



## Pruebas de vigor para determinar la calidad fisiológica en semillas de zanahoria (*Daucus carota* L.)<sup>1</sup>

### Physiological seed quality of carrot (*Daucus carota* L.) assessed by vigor testing

Edgar Jesús Vindas Quesada<sup>2</sup>, Andrés Antonio Monge Vargas<sup>2</sup>, Carolina Porras Martínez<sup>3</sup>, Luis Barboza Barquero<sup>2</sup>

- <sup>1</sup> Recepción: 26 de junio, 2022. Aceptación: 12 de septiembre, 2022. Este trabajo formó parte del trabajo final de graduación del primer autor. Trabajo sobre metodologías implementadas en el proyecto de investigación de Vicerrectoría de Investigación B6269 "I-tskir: prototipo de alto rendimiento para cuantificar germinación de semillas", Universidad de Costa Rica.
- <sup>2</sup> Universidad de Costa Rica, Centro para Investigaciones en Granos y Semillas, San Pedro, Montes de Oca, San José, Costa Rica. edgar.vindasquesada@ucr.ac.cr (<https://orcid.org/0000-0003-1936-4624>), andresantonio.monge@ucr.ac.cr (autor para la correspondencia; <https://orcid.org/0000-0002-4596-5637>), luisorlando.barboza@ucr.ac.cr (<https://orcid.org/0000-0002-4140-6598>).
- <sup>3</sup> Oficina Nacional de Semillas, San José, Costa Rica. cporras@ofinase.go.cr (<https://orcid.org/0000-0003-1157-8011>).

## Resumen

**Introducción.** En el cultivo de zanahoria se practica la siembra directa, debido a que las plantas no soportan el estrés del trasplante, por lo que es fundamental utilizar semillas que germinen en máximo siete días y de forma uniforme. El vigor de las semillas está asociado al desempeño en campo y, a nivel internacional, existen diferentes pruebas para medirlo, sin embargo, en zanahoria aún las metodologías son escasas y no se encuentran estandarizadas. **Objetivo.** Determinar la calidad fisiológica en semillas de dos variedades de zanahoria (*Daucus carota* L.), mediante pruebas de vigor. **Materiales y métodos.** Este trabajo se realizó en el Centro para Investigaciones en Granos y Semillas de la Universidad de Costa Rica durante el año 2018. Se utilizaron semillas de las variedades Bangor y Triunfo con porcentajes de humedad de 7 %, 10 % y 13 %. Las pruebas de vigor utilizadas fueron las siguientes: protrusión radical, primer conteo de germinación (siete días), envejecimiento acelerado, conductividad eléctrica y análisis de germinación por medio de imágenes digitales. Se realizaron análisis de correlación de Pearson entre las variables estudiadas. **Resultados.** Se observaron coeficientes de correlación (r de Pearson) significativos de la conductividad eléctrica con variables obtenidas del análisis de imágenes: t10 (r=0,83), t50 (r=0,87) y el área bajo la curva (r=-0,72). A través de la prueba de conductividad eléctrica se determinó que el lote de Bangor presentó mayor vigor que el lote de Triunfo (Tukey, p<0,05). **Conclusiones.** El análisis de imágenes digitales y la prueba de conductividad eléctrica permitieron medir el vigor en lotes de semillas de las variedades Bangor y Triunfo, y complementarlos con los resultados de germinación para determinar su calidad fisiológica.

**Palabras clave:** conductividad eléctrica, humedad, análisis de imágenes, correlación, germinación, calidad fisiológica.

## Abstract

**Introduction.** In carrot cultivation direct sowing is practiced because the seedling cannot resist the stress of transplanting. It is essential to use seeds that germinate in a maximum of seven days and uniformly. Seeds vigor



is associated with yield performance in the field and, at the international level there are different test to measure it. However, in carrot, the methodologies are still scarce and are not standardized. **Objective.** To determine the physiological quality in seeds of two varieties of carrot (*Daucus carota* L.) by mean of vigor tests. **Materials and methods.** This research was carried out at the Centro para Investigaciones en Granos y Semillas (CIGRAS) of the Universidad de Costa Rica in 2018. Seeds of Bangor and Triunfo varieties with moisture percentages of 7 %, 10 %, and 13 % were used. The vigor tests used were the following: radicle protrusion, first germination count (seven days), accelerated aging, electrical conductivity, and the germination analysis by digital images. Pearson's correlation analyses were performed between the variables studied. **Results.** Significant correlation coefficients (Pearson's  $r$ ) were observed for electrical conductivity with variables obtained from the image analysis: t10 ( $r=0.83$ ), t50 ( $r=0.87$ ), and the area under the curve ( $r=-0.72$ ). Trough the electrical conductivity test, it was determined that the Bangor lot had greater vigor than the Triunfo lot (Tukey,  $p\leq 0.05$ ). **Conclusions.** The analysis of digital images and the electrical conductivity tests allowed measuring the vigor in seed lots of Bangor and Triunfo varieties, and complementing them with germination results to determine their physiological quality.

**Keywords:** electrical conductivity, humidity, image analysis, correlation, germination, physiological quality.

## Introducción

El método principal de propagación de la zanahoria es mediante la semilla y su cultivo se realiza por siembra directa en el campo, debido a que las plántulas no son capaces de tolerar el estrés del trasplante (Bolaños Herrera, 1998; Gaviola, 2013). Para un óptimo establecimiento del cultivo y obtener buenos rendimientos en hortalizas, es fundamental utilizar lotes de semillas con alto vigor, los cuales se caracterizan por poseer una alta germinación en el primer conteo (George, 2009), altas tasas de crecimiento (Marcos Filho, 2015) y plantas con una mayor capacidad de resistencia a condiciones ambientales desfavorables. Lotes que presenten estas características, facilitan el manejo agronómico general del cultivo, uniformizan la madurez de las plantas para la cosecha (Sediyama, 2013) y se obtienen mejores rendimientos (George, 2009).

Las semillas son uno de los componentes básicos y de mayor importancia en la producción agrícola; en particular, las semillas de hortalizas se caracterizan por presentar un elevado valor de comercialización, por lo que se debe garantizar uniformidad y vigor en las semillas, que se comercializan (Finch-Savage & Bassel, 2016; Peske et al., 2019). La calidad fisiológica de un lote de semillas, implica que estas cumplen con la condición indispensable de ser viables, con poder germinativo que generan plántulas con sus estructuras esenciales desarrolladas de forma normal (del Valle Gallo, 2008; Hernández Zavaleta, 2015) y poseer un alto vigor (Marcos-Filho, 2015).

Determinar el potencial fisiológico de un lote de semillas es fundamental para el control de calidad, lo que permitirá un establecimiento exitoso en campo. En los programas de producción de semillas, se debe cuidar la calidad fisiológica, genética, sanitaria y física de los lotes antes de su siembra o comercialización (del Valle Gallo, 2008; Torres, 2002). El análisis oficial de germinación estándar es la prueba utilizada para definir la calidad fisiológica de un lote de semillas, sin embargo, este ensayo no determina el vigor que posee un lote, sino que indica la capacidad de germinación en condiciones óptimas en un tiempo establecido (Peske et al., 2019). Debido a esta razón, surgieron pruebas de vigor, para determinar con mayor exactitud esta característica de las semillas y su desempeño en condiciones de campo, las cuales por lo general son desfavorables (Elias et al., 2012). Además, a través de estas pruebas se pueden encontrar diferencias de vigor entre lotes que presentan el mismo porcentaje de germinación, lo cual permite realizar una clasificación más precisa de su calidad (Oliveira Diniz et al., 2013).

Los métodos tradicionales consumen mucho tiempo y presentan interpretaciones subjetivas, cuyos resultados pueden diferir entre laboratorios y analistas (Dell'Aquila, 2004; Gomes Junior et al., 2014), de modo que análisis

automáticos por medio de imágenes, proporcionan evaluaciones rápidas y objetivas del potencial fisiológico de un lote de semillas, que además ayudan a optimizar la información mediante el almacenamiento de imágenes y resultados numéricos en bases de datos, que podrían llegar a ser útiles en estudios futuros. Sin embargo, es importante considerar que el análisis de imágenes debe pasar por un proceso de validación que correlacione con los resultados de los análisis de germinación estandarizados (Dell' Aquila 2004; Neumann Silva et al., 2013).

En el caso de semillas de zanahoria, los estudios sobre el potencial fisiológico basados en pruebas de vigor son escasos, por lo que es necesario establecer más pruebas para esta especie, ya que se trata de un cultivo de siembra directa en el campo y se debe garantizar un establecimiento eficiente de las plantas para evitar pérdidas. En hortalizas, se han estudiado diferentes métodos, por ejemplo, la prueba de envejecimiento acelerado resultó eficiente para evaluar la calidad fisiológica de un lote de semillas de tomate y correlacionar los datos con la emergencia en campo (Álvarez Medina et al., 2011; Silva & Cicero, 2014). En cebolla las pruebas de deterioro controlado y el envejecimiento acelerado son eficientes para predecir la emergencia de este cultivo en campo (Yousof et al., 2016). De manera similar para zanahoria, se ha detectado el deterioro y la pérdida de vigor en las semillas a través de las pruebas de conductividad eléctrica y envejecimiento acelerado (Al-Maskri et al., 2003).

Desarrollar y estandarizar métodos para determinar la calidad fisiológica en semillas de zanahoria por medio de pruebas de vigor, es de gran utilidad para garantizar el uso de semillas de alta calidad. Una adecuada interpretación de los resultados de las pruebas de vigor, permite la selección y clasificación de los lotes, lo que es esencial para la toma de decisiones por los productores y para ser eficiente con los recursos de los que se dispone (Marcos Filho, 2015). De esta forma, el objetivo de esta investigación fue determinar la calidad fisiológica en semillas de dos variedades de zanahoria (*Daucus carota* L.), mediante pruebas de vigor.

## Materiales y métodos

### Sitio y material experimental

Se utilizaron semillas de zanahoria de las variedades híbridas F<sub>1</sub> Bangor y Triunfo, con un 7 % de humedad, provenientes de lotes de semilla comerciales y certificados de un año de almacenamiento en cámara fría (7° C). Las pruebas de viabilidad y vigor se realizaron en el Laboratorio Oficial de Análisis de Calidad de Semillas del Centro para Investigaciones en Granos y Semillas (CIGRAS) de la Universidad de Costa Rica. El diseño experimental utilizado fue de tipo irrestricto al azar con un arreglo factorial de 2 × 3, para un total de seis tratamientos, en los cuales el factor A estaba compuesto por las dos variedades utilizadas, mientras que, el factor B consistió de tres porcentajes de humedad de las semillas (7,0 %, 10,0 % y 13,0 %).

Para acondicionar las semillas en las humedades de 10 % y 13 %, se utilizó el método de la cámara húmeda. Este consistió en colocar 1,5 g de la semilla de cada una de las variedades, en bolsas de tejido poroso, conocido como organza, sobre un soporte dentro de cajas de plástico (14,5 cm × 14,5 cm × 8,5 cm) con 90 mL de agua destilada. Estas cajas se colocaron dentro de bolsas plásticas y se ubicaron en una cámara de incubación a 20 °C (± 2 °C). Cada hora se pesaron las semillas hasta obtener los porcentajes de humedad deseados, mediante la aplicación de la ecuación 1 (Cancho Ccaico, 2017; Hong et al., 1996).

$$PF = \frac{100 - HI}{100 - HF} \times PI; \text{ de la cual se obtiene que: } HF = 100 - (100 - HI) \times \frac{PI}{PF} \quad (1)$$

Donde: PF = peso final de las semillas (g), PI = peso inicial de las semillas (g), HI = contenido de humedad inicial (%) y HF = contenido de humedad final (%).

Las semillas de las variedades Bangor y Triunfo, tardaron 3,5 h y 4,0 h para alcanzar el 10 % de humedad, respectivamente, mientras que para obtener el 13 % de humedad fueron necesarias 6,5 h y 7,0 h para Bangor y

Triunfo, respectivamente. Luego las semillas de cada humedad se colocaron en bolsas trilaminadas selladas, se dejaron en un desecador por tres días para estabilizar el porcentaje de humedad y se verificó cada humedad con base en el método de la estufa (Hong et al., 1996).

La determinación del porcentaje de humedad se realizó en base húmeda (Hbh), mediante el método de la estufa a 130 °C ( $\pm 3$  °C) por una hora con cuatro repeticiones de 1,5 g de semillas. Se utilizó la ecuación 2 para el cálculo del porcentaje de humedad.

$$\text{Mbh (\%)} = \frac{100}{\text{MH}} \times \text{MH} - \text{MS} \quad (2)$$

Donde:

MH = muestra húmeda (g) y MS = muestra seca (g).

### Prueba de germinación

La prueba estándar de germinación sobre papel, se realizó con cuatro repeticiones de veinticinco semillas para cada tratamiento. Se utilizó papel de germinación (a base de celulosa) como sustrato, el cual se humedeció con 40 mL de agua destilada y se ubicó en cajas de germinación de acrílico transparente (36,5 cm  $\times$  26,5 cm  $\times$  13, cm). Luego se colocaron las semillas sobre el papel con una separación de 1 cm entre ellas. Las cajas fueron colocadas dentro de bolsas de polietileno transparentes y ubicadas en una cámara de germinación a una temperatura alterna de 20 °C y 30 °C (International Seed Testing Association [ISTA], 2017).

Las variables a medir fueron: semillas con protrusión radicular (mínimo 2 mm de radícula), primer conteo de germinación (siete días después de la siembra) y la germinación final (catorce días después de la siembra). Las semillas germinadas, en el primer conteo y germinación final, se clasificaron en plántulas normales, anormales y muertas, de acuerdo con los criterios de ISTA (2017). Los resultados se reportaron en porcentaje de germinación con solo las plántulas normales.

### Prueba de envejecimiento acelerado

Para la prueba de envejecimiento acelerado también se utilizaron cuatro repeticiones de veinticinco semillas para cada tratamiento. Estas se vertieron 90 mL de una solución saturada de cloruro de sodio (36 g NaCl / 100 mL de agua) en cajas de plástico (36,5 cm  $\times$  26,5 cm  $\times$  9,0 cm) y se colocó un soporte de alambre galvanizado dentro de las cajas, que permaneció por encima de la superficie del agua. Sobre el soporte, se colocaron las semillas de manera uniforme y se evitó la superposición de unas sobre otras, dentro de una bolsa de organza. Se cerraron las cajas, se colocaron dentro de una bolsa de plástico transparente y se mantuvieron en una incubadora a una temperatura de 42 °C ( $\pm 2$  °C) durante 48 h. Una vez transcurrido ese período, se estableció el ensayo de germinación, conforme a los lineamientos antes mencionados para esta prueba. Para la evaluación, se realizó un único conteo de germinación a los siete días después de la siembra y los resultados se reportaron como porcentajes de germinación.

### Determinación de conductividad eléctrica

En la prueba de determinación de conductividad eléctrica, se utilizaron cuatro repeticiones de 150 semillas para cada tratamiento. Se colocaron las semillas en beakers con 25 mL de agua destilada (valor inferior a 1  $\mu\text{S cm}^{-1}$ ) y 24 h después se realizaron las mediciones de conductividad eléctrica con un conductímetro marca Hanna Instruments, modelo HI98130 y los valores se registraron en  $\mu\text{S cm}^{-1}$ .

## Emergencia en invernadero

Se utilizaron cuatro repeticiones de veinticinco semillas por cada tratamiento en la prueba de emergencia en invernadero. La siembra se realizó en bandejas de plástico de polietileno termoformado de doscientas celdas, con una apertura de 2,3 cm, altura de 3,4 cm y base de 1,8 cm, para una capacidad volumétrica de 13 mL y como sustrato se empleó turba. Se colocó una semilla por celda a una profundidad de 1,0 cm. El riego se realizó por nebulización, cuatro veces al día, un minuto cada 2 h. La temperatura y humedad promedio registradas durante el desarrollo de la prueba fue de 29 °C y 60 %, respectivamente. Se evaluó el porcentaje de plántulas emergidas, a los siete días después de la siembra.

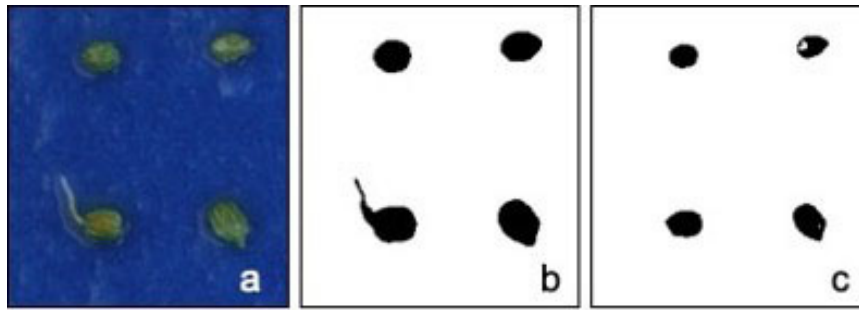
## Análisis de imágenes digitales

Para el análisis de imágenes digitales se utilizaron cuatro repeticiones de veinticinco semillas por cada tratamiento. Se siguieron las mismas condiciones de la prueba de germinación, pero se usaron dos capas de papel azul de germinación como sustrato, humedecido con 130 mL de agua destilada. Se tomaron fotografías durante ocho días a la misma hora, con equipo fotográfico estandarizado de previo (cámara Nikon modelo D80). Las fotografías se procesaron con los programas ImageJ (Schindelin et al., 2012) y Germinator (Joosen et al., 2010), con el fin de obtener análisis automáticos basados en el contraste y segmentación de colores. Además, se analizó y caracterizó la germinación por medio de la variación entre los componentes X y Y, germinación máxima ( $G_{max}$ ),  $t_{10}$  (tiempo en alcanzar el 10 % de germinación),  $t_{50}$  (tiempo en alcanzar el 50 % de germinación), área bajo la curva (AUC) y  $R^2$  (coeficiente de determinación).

En las fotografías analizadas, primero se mejoró el contraste de la imagen en ImageJ a 0,3 % de saturación de píxeles, luego se realizó la segmentación con el método de umbralización, en el que se define un umbral como una función que convierte una imagen a color, a una imagen binaria en blanco y negro (Figura 1 A). Si la imagen original es  $f(x, y)$ , la imagen umbralizada es  $g(x, y)$ , en la cual se fija un umbral  $U$  ( $0 < U < 255$ ) y luego se ajusta a otro umbral en el que se puedan separar los píxeles del objeto de interés del fondo de la imagen (La Serna Palomino & Román Concha, 2009). En ImageJ se ajustan los parámetros de segmentación para el modelo de color YUV, el cual es más robusto ante cambios de iluminación, ya que define un espacio de color en términos de una componente de luminancia (Y) y dos componentes de crominancia (U, V) (Aristondo Etxeberria, 2010), de forma que, mediante la función de segmentación de ImageJ, se logra diferenciar mejor el objeto de interés del fondo en la fotografía.

Para segmentar fotografías de pruebas con semillas germinadas se ajustaron los valores de los umbrales YUV. Primero se eliminó el fondo azul de la imagen y los valores utilizados fueron  $Y 0 - 255$   $U 0 - 161$   $V 0 - 255$ . Luego se repitió el procedimiento, pero se eliminó el fondo azul (Figura 1B) y las radículas de las semillas (Figura 1C); los valores de los umbrales YUV en este caso fueron  $Y 0 - 218$   $U 0 - 96$   $V 0 - 255$ .

Los archivos de salida del Germinator con los conteos de semillas germinadas obtenidos, se procesaron con la ayuda de Microsoft Excel® versión 2007, por medio del cual se compararon los cambios en el tamaño de cada semilla individual y las modificaciones en su posición X Y. Las semillas se calificaron como no germinadas cuando las diferencias en el área y la posición X Y se encontraron dentro de los límites establecidos que fueron de 350 para el cambio en el área y de 15 para el cambio en coordenadas X Y, debidos a la protrusión de la radícula. Se probó con diferentes valores para estos límites, hasta obtener un conteo lo más cercano a uno realizado de forma manual, luego se realizaron las curvas de germinación con los archivos de salida de las imágenes analizadas. Las variables respuesta de porcentaje de germinación a las 192 h, AUC,  $t_{10}$  y  $t_{50}$ , obtenidas en este ensayo se correlacionaron con las demás pruebas evaluadas.



**Figura 1.** Uso de análisis de imágenes digitales para cuantificar la germinación en semillas de zanahoria (*Daucus carota* L.). (A) Muestra de zanahoria con cuatro semillas, (B) imagen analizada donde se escogió un umbral (YUV+) para seleccionar las cubiertas y la radícula de las semillas, y (C) imagen analizada con un umbral (YUV-) para seleccionar las cubiertas. Centro para Investigaciones en Granos y Semillas (CIGRAS), Costa Rica, 2018.

**Figure 1.** Digital image analysis used to quantify carrot (*Daucus carota* L.) seeds germination. (A) Carrot sample with four seeds, (B) analyzed image where an umbral of (YUV+) was chosen to select the seeds radicle and coat, and (C) analyzed image with an umbral (YUV-) to select the seed coat. Centro para Investigaciones en Granos y Semillas (CIGRAS), Costa Rica, 2018.

### Análisis estadístico

Se realizaron análisis de normalidad y homogeneidad de las varianzas de los datos para las variables: protrusión radicular, primer conteo de germinación, germinación, envejecimiento acelerado, conductividad eléctrica y emergencia en invernadero, por medio del programa estadístico InfoStat. Luego los datos fueron sometidos al análisis de varianza (ANDEVA) y para las variables que presentaron diferencias estadísticas, se utilizó la prueba de comparación de medias de Tukey ( $p \leq 0,05$ ), para determinar diferencias significativas entre los factores variedad y humedad. Además, los resultados de las variables y del análisis de imágenes para GMax, t50, t10 y AUC, se compararon mediante la correlación Pearson ( $p \leq 0,05$ ).

## Resultados

Se observó una interacción significativa entre los factores analizados (variedad y contenido de humedad de semilla), para las variables primer conteo de germinación, envejecimiento acelerado, conductividad eléctrica y AUC. En el caso de las variedades se determinó un efecto simple para las variables protrusión radicular, primer conteo de germinación, envejecimiento acelerado, conductividad eléctrica, gMax, t50, t10 y AUC; mientras que, para el factor de la humedad, se observaron diferencias en las variables t50 y AUC (Cuadro 1).

Se observaron diferencias en el primer conteo de germinación de las variedades estudiadas. La variedad Bangor presentó un 28 % más de germinación que Triunfo en el primer conteo, cuando la semilla tenía un contenido de humedad del 13 % (Figura 2A). Bangor no presentó diferencias en el primer conteo entre las distintas humedades probadas, mientras que Triunfo presentó menor germinación al 13 % de humedad comparado con 10 %.

Al comparar los resultados obtenidos en la prueba de envejecimiento acelerado para cada humedad entre las variedades, se observaron en Bangor porcentajes de germinación superiores, de 13 % y 17 % para las humedades de 7 % y 10 %, respectivamente, mientras que en la humedad de 13 % no se observaron diferencias (Figura 2B). Por otra parte, al analizar el efecto de la humedad para cada variedad no se presentaron diferencias.



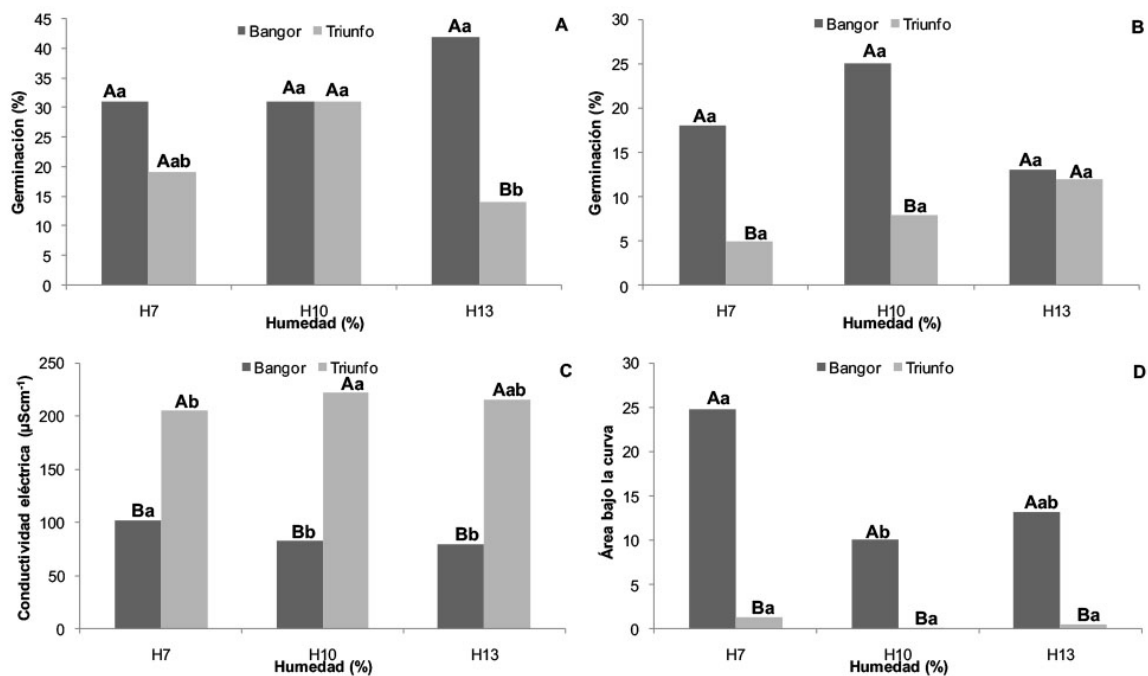
**Cuadro 1.** Análisis de varianza para los factores variedad y contenido de humedad en distintas variables evaluadas en semillas de los híbridos de zanahoria (*Daucus carota* L.) Bangor y Triunfo, con humedades de 7 %, 10 % y 13 %. Centro para Investigaciones en Granos y Semillas (CIGRAS), Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica, 2018.

**Table 1.** Analysis of variance for the variety and humidity factors in different variables evaluated in Bangor and Triunfo carrot (*Daucus carota* L.) hybrid seeds, with 7 %, 10 % and 13 % of water content. Centro para Investigaciones en Granos y Semillas (CIGRAS), Universidad de Costa Rica, San Jose, Costa Rica, 2018.

Factores	GL	PR	PC	G	EA	CE	EI	gMax	t50	t10	AUC
Variedad (V)	1	**	**	NS	**	**	NS	**	**	**	**
Humedad (H)	2	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	**	NS	**
V x H	2	NS	**	NS	**	**	NS	NS	NS	NS	**

\*\* Significativo a  $p \leq 0.05$ . / \*\* Significant to  $p \leq 0.05$ .

GL: grados de libertad, PR: protrusión radicular, PC: primer conteo, G: germinación, EA: envejecimiento acelerado, CE: conductividad eléctrica, EI: emergencia en invernadero, gMax: germinación máxima, t50: tiempo en alcanzar el 50 % de germinación, t10: tiempo en alcanzar el 10 % de germinación, AUC: área bajo la curva. / GL: degrees of freedom, PR: radicle protrusion, PC: first count, G: germination, EA: accelerated aging, CE: electrical conductivity, EI: greenhouse emergence, gMax: maximum germination, t50: time to obtain 50 % of germinated seeds, t10: time to obtain 10 % of germinated seeds, AUC: area under the curve.



**Figura 2.** Primer conteo de germinación a los siete días (A), germinación de la prueba de envejecimiento acelerado (B), conductividad eléctrica (C) y valor de área bajo la curva (D), en semillas de zanahoria (*Daucus carota* L.) de los híbridos Bangor y Triunfo con humedades de 7 %, 10 % y 13 % (prueba de Tukey,  $p \leq 0.05$ ). Centro para Investigaciones en Granos y Semillas (CIGRAS), Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica, 2018.

**Figure 2.** First germination count at seven days (A), germination from accelerated aging test (B), electrical conductivity test (C), and area value under the curve (D), in Bangor and Triunfo carrot (*Daucus carota* L.) hybrid seeds, with 7 %, 10 %, and 13 % of seed water content (Tukey test,  $p \leq 0.05$ ). Centro para Investigaciones en Granos y Semillas (CIGRAS), Universidad de Costa Rica, San Jose, Costa Rica, 2018.

Cuando se analizó la conductividad eléctrica, se determinó que Triunfo presentó valores superiores a  $200 \mu\text{S cm}^{-1}$  en las tres humedades probadas, los cuales fueron superiores a Bangor (Figura 2C). En cuanto a las diferencias entre cada variedad, se observó que Bangor presentó valores mayores de conductividad al 7 % de humedad, mientras que en Triunfo el valor de conductividad eléctrica fue superior cuando la semilla se encontraba a 10 % de humedad, con respecto a aquellas que poseían un 7 % de humedad.

Cuando se comparó el área bajo la curva entre cada variedad para cada una de las humedades, se determinaron valores superiores para Bangor de 25, 10 y 13, para las humedades de 7 %, 10 % y 13 %, respectivamente (Figura 2D). Por otra parte, al comparar el efecto de la humedad de las semillas en cada variedad, se determinó que para Bangor la semilla al 7 % superó en quince unidades a las que tenían porcentaje de humedad del 10 %, mientras que en Triunfo no se presentaron diferencias.

Bangor presentó valores superiores de protrusión radicular y gMax con respecto a Triunfo, que experimentó valores hasta 10 % inferiores (Cuadro 2). Por el contrario, en las variables t50 y t10, Triunfo presentó valores superiores a Bangor en hasta cincuenta unidades de tiempo. Bangor inició el proceso de germinación a las 48 h, mientras que Triunfo empezó este proceso a las 72 h, pero no hubo diferencias con respecto a los porcentajes de humedad utilizados (Figura 3). A pesar de que a las 72 h, 96 h y 120 h hubo diferencias entre las variedades, estas desaparecieron a las 144 h y se mantuvieron así hasta las 192 h, con valores finales de entre 68 % y 82 % de germinación.

**Cuadro 2.** Protrusión radicular (PR), germinación máxima (gMax), tiempo para alcanzar el 10 % (t10) y 50 % (t50) de germinación en semillas de zanahoria (*Daucus carota* L.) híbridos Bangor y Triunfo. Centro para Investigaciones en Granos y Semillas (CIGRAS), Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica, 2018.

**Table 2.** Radicle protrusion (PR), maximum germination (gMax), time to reach 10 % (t10) and 50 % (t50) of germination in Bangor and Triunfo carrot (*Daucus carota* L.) hybrid seeds. Centro para Investigaciones en Granos y Semillas (CIGRAS), Universidad de Costa Rica, San Jose, Costa Rica, 2018.

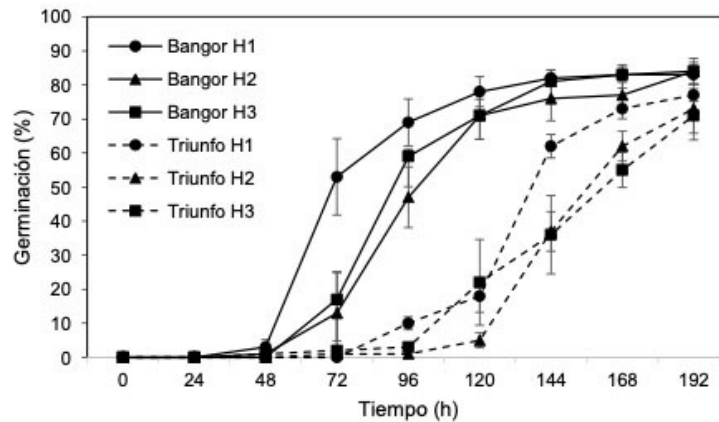
Variedad	PR (%)	gMax (%)	t50 (horas)	t10 (horas)
Bangor	70,7 a	84,3 a	82,2 b	63,0 b
Triunfo	58,0 b	73,7 b	135,8 a	114,3 a
CV	14,4	11,0	11,1	17,5

Medias con una letra común no son significativamente diferentes según la prueba de Tukey ( $p > 0.05$ ) / Means with the same letter indicate no significant difference according to the Tukey test ( $p > 0.05$ ).

Para la variable t50, las semillas con un contenido de humedad al 10 %, presentaron valores superiores ( $t50 = 117,9$ ) con respecto a semillas al 13 % ( $t50 = 111,2$ ) y 7 % ( $t50 = 98,0$ ) (Figura 3). Las semillas al 13 % no presentaron diferencias significativas con los demás contenidos de humedad evaluados ( $p > 0,05$ ), mientras las semillas con un contenido de humedad de 10 %, sí presentaron diferencias significativas con respecto a las de 7 % ( $p < 0,05$ ).

Se observaron correlaciones positivas ( $p \leq 0,001$ ) significativas altas de la conductividad eléctrica con t50 (0,87) y t10 (0,83), y con AUC (-0,72) la correlación fue moderada negativa; mientras que, t50 presentó correlaciones muy altas con t10 (0,97) positiva y negativa con AUC (-0,91), en cuanto a la variable t10 presentó una alta correlación negativa con AUC (-0,87) (Cuadro 3).





**Figura 3.** Curvas de germinación de semillas de zanahoria (*Daucus carota* L.) híbridos Bangor y Triunfo, con tres contenidos de humedad (H1 = 7 %, H2 = 10 %, H3 = 13 %), obtenidas por medio del análisis de imágenes con ImageJ y el paquete Germinator. Centro para Investigaciones en Granos y Semillas (CIGRAS), Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica, 2018.

**Figure 3.** Germination curves of Bangor and Triunfo carrot (*Daucus carota* L.) hybrid seeds, with three levels of water content (H1 = 7 %, H2 = 10 %, H3 = 13 %), obtained from digital image analysis with ImageJ and Germinator. Centro para Investigaciones en Granos y Semillas (CIGRAS), Universidad de Costa Rica, San Jose, Costa Rica, 2018.

**Cuadro 3.** Coeficientes de correlación de Pearson ( $p \leq 0,05$ ) de los resultados obtenidos con semillas de zanahoria (*Daucus carota* L.) híbridos Bangor y Triunfo, en las pruebas de análisis de germinación (G), protrusión radical (PR), primer conteo de germinación (PCG), envejecimiento acelerado (EA), conductividad eléctrica (CE), emergencia en invernadero (EI), germinación máxima (GMax), tiempo en alcanzar el 50 % de germinación (t50), tiempo en alcanzar el 10 % de germinación (t10) y el área bajo la curva (AUC). Centro para Investigaciones en Granos y Semillas (CIGRAS), Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica, 2018.

**Table 3.** Pearson correlation coefficients ( $p \leq 0,05$ ) of the results obtained with Bangor and Triunfo carrot (*Daucus carota* L.) hybrid seeds for standard germination (G), radicle protrusion (PR), first count of germination (PCG), accelerated aging (EA), electrical conductivity (CE), greenhouse emergence (EI), maximum germination (Gmax), time to reach 50 % of germination (t50), time to reach 10 % of germination (t10), and area under the curve (AUC). Centro para Investigaciones en Granos y Semillas (CIGRAS), Universidad de Costa Rica, San Jose, Costa Rica, 2018.

Prueba	PR	PCG	EA	CE	EI	GMax	t50	t10	AUC
G	0,56**	0,37 <sup>ns†</sup>	-0,24 <sup>ns</sup>	0,01 <sup>ns</sup>	-0,23 <sup>ns</sup>	-0,02 <sup>ns</sup>	-0,05 <sup>ns</sup>	-0,16 <sup>ns</sup>	0,009 <sup>ns</sup>
PR		0,54**	0,13 <sup>ns</sup>	-0,58**	-0,20 <sup>ns</sup>	0,12 <sup>ns</sup>	-0,59**	-0,58**	0,49*
PCG			0,20 <sup>ns</sup>	-0,55**	-0,06 <sup>ns</sup>	0,33 <sup>ns</sup>	-0,46*	-0,46*	0,32 <sup>ns</sup>
EA				-0,61**	0,32 <sup>ns</sup>	0,33 <sup>ns</sup>	-0,52**	-0,52*	0,42*
CE					-0,11 <sup>ns</sup>	-0,56*	0,87***	0,83***	-0,72***
EI						-0,03 <sup>ns</sup>	-0,10 <sup>ns</sup>	-0,09 <sup>ns</sup>	0,09 <sup>ns</sup>
GMax							-0,57**	-0,52**	0,47*
t50								0,97***	-0,91***
t10									-0,87***

\*, \*\*, \*\*\* Significativo a  $p \leq 0,05$ ,  $p \leq 0,01$  y  $p \leq 0,001$ . † NS, no significativo / \*, \*\*, \*\*\* Significant at  $p \leq 0,05$ ,  $p \leq 0,01$  and  $p \leq 0,001$ . † NS, not significant.

## Discusión

La prueba de germinación estándar evidenció que no se presentaron diferencias entre las variedades y los contenidos de humedad de las semillas utilizadas, sin embargo, para algunas de las pruebas de vigor empleadas hubo diferencias entre los factores estudiados (Cuadro 1). Esto concuerda con lo que indican varios investigadores, sobre que las pruebas de germinación estándar no pueden establecer diferencias de vigor entre diferentes lotes de semillas (da Silva Almeida et al., 2014; Elias et al., 2012; Shah et al., 2002) y, por lo tanto, se debe recurrir a diversas pruebas de vigor para determinar el potencial real de desempeño de un lote de semillas en el campo (Oliveira Diniz et al., 2013) e inclusive pueden presentarse diferencias entre genotipos de una misma especie (Peske et al., 2019).

Las pruebas de vigor empleadas en este estudio demostraron en algunos casos diferencias entre las dos variedades y las humedades utilizadas. En la prueba del primer conteo de germinación, la variedad Bangor no mostró diferencias independientemente del porcentaje de humedad de la semilla, lo cual concuerda con un estudio realizado en semillas de papaya, en el cual se evaluaron porcentajes de humedad (9 %, 10 % y 12 %) similares a este estudio (Alonso-Esquivel et al., 2011). Se menciona que mayores porcentajes de humedad en la semilla presentan menor vigor en un lote (Terra Werner et al., 2013), pero esto no se evidenció por medio de esta prueba, debido a que esta presenta una sensibilidad baja para detectar pequeñas diferencias de vigor en un lote de semillas (Marcos Filho, 2011). Es importante indicar que la diferencia que se presentó entre las variedades al 13 % de humedad, pudo deberse a características genéticas o composición química específicas de cada material y que estos pueden responder de forma independiente a la prueba (Das et al., 2014; Tatić et al., 2012), como en este caso que Bangor presentó mayor germinación que Triunfo, tal como se ha reportado para frijol (Das et al., 2014).

Al realizar la mediación del vigor por medio de la prueba de envejecimiento acelerado, se observó que la humedad no fue un factor que influyera en los valores obtenidos y las diferencias que se presentaron fueron entre las variedades para las humedades de 7 % y 10 %, con valores superiores en Bangor. Estos resultados indican que puede existir un componente genético que afecta la sensibilidad de esta prueba y las variedades pueden presentar respuestas diferentes, como ha sido reportado en frijol (Das et al., 2014), trigo (Jardel Szarecki & Zanatta Aumonde, 2018) y tomate (Rizvi et al., 2013), entre otros cultivos. También, se debe considerar el año de almacenamiento que tenían los lotes al iniciar el experimento, ya que el deterioro de las semillas es un proceso inevitable que ocurre, aunque las condiciones de almacenamiento sean las óptimas (Marcos Filho, 2015). En el caso de la zanahoria, se han observado pérdidas de vigor de las semillas después del primer año de almacenamiento (Thakur et al., 2015), lo cual pudo ocurrir de forma más acelerada en el lote de Triunfo y, por eso, el resultado de menor vigor.

Con respecto a la prueba de conductividad eléctrica, se determinó que Triunfo presentó un vigor inferior a Bangor, debido a los altos valores de conductividad (mayores que  $200 \mu\text{S cm}^{-1}$ ) experimentados por esta variedad en las tres humedades estudiadas. Valores altos de conductividad eléctrica en semillas, indican que hubo una menor velocidad de restablecimiento de la integridad de las membranas celulares cuando se dio la imbibición y como consecuencia, hay una mayor liberación de iones (Marcos Filho, 2015). Valores superiores a los  $200 \mu\text{S cm}^{-1}$ , son considerados altos y son reflejo de un lote de bajo vigor y mayor deterioro, el cual se puede manifestar de manera más acelerada según las características genéticas de cada variedad (Marcos Filho, 2015), en razón de que ambos lotes eran homogéneos (semilla certificada) y tenían el mismo tiempo de almacenamiento (un año). Hubo una tendencia en ambas variedades de presentar valores altos en humedades menores, como por ejemplo 7 %, pero se requieren más estudios para definir si la humedad para esta especie puede ser un factor que afecte la sensibilidad del resultado de vigor para esta prueba en específico.

Por medio del análisis de imágenes se detectaron diferencias entre las variedades para el inicio del proceso de germinación, tal como fue reportado para semillas de variedades de lenteja (Dell'Aquila, 2004). El AUC indicó mayor velocidad de germinación para la variedad Bangor, que en promedio empezó a germinar a las 48 h, mientras

que Triunfo inició el proceso a las 72 h. Esta información no se detectó en el primer conteo germinación y la prueba oficial de germinación, por lo que el análisis de imágenes brindó información adicional de utilidad que se puede emplear como herramienta para determinar el vigor de semillas de zanahoria, con por ejemplo el inicio, la velocidad y la uniformidad de la germinación, las cuales son características que se obtienen al analizar imágenes con ImageJ y Germinator (Joosen et al., 2010).

El análisis de imágenes se ha utilizado en diferentes especies para determinar el vigor de un lote de semillas, presenta la ventaja de obtenerse un resultado en menor tiempo e incertidumbre que las evaluaciones manuales de analistas de laboratorio (de Marchí & Moure Cicero, 2017; Marcos-Filho et al., 2006). A través de esta investigación, se construyeron curvas para la caracterización del proceso de germinación en semillas de zanahoria, lo que permitió observar diferencias en la velocidad de germinación entre las dos variedades y reducir el tiempo de evaluación que se realiza de forma manual. También se observó mayor velocidad de germinación a menor porcentaje de humedad, sin embargo, reportes en semilla de soya indicaron que no hubo diferencias cuando se probaron las mismas humedades utilizadas en este trabajo (Neves Dias et al., 2018), es posible que el acondicionado a mayores porcentajes de humedad en semillas de un año de almacenamiento, pudo provocar un aumento del deterioro de los lotes utilizados, ya que el deterioro en las semillas envuelve una serie de procesos sucesivos degenerativos, que al inicio se manifiestan con la reducción en la velocidad de germinación (Peske et al., 2019).

La prueba de conductividad eléctrica y el análisis de imágenes detectaron diferencias de vigor entre ambas variedades, lo cual también quedó demostrado por medio del análisis de correlación, en donde se presentaron correlaciones significativas altas entre estas dos variables. De esta forma, el análisis de correlación evidenció que al incrementarse los valores de conductividad eléctrica los valores de AUC disminuyeron, mientras que los valores de t10 y t50 se incrementaron, lo cual indica en esos casos que las semillas germinaron de forma más lenta y, por lo tanto, poseen un menor vigor (da Silva Almeida et al., 2014). Los métodos empleados para determinar el vigor de las semillas pueden presentar variaciones, principalmente cuando las diferencias de vigor son mínimas entre los lotes analizados, sin embargo, se ha reportado que la prueba de conductividad eléctrica es un ensayo eficiente para establecer diferencias de vigor entre lotes de zanahoria y así clasificarlos de acuerdo con su calidad fisiológica (Alves Domiciano et al., 2015).

## Conclusiones

La prueba de conductividad eléctrica y el análisis digital de imágenes permitieron medir el vigor de semillas de zanahoria de las variedades Bangor y Triunfo, y determinar la calidad fisiológica al complementarlo con los resultados de germinación.

Los lotes de las semillas de zanahoria de las variedades Bangor y Triunfo, presentaron un comportamiento distinto en las pruebas de vigor utilizadas, de acuerdo con sus características genéticas y composición química de la semilla, lo que sugiere que se requieren más estudios en otras variedades para establecer las pruebas de vigor estandarizadas para esta especie.

## Referencias

- Al-Maskri, A. Y., Khan, M. M., Khan, I. A., & Al-Habsi, K. (2003). Effect of accelerated ageing on viability, vigor (RGR), lipid peroxidation and leakage in carrot (*Daucus carota* L.) seeds. *International Journal of Agriculture and Biology*, 5(4), 580–584. [http://www.fspublishers.org/published\\_papers/7582\\_.pdf](http://www.fspublishers.org/published_papers/7582_.pdf)

- Alonso-Esquivel, M., Ortiz-López, Y., Ramos-Ramírez, R., Oliva-Díaz, H., & Capote-del Sol, M. (2011). Dormancia en semillas de papaya cv. Maradol roja durante el almacenamiento. *Agronomía Mesoamericana*, 22(2), 351–357. <https://doi.org/10.15517/am.v22i2.11828>
- Álvarez Medina, A., Martínez Solís, J., Rodríguez Pérez, J. E., & PeñaOrtega, M. G. (2011). Relación entre calidad fisiológica de semillas de jitomate (*Lycopersicon esculentum*) con el establecimiento en almácigo. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 17(2), 57–62. <https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2011.17.045>
- Alves Domiciano, C., Olivastro Teixeira, S., Camillo de Carvalho, M. A., Mitsuo Yamashita, O., & Dallacort, R. (2015). Teste de condutividade elétrica para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de cenoura. *Enciclopédia Biosfera*, 11(21), 1809–1817. <http://www.conhecer.org.br/enciclop/2015b/agrarias/teste%20de%20condutividade.pdf>
- Aristondo Etxeberria, J. (2010). *Algoritmo de reconocimiento de forma y color para una plataforma robótica* (Tesis de maestría, Universidad del País Vasco). Repositorio de la Universidad del País Vasco. <https://www.ehu.es/documents/1545039/1570316/10jaristondo.pdf>
- Bolaños Herrera, A. (1998). *Introducción a la olericultura*. Editorial Universidad Estatal a Distancia.
- Cancho Ccaico, S. (2017). *Condiciones que incrementan la germinación de semillas y el vigor de plantines de Cinchona krauseana L. Andersson y C. calisaya Wedd. (Rubiaceae)* [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Mayor de San Marcos] Archivo digital de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/7449>
- da Silva Almeida, A., Deuner, C., Terra Borges, C., Manghella, G. E., Madruga de Tunes, L., & Amaral Villale, F. (2014). Accelerated aging in tomato seeds. *American Journal of Plant Sciences*, 5(11), 1651–1656. <http://doi.org/10.4236/ajps.2014.511179>
- Das, R., Thapa, U., Debnath, S., Lyngdoh, Y. A., & Mallick, D. (2014). Evaluation of french bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes for seed production. *Journal of Applied and Natural Science*, 6(2), 594–598. <https://doi.org/10.31018/jans.v6i2.502>
- de Marchí, J. L., & Moure Cicero, S. (2017). Use of the software seed vigor imaging system (SVIS®) for assessing vigor of carrot. *Scientia Agricola*, 74(6), 469–473. <https://doi.org/10.1590/1678-992X-2016-0220>
- Dell'Aquila, A. (2004). Application of a computer-aided image analysis system to evaluate seed germination under different environmental conditions. *Italian Journal of Agronomy*, 8(1), 51–62.
- del Valle Gallo, C. (2008). *Calidad fisiológica y efecto de la presencia de semillas verdes de soja (Glycine max L.) en lotes destinados a simiente* [Tesis de maestría, Universidad Nacional de Córdoba]. Archivo digital de la Universidad Nacional de Córdoba. <https://bit.ly/3uaD9H3>
- Elias, S. G., Copeland, L. O., McDonald, M. B., & Baalbaki, R. Z. (2012). *Seed testing: Principles and practices*. Michigan State University Press. <https://www.jstor.org/stable/10.14321/j.ctt7zt51m>
- Finch-Savage, W. E., & Bassel, G. W. (2016). Seed vigour and crop establishment: extending performance beyond adaptation. *Journal of Experimental Botany*, 67(3), 567–591. <https://doi.org/10.1093/jxb/erv490>
- Gaviola, J. L. (Ed.). (2013). *Manual de producción de zanahoria*. Ediciones Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. <https://bit.ly/3OSbt1D>

- George, R. A. T. (2009). *Vegetable seed production* (3<sup>th</sup> ed.). CAB International. <https://www.cabi.org/bookshop/book/9781845935214/>
- Gomes Junior, F. G., Carmignani Pescarin Chamma, H. M., & Moure Cicero, S. (2014). Automated image analysis of seedlings for vigor evaluation of common bean seeds. *Acta Scientiarum*, 36(2), 195–200. <https://doi.org/10.4025/actasciagr. v36i2.21957>
- Hernández Zavaleta, J. L. (2015). *Eliminación de latencia en semilla de zacate Rhodes (Chloris gayana L.) utilizando ácido giberélico a 750 ppm a diferentes tiempos de inmersión* [Tesis de pregrado, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro]. Repositorio de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/handle/123456789/7596>
- Hong, T. D., Linington, S., & Ellis, R. H. (1996). *Seed storage behaviour: A compendium* (Handbooks for Genebanks: N° 4). International Plant Genetic Resources Institute. <https://bit.ly/3NwK0Bk>
- International Seed Testing Association. (2017). *International rules for seed testing*. <https://bit.ly/3NtAPSi>
- Jardel Szarecki, V., & Zanatta Aumonde, T. (2018). Adaptability and stability of wheat genotypes according to the phenotypic index of seed vigor. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, 53(06), 727–735. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2018000600009>
- Joosen, R. V. L., Kodde, J., Willems, L. A. J., Ligterink, W., van der Plas, L. H. W., & Hilhorst, H. W. M. (2010). Germinator: a software package for high-throughput scoring and curve fitting of Arabidopsis seed germination. *The Plant Journal*, 62(1), 148–159. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2009.04116.x>
- La Serna Palomino, A., & Román Concha, U. (2009). Técnicas de segmentación en procesamiento digital de imágenes. *Revista de Ingeniería en Sistemas de Informática*, 6(2), 9–16. <https://bit.ly/3y3kAWe>
- Marcos Filho, M. J. (2011). Testes de vigor: dimensão e perspectivas. *Seednews*, 15(1), 22–27. <https://bit.ly/3AbQ9jw>
- Marcos Filho, M. J. (2015). Seed vigor testing: An overview of the past, present and future perspective. *Scientia Agricola*, 72(4), 363–374. <https://doi.org/10.1590/0103-9016-2015-0007>
- Marcos-Filho, M. (2015). *Fisiologia de sementes de plantas cultivadas*. FEALQ. <https://loja.abrates.org.br/fisiologia-de-sementes-de-plantas>
- Marcos-Filho, M. J., Bennett, M. A., McDonald, M. B., Evans, A. F., & Grassbaugh, E. M. (2006). Assessment of melon seed vigour by an automated computer imaging system compared to traditional procedures. *Seed Science and Technology*, 34(2), 485–497. <https://doi.org/10.15258/sst.2006.34.2.23>
- Neumann Silva, V., Benevenga Sarmiento, M., Siveira, A. C., Santos Silva, C., & Moure Cicero, S. (2013). Avaliação da morfologia interna de sementes de *Acca sellowiana* O. Berg por meio de análise de imagens. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 35(4), 1158–1169. <https://doi.org/10.1590/S0100-29452013000400027>
- Neves Dias, M. A., Mocelin Urano, A. K., Bueno da Silva, D., & Moure Cicero, S. (2018). Influence of soybean seed moisture content in the response to seed treatment in soybean. *Revista de Agricultura Neotropical*, 5(2), 91–96. <https://doi.org/10.32404/rean.v5i2.1415>
- Oliveira Diniz, F., Silva Reis, M., dos Santos Dias, L. A., Fontes Araújo, E., Sedyama, T., & Atsumi Sedyama, C. (2013). Physiological quality of soybean seeds of cultivars submitted to harvesting delay and its association with seedling emergence in the field. *Journal of Seed Science*, 35(2), 147–152. <https://doi.org/10.1590/S2317-15372013000200002>

- Peske, S. T., Villela, F. A., & Meneghello, G. E. (2019). *Sementes: fundamentos científicos e tecnológicos* (4ª ed.). Becker e Peske.
- Rizvi, A., Ashraf, M., & Ghafoor, A. (2013). Genetic divergence for seedling traits in tomato (*Solanum lycopersicum*). *International Journal of Agriculture and Biology*, 15, 451–457. [http://www.fspublishers.org/published\\_papers/64275\\_.pdf](http://www.fspublishers.org/published_papers/64275_.pdf)
- Shah, F. S., Watson, C. E., & Cabrera, E. R. (2002). Seed vigor testing of subtropical corn hybrids. *Mississippi Agricultural and Forestry Experiment Station*, 23(2), 1–6. <https://www.mafes.msstate.edu/publications/research-reports/tr23-2.pdf>
- Schindelin, J., Arganda-Carreras, I., Frise, E., Kaynig, V., Longair, M., Pietzsch, T., Preibisch, S., Rueden, C., Saalfeld, S., Schmid, B., Tinevez, J.-Y., White, D. J., Hartenstein, V., Eliceiri, K., Tomancak, P., & Cardona, A. (2012). Fiji: An open-source platform for biological-image analysis. *Nature Methods*, 9, 676–682. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2019>
- Sediyama, T. (Ed.). (2013). *Tecnologias de produção de sementes de soja* (3ª ed.). Editora Mecenas.
- Silva, V. N., & Cicero, S. M. (2014). Análise de imagens de plântulas para avaliação do potencial fisiológico de sementes de berinjela. *Horticultura Brasileira*, 32(2), 145–151. <https://doi.org/10.1590/S0102-05362014000200004>
- Tatić, M., Balešević-Tubić, S., Dorđević, V., Miklič, V., Vujaković, M., & Đukić, V. (2012). Vigor of sunflower and soybean aging seed. *HELIA*, 35(56), 119–126. <https://doi.org/10.2298/hel1256119t>
- Thakur, A. K., Vikram, A., Kanwar, H. S., & Bhardwaj, R. K. (2015). Effect of storage and umbel orders on seed quality of european carrot cultivar solan rachna under cold desert conditions of himachal pradesh. *International Journal of Bio-resource and Stress Management*, 6(1), 63–67. <http://doi.org/10.5958/0976-4038.2015.00011.1>
- Terra Werner, E., Lopes, J. C., Gomes Junior, D., Luber, J., & Teixeira do Amaral, J. A. (2013). Accelerated aging test to evaluate the quality of crambe (*Crambe abyssinica* Hochst-Brassicaceae) seed physiology. *Idesia (Arica)*, 31(1), 35–43. <http://doi.org/10.4067/S0718-34292013000100005>
- Torres, S. B. (2002). *Métodos para avaliação do potencial fisiológico de sementes de melão* [Dissertação doutorado, Universidade de São Paulo]. Repositório da Universidade de São Paulo. <https://bit.ly/3xZT4ci>
- Yousof, F. I., Abeer El-Ward, A. I. & Abo EL-Dahab, M. S. (2016). Efficiency of some seed vigor tests for field emergence prediction of onion seed. *Journal of Plant Production*, 7(11), 1173–1178. <https://doi.org/10.21608/jpp.2016.46962>