

Calidad de semillas de *Aspidosperma quebracho-blanco* Schlecht.

Quality of Aspidosperma quebracho blanco Schlecht. seeds

C. ALZUGARAY¹; N. J. CARNEVALE^{1,2}; A. R. SALINAS^{1,2} y R. PIOLI¹

Recibido en agosto de 2005; aceptado en noviembre de 2006

RESUMEN

Aspidosperma quebracho-blanco Schlecht (quebracho blanco) es un árbol característico del Parque Chaqueño. En Argentina, el quebracho blanco se halla en bosques que han sido sometidos a una intensa explotación. El objetivo de este trabajo fue evaluar la calidad fisiológica de las semillas de *A. quebracho-blanco* cosechadas en el año 2000. Las semillas se evaluaron a través de la prueba topográfica por Tetrazolio (TZ), la prueba de Germinación y el Vigor mediante el Índice de velocidad de germinación (IVG) y el Tiempo medio de germinación máxima (TMG) a los 3, 12 y 18 meses luego de la cosecha. Se evaluó la incidencia de patógenos en las semillas a los 3 meses de cosechadas. La viabilidad por TZ fue de 74, 54 y 25 % en las tres fechas evaluadas. La germinación fue de 51 % a los 3 meses y disminuyó significativamente a 23 % a los 18 meses. El IVG y el TMG mostraron el mayor vigor de las semillas a los 3 meses de la cosecha, observándose diferencias significativas con las restantes fechas. La incidencia de patógenos fue mínima por lo que la moderada germinación inicial (51 %) no estuvo asociada a la misma.

Palabras clave: semillas forestales, viabilidad, germinación, vigor

ABSTRACT

Aspidosperma quebracho-blanco Schlecht (quebracho blanco) is a typical tree of the Parque Chaqueño. In Argentina, *A. quebracho-blanco* is found in forests that have been overexploited. The objective of this research was to evaluate the physiological quality of *A. quebracho-blanco* seeds harvested in 2000. The seeds were evaluated by tetrazolium test (TZ), standard germination tests, and for vigor by the germination velocity index (GVI) and average period of maximum germination (APMG) after 3, 12, and 18 months following harvest. Incidence of pathogens was determined in seeds three months after harvest. Tetrazolium viability was 74, 54 and 25% at the three dates. After three months of storage, 51% of the seeds germinated, but only 23% germinated after 18 months storage. Seeds tested 3 months after harvest showed the greatest vigor index (GVI and APMG). Since pathogen incidence was minimum, the moderate germination (51%) was not found to be associated with it.

Key words: forestal seeds, viability, germination, vigor

1. INTRODUCCION

Aspidosperma quebracho-blanco (familia Apocinaceae) es una especie característica de la provincia Chaqueña, región que se extiende por el sur de Bolivia, el oeste del Paraguay y el norte de Argentina (Cabrera y Willink, 1980) aunque en Argentina se extiende a zonas de transición con el Monte y la Mesopotamia (Roig y Roig, 1962; Prado, 1991). *A. quebracho-blanco* es un árbol cuyos ejemplares adultos llegan a los 20 m de altura y 1 m de diámetro de tronco, aunque en un clima xerófilo puede reducir su altura a 7 m o menos. Los frutos son

¹ Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Rosario (UNR).

² Consejo de Investigaciones de la Universidad Nacional de Rosario. Campo Experimental Villarino. C.C.14. S2125ZAA. Zavalla. Santa Fe, Argentina. Email: calzugar@sede.unr.edu.ar; ncarneva@citynet.net.ar; arsalinas@sede.unr.edu.ar; rpioli@ciudad.com

cápsulas leñosas, aovadas, de 7 a 11 cm de longitud por 4 a 6 cm de ancho y 1 a 2 cm de espesor. Las semillas, suborbiculares, de diámetro entre 5 y 7 cm, fuertemente comprimidas, presentan un delgado tegumento que se prolonga en forma de ala membranosa (Orfila, 1995). La floración de esta especie se inicia a principios del verano, madurando los frutos a fines de invierno, con algunas variaciones según el año climático o la zona donde se encuentre. Su madera pesada posee múltiples aplicaciones y su corteza contiene sustancias alucinógenas y 26 alcaloides identificados, por lo que en otros países se comercializa como medicinal (Ragonese y Milano, 1984; Marzocca, 1993). Existe escasa información acerca de las características reproductivas de esta especie y generalmente está vinculada a aspectos tales como la rápida pérdida del poder germinativo de sus semillas y el escaso vigor de las plántulas (Orfila, 1995). Respecto de la ecología y del manejo de *A. quebracho-blanco*, en bosques naturales existen observaciones que muestran a esta especie como oportunista y capaz de germinar e instalarse luego de un disturbio importante como el fuego (Del Castillo *et al.*, 1998). Otros autores consideran que *A. quebracho-blanco* es una especie tardío sucesional y que requiere de mecanismos de facilitación para instalarse (Barchuk *et al.*, 1998; Barchuk y Díaz, 2000). Dada la importancia de esta especie y la extensiva tala a que es y ha sido sometida (Bercovich, 2000) se considera necesario conocer las posibilidades de su reproducción para reforestación en bosques degradados o plantación en viveros comerciales.

El objetivo de este trabajo fue evaluar la calidad fisiológica de las semillas de *A. quebracho-blanco* de una misma cosecha por un período de 18 meses.

2. METODOLOGÍA

El sitio de recolección de las semillas fue la Estación Experimental Dr. Tito Livio Copa en Las Gamas, localidad de Vera, provincia de Santa Fe, Argentina (29° 30' L S; 60° 45' LO). La comunidad característica de este sitio es el "quebrachal" de *Schinopsis balansae* (Lewis y Pire, 1981) constituida por dos estratos arbóreos, el más alto generalmente está compuesto por *Schinopsis balansae*, *A. quebracho-blanco* y *Caesalpinia paraguariensis* y el más bajo por Mimosoideas, *Schinus* y *Celtis spp.* Los quebrachales se ubican sobre suelos salino-sódicos (Mussetti y Alconchel, 1986), cuya limitante es la baja permeabilidad en superficie por los altos tenores de limo (67-68 %). El clima es subhúmedo-húmedo, mesotermal, con poca o ninguna deficiencia de agua. Las temperaturas medias de enero se sitúan entre las isolíneas de 26 y 27 ° C y las medias de julio entre 13 y 14 ° C. Las precipitaciones medias anuales oscilan entre los 1000 y 1100 mm (Cáceres, 1980).

Las cápsulas de *A. quebracho-blanco* se cosecharon a principios de agosto del año 2000. Los árboles fueron seleccionados por su porte, sanidad, accesibilidad y producción de semillas. Luego se colocaron en cámara a 3 ° C en frascos de vidrio (Ellis *et al.*, 1985) hasta el comienzo de las pruebas, que fueron conducidas en los laboratorios de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Rosario; Zavalla, Santa Fe, Argentina y en el Laboratorio de semillas de la Estación Experimental Agropecuaria Oliveros del INTA, Oliveros, Santa Fe, Argentina. Se midieron con calibre dos diámetros del embrión y dos diámetros del ala de las semillas. Se realizaron las siguientes pruebas: análisis de pureza físico-botánica; peso (g) de 1000 semillas y contenido de humedad (%) siguiendo las reglas de análisis de semillas (Internacional Seed Testing Association, 1996). La viabilidad se analizó por la prueba topográfica por tetrazolio y se realizaron las pruebas de germinación y vigor. Se determinó la incidencia de patógenos en semillas.

Prueba Topográfica por tetrazolio: Las semillas se trataron con la sal de 2, 3, 5 trifenil cloruro de tetrazolio a una concentración de 0,1 %, utilizándose cuatro repeticiones de 50 semillas cada una. Las semillas se hidrataron previamente entre papeles por 24 horas y se eliminaron completamente los tegumentos. Las semillas así tratadas se incubaron en la solución

de tetrazolio en estufa a 30 ° C durante 24 horas, según Moore (1985) y Mudrovitsch de Bittencourt y Vieira (1999). Las semillas se evaluaron a los tres, doce y dieciocho meses de cosechadas y los resultados se expresaron en porcentaje de semillas viables. Se describieron los patrones de coloración resultantes y luego se colocaron las semillas a germinar.

Germinación y evaluación de plántulas: Esta especie no está listada en los manuales de tecnología de semillas (Ellis *et al.*, 1985; Internacional Seed Testing Association, 1991) para los protocolos de germinación, pero existen recomendaciones para algunos géneros de la familia Apocinaceas que se utilizaron como referencias básicas. Las pruebas de germinación se condujeron según las especificaciones del manual de semillas de árboles y arbustos (Internacional Seed Testing Association, 1991) con 4 réplicas de 50 semillas cada una. Las semillas se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 2 % por dos minutos y se colocaron a germinar en cajas plásticas transparentes con arena a capacidad de campo. Los ensayos se realizaron en cámaras de germinación con un fotoperíodo de 12 horas y una temperatura de 25 ° C. Las semillas se evaluaron a los tres, doce y dieciocho meses de cosechadas. La evaluación de las plántulas se realizó cada 7 días durante 15 días según indicaciones del manual de evaluación de plántulas (Association Official Seed Analysts, 1992). Los resultados de la germinación se expresaron como porcentaje de plántulas normales y se describieron plántulas normales y anormales.

Pruebas de vigor: Las pruebas de vigor realizadas fueron el Índice de velocidad de germinación (IVG) y el Tiempo medio de germinación máxima (TMG). Para determinar el IVG se procedió a colocar las semillas en cajas plásticas con arena a capacidad de campo y en cámara con un fotoperíodo de 12 horas y una temperatura constante de 25° C. Se registró diariamente la germinación fisiológica durante 15 días, utilizándose 4 repeticiones de 50 semillas. Estas se consideraron germinadas cuando las raíces primarias alcanzaron una longitud de 2 mm. El IVG se calculó según indicaciones de Silva y Nakagawa (1995). El TMG se calculó a partir del IVG.

$$IVG = \frac{\sum Ci}{\sum Ci * Ti} \quad TMG = \frac{\sum Ci * Ti}{\sum Ci}$$

Donde:

Ci = número de semillas germinadas por día.

Ti = número de días desde el comienzo del ensayo en que germinan Ci semillas.

Determinación de incidencia de patógenos en semillas: Las semillas se desinfectaron superficialmente con hipoclorito de sodio al 2 % durante 1 minuto. Se sembraron 100 semillas (5 semillas por caja) en un medio agar papa glucosado al 2 % con 0,2 % de ácido láctico y se incubaron durante siete días a 25 ± 1°C con alternancia de 12 horas de luz cercana a ultravioleta (NUV) y oscuridad (Pioli *et al.*, 2000). La identificación de los patógenos fúngicos se realizó por observación de las características morfológicas de las colonias, sus fructificaciones y esporas y se denominaron de acuerdo a Rossman *et al.* (1994). Los valores medios de incidencia (I) de cada enfermedad se calcularon relacionando el número de semillas colonizadas por un patógeno determinado, con el número total de semillas evaluadas. Los resultados se expresaron como porcentaje de incidencia (% I).

Análisis estadístico: Los resultados de las pruebas de germinación y TZ se sometieron a las pruebas normalidad y de homogeneidad de variancia y se transformaron utilizando $\arcsen \sqrt{x/100}$. Para las pruebas de TZ, de germinación y de vigor se utilizó un diseño estadístico completamente aleatorizado, realizándose el análisis de la variancia y comparando las medias de los tratamientos a través de la prueba de Duncan al nivel del 5 % de probabilidad. La prueba de TZ se correlacionó con la germinación usando el método de Pearson.

3. RESULTADOS

Las semillas tienen forma suborbicular y el tegumento externo se expande formando un ala característica en este género. Las medidas promedio de las semillas se observan en la Tabla 1.

Tabla 1: medidas de semillas de quebracho blanco cosecha 2000

Embrión		
Diámetro menor (cm)	Diámetro mayor (cm)	Superficie (cm²)
1,71 ± 0,19	1,9 ± 0,19	2,33 ± 0,52
Semilla completa		
Diámetro menor (cm)	Diámetro mayor (cm)	Superficie (cm²)
4,33 ± 0,37	4,33 ± 0,37	18,94 ± 2,58

La pureza físico- botánica fue de 99,9 %. La ínfima fracción de impurezas correspondió a restos de alas de las semillas que son muy livianas. El peso de 1000 semillas fue de 134 gramos con 7.463 semillas por kilogramo. El porcentaje de humedad fue de 7,2 %.

En la prueba de TZ se obtuvieron patrones característicos para esta especie (Figura 1). Las semillas viables de mayor tamaño se tiñeron uniformemente de color rosa muy claro con buena consistencia de tejidos y originaron plántulas normales. Hubo semillas viables que presentaron áreas de tinción rosa intenso mezcladas con áreas de tonos rosa claro (mosaicos). En este grupo de semillas consideradas viables por la prueba de TZ, la germinación posterior a que fueron sometidas evidenció la presencia de plántulas anormales de cotiledones acartuchados o de plántulas sin raíz primaria. Las semillas teñidas en exceso (rojo intenso) en el eje embrionario o en gran parte de los cotiledones resultaron ser no viables, y resultaron en plántulas sin raíz, sin embrión o con los cotiledones completamente acartuchados o necrosados. Las semillas no teñidas mostraron tejidos sin turgencia, generalmente acumularon líquido entre el embrión y el tegumento interno y siempre fueron de menor tamaño. Algunas de estas semillas tiñeron sus raíces de distintos tonos de rosa y al ponerlas a germinar, mostraron actividad meristemática, pero se detenían en ese primer momento de elongación de la raíz primaria. La mayoría de las semillas no viables por TZ resultaron ser éstas últimas y el alto porcentaje de tejidos muertos evidenció fallas durante la maduración. Los porcentajes de viabilidad por Tetrazolio se observan en la Figura 2. A los tres meses de la cosecha el porcentaje de viabilidad fue de 74 % y disminuyó significativamente a los 12 y 18 meses de almacenamiento de las semillas. A los 12 meses de la cosecha hubo una mayor presencia de mosaicos y de semillas no teñidas y a los 18 meses de la cosecha sólo se tiñeron aquellas semillas que luego germinaron. Hubo correlación altamente significativa entre la prueba de viabilidad por TZ y la prueba de germinación ($r=0,92$; $p<0,0001$).

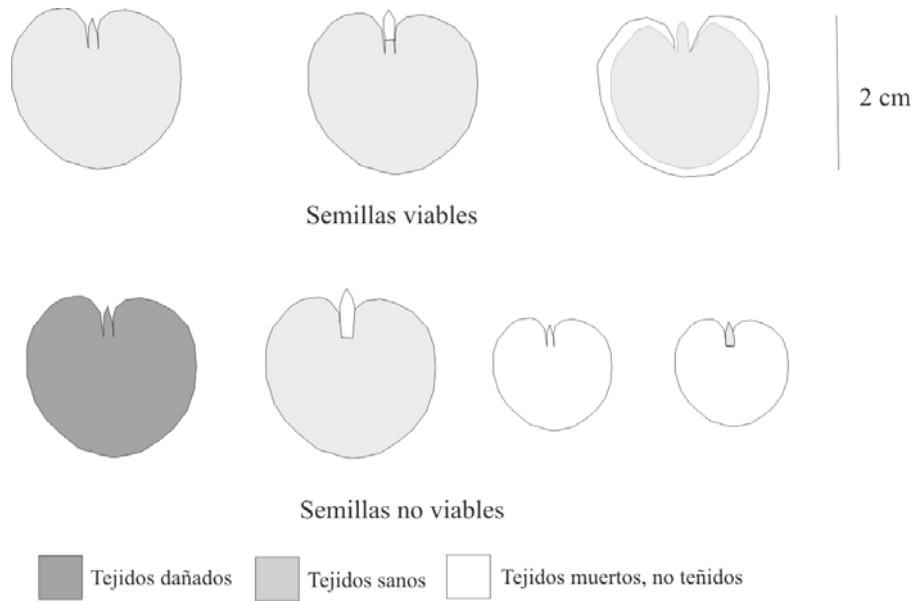


Figura 1: Patrón de la prueba topográfica por tetrazolio en semillas de *Aspidosperma quebracho-blanco*

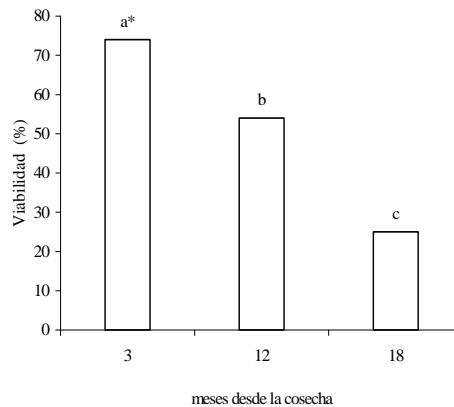


Figura 2: Viabilidad por Tetrazolio (%) en semillas de *A. quebracho-blanco* cosecha 2000, a los 3, 12 y 18 meses desde la cosecha. *Medias seguidas de igual letra, no difieren significativamente al 0,05 % de probabilidad (Duncan).

Los valores de germinación se observan en la Figura 3. Se observó un 51 % de germinación a los 3 meses de la cosecha, valor que disminuyó a un 23 % a los 18 meses de la cosecha de las semillas ($p < 0,01$). La germinación es epigea y las reservas se encuentran en los cotiledones. El epicótilo usualmente no muestra ningún desarrollo durante el período de la prueba. Las plántulas normales en la prueba de germinación presentaron raíz primaria bien desarrollada, raíces secundarias, hipocótilo y los dos cotiledones expandidos. También se consideraron normales a las plántulas que presentaron un solo cotiledón o los dos cotiledones levemente acartuchados en los bordes, con raíz primaria, raíz secundaria e hipocótilo. El sector acartuchado de los cotiledones mostró una débil coloración verde. Plántulas anormales fueron aquellas cuyos cotiledones emergieron de los tegumentos sin raíz primaria o sin eje embrionario; con raíz primaria y con los cotiledones completamente acartuchados o plegados; plántulas cuya raíz presentó geotropismo negativo; plántulas con más de un tercio de la superficie de los cotiledones sin clorofila (Figura 4).

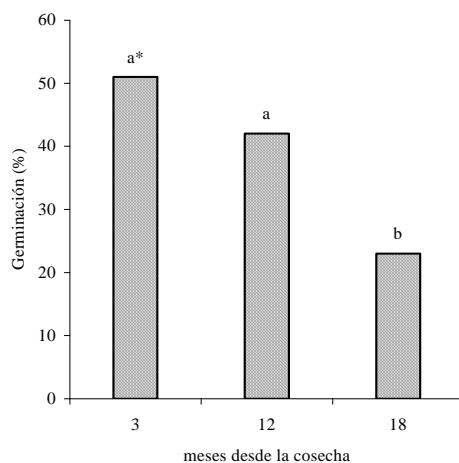


Figura 3: Germinación (%) en semillas de *A. quebracho-blanco* cosecha 2000, a los 3, 12 y 18 meses desde la cosecha. *Medias seguidas de igual letra, no difieren significativamente al 0,05 % de probabilidad (Duncan).

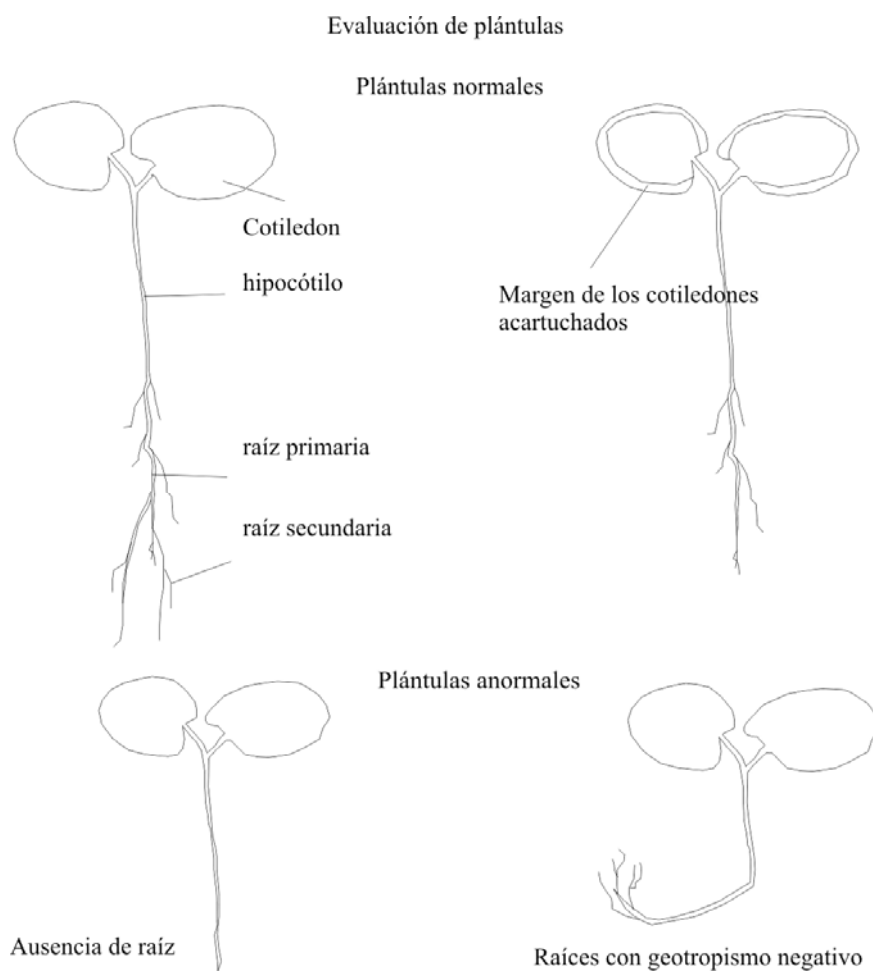


Figura 4: Patrón de evaluación de plántulas de *Aspidosperma quebracho-blanco* en la prueba de germinación.

Con relación al vigor, el TMG resultó el indicador más sensible pues mostró diferencias significativas para los tres momentos evaluados. El IVG mostró diferencias significativas recién a los 18 meses de cosechadas las semillas. Con ambos indicadores se evidenció una progresiva disminución del vigor (Figura 5).

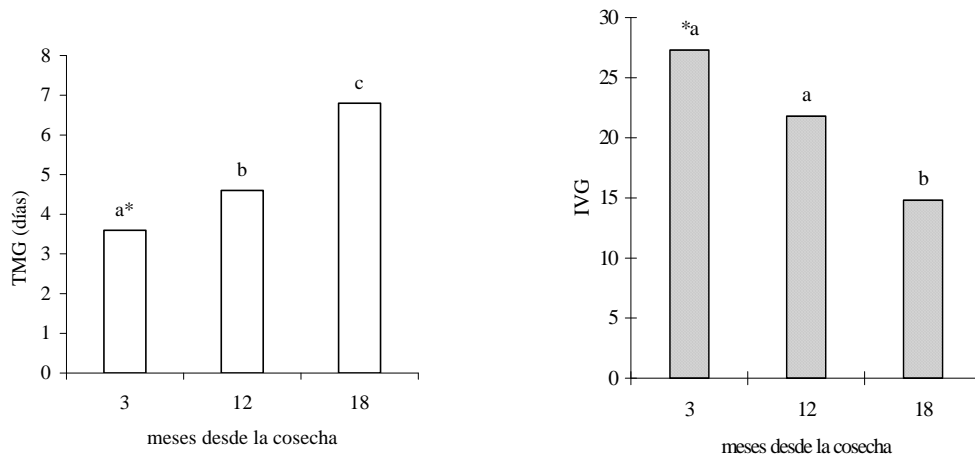


Figura 5: Índice de velocidad de germinación (IVG) y Tiempo medio de germinación máxima (TMG en días) en semillas de *A. quebracho-blanco* cosecha 2000, a los 3, 12 y 18 meses desde la cosecha. *Medias seguidas de igual letra no difieren significativamente al 0,05 % de probabilidad (Duncan).

La incidencia total de patógenos fue del 5 %, con la presencia de *Phomopsis* sp. (3 %), como especie patogénica y *Aspergillus niger* (1 %) y *Aspergillus flavus* (1 %) como hongos de almacenamiento.

4. DISCUSIÓN

Con respecto a las medidas de las semillas, Marzocca (1993) menciona un valor máximo de 7 cm de diámetro y Dimitri (1997) indica un diámetro comprendido entre los 3 y los 6 cm. En la clave adaptada por Ragonese y Milano (1984), *A. quebracho-blanco*, es la especie del género *Aspidosperma* de Argentina con mayor tamaño de fruto (7 a 12 cm de largo y 5 a 8 cm de ancho) y de semillas. Como el fruto es un folículo leñoso que puede adoptar diversas formas, desde aovado-elípticos hasta casi circulares, las semillas acompañan dichas formas. Las medidas de las semillas variaron de acuerdo a su posición relativa en los frutos y las semillas ubicadas en los extremos del mismo fueron las de menor tamaño. De acuerdo a los resultados obtenidos en la prueba de TZ y a su correlación con la germinación, el tamaño del embrión está directamente relacionado con la capacidad de germinar.

Aunque no se han encontrado datos de pureza para otras especies del género, la característica típica de las semillas aladas con un tegumento externo expandido y membranoso, hace que las únicas impurezas encontradas sean restos de alas. Como la cosecha de los frutos maduros se efectúa manualmente cuando apenas comienzan a abrirse, no existen posibilidades de contaminación con impurezas.

El peso de las semillas pareciera ser otra variable de gran amplitud. En este trabajo se halló un total de 7.460 semillas.k-1, mientras que Orfila (1995) menciona un número promedio de 3.300 semillas. k-1. Dado que esta especie, aunque típica de la provincia Chaqueña, se extiende también a zonas de transición con el Monte y la Mesopotamia, las semillas deberían

caracterizarse en cuanto a dimensiones y peso de 1000 semillas de acuerdo a las zonas de proveniencia.

El porcentaje de humedad del 7,2 % fue algo menor que los valores hallados por Augspurger (1988) para semillas aladas de la isla Barro Colorado (Panamá), con un 9-10 % de humedad. Este autor encontró que el contenido de humedad no variaba con las diferentes formas de las semillas aladas en distintas especies, por lo que estaría directamente relacionado con su modo de dispersión. Según Ottone (1993), en las especies de semillas ortodoxas, los frutos, al ser retirados de los árboles poseen entre un 35 y un 45 % de humedad. Al secarlos en condiciones adecuadas, éstos se contraen, las valvas se separan y las semillas pueden salir sin dificultad de los frutos. En ese momento las semillas tienen de 8 a 10 % de humedad. Para árboles con semillas aladas del Mediterráneo como *Fraxinus sp.* y *Ulmus sp.*, los valores de humedad adecuados varían entre 8 y 10 % (Agency for the protection of the environment and for technical services- APAT, 2003). Rodríguez *et al.* (2000) demostraron que existe una relación entre el momento del año en que las semillas se desarrollan y su tolerancia a la desecación. Semillas que maduran en la estación más seca y fresca, toleran mejor la desecación que las que son producidas en la estación húmeda. Las semillas de *A. quebracho-blanco* son ortodoxas, terminando su maduración en la época más fresca y seca del año y sus características morfológicas de bajo peso y cubierta seminal delgada concuerdan con esta clasificación. Son semillas ortodoxas aquellas que toleran una disminución de la humedad por debajo de un 25 % o menos (Willan, 1991; Salisbury y Ross, 2000).

La prueba de viabilidad por TZ mostró en las dos primeras evaluaciones mayores valores de viabilidad que de germinación pues probablemente muchas semillas viables por TZ resultaron en plántulas anormales o con daño por patógenos, que no se pudieron detectar con esta prueba. El Manual de TZ (Association Official Seed Analyst- AOSA, 2000) incluye como semillas viables para la familia Apocinaceae, a aquellas que tienen un daño menor aceptable en la raíz primaria. También incluye en sus consideraciones que la prueba de TZ no detecta los daños producidos por patógenos para el género *Cataranthus* que pertenece a la misma familia. Si bien estas recomendaciones fueron tomadas en cuenta para la evaluación de las semillas de *A. quebracho-blanco*, los resultados indican que se deberá ajustar la técnica para detectar con mayor precisión las anomalías en esta especie, principalmente en los daños aceptables para la raíz primaria. Las semillas no teñidas por TZ a los 3 y 12 meses de edad, fueron siempre de pequeño tamaño y con los tejidos sin turgencia evidenciando fallas durante la maduración (Moore, 1985). A los 18 meses de edad, la mayoría de las semillas no se teñieron o se teñieron originando mosaicos con grandes áreas no teñidas como resultado del envejecimiento natural. Estos resultados son comunes en semillas envejecidas tanto naturalmente como por malas condiciones de almacenamiento (Steiner *et al.*, 1999).

Las recomendaciones para la prueba de germinación en la familia Apocinaceae resultaron adecuadas para esta especie (Ellis *et al.*, 1985). La germinación de las semillas, no se alejó de los valores de germinación que pueden presentar otras especies forestales nativas o exóticas (Colombo Speroni y De Viana, 2000; Piotto, 1992). Según Orfila (1995) el poder germinativo de *A. quebracho-blanco* no se extiende más allá de seis meses, hecho que podría atribuirse a que esos datos provendrían de semillas que no se conservaron en cámara fría. En cuanto al tiempo que demora en completar el ensayo de germinación, este autor consideró un máximo de 12 días. Killian *et al.* (1997) obtuvo un 90 % de germinación en 17, incubando las semillas a 30 ° C y en oscuridad. Sin embargo, en el presente trabajo, aún para las semillas más envejecidas, el tiempo de germinación máxima no sobrepasó los 8 días (TMG), con una duración total del ensayo de 15 días. Las diferencias en los porcentajes de germinación con este último autor, se podrían deber a las condiciones del ensayo o a las variaciones en las condiciones ambientales durante la maduración de las semillas, ya que las mismas provienen de la localidad El Quimilo, Catamarca, correspondiente al límite de la provincia Chaqueña con la del Monte.

En las pruebas de vigor, el indicador más sensible fue el TMG, que disminuyó significativamente en cada evaluación, mientras que el IVG registró una disminución significativa recién a los 18 meses de cosechadas las semillas. Aunque con ambos indicadores se evidenció caída del vigor, ésta no fue tan drástica como lo refieren los datos de la bibliografía existente, que vinculan la tenue conformación de semillas aladas de especies como *Aspidosperma sp.*, *Jacaranda sp.* o *Tabebuia sp.* con un escaso poder de subsistencia (Ottone, 1997). En ensayos efectuados con *Tabebuia donnell-smithii* Rose, una especie de las selvas de Centroamérica, se reportó una viabilidad de un año para las semillas envasadas herméticamente a temperatura ambiente para semillas con un contenido de humedad del 5- 6 % (Francis, 1989).

5. CONCLUSIONES

La calidad fisiológica de las semillas de *A. quebracho-blanco* es adecuada al momento de la cosecha y se mantiene a lo largo de un año sin una disminución que las inhabilite como propágulos.

Dada la disponibilidad actual de semillas en la zona estudiada (Vera, Provincia de Santa Fe, Argentina) y la facilidad para obtener plántulas, se puede utilizar esta especie para la obtención de plantines en viveros.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Dr. Luis Schaumburg, a los señores Rodolfo Comuzzi y Sergio Acosta, de la Estación Experimental del Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca "Dr. Tito Livio Copa", Las Gamas, Vera, Provincia de Santa Fe, y al Dr. Roque Craviotto del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Oliveros INTA, Santa Fe, Argentina.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Agency for the protection of the environment and for technical services (APAT). 2003. Seed propagation of mediterranean trees and shrubs. APAT. Roma, Italia. 108 pp.
- Association official seed analysis. 1992. Seedling Evaluation Handbook. Contribution N° 35. Peters, J. Ed. USA. 101 pp.
- Association official seed analysts. AOSA. 2000. Tetrazolium Testing Handbook. Contribution N° 29 to the Handbook on Seed Testing. Peters, J. Ed. USA. 303 p.
- Augsburger, C. K. (1988). Mass allocation, moisture content, and dispersal capacity of wind- dispersed tropical diaspores. *New Phytology*, 108: 357- 368.
- Barchuk, A. H.; Díaz, M. P.; Casanoves, F.; Balzarini, M. G.; Karlin, U. O. 1998. Experimental study on survival rates in two arboreal species from the Argentinian dry Chaco. *Forest Ecology and Management*, 103: 203-210.
- Barchuk, A. H.; Díaz, M. P. 2000. Vigor de crecimiento y supervivencia de plantaciones de *Aspidosperma quebracho-blanco* y de *Prosopis chilensis* en el Chaco árido. *Quebracho*, 8: 17-29.
- Bercovich, N. 2000. Evolución y situación actual del complejo Forestal en Argentina. División de desarrollo productivo y empresarial de la Comisión Económica para América Latina y el Caribe. Centro Internacional de Investigaciones para el desarrollo (CIID/IDRC). Argentina. 65 pp.
- Cabrera A. L. y Willink, A. 1980. Biogeografía de América Latina. Monografías científicas, Serie Biológica 13. Secretaría General de la O.E.A. Washington, D.C. 121 pp.
- Cáceres, L. M. 1980. Caracterización climática de la provincia de Santa Fe. Ed. Ministerio Agricultura y Ganadería Santa Fe. Dpto. de Aguas. Santa Fe. 35 pp.
- Colombo Speroni, F. y De Viana M. L. 2000. Requerimientos de escarificación en semillas de especies autóctonas e invasoras. *Ecología Austral*, 10: 123- 131.
- Del Castillo, E.; Saravia Toledo, C.; Gil, N. y Zapater, M. A. 1998. Ecología y manejo del quebracho blanco (*Aspidosperma quebracho blanco*). Primer Congreso Latinoamericano IUFRO. Chile. 15 pp.

- Dimitri, M. J. 1997. El Nuevo Libro del Arbol. Tomo II. Ed. El Ateneo. Buenos Aires. 124 pp.
- Ellis, R. H.; Hong, T. D. & Roberts, E. H. 1985. Handbook of Seed Technology for Genebanks. Volume II. Compendium of Specific Germination Information and Test Recommendation. International Board for Plant Genetic Resources, Roma. 667 pp.
- Francis, J. K. 1989. *Tabebuia donnell-smithii* Rose. S.O.- ITF- SM. 25. New Orleans, LA: U.S. Dep. of Agriculture, Forest Service, Southern Forest Experiment Station. 4 pp.
- International seed testing association. ISTA. 1991. Tree and Shrub Seed Handbook. Ed. International Seed Testing Association. Zurich. Switzerland. 180 pp.
- International seed testing association. 1996. Rules. Seed Science and Technology. 24, (supplement). Zurich. Switzerland. 335 pp.
- Killian, S.; Tapia, A. M. y Villagra, A. 1997. Aspecto germinativo de *Aspidosperma quebracho blanco*. Resúmenes del Primer Taller Internacional de recursos fitogenéticos del Noroeste argentino, p. 37.
- Lewis, J. P. y Pire, E. F. 1981. Reseña sobre la vegetación del Chaco santafesino. I.N.T.A. Serie Fitogeográfica 18, Buenos Aires, 48 pp.
- Marzocca, A. 1993. Vademecum de malezas medicinales de la Argentina, Indígenas y Exóticas. Ed. Hemisferio sur. Buenos Aires. 363 pp.
- Moore, R. P. 1985. Handbook on Tetrazolium Testing. Ed. The International Seed Testing Association, Zurich. 99 pp.
- Mudrovitsch de Bittencourt, P. R. y Vieira, D. R. 1999. Metodología do Teste de Tetrazólio em Sementes de Amendoim. In : Vigor de Sementes: Conceitos y Testes. Eds. Krzyzanowski, F.C. ; Dalton Vieira, R. ; Frama Neto, J. ABRATES. Londrina Pr, Brasil . 8.5, 1- 28.
- Mussetti, M. y Alconchel, D. 1986. Mapa de suelos del centro operativo Dr. Tito Livio Coppa, Las Gamas, Dpto. Vera, Santa Fe. Dirección General de Extensión e Investigaciones Agropecuarias, Santa Fe. 22 pp.
- Orfila, E. N. 1995. Frutos, semillas y plántulas de la flora leñosa argentina. Ediciones Sur. La Plata. Argentina. 155 pp.
- Ottone, J. R. 1993. Arboles forestales. Prácticas de cultivo. Ed. Agro Vet S.A. Buenos Aires. 564 pp.
- Ottone, J. R. 1997. Relaciones entre la floración, fructificación y formación de semillas de las especies forestales nativas y su vinculación con aspectos ecológicos. Facultad de Agronomía de Morón. Buenos Aires. 11 pp.
- Pioli, R. N., Benavidez, R., Morandi, E. N., and Bodrero, M. 2000. Estudio Epidemiológico de Enfermedades Asociadas a Carpelos y Semillas de Soja, en Santa Fe. Argentina. Fitopatología 35: 111-118.
- Piotto, B. 1992. Semi di alberi e arbusti coltivati in Italia, come e quando seminarli. Societa' Agricola e Forestale- Grupo E.N.C.C. (SAF). Roma. 78 pp.
- Prado, Darién. 1991. A critical evaluation of the floristic links between Chaco and Caatingas vegetation in South America. Ph. D. Thesis, University of St. Andrews. 173 pp.
- Ragonese, A. E. y Milano, V. A. 1984. Vegetales y sustancias tóxicas de la Flora Argentina. Enciclopedia Argentina de agricultura y jardinería. 2 Ed. Tomo II. Fascículo 8.2. ED. ACME. SACI. Buenos Aires. 413 pp.
- Rodríguez, M.; Orozco - Segovia, A.; Sánchez - Coronado, M. E. y Vázquez - Yanes C. 2000. Seed germination of six mature neotropical rain forest species in response to dehydration. Tree Physiology, 20: 693-699.
- Roig, F. A. y Roig, V. 1962. Nuevos datos sobre la corriente florística chaqueña en Mendoza y observaciones sobre *Aspidosperma quebracho-blanco* en el límite sudoeste de su dispersión. Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias. U.N. de Cuyo. Mendoza. Tomo XV, 1: 46- 52.
- Rossmann, A. Y., Palm, M. E., and Spieldman, L. J. 1994. Literature Guide for the Identification of Plant Pathogenic Fungi. APS Press. St. Paul, MN, USA. 252 pp.
- Salisbury, F. B. y Ross, C. W. 2000. Fisiología de las plantas. Thompson Editores. España. 988 pp.
- Silva, J. B. y Nakagawa, J. 1995. Estudio de fórmulas para cálculo da velocidade de germinação. informativo ABRATES. Vol. 5, 1: 62-73.
- Steiner, A. M.; Kruse, M. and Fuchs, H. 1999. A re assessment of the comparison of tetrazolium viability testing and germination testing. Seed Sci. and Technol. 27: 59- 65.
- Willan, R. L. 1991. Guía para la manipulación de semillas forestales. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Estudio Montes FAO 20/2. 502 pp.

