

## **Efecto del estrés hídrico a distintas temperaturas sobre la germinación de semillas de *Bulnesia retama* (Gill. ex. Hook.) Griseb. -Zigofiláceas - en San Luis, Argentina**

(Con 3 Tablas y 2 Figuras)

*Effects of water stress at different temperatures on germination of *Bulnesia retama* seeds (Gill. ex. Hook.) Griseb. -Zigofiláceas- in San Luis, Argentina*

(With 3 Tables & 2 Figures)

**Rodríguez Rivera MF, LR Sosa,  
EA Fernández, MI Reale, V Villarreal**

**Resumen.** Se estudió la germinación de semillas de *Bulnesia retama* frente a condiciones de estrés hídrico, simulado con PEG6000 a distintas temperaturas, y su recuperación ante el estrés. Las semillas recolectadas en San Luis (Argentina) se colocaron a germinar en bolsas de polietileno, con soluciones de PEG6000, para simular potenciales agua: 0 (Control con agua destilada); -0,25; -0,5; -0,75; -1; -1,25 y -1,5 MPa en estufa de cultivo y en oscuridad a temperaturas de 18°, 25° y 32 °C. Las semillas que no germinaron ante el estrés simulado fueron lavadas y colocadas a germinar nuevamente en agua destilada a 25 °C. Se registró el porcentaje y la velocidad de germinación de las semillas. Las semillas colocadas en agua destilada germinaron con porcentajes superiores al 70% en el rango de 18° a 32 °C sin diferencias entre temperaturas. A 18 °C, el porcentaje y la velocidad de germinación disminuyeron significativamente en todos los tratamientos con PEG, mientras que a 25 °C la respuesta germinativa fue afectada a partir de -1 MPa. A 32 °C la germinación no difirió del control en las primeras 48 horas hasta potenciales osmóticos de -1 MPa, pero luego la velocidad y porcentaje

---

Fisiología Vegetal. Área Ecología. Universidad Nacional de San Luis. Ejército de los Andes 950 (CP 5700). San Luis, Argentina.

Address Correspondence to: Rodríguez Rivera MF, Ejército de los Andes 950 (CP 5700), San Luis, Argentina. *e-mail*: mfredri@unsl.edu.ar; Tel.: 02652-434350 int.67

Recibido/Received 29.V.2006. Aceptado/ Accepted 12.VII.2007.

de germinación disminuyeron significativamente. El porcentaje de germinación en la recuperación después del estrés fue similar al porcentaje del control original, lo que demuestra que las semillas no germinan si no tienen determinadas condiciones hídricas y térmicas. Estos resultados pueden ser el resultado de la adaptación de la especie a las condiciones ambientales propias de la región.

**Palabras clave:** *Bulnesia retama*, germinación, estrés hídrico.

**Abstract.** We studied the germination capacity of *Bulnesia retama* seeds to conditions of water stress simulated by PEG6000 at different temperatures. We also evaluated their recovery to water stress conditions. Seeds were collected in San Luis city, Argentina. They were placed in polyethylene bags with different concentrations of PEG6000 to simulate water potentials of 0 (control); -0.25; -0.5; -0.75; -1; -1.25 and -1.5 MPa. Seeds were placed in culture oven without light to three temperatures: 18°, 25° and 32 °C. Non-germinated seeds were washed and placed again to germinate in distilled water to 25 °C. We registered the percentage and the rate of germination. Approximately 75% of seeds germinated under all temperatures in the control treatment. At 18 °C, germination percentages and rates were affected by all water stress treatments, whereas at 25 °C, these parameters were affected at water potentials lower than -1 MPa. At 32 °C, germination was not affected by water potentials higher than -1 MPa during the first 48 hours. Germination percentages and rates were similar in the recovery and the original control treatments, indicating that seed germination has thresholds of water and temperature conditions. These results may be the result of the species adaptation to the regional environmental conditions.

**Key words:** *Bulnesia retama*, germination, water stress.

## INTRODUCCIÓN

*Bulnesia retama*, "retamo", Familia Zigoofiláceas, es una especie endémica de América del Sur ampliamente distribuida en las zonas áridas de la Argentina, cuyas poblaciones presentan una inusual disyunción geográfica entre el centro argentino y el sur de Nazca, Perú (Weberbauer, 1939; Palacios y Hunziker, 1984). Su distribución en la Argentina abarca las Provincias Fitogeográficas del Monte y el Chaco Árido (Cabrera, 1994). En la provincia de San Luis (Argentina) se la encuentra en los bosques bajos de "algarrobos", arbustal de "jarilla" y "chañar" y en los bosques de "quebracho blanco" y "algarrobo", ocupando casi la totalidad del sector noroeste del territorio provincial (Anderson et al., 1970).

Esta especie es considerada dentro del género como altamente adaptada a los ambientes secos y evolutivamente la más avanzada junto a *B. chilensis* Gay. (Crisci et al., 1979). Se la encuentra en amplias condiciones de suelo, temperatura y precipitaciones y sus características hacen que cumpla un fuerte rol como especie protectora de ambientes y que sea utilizada para cortinas rompevientos, como fijadora de médanos y además como planta melífera (Ragonese y Piccinini, 1977; Dalmasso y Llera, 1996; Dalmasso, 1998).

La superficie cubierta por *B. retama* en la Argentina ha disminuido significativamente ya que su madera se utiliza para postes de viñedos, varillas, fabricación de carbón, aplicación en tornería y para la extracción de cera mediante la poda intensiva (Dalmasso y Llera, 1996; Sosa y Fernández, 1998). Por tal motivo se incluye a *B. retama* entre las especies “vulnerables”, de situación “indeterminada” indicando que su manejo y conservación no han merecido la atención debida (Chébez, 1994). Existen pocos trabajos sobre la especie. En San Juan, analizaron la relación entre vástago-raíz en plántulas crecidas en vivero señalando el carácter axonomórfico de su parte subterránea (Dalmasso et al., 1994); en San Luis, se estudiaron medios y condiciones de germinación más apropiados y la supervivencia al trasplante de plántulas (Sosa y Fernández, 1998). Por otro lado también se analizaron los patrones fenológicos, floración y sistema de apareamiento y reproducción en individuos de esta especie en la Reserva Ñacuñán, Mendoza (Debandi et al., 2002).

Teniendo en cuenta que la regeneración natural de los bosques nativos es lenta, y frente a la necesidad de generar información para el manejo y conservación de esta especie, particularmente en una etapa crítica como la germinación en condiciones desfavorables, el objetivo de nuestro trabajo fue: a) estudiar la capacidad germinativa de *B. retama*, frente a distintas condiciones de estrés hídrico y a distintas temperaturas y b) analizar el patrón de recuperación de las semillas no germinadas frente a las condiciones de estrés.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Los frutos de *B. retama* fueron recolectados durante el período de fructificación de la especie, desde Noviembre a Marzo (Legname, 1982), en los años 2001 y 2002, en los alrededores del Departamento La Capital, Provincia de San Luis (33° 16' S y 66° 39' O). Las condiciones climáticas

de esta región son: medias térmicas anuales de 17.1 °C; media máxima en Enero de 24.2 °C, con picos de hasta 34 °C y media mínima en Junio de 9.9 °C (Datos Aeropuerto local: años 1997 al 2001). La precipitación media anual histórica para la Ciudad de San Luis es de 600 mm (Peña Zubiate et al., 1998).

Las semillas se obtuvieron eliminando los restos secos del fruto (Sosa y Fernández, 1998) y se almacenaron a temperatura ambiente, en bolsas de papel madera. La germinación se llevó a cabo en bolsas de polietileno transparentes (25cm x 12cm), provistas con papel absorbente (Reale et al., 2005), humedecido con 15 ml de agua destilada para los controles y con soluciones de Polietilenglicol Peso Molecular 6000 (PEG 6000) para simular potenciales agua ( $\Psi_w$ ) de -0,25; -0,5; -0,75; -1; -1,25 y -1,5 MPa (Steuter et al., 1981; Fernández y Reale, 1987). Los ensayos se realizaron en una estufa de cultivo, en oscuridad, a temperaturas de  $18 \pm 2$  °C;  $25 \pm 2$  °C y  $32 \pm 2$  °C. A partir de la iniciación de los ensayos (día cero), se registró el número de semillas germinadas, al observar la aparición radicular, a los 2, 4, 7, 10 y hasta 15 días; luego las semillas se ponían en mal estado. Se calculó el Porcentaje de Germinación (PG) y utilizó el Índice de Velocidad de Germinación - IVG - (Maguire, 1962), para cuantificar el Vigor Germinativo. En los tratamientos con PEG donde se registraron PG menores al 50%, las semillas no germinadas fueron lavadas con agua destilada y colocadas a germinar nuevamente en condiciones hídricas óptimas, a una temperatura de  $25 \pm 2$  °C en estufa (Pujol et al., 2000), para estudiar su recuperación y se registró el número de semillas germinadas, expresando los resultados en porcentaje.

El diseño experimental fue totalmente aleatorio, con 6 réplicas por tratamiento, de 30 semillas cada uno. Los datos fueron sometidos al Análisis de Varianza (ANOVA) y la Prueba de Tukey para determinar el efecto de los distintos tratamientos, comparando medias con un nivel de significancia del 5%. Para ello, los porcentajes de germinación fueron transformados al Arco seno y los datos de IVG a raíz cuadrada para establecer homogeneidad de las varianzas (García de Santana y Ranal, 2000).

## RESULTADOS

El resultado del ANOVA indicó que, el PG de las semillas de *B. retama*, fue afectado significativamente por todas las concentraciones de PEG y por todas las temperaturas ensayadas, mientras que la interacción de estos dos factores no fue significativa (Tabla 1); se observó que al aumentar el déficit hídrico, es decir potencial osmótico más negativo, el PG disminuyó en todas las temperaturas. Se presentan datos de semillas germinadas sólo hasta el séptimo día, momento a partir del cual no se registró aumento en la germinación.

En la Fig. 1 se observa que a 18 °C las semillas en todos los tratamientos con estrés hídrico presentaron PG significativamente menores ( $p < 0,05$ ) respecto del control a lo largo del ensayo (Fig. 1a). En temperaturas de 25 °C, las semillas presentaron un patrón de germinación similar al control hasta el tratamiento con -0,75 MPa, con PG que no difirieron ( $p > 0,05$ ) hasta el final del ensayo (Fig. 1b). A 32 °C las semillas que fueron sometidas a potenciales osmóticos de hasta -1 MPa presentaron PG similares ( $p > 0,05$ ) al Control durante las primeras 48 horas; luego los valores de PG fueron significativamente menores ( $p < 0,05$ ) respecto del control.

El vigor germinativo de las semillas de *B. retama* representado por los IVG calculados (Tabla 2) también fue afectado significativamente por el potencial osmótico decreciente y la temperatura ( $F = 46,65$ ;  $p < 0,05$ ), especialmente a 18 °C y 32 °C. Bajo estas condiciones, el estrés hídrico simulado redujo significativamente las velocidades de germinación a partir de los tratamientos con -0,25 y -0,5 MPa, respectivamente. A 25 °C, se obtuvieron los valores más altos de IVG, los que no difirieron del control hasta potenciales osmóticos de -0,75 MPa. En todas las temperaturas ensayadas los valores de IVG disminuyeron drásticamente a partir de -1 MPa.

En cuanto a los PG acumulados (Fig. 2), se observó que las semillas de *B. retama* colocadas a germinar en buenas condiciones hídricas (control) no mostraron diferencias significativas en sus porcentajes de germinación frente a las temperaturas ensayadas (75,6%; 77,8% y 71,7% para 18°, 25° y 32 °C, respectivamente). Pero con los tratamientos de estrés hídrico el comportamiento de la germinación final de las semillas fue distinto según la temperatura. Así se observó que a 18° y 32 °C, los PG acumulados presentaron diferencias significativas frente al control ( $p < 0,05$ ) que comenzaron a partir de -0,25 MPa; los valores de PG en ambas temperaturas fueron

similares entre sí hasta -1 MPa. A 25 °C las semillas sometidas al estrés presentaron mejores PG finales, ya que los tratamientos de hasta -1 MPa no difirieron significativamente del control ( $p>0,05$ ). Los valores de PG acumulados disminuyeron drásticamente a partir de -1,25 MPa en todas las temperaturas ensayadas y fueron casi nulos con potenciales de -1,5 MPa.

Después de los quince días con tratamientos con PEG6000, las semillas que no germinaron fueron puestas a germinar en condiciones óptimas de temperatura y humedad, para estudiar su recuperación posterior al estrés. Los porcentajes de germinación promedio obtenidos fueron superiores al 60%, sin diferencias significativas ( $p>0,05$ ) entre los tratamientos previos con PEG y

**Tabla 1.** Efectos de tratamientos con estrés hídrico (EH) y temperatura (Temp.) sobre el número de semillas germinadas de *Bulnesia retama*. Resultados del ANOVA (\*Diferencias Significativas a  $p=0,05$ ).

*Table 1.* Water stress (EH) and temperature (Temp.) effects on the number of germinated seeds of *Bulnesia retama*. ANOVA results (\*Significant differences at  $p=0.05$ ).

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Temperatura (Temp.)	2	526,206	263,103	19,105	0,000*
Estrés hídrico (EH)	6	4382,603	730,434	53,040	0,000*
Temp. x EH	12	296,016	24,668	1,791	0,0590
Error	105	1446,000	13,771	-	-

**Tabla 2.** Índice de velocidad de germinación (Maguire, 1962) en semillas de *Bulnesia retama* bajo diferentes condiciones de estrés hídrico y temperaturas. Letras distintas denotan diferencias significativas a un nivel del 5%. Valores transformados a raíz cuadrada.

*Table 2.* Germination rate index (Maguire, 1962) on *Bulnesia retama* seeds under different water stress and temperature conditions. Different letters indicate significant differences at a 5% level. Values are transformed to square root.

Temp./ Potencial agua	0 MPa	-0,25 MPa	-0,5 MPa	-0,75 MPa	-1 MPa	-1,25 MPa	-1,5 MPa
18 °C	9,69 <sup>a</sup>	8,62 <sup>b</sup>	8,45 <sup>b</sup>	7,92 <sup>b</sup>	7,71 <sup>bc</sup>	3,49 <sup>d</sup>	0,53 <sup>e</sup>
25 °C	9,59 <sup>a</sup>	9,73 <sup>a</sup>	9,16 <sup>a</sup>	8,84 <sup>ab</sup>	7,67 <sup>bc</sup>	6,38 <sup>c</sup>	1,70 <sup>e</sup>
32 °C	9,13 <sup>a</sup>	9,04 <sup>ab</sup>	8,50 <sup>b</sup>	8,11 <sup>b</sup>	7,63 <sup>bc</sup>	5,50 <sup>c</sup>	1,13 <sup>e</sup>

**Tabla 3.** Porcentaje de recuperación (Media $\pm$ DS) en la germinación de semillas de *Bulnesia retama* previamente tratadas con distintos niveles de estrés hídrico y temperaturas. Letras iguales en los valores promedio indican que no existen diferencias significativas a un nivel del 5%.

**Table 3.** Percentage recuperation (mean $\pm$ SD) in the germination of *Bulnesia retama* seeds previously treated under various water stress and temperature conditions. Average values with the same letter indicate lack of significant differences at a 5% level.

PEG (MPa)	18 °C	25 °C	32 °C
-1	-	63,3 $\pm$ 19	263,103
-1,25	63,6 $\pm$ 13	60,6 $\pm$ 19	730,434
-1,5	74,7 $\pm$ 7	86,4 $\pm$ 14	24,668
Promedio	68,5 <sup>a</sup>	69,6 <sup>a</sup>	13,771

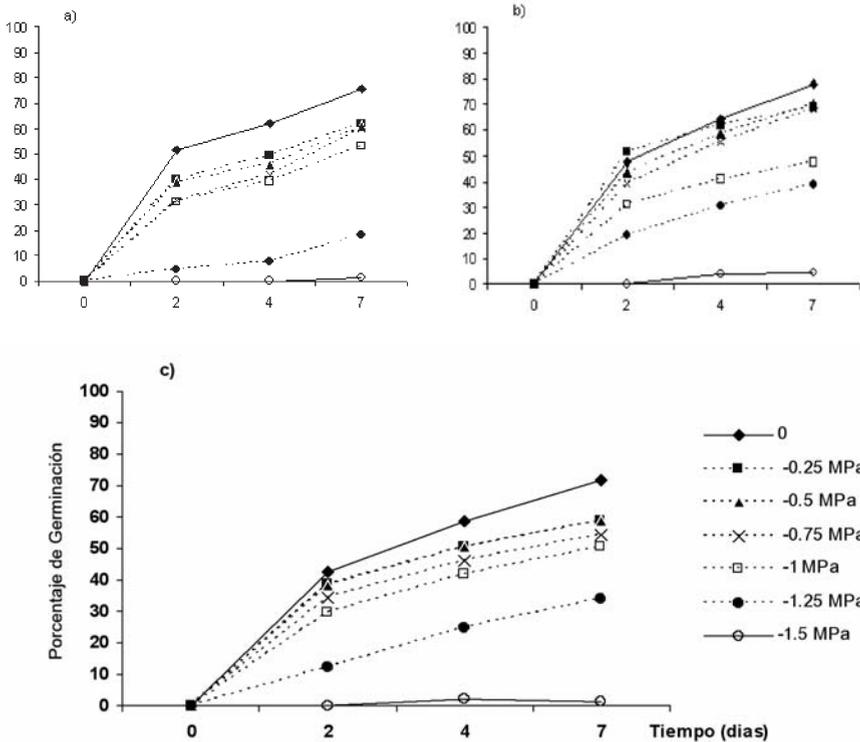
temperaturas (Tabla 3). Sin embargo, para las semillas tratadas previamente con potenciales osmóticos de -1,5 MPa y a 25 °C se registró una recuperación del 86%. Si bien la recuperación se observó hasta el día 21, a partir del séptimo día no aumentó el número de semillas germinadas.

## DISCUSIÓN

*Bulnesia retama* es una especie endémica, de interés económico y ecológico para nuestra región, considerada como altamente resistente a la sequía (Crisci et al., 1979) debido principalmente a las observaciones realizadas en individuos adultos. Sin embargo, la respuesta frente a un estrés puede ser distinta en las plantas adultas, en plántulas o durante la germinación de las semillas (Catalán y Balzarini, 1992; Villagra et al., 2004). Esta última es considerada de gran importancia en el ciclo de vida de una planta ya que permite el reclutamiento de nuevos individuos (Jordano et al., 2002). Las tareas de restauración ecológica y de manejo de bosques naturales es una tarea relativamente nueva en distintos lugares del mundo que supone y requiere de información sobre esta etapa inicial para elaborar planes de manejo adecuado de estos recursos (Kozlowski, 2002; Li et al., 2003).

**Fig. 1.** Progreso de la germinación en semillas de *Bulnesia retama* sometidas a distintos niveles de estrés hídrico simulado con PEG6000 y a temperaturas de a) 18 °C, b) 25 °C y c) 32 °C. Se muestran valores de porcentaje de germinación sólo hasta el séptimo día a partir del cual no se registró más germinación.

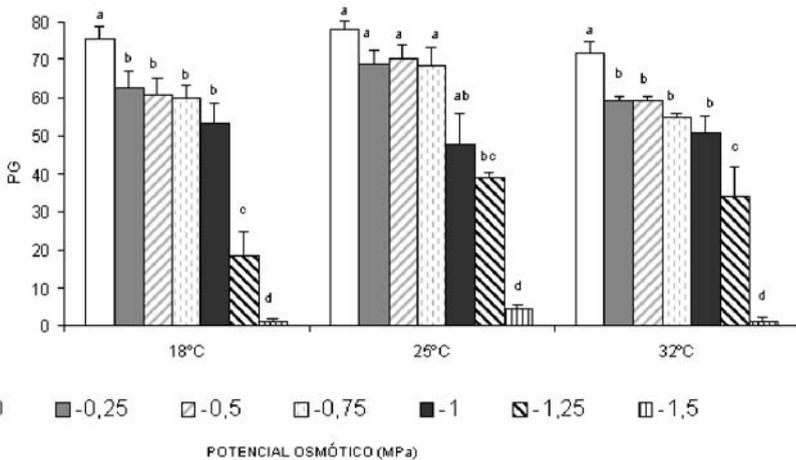
**Fig1.** Germination percentage variation on seeds of *Bulnesia retama* exposed to different levels of water stress using PEG6000 and temperatures of a) 18 °C, b) 25 °C and c) 32 °C. After day 7 there was no more germination.



Nuestra investigación indica que en condiciones controladas de laboratorio, las semillas de *B. retama* colocadas a germinar en agua destilada (controles) presentan porcentajes superiores al 70% en todas la temperaturas ensayadas. Estos resultados coinciden con lo informado en trabajos anteriores sobre la especie (Sosa y Fernández, 1998; Debandi et al., 2002) y concuerda con la tempera-

**Fig. 2.** Porcentaje de Germinación final en semillas de *Bulnesia retama* sometidas a distintos niveles de estrés hídrico simulado con PEG6000 y a distintas temperaturas. Los porcentajes de germinación fueron transformados a Arco seno para su tratamiento estadístico. Letras distintas denotan diferencias significativas a un nivel del 5%.

**Fig 2.** Total germination percentage of *Bulnesia retama* seeds exposed to various levels of water stress (using PEG6000) and temperatures. Germination percentages were transformed to arc sin for statistical analysis. Different letters indicate significant differences at a 5% level.



tura óptima de germinación en laboratorio informada por varios autores para otras especies arbóreas típicas de los ambientes áridos y semiáridos de la región, pertenecientes al género *Prosopis* (Catalán y Balzarini, 1992; Villagra, 1995; Villalobos y Peláez, 2001) y al género *Acacia* (Reale et al., 2005). La amplitud térmica ensayada,  $18 \pm 2$  °C a  $32 \pm 2$  °C, sería favorable para la germinación de la especie, aunque deberían realizarse más estudios que representen las condiciones naturales propias de los hábitats de la especie para determinar los requerimientos de temperatura para la germinación del retamo (temperaturas cardinales, alternancia de temperaturas diurnas y nocturnas, etc.)

Cuando las semillas fueron sometidas a potenciales osmóticos decrecientes la respuesta germinativa fue distinta de acuerdo a la temperatura de ensayo. A  $18 \pm 2$  °C, aún el estrés hídrico mínimo (-0,25 MPa), produjo una disminución

en la velocidad y en el porcentaje de germinación probablemente debido a la disminución del potencial químico del agua y retención ejercida por el soluto utilizado al simular el estrés (Steuter et al., 1981).

La temperatura de  $32 \pm 2$  °C estimuló el inicio de la germinación en las semillas tratadas con potenciales osmóticos de hasta -1 MPa, pero luego de los dos primeros días los parámetros estudiados disminuyeron respecto del control. Teniendo en cuenta que en nuestra región la temperatura alcanza picos de 34 °C, esto podría resultar favorable para dar inicio a la germinación de la especie, aunque de acuerdo a nuestros resultados, también resultaría peligroso para que se complete el proceso de germinación y la instalación de las plántulas. El retamo requiere de micrositos particulares para completar estas etapas (Villagra et al., 2004). Por ello resultaría de mucha importancia profundizar el estudio de las condiciones microclimáticas y los factores que condicionan el establecimiento de plántulas de retamo.

Los resultados obtenidos sobre la germinación final indicarían que a 18° y 32 °C, la disponibilidad de agua podría verse limitada. Esto influiría significativamente sobre la capacidad germinativa de las semillas debido a que el efecto del potencial osmótico sobre la germinación de las semillas es aditivo al efecto del potencial mátrico y que estos efectos se acentúan con temperaturas desfavorables (Sharma, 1976).

A 25 °C, las semillas de retamo toleran un potencial osmótico de hasta -0,75 MPa mostrando buenos valores de IVG y PG final que no difieren del control, como sucede en estudios similares con semillas de *Acacia visco* y *A. atramentaria*, dos especies que se encuentran en la misma región que *B. retama*, (Reale et al., 2005). Estos resultados distan bastante de lo informado para semillas de *Prosopis flexuosa* y *P. chilensis*, las que toleran potenciales osmóticos de hasta -1,4 MPa en la misma región (Cony y Trione, 1998).

Nuestros resultados podrían ser interpretados, como sucede con otras especies de la región del Monte Central en Argentina (Villagra, 1995), como una buena adaptación o ajuste de la especie a las condiciones ambientales propias de la región, en este momento crítico del ciclo de vida.

Por otra parte, considerando los datos registrados en la recuperación post-estrés en las semillas de *B. retama*, la viabilidad de las semillas no se ve afectada significativamente por el tratamiento osmótico previo, lo cual coincide con lo informado para otras especies típicas de la región (Reale et al., 1999, 2005). En este sentido hay que tener en cuenta que la recuperación de las semillas ante

un estrés osmótico en algunos casos puede verse estimulado, dependiendo esto de las características inherentes a cada especie (Ungar, 1991; Pujol et al., 2000).

Se puede concluir que con buenas condiciones de humedad, las semillas de *B. retama* germinarían en un rango amplio de temperaturas, al menos entre 18 °C y 32 °C, siendo la temperatura de  $25 \pm 2$  °C la que dio mejores resultados para la germinación de la especie. El estrés hídrico simulado con PEG6000 afecta significativamente la germinación de las semillas, principalmente a temperaturas de 18° y 32 °C, en las cuales se reducen el porcentaje y la velocidad de germinación a partir de potenciales osmóticos de -0,25 MPa. Pero a 25 °C, las semillas presentan porcentajes y velocidad de germinación que no difieren del control hasta potenciales osmóticos de -0,75 MPa. Los altos porcentajes de recuperación de la germinación pos-estrés en las semillas indicarían que éstas no germinan mientras no existan ciertas condiciones de humedad en el medio y que las situaciones de estrés hídrico no afectan la viabilidad de las mismas.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen la colaboración y asistencia del Dr. Antonio Mangione y de la Lic. Isabel Giménez, de la Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia de la U.N.S.L. Este trabajo se realizó en el marco del proyecto de Investigación CyT 2-8305 del Área de Ecología de la Universidad Nacional de San Luis, Argentina.

## REFERENCIAS

- Anderson, D., J. del Águila y A. Bernardón (1970). Las formaciones vegetales en la Provincia de San Luis. *Revista de Investigación Agropecuaria*. Serie II 7:153-183
- Cabrera, A. L. (1994). Regiones Fitogeográficas Argentinas. Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería. Tomo II. Fascículo 1. Primera reimpression. Editorial ACME. Bs. As.
- Catalán, L. y M. Balzarini (1992). Improved laboratory germination conditions for several arboreal *Prosopis* species: *P. chilensis*, *P. flexuosa*, *P. nigra*, *P. alba*, *P. caldenia* and *P. affinis*. *Seed Science and Technology* 20:293-298.
- Chébez, J. (1994). Los que se van. Especies argentinas en peligro: 511. Editorial Arbatros, Bs. As.
- Cony, M. y S. Trione (1998). Inter- and intraspecific variability in *Prosopis flexuosa* and *P. chilensis* seed germination under salt and moisture stress. *Journal of Arid Environments* 40:307-317.
- Crisci, J., J. Hunziker, R. Palacios y C. Naranjo (1979). A numerical-taxonomic study of the genus *Bulnesia* (Zigophyllaceae): cluster analysis, ordination and simulation of evolutionary trees. *American Journal of Botany* 66:133-140.

- Dalmaso, A., R. Maruelli y O. Salgado (1994). Relación vástago raíz durante el crecimiento en vivero de tres especies nativas del Monte, *Prosopis chilensis*, *P. flexuosa* y *Bulnesia retama*. *Multequina* 3:35-43.
- Dalmaso, A. y J. Llera (1996). Contenido de cera con relación al diámetro de ramas de *Bulnesia retama* en Ampacama, Caucete, San Juan. *Multequina* 5:43-48.
- Dalmaso, A. (1998). Especies Arbóreas y Arbustivas para las Zonas Áridas y Semiáridas de América Latina. Red Latinoamericana de Cooperación Técnica en Sistemas Agroforestales. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación.
- Debandi, G., B. Rossi, J. Aranibar, J. Ambrosetti y I. Peralta (2002). Breeding system of *Bulnesia retama* (Gillies ex Hook & Arn.) Gris. (Zigophyllaceae) in the central monte desert (Mendoza, Argentina). *Journal of Arid Environments* 51:141-152.
- Fernández, E. y M. Reale (1987). Empleo del PEG -PM600- como agente osmótico para simular déficit hídrico en laboratorio en maíz (*Zea mayz* L.). Parte I. *Phyton, Journal of Experimental Botany* 47 (1/2): 109-114.
- García de Santana, D. y M. Ranal (2000). Análise estatística na germinação. Mini curso ministrado durante o 51º Congresso Nacional de Botânica, Brasília-DF.
- Jordano, P., R. Zamora, T. Marañón y J. Arroyo (2002). Claves ecológicas para la restauración del bosque mediterráneo. Aspectos demográficos, ecofisiológicos y genéticos. Ecosistemas. Revista de divulgación científica y técnica de ecología y medio ambiente. Año XI N°1.
- Kozłowski, T. (2002). Physiological ecology of natural regeneration of harvested and disturbed forest stands: implications for forest management. *Forest Ecology and Management* 158: 195-221.
- Legname, P. (1982). Árboles indígenas del Noroeste Argentino. Fundación Miguel Lillo, Tucumán: 156.
- Li, J., A. Duggin, C. Grant y W. Loneragan (2003). Germination and early survival of *Eucalyptus blakei* in grasslands of the New England Tablelands, NSW, Australia. *Forest Ecology and Management* 173: 319-334.
- Maguire, J. (1962). Speed of germination - Aid in selection and evaluation for seedling emergency and vigor. *Crop Science* 2:176.
- Palacios, R. y J. Hunziker (1984). Revisión taxonómica del género *Bulnesia* (Zigophyllaceae). *Darwiniana* 25:299-320.
- Peña Zubiarte, C., D. Anderson, M. Demmi, J. Saenz y A. D'hiriart (1998). Carta de suelos y vegetación de la Provincia de San Luis. INTA. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación; Gobierno de la Provincia de San Luis.
- Pujol, J., J. Calvo y P. Ramírez-Díaz (2000). Recovery of germination from different osmotic conditions by four Halophytes from Southeastern Spain. *Annals of Botany* 85:179-186.
- Ragonese, A. y B. Piccinini (1977). Consideraciones sobre la Vegetación de las Salinas de Mascasín (La Rioja - San Juan, República Argentina). *Darwiniana* 1:49- 60.
- Reale, M., L. Sosa y E. Fernández (1999). Estrés hídrico y recuperación en semillas de *Acacia visco* Griseb."aromito". Actas XVII Reunión Científica Sociedad de Biología de Cuyo. Merlo (San Luis):71.
- Reale, M., E. Fernández, E. Martínez y L. Sosa (2005). Respuesta al estrés hídrico en dos especies nativa del género *Acacia*. *Phyton, Journal of Experimental Botany* 74: 229-235.
- Sharma, M. (1976). Interaction of water potential and temperature effects on germination of three semi-arid plant species. *Agronomy Journal* 68:390-394.
- Sosa, L. y E. Fernández (1998). Resultados preliminares en estudios sobre germinación y supervivencia al trasplante de *Bulnesia retama* "retamo" en la provincia de San Luis. Actas XXVI Jornadas Argentinas de Botánica (Río Cuarto, Córdoba); N°174:367.
- Steuter, A., A. Mozafar y J. Goodin (1981). Water potential of aqueous polyethyleneglycol. *Plant Physiology* 67:64-67.

- Ungar, I. A. (1991). Ecophysiology of vascular halophytes. Florida: CRC Press:75-79.
- Villagra, P. (1995). Temperature effects on germination of *Prosopis argentina* and *P. alpataco* (Fabaceae, Mimosoideae). *Seed Science & Technology* 23:639-646.
- Villagra, P., M. Cony, N. Mantován, B. Rossi, M. González Loyarte, R. Villalba y L. Marone (2004). Ecología y Manejo de los algarrobales de la Provincia Fitogeográfica del Monte, En: Arturi, M.F., Frangi, J.L., Goya, J.F. (eds). Ecología y Manejo de Bosques Nativos de Argentina, Editorial Universidad Nacional de La Plata, Argentina.
- Villalobos, A. y D. Peláez (2001). Influences of temperature and water stress on germination and establishment of *Prosopis caldenia* Burk. *Journal of Arid Environments*, 49:321-328.
- Weberbauer, A. (1939). La influencia de cambios climáticos y geológicos sobre la vegetación de la costa peruana. *Academia Nacional de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales* 2: 201-209.