

Efecto de diferentes potenciales osmóticos utilizando polietilenglicol sobre la germinación y el crecimiento de plántulas de tres variedades de soja

Effect of different osmotic potentials using polyethylene glycol on the germination and growth of seedlings of three varieties of soybean

Maura Isabel Díaz Lezcano^{1*}, Victor Rodolfo Almada Vera¹, Luis Roberto González Segnana¹ y Ulises Riveros Insfrán¹

¹ Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Agrarias. San Lorenzo, Paraguay.

***Autor para correspondencia:**
maura.diaz@agr.una.py

Conflicto de interés:
Los autores declaran no tener conflicto de interés.

Licencia:
Creative Commons CC-BY

Historial:
Recibido: 27/03/17;
Aceptado: 17/05/19

Periodo de Publicación:
Enero-Junio de 2019

RESUMEN

Uno de los principales problemas en la producción agrícola lo constituye la variación en la cantidad y distribución de las lluvias, lo que da lugar a períodos de sequía que afectan la producción de los cultivos y su sostenibilidad. El objetivo de la presente investigación fue evaluar la germinación y el crecimiento de tres variedades de soja con diferentes potenciales osmóticos obtenidos con polietilenglicol. El experimento fue realizado en el Laboratorio de Análisis y Calidad de Semillas de la Facultad de Ciencias Agrarias, de la Universidad Nacional de Asunción. Se estudiaron tres variedades de soja (RA-626, FCEP-55 y A-5543) expuestas a cinco niveles osmóticos (0,0; -0,2; -0,4; -0,6 y -0,8 MPa), obtenidas a partir de la fórmula de Michell y Kaufman, siendo las variables analizadas: porcentaje de germinación, altura de las plantas y materia seca, y tolerancia bajo condiciones de estrés hídrico. El diseño utilizado fue completamente al azar con arreglo factorial. Los datos fueron analizados a través de análisis de varianza y por el test de Duncan al 5%. Los resultados mostraron que la disminución en el potencial osmótico inducido por el PEG 6000, resulta negativo en la simulación de sequía en semillas de soja. El potencial osmótico de -0,60 MPa inducido por el PEG 6000 impide la germinación y vigor de las semillas de soja. Se concluye que la variedad A-5543 fue la que presentó mayor tolerancia bajo condiciones de estrés hídrico en estudio.

Palabras clave: tolerancia, estrés hídrico, simulación de sequía, semillas, soja

ABSTRACT

One of the main problems in agricultural production is the variation in the amount and distribution of rainfall, resulting in periods of drought affecting crop production and sustainability. The aim of this study was to evaluate the germination and growth of three soybean varieties in different osmotic potentials obtained with polyethylene glycol. The experiment was performed at the Laboratory of Analysis and Quality of Seeds, Faculty of Agrarian Sciences of the National University of Asunción. Three soybean varieties were studied (RA-626, FCEP-55 and A-5543) exposed to five osmotic levels (0,0; -0,2; -0,4; -0,6 y -0,8 MPa), deduced from the formula Michell and Kaufman. The variables analyzed were: percentage of germination, height of the plants and dry matter, and tolerance under water stress conditions. The design used was completely random with a factorial arrangement. The treatments will be randomized complete factorial arrangement. The data were analyzed through analysis of variance and by the Duncan test at 5%. The results showed that the decrease in the osmotic potential induced by PEG6000, is negative in the simulation of drought in soybean seeds. The osmotic potential of -0.60MPa induced by PEG 6000 prevents germination and vigor of soybean seeds. It is concluded that variety A-5543 showed the greatest tolerance under water stress conditions under study.

Key words: tolerance, water stress, drought simulation, seeds, soybean

INTRODUCCIÓN

La importancia de la soja (*Glycine max* (L) Merrill) aporta valores nutricionales a la alimentación humana mediante el uso del grano como alimento directo o derivados de procesos sofisticados de aislamiento de elementos funcionales, preparados especiales, transformación física y química; así mismo los subproductos de la soja como los aceites vegetales y harina de soja son exportados generando ingresos extra prediales a sus productores y al país (Ministerio de Agricultura y Ganadería, 2010).

La soja se ha convertido en la más importante de las oleaginosas cultivadas a nivel mundial en las últimas tres décadas y es muy utilizada como fuente de proteínas y de aceite vegetal comestible. Para su cultivo se dispone de un paquete de herramientas tecnológicas muy desarrollado, pero requiere del suministro de semillas de alta calidad en cantidad suficiente para mantener el área sembrada (Pérez et al., 2010).

En la agricultura los períodos de sequía afectan la producción de los cultivos y su sostenibilidad. A nivel mundial se están evaluando diferentes especies y cultivares, con el propósito de seleccionar las de mejor comportamiento frente al estrés que contribuyan a la tolerancia a la sequía (Moreno et al., 2001).

Los períodos de sequía como consecuencia de la desigual distribución de la lluvia afectan la producción de los cultivos y su sostenibilidad; la elección de especies productivas que lo toleren constituye un desafío en pos del cual se está trabajando a nivel mundial.

El déficit hídrico afecta el crecimiento y rendimiento del cultivo de soja a través de su acción sobre la fotosíntesis (economía del carbono) y la fijación biológica del nitrógeno (economía del nitrógeno). En verano, al acentuarse el déficit hídrico en el suelo con el paso de los días sin lluvia, la fijación biológica cae antes que la fotosíntesis (Santos, 1996).

La demanda atmosférica es un factor de gran importancia ya que determina la cantidad de agua que requiere un cultivo de soja para su máxima producción; la misma dependerá de la radiación incidente, de la temperatura, de la humedad relativa del aire y del viento. Al aumentar, la planta de soja evapotranspira una mayor cantidad de

agua, hasta un cierto límite fijado por el potencial hídrico de sus hojas. A medida que la soja alarga su ciclo, aumenta la cantidad total de agua consumida. El largo del ciclo de un cultivo de soja variará fundamentalmente con la fecha de siembra y con la sensibilidad al fotoperiodo del cultivar utilizado (Andriani, 2002).

Según el Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (2009), el cultivo de soja, en lo que respecta a sus requerimientos hídricos, presenta dos periodos críticos bien definidos, el primero entre la siembra y la emergencia y el segundo durante el llenado de las vainas. El déficit hídrico afecta el crecimiento de la soja y la formación temprana de la vaina, causando reducciones significativas del número y peso de las semillas y hace más temprana la maduración de las vainas, lo cual disminuye el rendimiento del grano por unidad de superficie.

Según el mismo autor, también se reduce el área foliar y la biomasa en la semilla disminuye a consecuencia de bajas tasas fotosintéticas, reducción en la suplencia de asimilados e inhibición del metabolismo de la semilla, siendo más sensibles al déficit hídrico las vainas situadas en ramas que las del tallo principal. La soja es altamente sensible al déficit hídrico, con umbral crítico de desarrollo durante el llenado de la semilla, por lo que cuando el agua del suelo disminuye por debajo de 60%, se compromete la fijación de nitrógeno la cual debe ser maximizada en esta etapa, disminuyendo el rendimiento potencial.

La germinación de semillas de soja en ambiente con restricción hídrica, como en solución con Polietilenglicol - PEG 6000, puede considerarse un método procedimiento prometedor (Moraes y Menezes, 2003). En ese sentido, el objetivo de la presente investigación fue evaluar la germinación y el crecimiento de tres variedades de soja con diferentes potenciales osmóticos obtenidos con polietilenglicol

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento fue realizado en el Laboratorio de Análisis y Calidad de Semillas de la Facultad de Ciencias Agrarias, de la Universidad Nacional de Asunción, ubicado en San Lorenzo, Departamento Central.

El ensayo se realizó con un diseño de bloques completos al azar con arreglo factorial, obteniendo

dos factores, uno de ellos constituido por cinco niveles, es decir soluciones con potenciales osmóticos diferentes, inducidos por el PEG (Polietilenglicol) 6000 (0; -0,2; -0,4; -0,6; -0,8 MPa) y el otro factor por tres variedades de soja (FCEP-55, RA-626, A-5543), tal como puede observarse en la Tabla 1. Por cada tratamiento se utilizaron 50 semillas, con cuatro repeticiones. Al quinto día se evaluó el porcentaje de vigor mediante energía germinativa al día 5 y al octavo día el porcentaje de germinación, aplicando la prueba del papel impregnado con agua destilada y PEG 6000. La altura de las plántulas (AP) y acumulación de biomasa seca (MS) fueron obtenidos al octavo día.

Para la evaluación de la longitud y peso seco de plántulas, fue aplicada la metodología propuesta por Krzyzanowski, Vieira y Franca (1999), utilizando cuatro réplicas de 25 semillas por tratamiento por lote, sobre papel gerbox con la adición de 2,25 veces el peso del agua en relación al peso del papel utilizado. Las mediciones se tomaron después de 8 días del experimento y los resultados expresados en cm y en mg, respectivamente.

Se seleccionaron semillas de las variedades FCEP-55, A-5543, RA-626, las cuales se colocaron a germinar en papel germitest y se humedecieron con una solución de PEG-6000 (*Polyethylenglycol*, P.M. 6000) para simular el estrés de sequía, según el método de Michel y Kauffman, a presiones osmóticas de (0,0; -0,2; -0,4; -0,6 y -0,8 MPa), y un testigo con agua destilada de 0 MPa, como puede observarse en la Tabla 1. Los rollos fueron colocados en bolsas de plásticos y llevados al germinador a 25°C.

Tabla 1. Concentraciones de polietilenglicol 6000 (PEG 6000) necesarias para obtener los potenciales osmóticos deseados a 20 °C, deducidas de la fórmula de Michel y Kaufmann (1973).

Potencial deseado (MPa)	Concentración de PEG 6000 en agua (g.kg ⁻¹)
-0,2	90
-0,4	169
-0,6	253
-0,8	338

Luego de 8 días de haber colocado las semillas en el papel germitest, con sus respectivas bolsas de plástico y llevadas al germinador a 25°C, se evaluó

el porcentaje de germinación y se procedió a la medición de altura de la planta y masa seca.

Las variables medidas fueron: porcentaje de vigor según el Manual de Pruebas de Vigor (Hampton, TeKrony & ISTA Vigour Test Committee, 1995), porcentaje de germinación de acuerdo con las Reglas de Análisis de Semillas (Prochazkova & Sutherland, 1996), altura de plantas y peso de masa seca. Las unidades de medidas utilizadas fueron el centímetro para medir la altura de la planta y la longitud de raíz, y medida en gramos para los pesos de masa seca.

Se estableció para cada variedad la ecuación de regresión lineal entre los indicadores evaluados, expresados como porcentaje del control y los niveles de presión osmótica, y se evaluaron estadísticamente por análisis de varianza simple y rangos múltiples de Duncan. Los valores obtenidos fueron sometidos a análisis de varianza mediante Test de Fisher y en caso de encontrar diferencias entre tratamientos, se realizarán las comparaciones de medias por el test de Duncan, con un nivel de significancia del 5%. El análisis estadístico se realizó con el programa INFOSTAT.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Puede ser observado que los tratamientos utilizados como testigo (T1, T2, T3,) que fueron las semillas de tres diferentes variedades (A-5543, RA-626, FCEP-55), puestas en agua destilada con un nivel de potencial osmótico igual a 0 MPa, presentaron mayor porcentaje de vigor y germinación que los demás tratamientos, existiendo diferencias significativas entre los tratamientos (Tabla 2).

Esto coincide con los resultados obtenidos por Giudice, Sedyama y Mosquim (1999), en el cual trataron semillas de dos cultivares de soja en disoluciones de PEG 6000 a -0.8 MPa durante 4 días a 15, 25, 30 y 35°C, usando un control de tratamiento en agua destilada, obtuvieron los mejores resultados de germinación con las semillas tratadas en agua destilada. Los valores obtenidos a través de las pruebas de vigor y germinación a partir de los tratamientos (T10, T11, T12, T13, T14, T15), las cuales fueron semillas sometidas a potenciales osmóticos negativos de -0,6 MPa y -0,8 MPa, fueron nulos, coincidiendo con los resultados obtenidos por Santos (1996), el cual verificó la reducción del porcentaje de vigor y germinación de lotes de soja a partir de -0,6 MPa, inducidos por el PEG 6000.

En general, tanto el vigor como la germinación de las semillas de las variedades de FCEP-55, RA-626, A-5543, disminuyeron a partir del potencial de -0,2 MPa. La reducción del vigor y la germinación de semillas sometidas a restricción de agua, provoca, en esas condiciones, el prolongamiento de la fase estacionaria del proceso de imbibición, debido a la reducción de la actividad enzimática, la cual lleva a un menor desarrollo meristemático, y, consecuentemente, el atraso de la salida de la raíz primaria (Falleri, 1994).

En la Figura 1 se demuestra que la variedad A-5543 fue la que mejor resultado obtuvo con respecto a la prueba de vigor, que fue registrado al quinto día de estar en la cámara de germinación a 25°C, como corresponde para este análisis (Krzyzanowski, Vieira y Franca, 1999).

Con las variedades RA-626 y FCEP-55 se obtuvieron resultados menos favorables, siendo la variedad RA-626 seguida de la variedad A-5543. La variedad FCEP-55 no respondió satisfactoriamente al test de vigor bajo condiciones osmóticas inducidos por el PEG 6000.

Tabla 2. Valores de desempeño de vigor y germinación de tres variedades de soja, sometidos a estrés osmótico en diferentes potenciales obtenidos con PEG 6000

Tratamientos	P. Osmótico (MPa)	Variedad	Vigor (%)	Germinación (%)
T1	0,00	FCEP-55	78,00 ^B	82,00 ^{BC}
T2	0,00	RA-626	84,00 ^{AB}	88,00 ^{AB}
T3	0,00	A-5543	90,00 ^A	94,00 ^A
T4	-0,20	FCEP-55	52,00 ^D	60,00 ^D
T5	-0,20	RA-626	55,00 ^D	64,00 ^D
T6	-0,20	A-5543	65,00 ^C	75,00 ^C
T7	-0,40	FCEP-55	25,00 ^F	31,00 ^F
T8	-0,40	RA-626	31,00 ^{EF}	36,00 ^F
T9	-0,40	A-5543	36,00 ^E	44,00 ^E
T10	-0,60	FCEP-55	0,00 ^G	0,00 ^G
T11	-0,60	RA-626	0,00 ^G	0,00 ^G
T12	-0,60	A-5543	0,00 ^G	0,00 ^G
T13	-0,80	FCEP-55	0,00 ^G	0,00 ^G
T14	-0,80	RA-626	0,00 ^G	0,00 ^G
T15	-0,80	A-5543	0,00 ^G	0,00 ^G

Medias con una letra iguales entre líneas no son significativamente diferentes ($p < 0,05$)

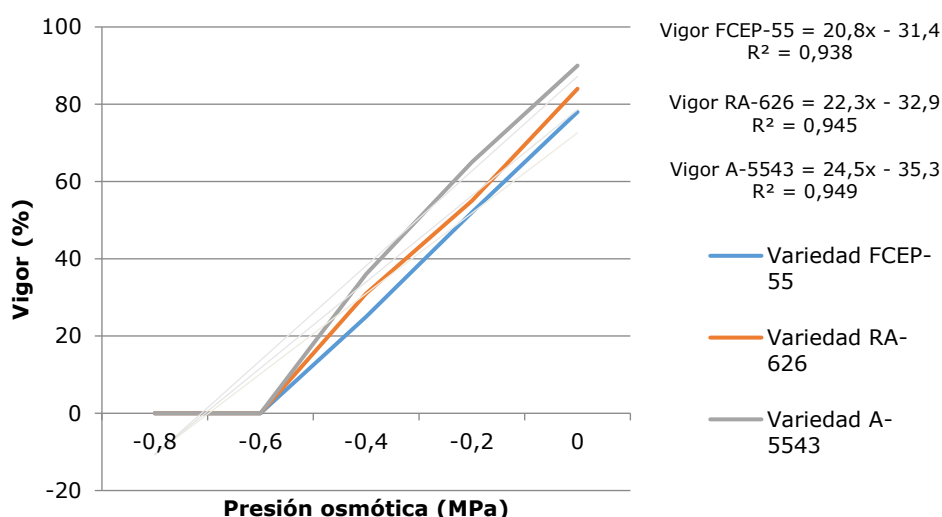


Figura 1. Vigor de las diferentes variedades bajo condiciones osmóticas inducidas por PEG 6000.

Según Vieira, Bittencourt y Panobianco (2001), todo programa de control de calidad en la producción de semillas de un determinado cultivo, debe incluir el vigor como una característica principal, que debe ser evaluada en condiciones de laboratorio, debido a que este parámetro comprende las propiedades que determinan el potencial para un crecimiento rápido y uniforme, y el desarrollo de plantas consideradas normales bajo un amplio rango de condiciones de climas y suelos.

Con relación a la germinación, en la Figura 2 se observa que en promedio la mayor variación por unidad de aumento de la presión osmótica se espera en la variedad A-5543, cuyo modelo de regresión lineal obtenida estima un aumento en 26,3%, mientras que en las variedades RA-626 y FCEP-55 se estimaron aumentos en 24% y 22,4% respectivamente. En todas las variedades se halló una relación directa entre la germinación y la presión osmótica.

Las pruebas realizadas a las plántulas bajo estrés osmótico variable pueden conducir a la selección de genotipos adaptados a diferentes regiones geográficas. La tolerancia de muchas especies, como la soja, a la sequía durante la etapa de germinación constituye una ventaja porque conlleva al establecimiento de estas especies en zonas donde otras, susceptibles a la sequía, no puede colonizar y

permiten la ocupación rápida del espacio (Radhouane, 2007).

El porcentaje germinativo y su evaluación, bajo condiciones de estrés osmótico en potenciales osmóticos que van desde 0,0 a -1,5 MPa, mostró que la respuesta de semillas se ve influenciada, entre otros factores, por el déficit hídrico (Moraes y Menezes, 2003). En la realización de este procedimiento, varios compuestos químicos se han usado en la simulación de estrés de agua, incluyendo el polietilenglicol, agente osmótico sin efectos adversos sobre la semilla de soja, químicamente inerte, no tóxico, de alto peso molecular y por lo tanto de difícil absorción, y ha proporcionado a la restricción hídrica de semillas, dependiendo de la concentración (Braccini, 1996).

Resultados observados en la Figura 2 muestran una reducción en el porcentaje de germinación de lotes de semillas de soja, conforme las soluciones osmóticas disminuían. La causa de esta disminución del poder germinativo en las semillas sometidas a simulación de sequía es la falta de alimentación para el inicio de la germinación, ya que esta energía se obtiene a partir de aumentos en el ritmo de la respiración después de la imbibición, que se produce más lenta en presencia de potenciales osmóticos bajos (Mayer y Poljakoff, 1989).

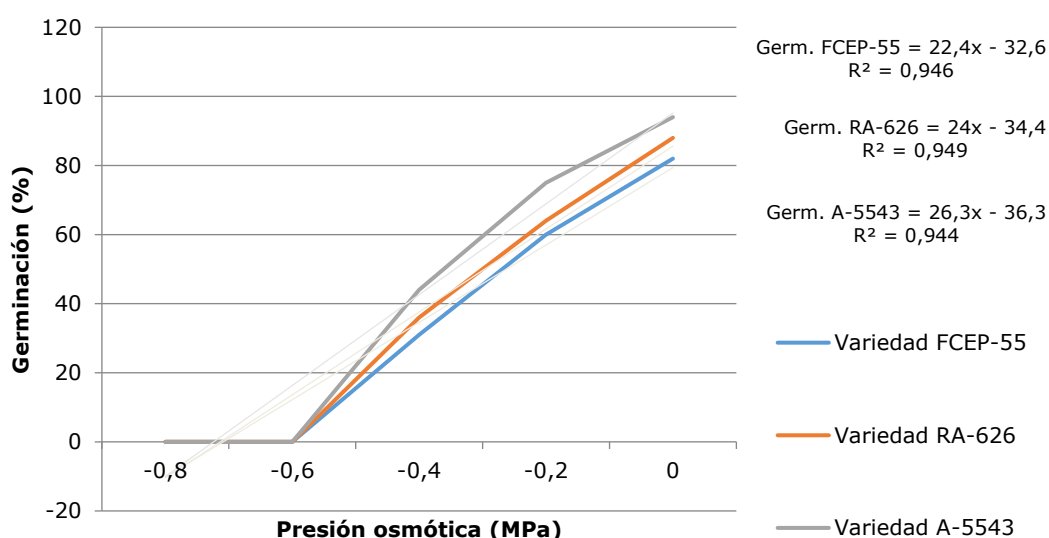


Figura 2. Porcentaje de germinación de tres variedades de soja bajo condiciones osmóticas inducidas por PEG 6000.

Una mayor reducción en el porcentaje de germinación entre los tratamientos con agua destilada (0 MPa) ocurrió en las variedades RA-626 Y FCEP-55, siendo el 88% y 82% de germinación respectivamente, no obstante, la variedad A-5543 fue la que mejor respuesta presentó, llegando al 94% de germinación.

En general, las tres variedades puestas en la cámara de germinación comenzaron a reducirse a partir de potencial de -0,20 y -0,4 MPa, respectivamente, siendo más drásticos en potenciales que varían de -0,6 y -0,8 MPa, coincidiendo con los resultados de McDonald,

Vertucci y Roos (1988), que encontraron que la germinación de las semillas de soja en soluciones de polietilenglicol era muy reducida, a partir de -0,511 MPa. Esto puede estar relacionado con hecho de que las soluciones de PEG muestran alta viscosidad, puede comprometer la disponibilidad de O₂ en las semillas, reduciendo su germinación (Yoon, Lang y Cobb, 1997). Los tratamientos utilizados como testigo (T1, T6, T11) de tres diferentes variedades (A-5543, RA-626, FCEP 55), y el T11 fueron los que presentaron mayor condición favorable con respecto a la altura de plantas y materia seca, existiendo diferencias significativas entre los tratamientos (Tabla 3).

Tabla 3. Respuesta de tres variedades de soja con respecto a la altura de la planta (cm) y materia seca (g) en bajo el nivel osmótico (0 MPa).

Tratamiento	Repetición	Variedad	P.osmótico (MPa)	A.P. (cm)	M.S. (g)
T1	1	1	0	17	9
	2	1	0	15	8
	3	1	0	14	9
	4	1	0	16	10
Promedio				15,5	9
T6	1	2	0	12	7
	2	2	0	14	7
	3	2	0	16	9
	4	2	0	13	6
Promedio				13,75	7,25
T11	1	3	0	23	12
	2	3	0	26	13
	3	3	0	21	12
	4	3	0	22	11
Promedio				23	11

Tabla 4. Respuesta de tres variedades de soja con respecto a la altura de plantas (A. P.) y materia seca (M. S.) bajo diferentes niveles osmóticos inducidos por el PEG 6000.

Tratamiento	P.O. (MPa)	Variedad	A. P.	M. S.
T1	0,00	FCEP-55	15,50 ^A	9,00 ^A
T2	0,00	RA-626	13,75 ^A	7,25 ^A
T3	0,00	A-5543	23,00 ^B	12,00 ^B
T4	-0,20	FCEP-55	0,00 ^C	0,00 ^C
T5	-0,20	RA-626	0,00 ^C	0,00 ^C
T6	-0,20	A-5543	0,00 ^C	0,00 ^C
T7	-0,40	FCEP-55	0,00 ^C	0,00 ^C
T8	-0,40	RA-626	0,00 ^C	0,00 ^C
T9	-0,40	A-5543	0,00 ^C	0,00 ^C
T10	-0,60	FCEP-55	0,00 ^C	0,00 ^C
T11	-0,60	RA-626	0,00 ^C	0,00 ^C
T12	-0,60	A-5543	0,00 ^C	0,00 ^C
T13	-0,80	FCEP-55	0,00 ^C	0,00 ^C
T14	-0,80	RA-626	0,00 ^C	0,00 ^C
T15	-0,80	A-5543	0,00 ^C	0,00 ^C

Medias con una letra igual no son significativamente diferentes ($p <= 0,05$)

Se observa que la longitud de plántulas de soja disminuyó a medida que el potencial osmótico disminuyó (Tabla 4), coincidiendo los resultados encontrados por Santos (1996), el cual registró la reducción en la altura de plantas tal cual disminuía el potencial osmótico en dos lotes de semillas de soja. La restricción de agua retarda los procesos fisiológicos y bioquímicos para su normal desarrollo. Dell'aquila (1992) asigna una disminución en el crecimiento a los cambios en la turgencia, debido a la reducción de la síntesis de proteína en el embrión en una situación de estrés hídrico. Con el uso de PEG 6000, la reducción de la longitud de las plántulas fue progresiva desde el potencial cero, con mejor desempeño para la variedad A-5543, y ausente en potenciales osmóticos posteriores, indicando el gran efecto estresante de PEG. Sin embargo, se observó un rendimiento mejorado en la variedad A-5543 en comparación con las variedades RA-626 y FCEP-55. Las reducciones significativas en la longitud de las plántulas fueron también obtenidas por Braccini (1996) a partir de -0,2 MPa.

Del mismo modo, se observa que la masa seca de plántulas disminuyó con la reducción del potencial osmótico. Resultados similares se obtuvieron por Santos (1996) y Braccini (1996). La reducción de peso seco de plántulas en función de la restricción de agua es debido al retardo de los procesos fisiológicos y bioquímicos, la dificultad de hidrólisis y la movilización de las reservas almacenadas en semillas (Bewley, 1994). En cuanto al PEG 6000, se redujo el peso seco de plántulas en forma progresiva en las variedades analizadas, siendo la variedad A-5543 la que mejor resultado obtuvo comparándose con las otras variedades (RA-626 y FCEP-55), las cuales tuvieron un menor porcentaje de materia seca, comportamiento bastante similar a lo que ocurrió con la longitud de las plántulas.

CONCLUSIONES

En la simulación de sequía en semillas de soja A-5543, RA-626 Y FCEP-55 con disminución en el potencial osmótico inducido por el PEG 6000 resulta tener efectos negativos sobre las variedades estudiadas. El potencial osmótico de -0,60 MPa inducido por el PEG 6000 inhibe la germinación y vigor de estas semillas.

La variedad que mejor desempeño obtiene en las pruebas de vigor y germinación es la variedad A-

5543, destacándose frente a las otras variedades de menor resultado.

La altura de plantas y acumulación de materia seca es afectada por la inducción de potenciales osmóticos negativos a partir del PEG 6000, siendo en la variedad A-5543 que se encontraron las de mayor longitud y peso de materia seca.

Es posible concluir que la variedad A-5543 es la que presenta mayor resistencia bajo condiciones de estrés hídrico, y estrés osmótico con polietilenglicol en igualdad de potencial o inferior a -0,6 MPa, siendo este un procedimiento promisorio para la evaluación de vigor y germinación de las semillas de soja.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Andriani, J.M. (2002). *Eficiencia Productiva, Sustentabilidad y Calidad*. Buenos Aires, Argentina: INTA. Recuperdo a partir de: <http://www.inta.gov.ar/ediciones/idia/oleaginosa/soja08.pdf>

Bewley, J. (1994). *Semillas: Fisiología del desarrollo y Germinación*. 2 ed. Nueva York, EEUU: Plenum, 445p.

Braccini, A. (1996). La germinación y el vigor de las semillas de soja bajo estrés hídrico inducido por soluciones de cloruro sódico, manitol y polietilenglicol. *Revista Brasileña de Semillas*, 18(1), 10-16.

Dell'aquila, A. (1992). Water absorption and protein synthesis in germination of wheat embryos under polyethylene glycol osmotic stress. *Annals of Botany*, 69(2), 167-171.

Falleri, F. (1994). Efecto del estrés hídrico en germinación en seis procedencias de *Pinus pinaster* Ait. *Semilla de Ciencia y Tecnología*, 22(3), 591-599.

Giudice, M.P., Sediyaama, C.S. y Mosquim, P.R. (1999). Efecto del condicionamiento osmótico en la germinación de semillas de dos cultivares de soja. *Revista Ceres*, 46, 435-444.

Hampton, J.G., TeKrony, D.M, & ISTA Vigour Test Committee. (1995). *Handbook of Vigour Test Methods*. 3 Ed. Zurich, Switzerland: ISTA, 117 p.

- Krzyzanowski, F., Vieira, R. y Franca, N. (1999). *Vigor de semillas: conceptos y tests*. Londrina, Brasil: Asociación Brasileira de Tecnología de Semillas, Comité de Vigor de Semillas. 218 p.
- Mayer, A. y Poljakoff, A. (1989). *La germinación de semillas*. Oxford: Pergamon, 270 p.
- Mcdonald, M., Vertucci, C. y Roos, E. (1988). La imbibición de la semilla: absorción de agua por partes de semillas. *Crop Science*, 28(6), 993-997.
- Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. (2009). *Regras para análise de sementes*. Brasília, Brasil: MAPA/ACS, 395 p.
- Ministerio de Agricultura y Ganadería. (2010). *Producción de soja en el Paraguay*. Asunción, Paraguay: MAG, 44 p. Recuperado de: <http://www.mag.gov.py/dgp/PARAGUAY%20ISA%202008%202010%2014%2006%2010.pdf>
- Moraes, G.A.F y Menezes; N.L. (2003). Rendimiento de semilla soja bajo diferentes condiciones de potencial osmótico. *Ciencia Rural*, 33(2), 219-226.
- Moreno, I., Cuñarro, R., González, María C., Almenares, J.C., Fitó, E. y González, R. (2001). Comportamiento de tres nuevas variedades de arroz para condiciones de secano favorecido en la Isla de la Juventud. *Cultivos Tropicales*, 22(1), 27-30.
- Prochazkova, Z. & Sutherland, J. (1996). Proceedings of the ISTA Tree Seed Pathology Meeting. Czech Republic: ISTA, 114 p.
- Radhouane, L. (2007). Respuesta del tunecino autóctono mijo perla (*Pennisetum Glaucon*) al estrés hídrico inducido por el polietilenglicol (PEG) 6000. *African Journal of Biotechnology*, 6(9), 1102-1105.
- Santos, V. (1996). Utilización del estrés salino en la evaluación de calidad de genotipos de soja (*Glycine max*). *Revista Brasileira de Sementes*, 18(1), 63-72.
- Vieira, R.D., Bittencourt, S.R.M. y Panobianco M. (2001). *Vigor: un componente de la calidad de la semilla*. Londrina, Brasil: Associação Brasileira de Tecnología de Sementes, 199 p.
- Yoon, Y., Lang, H. y Cobb, B. (1997). Soluciones de sal mejora la germinación de las semillas a altas temperaturas. *HortScience*, 32(2), 248-250.