Recuperado de <http://www.scielo.mec.pt/pdf/rca/v35n1/v35n1a11.pdf>