

Variabilidad de la viabilidad y vigor de lotes de semillas de soja con presencia de simientes verdes pertenecientes a cultivares de distintos grupos de maduración producidos en dos fechas de siembra

GALLO, C.¹; ENRICO, J.M.²; CRAVIOTTO, R.¹; ARANGO, M.¹

RESUMEN

Temperaturas superiores a los 32 °C combinadas con estrés hídrico durante el llenado de granos de soja pueden provocar la aparición de semillas verdes. Estas simientes pueden ocasionar fallas en la germinación de los lotes, problemas durante el acondicionamiento y dificultades para el almacenamiento. Los objetivos del presente trabajo fueron determinar la calidad fisiológica de lotes de semillas de soja pertenecientes a distintos grupos de madurez, sembrados en dos fechas de siembras y con distintos contenidos de semillas verdes y estimar la viabilidad y el vigor de las semillas verdes. Se emplearon 5 lotes de semillas de cultivares de grupos de madurez III y IV sembrados tempranamente, con diferentes % de semillas verdes (4, 11, 16, 38 y 53%) y 5 lotes de grupo de madurez VI y VII sembrados tardíamente, con 3, 7, 11, 13 y 19% de semillas verdes. La calidad fisiológica fue evaluada mediante la Prueba Topográfica por Tetrazolio. Se utilizaron 4 repeticiones de 50 semillas para cada cultivar. El porcentaje de daño ambiental fue $\geq 52\%$ en todos los cultivares. En las semillas de los grupos de madurez sembrados tempranamente los daños ambientales fueron extensos y ubicados en el eje embrionario. En las semillas de los grupos de madurez sembrados tardíamente, las lesiones ambientales fueron de poca extensión y superficiales. Las semillas verdes que permanecieron sin tinción en la PTT fueron clasificadas como no viables. Todos los materiales evaluados, presentaron un alto porcentaje de daño ambiental, siendo los cultivares de GM III y IV los que presentaron daños más críticos. Las semillas verdes pueden ser viables cuando el eje embrionario y la zona de unión de éste con los cotiledones no presentan daños profundos ni deterioro fisiológico.

Palabras clave: calidad, semilla, *Glycine max*, tetrazolio, ambiente.

ABSTRACT

Temperatures over 32°C combined with hydric stress during soybean seed filling can cause the appearance of green seeds. These seeds can cause occasional failures in lot germination, problems during conditioning and difficulties in storing. The objectives of the present work were to determine the physiological quality of soybean seed lots belonging to different maturity groups sown in two planting dates and with different contents of green seeds, and to estimate the viability and vigor of the green seeds. Five seed lots from early planting

¹Tecnología de Semillas, INTA EEA Oliveros, Ruta N.º 11, Km 353, 2206 Oliveros, Argentina. Correo electrónico: cgallo@correo.inta.gov.ar

²Manejo de Cultivos, INTA EEA Oliveros, Ruta N.º 11, Km 353, 2206 Oliveros, Argentina. Correo electrónico: jmenrico@correo.inta.gov.ar

maturity groups III and IV cultivars were utilized, with different % of green seeds (4, 11, 16, 38 and 53%) and 5 lots of late planting maturity groups VI and VII, with 3, 7, 11, 13 and 19% of green seeds. Physiological quality was evaluated using the Topographical Tetrazolium Test. Four repetitions of 50 seeds were used for each cultivar. The percentage of environmental damage was $\geq 52\%$ in all cultivars. In seeds from early planting maturity groups, environmental damages were extensive and located in the embryonic axis. In seeds from late planting maturity groups, environmental lesions were less extensive and superficial. Green seeds that were not stained in the TTT were classified as non-viable. All the material evaluated showed a high percentage of environmental damage, but the MG III and IV cultivars presented the greatest critical damage. Green seeds can be viable when the embryonic axis and the proximal area where it joins the cotyledons do not present deep or physiological damage.

Keywords: quality, seed, *Glycine max*, tetrazolium, environment.

INTRODUCCIÓN

Las temperaturas superiores a 32 °C, conjugadas con períodos prolongados de déficit hídrico en el suelo durante el llenado de los granos, son condiciones ambientales que pueden provocar desbalances fisiológicos en las plantas de soja (Wiebold, 2002). Durante la formación de las semillas, los tejidos de las vainas y del tegumento de las simientes se contraen y elongan como resultado de fluctuaciones de humedad y temperatura que ocurren durante todo el día (Arango *et al.*, 2006). Este proceso de hidratación y deshidratación que se produce en las estructuras seminales, origina daños denominados ambientales que afectan a la calidad fisiológica. Frente a estas condiciones estresantes, los mecanismos enzimáticos que degradan los pigmentos clorofilicos acumulados en las semillas durante su desarrollo pueden ver alterado su normal funcionamiento generando la aparición de simientes verdes al final del ciclo del cultivo (Gallo *et al.*, 2009). La viabilidad de las semillas verdes depende de la localización, profundidad y extensión de los tejidos con clorofila. La cantidad de tejido cotiledonar verde puede ser limitante para la germinación ya que indica falta de maduración de esos tejidos y por lo tanto, la movilización de las reservas hacia el eje embrionario puede ser afectada (Zorato *et al.*, 2007). Las semillas verdes también pueden ocasionar problemas durante el acondicionamiento y dificultades para el almacenamiento (Craviotto *et al.*, 2001).

Scheeren *et al.* (2005), estudiaron la relación entre la presencia de clorofila y la maduración de las semillas de soja y evaluaron la calidad fisiológica de las semillas con diferente coloración concluyendo que las simientes verdes poseen una calidad fisiológica inferior a las semillas amarillas. Sin embargo, Craviotto *et al.* (2006a) determinaron que las semillas de soja pueden ser fisiológicamente maduras pero presentar coloración verde en algunas áreas y, por lo tanto, lotes de simientes que presentan elevados contenidos de semillas verdes pueden poseer un alto valor de germinación. Las disímiles condiciones fisiológicas que pueden presentar las semillas verdes conllevan a la necesidad de identificar y cuantificar las simientes verdes capaces de germinar a fin de definir si el destino del lote

de semillas será la siembra. Asimismo, debido a la influencia del ambiente sobre la calidad final de las semillas de soja, la correcta elección del Grupo de Madurez (GM) de los cultivares, y la Fecha de Siembra (FS) adquieren gran importancia en la siembra.

Los objetivos del presente trabajo fueron a) determinar la calidad fisiológica, en términos de viabilidad y vigor, de lotes de semillas de soja pertenecientes a distintos grupos de madurez, sembrados en dos fechas de siembras y con distintos contenidos de semillas verdes y b) estimar la viabilidad y el vigor de las semillas verdes.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo fue realizado en el Laboratorio de Semillas de la Estación Experimental Agropecuaria Oliveros del INTA (EEA Oliveros). Las muestras fueron obtenidas de ensayos de la Red Nacional de Cultivares de Soja en la EEA Oliveros.

Se emplearon 5 lotes de semillas con diferentes contenidos de semillas verdes, pertenecientes a cultivares de GM III y IV sembrados tempranamente el 17 de octubre de 2007 y 5 lotes de semillas de los GM VI y VII sembrados tardíamente el 20 de diciembre de 2007 (tabla 1).

Sobre 50 gramos de semillas enteras se determinó el porcentaje de semillas verdes para cada cultivar. Las semillas con tonalidad verde se separaron manualmente. La identificación de las semillas verdes se realizó de manera visual y fueron seleccionadas todas las simientes con tonalidad verde de diferente intensidad y distribuidas en áreas de distinta extensión sobre el tegumento.

La Viabilidad y el Vigor de las semillas de soja fueron evaluados mediante la Prueba Topográfica por Tetrazolio (PTT). Esta prueba, basada en la reacción de coloración de los tejidos vivos en presencia de una solución de sal de cloruro de 2,3,5-trifenil tetrazolio, permitió además diferenciar distintos tipos de daños en las semillas. En presencia de la solución de la sal de tetrazolio, se expresa la

Cultivar	GM	Semillas Verdes (%)
NK 43	IV	4
SPS 3900	III	11
NK 34	III	16
NK 32	III	38
A 4613	IV	53
TOB 7800	VII	3
RMO 67	VII	7
MERCEDES 76	VII	11
NA 7708 RG	VII	13
A 6411 RG	VI	19

Tabla 1. Cultivares, Grupos de Madurez y Porcentaje de semillas verdes de las muestras analizadas.

actividad de las enzimas respiratorias deshidrogenadas en los tejidos vivos de las semillas. Estas enzimas catalizan la reacción de los iones hidrógeno liberados por la respiración de los tejidos vivos con la sal de tetrazolio, formando una sustancia estable, no difusible, de coloración rosada –rojiza, denominada trifenil formazan que permite distinguir en las semillas a las áreas vivas (áreas de color rojo) de las áreas muertas que no poseen coloración (Hampton y Tekrony, 1995).

Se utilizaron 4 repeticiones de 50 semillas para cada cultivar. Cada repetición fue preacondicionada en rollos de 4 hojas de papel toalla humedecidas a saturación (Scott Brand, Airflex, Kimberly-Clark). Los rollos se colocaron en bolsas de polietileno de 100 micrones y se mantuvieron a temperatura ambiente durante 18 horas (AOSA, 2000). Finalizado el período de preacondicionamiento, se sumergieron las semillas en la solución de tetrazolio al 0.1%, en baño termostático (Vicking, Modelo Masson, Buenos Aires, Argentina) a 35 °C, durante 2.5 horas y en oscuridad. Luego de la incubación, las semillas se enjuagaron con abundante agua corriente y se evaluaron individualmente. Los colores que se observaron en las semillas permitieron identificar distintos estados fisiológicos de las mismas: rosado pálido (tejido sano y vigoroso); rojo intenso (tejido en proceso de deterioro); blanco mate (tejido muerto) y verde (tejido inmaduro).

Las variables observadas en cada semilla fueron: viabilidad, vigor, daños ambientales y semillas verdes sin tinción. Se consideró la extensión, profundidad y la ubicación del tejido deteriorado o muerto y del tejido verde. El daño ambiental fue identificado como fuelles, garras y/o bandas de tejidos muertos en ambos cotiledones (fig.1); y también como tejidos rojos intenso indicando un importante deterioro (fig.2).

Las semillas fueron clasificadas por su viabilidad en cuatro categorías: 1) semillas viables sin defectos, 2) semillas



Figura 1. Semillas teñidas con fuelles de daño ambiental.

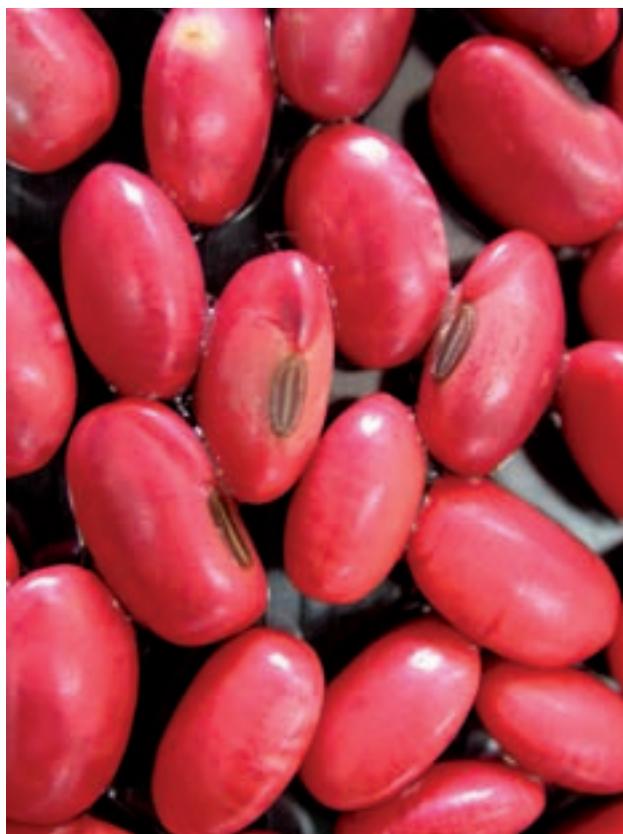


Figura 2. Semillas completamente teñidas con coloración rojo intenso.

viables con defectos leves, 3) semillas viables con defectos moderados y 4) semillas viables con defectos severos.

La clasificación de las semillas en los distintos niveles de viabilidad se realizó según: a) la ausencia o presencia de daño ambiental y/o tejidos verdes sin tinción y su localización, extensión y profundidad; b) el estado fisiológico del eje embrionario y cotiledones según la coloración y c) la homogeneidad y la turgencia de los tejidos (Hampton y Tekrony, 1995).

Los resultados de viabilidad fueron expresados como Porcentaje de Semillas Viables, obtenido de la sumatoria de las cuatro categorías de viabilidad.

Para determinar el vigor, las semillas viables sin defectos fueron consideradas como semillas de vigor alto, mientras que las semillas viables defectos leves y viables defectos moderados fueron consideradas como semillas de vigor medio y vigor bajo respectivamente (Craviotto y Arango, 2006; Craviotto *et al.*, 2008). Se consideraron a las semillas de vigor alto, medio y bajo para calcular el porcentaje de semillas vigorosas.

Los datos se expresaron en porcentajes y fueron transformados usando el arco seno de la raíz cuadrada de la proporción ($\arcsin \sqrt{x/100}$). Se realizó un análisis de inferencia basada en dos muestras (Prueba T), con un nivel de significación del 0.05. Se utilizó el software estadístico InfoStat (InfoStat, Grupo InfoStat/FCA. Universidad Nacional de Córdoba, 2007).

RESULTADOS

Para conocer la disponibilidad hídrica del suelo se utilizaron datos provenientes de balances hídricos diarios de ensayos de seguimiento de agua en el suelo en la EEA Oliveros durante la campaña 2007/08 en cultivos de soja sembrados el 10 de octubre (siembra temprana) (fig.3) y

el 14 de diciembre (siembra tardía) (fig.4). Los cultivares empleados corresponden al GM III y VI.

En la siembra temprana, para los GM III y IV, el período de llenado (R5 – R7) coincidió con el mes de enero y principios de febrero donde se registraron temperaturas máximas superiores a los 30 °C y estrés hídrico. En los cultivares de GM VI y VII, el llenado de granos se produjo con temperaturas máximas que oscilaron entre 27 °C y 32 °C (fig.5). A mediados de marzo, se registraron heladas tempranas que ocasionaron la muerte de plantas antes de finalizar el ciclo del cultivo en los GM VI y VII.

Los gráficos de balance hídrico diario (fig. 3 y 4) muestran la evolución del contenido de agua disponible para el cultivar DM 3700 (GM III) y para el cultivar A 6411 (GM VI) en los que se realizó el seguimiento de humedad durante el ciclo del cultivo (Andriani, 2010). Se observa la línea de capacidad máxima de agua disponible (AUM) del suelo explorado por las raíces y la línea de estrés hídrico (L. Str.) 50% del agua útil máxima, correspondiente a ese volumen de suelo. Cuando el agua disponible en el suelo para los cultivares se encontró por debajo de la línea de estrés hídrico, los mismos se encontraron en déficit hídrico y cuanto mayor es la diferencia mayor es la intensidad del mismo. Los sitios experimentales tuvieron distintas condiciones hídricas en el suelo durante el ciclo del cultivo.

Los datos agrometeorológicos prevalentes durante el período R5 – R7 permitieron concluir que las plantas de todos los materiales sembrados en ambas FS sufrieron estrés hídrico y térmico con distintos niveles de intensidad (fig.5). Los cultivos sembrados tardíamente también sufrieron la ocurrencia de heladas tempranas en R6.

La pérdida de viabilidad y vigor de las semillas de los GM sembrados tempranamente estaría explicada por el alto porcentaje de semillas con daños ambientales (entre 54% y 85%) ubicados en zonas críticas para la viabilidad como son la región de unión del eje embrionario con los

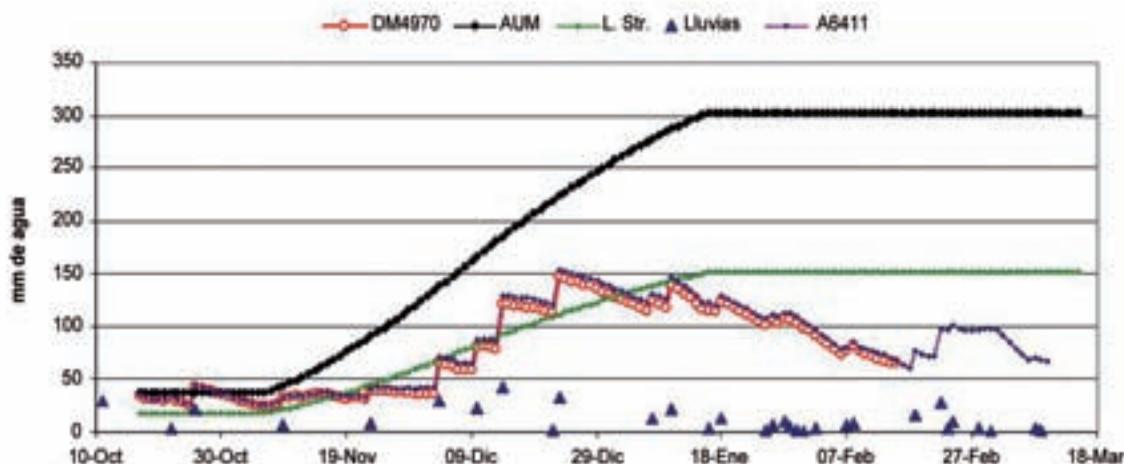


Figura 3. Balance hídrico diario en soja temprana. AUM: agua útil máxima. L.Str.: límite de estrés hídrico. Agua útil existente para cultivares DM 3700 y A 6411.

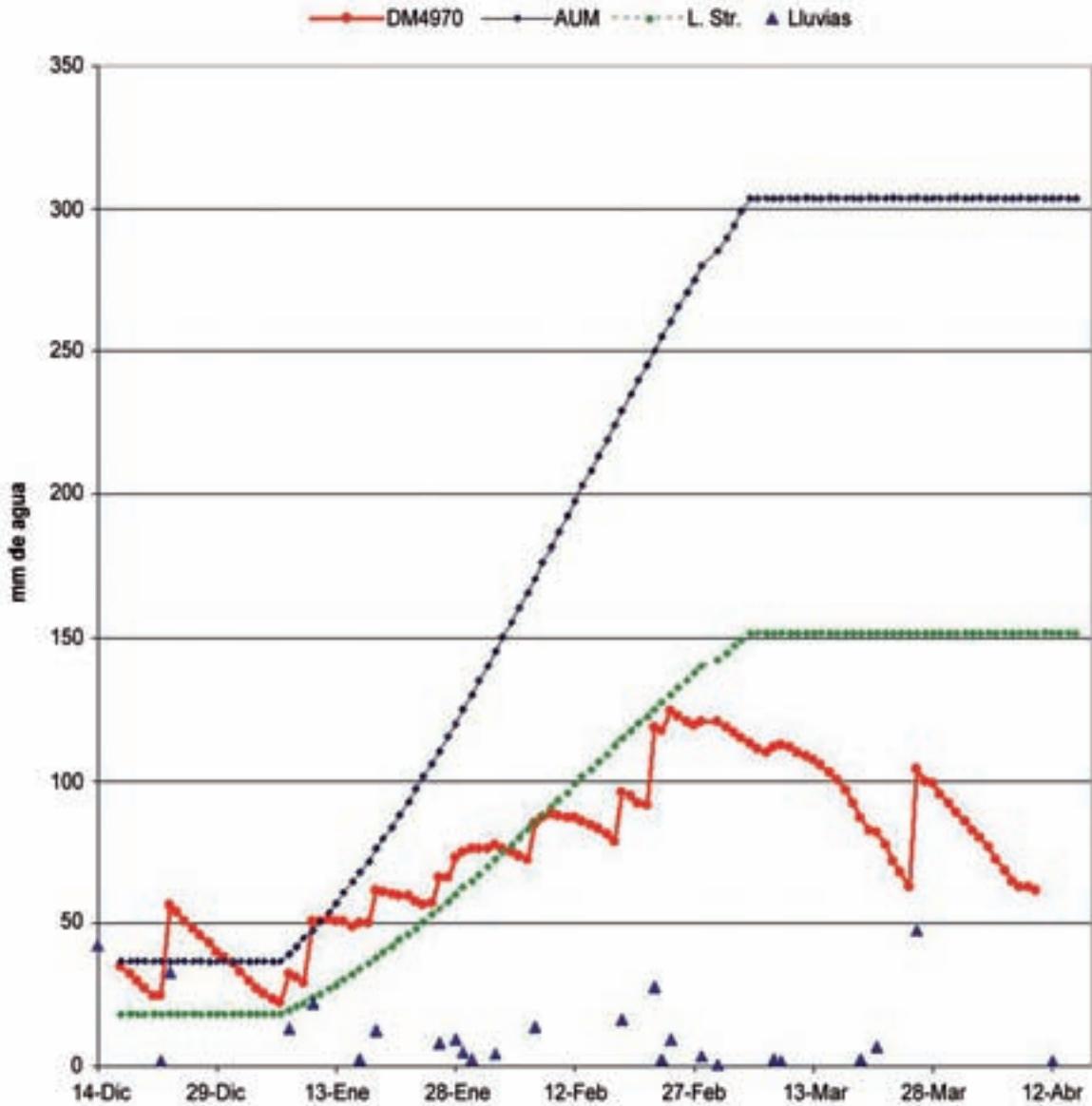


Figura 4. Balance hídrico diario en soja de 2da. AUM: agua útil máxima. L.Str.: límite de estrés hídrico. Agua útil existente para cultivar DM 4970.

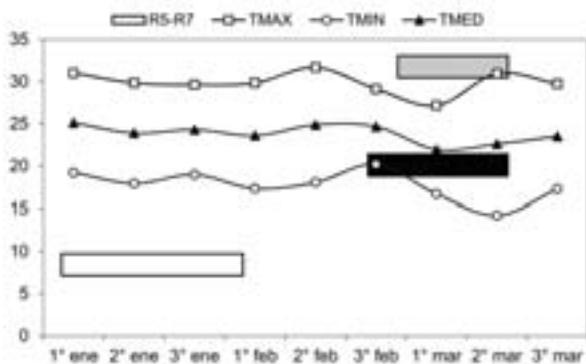


Figura 5. Temperaturas medias máximas (Tmax), medias (Tmed) y mínima (Tmin) durante el período de los estadios R5-R7 de los cultivares de GM III y IV (rectángulo blanco), GM VI (rectángulo negro) y GM VII (rectángulo gris). Campaña 2007/08.

cotiledones, el cilindro central y corteza del eje radícula-hipocótilo, y la plúmula y que permitieron clasificarlas como no viables (tabla 2).

Los cv A 4613, NK 32 y NK 34 presentaron los valores más altos de viabilidad respecto al resto de los cvs sembrados en la misma fecha. Con respecto al vigor, el cv. A 4613 difirió significativamente del resto de los cv manifestando el mayor % de semillas vigorosas. Sin embargo, en todos los cvs, los valores de viabilidad y vigor indicaron baja calidad fisiológica.

En todos los materiales evaluados, independientemente del cultivar y de la FS, se observaron valores de daño ambiental $\geq 52\%$ (tabla 2). Sin embargo, en los cultivares sembrados tempranamente el daño ambiental fue de gran extensión y estuvo ubicado en el eje embrionario afectando a la corteza y al cilindro central, explicando los bajos

Fecha de Siembra	Cultivar	GM	Viabilidad (%)	Vigor (%)	Daño Ambiental (&)	Semillas verdes sin tinción (%)
Temprana	NK 43	IV	42b	28c	83b	29c
	SPS 3900	III	42b	26bc	85b	19bc
	NK 34	III	52ab	35b	74b	7a
	NK 32	III	57a	34bc	85b	9a
	A 4613	IV	61a	55a	54a	4a
Tardía	TOB 7800	VII	87c	80bc	65b	1a
	RMO 67	VII	84bc	72abcd	92a	7b
	MERCEDES 76	VII	73abc	62ab	76ab	9bc
	NA 7708 RG	VII	71abc	66abc	52b	7b
	A 6411 RG	VI	74a	56a	92a	1a

Valores acompañados de una misma letra, en la columna y para una misma FS, no difieren entre si por la prueba T($\alpha=0,05$)

Tabla 2. Porcentajes de Viabilidad, Vigor, Daño Ambiental y Semillas con tejidos verdes sin tinción, de semillas de soja de diferentes cultivares y grupos de madurez (GM), sembrados en dos fechas de siembra (temprana y tardía) obtenidos en la Prueba por Tetrazolío.



Figura 6. Semilla verde no viable. Eje embrionario muy deteriorado y cotiledones sin tinción.



Figura 7. Semilla verde no viable. Eje embrionario muerto y cotiledones sin tinción.

valores de viabilidad y vigor. El cv. A 4613 se diferenció estadísticamente del resto de los materiales manifestando el menor % de semillas dañadas por el ambiente.

En el caso de los materiales sembrados tardíamente, el daño ambiental se caracterizó por ser poco extenso y superficial, permitiendo clasificar a las semillas como viables con defectos leves o viables con defectos moderados. Estos dos niveles de viabilidad no fueron limitantes de la

producción de plántulas y permitieron explicar los valores de viabilidad superiores al 70% (tabla 2).

Con respecto al porcentaje de simientes verdes sin tinción, los materiales evaluados en la FS tardía, manifestaron valores comprendidos entre el 1% y el 9%. En la FS temprana, con excepción de los cultivares NK 43 y SPS 3900 que presentaron 29% y 19% respectivamente, los demás cvs no difirieron estadísticamente de entre (tabla 2).

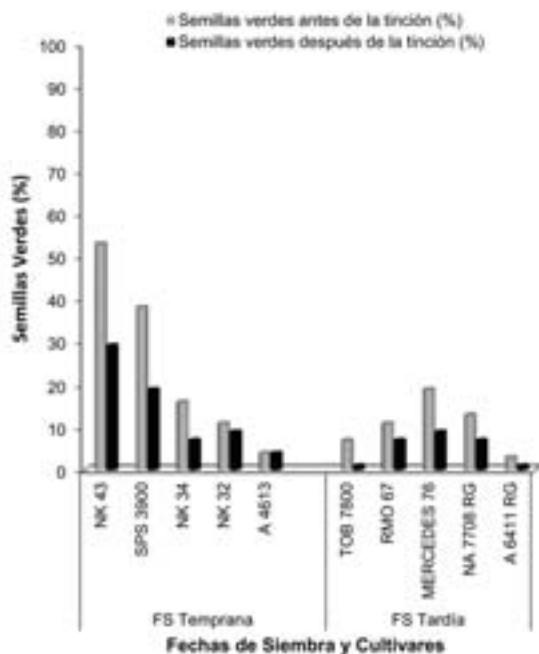


Figura 8. Porcentajes de semillas verdes antes de la tinción y después de la tinción en la Prueba de Tetrazolio correspondiente a diferentes cultivares sembrados en dos fechas de siembra (FS).

En todas las muestras analizadas, las semillas verdes que permanecieron sin tinción en la PTT fueron clasificadas como no viables debido a la existencia de ejes embrionarios con falta total de tinción y presencia de tejidos flácidos, o bien con coloración rojo intensa que denota un activo deterioro. Se observaron semillas verdes con ejes embrionarios deteriorados o muertos y cotiledones con coloración verde en la totalidad de su superficie (fig. 6 y fig. 7).

Los porcentajes de semillas verdes observados en las muestras antes de iniciar la PTT y los porcentajes de semillas con tejidos verdes sin tinción presentes al finalizar el tiempo de tinción difieren estadísticamente entre sí en ambas FS, siendo el valor $p \leq 0.0001$ para la FS temprana y $p = 0.0131$ para la FS tardía (fig.8)

Las muestras analizadas presentaron diferentes contenidos de semillas verdes antes de ser sometidas a la PTT, siendo los cultivares SPS 3900 y NK 43, pertenecientes a los GM III y IV respectivamente, los que manifestaron los mayores porcentajes de semillas verdes (38% y 53% respectivamente). El resto de los cultivares manifestaron contenidos de semillas verdes iguales o inferiores a 19%, independientemente de la FS (fig.8).

En los materiales de la FS temprana, los cultivares NK 43, SPS 3900 y NK 34, aproximadamente el 50% de las semillas verdes de las muestras permanecieron sin tinción al final de la PTT, y fueron clasificadas como semillas no viables. Por otro lado, en el cv NK 32 el 81% de las semillas verdes de la muestra permaneció sin tinción y en el cv A 4613 todas las semillas verdes de la muestra fueron no viables debido a que sus tejidos verdes permanecieron sin tinción al final de la PTT (fig.8).

En la FS tardía, los cultivares RMO 67, Mercedes 76 y NA 7708 RG tuvieron aproximadamente un 50% de las semillas verdes de la muestra que no se tiñeron al final de la PTT; mientras que en los cultivares TOB 7800 y A 6411 RG solamente el 14% y 33% de las semillas verdes de la muestra respectivamente no se tiñeron al final de la PTT (fig.8).

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Entre los cultivares estudiados se encontraron diferencias significativas con respecto al contenido de semillas verdes, siendo SPS 3900 y NK 43, pertenecientes a los GM III y IV los que manifestaron los valores más elevados. Ensayos realizados por Cencig y Villar (2006) también demostraron que los cultivares de GM III y GM IV sembrados en fechas tempranas muestran mayor tendencia a presentar elevados porcentajes de granos verdes.

Los resultados obtenidos indicarían que los tejidos verdes pueden poseer actividad respiratoria y teñirse durante la PTT, mientras que otras estructuras seminales verdes son incapaces de reducir la sal de tetrazolio, permaneciendo sin tinción. Estos resultados coinciden con los obtenidos por Craviotto *et al.*, (2006b), quienes identificaron un alto porcentaje de semillas de soja con grandes áreas de color verde que no lograron alcanzar la tinción característica del tetrazolio. La ausencia de tinción de estos tejidos verdes demostró fallas en la reducción de la sal de tetrazolio a formazan por parte del sistema enzimático respiratorio de las semillas verdes.

Además de las particularidades manifestadas por las semillas verdes respecto a la tinción de los tejidos verdes, el daño ambiental se manifestó con iguales síntomas en todas las semillas del lote, independientemente del grado de madurez de los tejidos seminales. Sin embargo, la influencia del daño ambiental sobre la pérdida de viabilidad y vigor dependió de la estructura seminal afectada por el mismo. Así también fue manifestado por França Neto *et al.* (2005) y Zorato *et al.* (2007) quienes observaron semillas de soja con elevados porcentajes de daño ambiental, y argumentaron que según la intensidad del daño ambiental sobre estructuras seminales esenciales, se produce una reducción del vigor y de la germinación de los lotes de semillas. Según Craviotto *et al.* (2008), el grado de penetración del daño en el interior del eje radícula-hipocótilo, y que afecte la integridad de la corteza y del cilindro central, redundará en un grave defecto para la futura plántula e incluso la no producción de ella.

Todos los materiales evaluados, independientemente de la fecha de siembra, presentaron un alto porcentaje de daño ambiental. Este daño se manifestó con diferente nivel de gravedad, siendo los cultivares de GM III y IV los que presentaron daños más críticos para la viabilidad y el vigor, reduciendo la calidad fisiológica.

Los cultivares NK 43 y SPS 3900 presentaron los mayores niveles de semillas verdes no viables y de daño ambiental y la calidad fisiológica más baja respecto al resto de los cultivares.

El porcentaje de semillas verdes no viables fue variable entre los materiales evaluados, independientemente del contenido de semillas verdes inicial. Esto permite concluir que las semillas verdes de soja pueden ser viables cuando el eje embrionario y la zona de unión de éste con los cotiledones no presentan daños profundos ni deterioro fisiológico.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Ing. Agr. M.Sc. José Andriani por el aporte de los datos agrometeorológicos.

BIBLIOGRAFÍA

- ANDRIANI, J. 2010. BAHICU. Software Balance Hídrico de Cultivos Extensivos. INTA, Argentina.
- ARANGO, M.R.; SALINAS, A.R.; CRAVIOTTO, R.M.; FERRARI, S.A.; BISARO, V.; MONTERO, M.S. 2006. Description of the environmental damage on soybean seeds (*Glycine max* (L) Merr). *Seed Science and Technology*, 34: 133 – 141.
- AOSA. 2000. Association of Official Seed Analysts. *Tetrazolium Testing Handbook*, 294 p.
- CENCIG, G.F.; VILLAR EZCURRA, J.L. 2006. Efecto de la fecha de siembra y del grupo de maduración sobre la manifestación de grano verde y grano dañado en soja, campaña 2004/05. III Congreso de Soja del Mercosur, Rosario, Argentina, pp. 13 -16.
- CRAVIOTTO, R.M.; ARANGO, M.R. 2001. Calidad de semilla 2001. Odisea de la soja. *Revista APOSGRAN*, 2:10-13.
- CRAVIOTTO, R.M.; ARANGO, M.R. 2006a. Simiente de soja: Nuevos patrones en gestión de calidad por tetrazolio. III Congreso de Soja del MERCOSUR, Rosario, Argentina, pp. 141-145.
- CRAVIOTTO, R.M.; SALINAS, A.R.; ARANGO, M.R.; GALLO, C. 2006b. Diagnóstico por tetrazolio en semillas de soja verdes arrugadas y abolladas. III Congreso de Soja del MERCOSUR, Rosario, Argentina. pp.146 – 149.
- CRAVIOTTO, R.M.; ARANGO, M.R.; GALLO, C. 2008. Prueba Topográfica por Tetrazolio en Soja. *Revista Análisis de Semillas. Suplemento especial N.º 1. 1.º ed.*, Rosario, Argentina 96 p.
- FRANÇANETO, J.B.; PÁDUA, G.P.; CARVALHO, M.L.M.; COSTA, O.; BRUMATTI, P.S.R.; KRZYZANOWSKI, F.C.; COSTA, N.P.; HENNING, A.A.; SANCHES, D.P. 2005. Semente esverdeada de soja e sua qualidade fisiológica. *EMBRAPA Soja. Circular Técnica N.º 38*. p.8
- GALLO, C.; CRAVIOTTO, R.M.; ARANGO, M.R.; GONZALEZ, L.A. 2009. Un problema de calidad: semillas verdes de soja. *Revista Análisis de Semillas* 3 (2), 56 a 60.
- HAMPTON, J.G.; TEKRONY, D.M. 1995. *Handbook of vigour test methods*. International Seed Testing Association. 3º ed. Zurich. 117 p.
- INFOSTAT. 2007. InfoStat, versión 2007. Grupo InfoStat/FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Ed. Brujas, Córdoba, Argentina.
- SCHEEREN, B.R.; TOLENTINO, C.F.; RODRIGUES, E.B. 2005. Calidad fisiológica de semillas verdes de soja en función a la coloración del tegumento. *Informativo ABRATES* 15. p.140.
- WIEBOLD B. 2002. Soybean plants killed before maturity possess grain that remains green. (<http://www.plantsci.missouri.edu/soyx/soyfacts/green.PDF>, verificado: abril de 2002).
- ZORATO, M.F.; PESKE, S.T.; TAKEDA, C.; FRANÇA NETO, J.B. 2007. Sementes esverdeadas em soja: Testes alternativos para determinar a sua qualidade. *Revista Brasileira de Sementes* 29, 01-10.