

## Reproducción de *Pavonia cymbalaria* (Malvaceae), una especie nativa con potencial ornamental (Con 3 Figuras)

### *Reproduction of Pavonia cymbalaria (Malvaceae), a native species with ornamental potential*

(With 3 Figures)

**Torres, YA<sup>1</sup>, MA Long<sup>2</sup>, SM Zalba<sup>1</sup>**

**Resumen.** *Pavonia cymbalaria* A. St.-Hil. & Naudin (Malvaceae), es una especie nativa de las Sierras Australes Bonaerenses cuyos caracteres morfológicos la convierten en posible candidata para su uso como especie ornamental. Se evaluaron los requerimientos de cultivo y el éxito germinativo de sus semillas. Seiscientos cuarenta mericarpos fueron expuestos a distintos tratamientos: remoción de restos carpelares, escarificación mecánica y exposición al frío de mericarpos y semillas desnudas, conservándose además una muestra control para cada uno de ellos. Sólo se obtuvo germinación en las semillas desnudas, lo que implicaría la existencia de una dormancia exógena impuesta por el mericarpo duro que protege a las mismas. La escarificación mecánica no resultó suficiente para desencadenar la germinación. La exposición al frío tampoco produjo resultados positivos, lo que indicaría la inexistencia de una dormancia endógena. Las plantas obtenidas no sobrevivieron luego de ser transplantadas, posiblemente debido a la infección por alguna especie fúngica. Por otro lado se recolectaron 50 estacas de plantas silvestres en invierno y 50 en primavera con el fin de analizar la posibilidad de obtener nuevos ejemplares por reproducción vegetativa. La mitad de las estacas de cada grupo fue tratada con hormona de enraizamiento justo antes de plantarlas. La supervivencia de las plantas fue significativamente mayor para las estacas de primavera ( $p < 0,05$ ) aunque la aplicación de hormona no produjo resultados significativos ( $p > 0,05$ ). Nuestros resultados indican que

---

<sup>1</sup> GEKKO. Grupo de Estudios en Conservación y Manejo. Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia. Universidad Nacional del Sur. San Juan 670 (8000). Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina. Address Correspondence to: Yanina Torres. e-mail: yatorres@criba.edu.ar.

<sup>2</sup> Laboratorio de Plantas Vasculares. Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia. Universidad Nacional del Sur. San Juan 670 (8000). Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina.

Recibido/Received 15.V.2008. Aceptado/Accepted 26.VII.2008

es posible reproducir con éxito a *Pavonia cymbalaria* especialmente a partir de estacas recolectadas en primavera. Futuros estudios deberían enfocarse en el análisis de las causas de mortalidad observadas en individuos cultivados a partir de semillas.

**Palabras clave:** *Pavonia cymbalaria*, reproducción vegetativa, germinación, Sierras Australes Bonaerenses, plantas ornamentales.

**Abstract.** *Pavonia cymbalaria* A. St.-Hil. & Naudin (Malvaceae) is a native species of the southern mountains in the Province of Buenos Aires. Its morphological characteristics become it as a potential candidate for ornamental use. Crop requirements and seed germination were evaluated for this species in this study. Different treatments were applied to 640 mericarps: removal of carpel residues, mechanical scarification or exposition of mericarps and nude seeds to cold conditions. An untreated control was used for each of these treatments. Germination only occurred on nude seeds; this implies the existence of an extrinsic dormancy imposed by the harsh mericarp which covers the seeds. Mechanical scarification was not enough to induce germination. Germination was also not induced by cold conditions, which would suggest the non-existence of an intrinsic dormancy. Obtained plants did not survive after transplanting, possibly due to infection by some fungus species. Fifty stakes of wild plants were obtained during winter or spring to analyze the possibility of obtaining new individuals through vegetative reproduction. Half of the stakes of each group was treated with a hormone to induce rooting just before planting. Plant survival was significantly greater ( $p < 0.05$ ) when using spring than winter stakes. However, hormone application did not produce significant results ( $p > 0.05$ ). Our results indicate that it is possible to successfully reproduce *Pavonia cymbalaria* from spring stakes. Future studies should focus in finding out the mortality causes of individuals cultivated from seeds.

**Key words:** *Pavonia cymbalaria*, vegetative reproduction, germination, Southern mountains of Buenos Aires Province, ornamental plants.

## INTRODUCCIÓN

Los esfuerzos conducentes a preservar las especies nativas en una comunidad vegetal resultan imprescindibles debido a su valor intrínseco y su importancia ecológica. Además, estas especies pueden representar una posible alternativa económica sustentable para la comunidad y un valioso recurso científico y educativo, que puede ser aprovechado sin alterar de forma significativa las poblaciones naturales (Food and Agricultural Organization of the United Nations, 1996). El estudio de los requerimientos de cultivo de especies nativas contribuye a su uso sustentable y a su conservación *ex situ*, en caso que esta fuera necesaria (Frankel y Soulé, 1981, citado en Squeo et al., 2001).

Las especies nativas a menudo poseen atributos vistosos y novedosos, como flores grandes y coloridas, espinas o formas inusuales que les confieren un importante valor ornamental. También presentan las ventajas de (1) requerir mínimos cuidados para su mantenimiento, ya que se encuentran bien adaptadas a su ambiente y no requieren agua o fertilización adicional y (2) haber evolucionado con inmunidad natural a los insectos y enfermedades más comunes de su hábitat (Steger y Beck, 1973). Desde el punto de vista de la conservación, el uso de plantas nativas reduce además el riesgo de introducción de especies ornamentales que puedan volverse invasoras.

Para la producción de plantas a partir de semillas es importante obtener un alto porcentaje de germinación y ésta, además, debe desarrollarse de un modo uniforme (Di Benedetto, 2004). Muchas especies vegetales producen semillas con algún tipo de dormancia, lo que implica que sólo germinan luego de cumplir con ciertos requerimientos específicos, como por ejemplo el lavado de inhibidores de la germinación o la pérdida de impermeabilidad de la cubierta seminal (Chorbadjian y Kogani, 2004). El grado de dormancia en las semillas varía enormemente entre y dentro de las especies, incluso en semillas de la misma cosecha (Kozlowski, 1972). La habilidad de las semillas para retener la viabilidad durante períodos prolongados es una de las propiedades adaptativas más importantes de las plantas, ya que les permite sobrevivir durante condiciones adversas. La germinación retrasada representa una ventaja adaptativa para las plantas que la poseen, especialmente en zonas de climas templados, donde los inviernos son severos. En este caso, las semillas deben ser protegidas cuando caen al suelo en otoño ya que la germinación temprana produciría la muerte de las plántulas por efecto de las bajas temperaturas (Crocker y Barton, 1957; Kozlowski, 1972). De esta forma, la dormancia permite (1) que las semillas permanezcan viables por un período de tiempo mayor y (2) que bajo condiciones naturales las semillas individuales se vuelvan permeables en diferentes épocas posteriores a su producción permitiendo que cualquier cohorte de semillas sea capaz de germinar dentro de un período de varios años (Crocker y Barton, 1957).

Las semillas de especies de la familia Malvaceae presentan dormancia impuesta por la testa, debido a que su cubierta seminal impide la absorción de agua (King, 1966; Bewley y Black, 1985; Geneve, 1998; Di Benedetto, 2004).

La presencia de una cubierta dura en las semillas representa una limitación si se desea reproducir una especie con fines comerciales, ya que retrasa la germinación y por lo tanto la obtención de ejemplares adultos. Particularmente en esos casos, la propagación asexual, agámica o vegetativa provee un medio alternativo para la obtención de plantas adultas. Dicha

forma de propagación se fundamenta en dos características presentes en las células de los diferentes tejidos vegetales: la totipotencialidad y la capacidad de desdiferenciación. Ambas propiedades combinadas permiten la multiplicación de nuevas plantas completas, idénticas a la progenitora, a partir de partes vegetativas (Di Benedetto, 2004).

El objetivo de este trabajo es aportar información acerca de los requerimientos de cultivo de *Pavonia cymbalaria* A. St.-Hil. & Naudin (Malvaceae), una especie orófila, endémica de las sierras del sur de Uruguay y de la provincia de Buenos Aires (Ventania, Balcarce, Tandil y Olavarría) (Cabrera, 1965; Long y Grassini, 1997). La especie presenta caracteres morfológicos que, *a priori*, se identifican como de posible interés ornamental: es perennifolia, con abundantes hojas y grandes flores de coloración atractiva.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Sitio de estudio.** El estudio se llevó a cabo en las instalaciones del Jardín Botánico Pillahuincó, ubicado dentro del Parque Provincial Ernesto Tornquist (Buenos Aires, Argentina) y manejado por el Grupo de Estudios en Conservación y Manejo de la Universidad Nacional del Sur. En sus instalaciones se cultivan especies nativas, herbáceas y arbustivas, obtenidas a partir de semillas, esquejes y trasplantes. Los objetivos principales del jardín incluyen la educación sobre el valor de la flora nativa, la conservación *ex situ* de endemismos amenazados, la producción de plantas para tareas de restauración y la investigación sobre técnicas de propagación y cultivo (Zalba y Long, 2003).

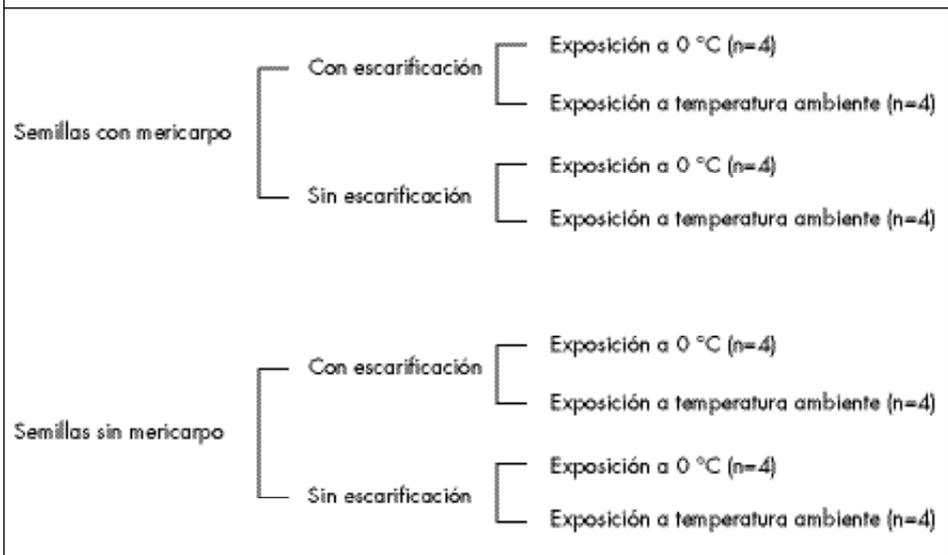
**Descripción de la especie.** *P. cymbalaria* es un subarbusto procumbente, perenne, con ramas de hasta 60 cm de largo. Las flores son solitarias, con pedúnculo de 1-3 cm de largo. Presenta pétalos rosado-liliáceos con nervaduras y mancha basal rojizas, de 20mm de largo por 15 de ancho. El fruto es seco y esquizocárpico, con 5 mericarpos uniovulados (Parodi, 1959, Cabrera, 1965). Las semillas son arriñonadas, lisas y con dos mechones de pelos (Cabrera, 1965).

**Estudios de germinación.** A fin de evaluar la existencia de dormancia en las semillas y los posibles requerimientos para su ruptura, se recolectaron 640 mericarpos de *P. cymbalaria* en abril de 2004, en el Parque Provincial Ernesto Tornquist. Se mantuvieron en sobres de papel durante 48 horas a temperatura ambiente para su secado y posteriormente se almacenaron en un recipiente hermético en heladera hasta el momento de realizar el estudio. Los mericarpos fueron sometidos a los siguientes tratamien-

tos (Fig. 1): (1) remoción con pinza de restos carpelares, (2) escarificación mecánica manual con papel de lija N° 600 para las semillas desnudas y N° 800 para los mericarpos y (3) exposición a baja temperatura (0 °C durante 36 hs) de las semillas desnudas y de los mericarpos (Blackshaw, 1990; Young y Young, 1999; Di Benedetto, 2004). Para cada tratamiento se reservó un número igual de semillas o mericarpos sin tratar como control. Las semillas y los mericarpos sin abrir se sembraron en cajas de Petri transparentes, sobre una base de algodón humedecida y cubierta con papel de filtro (Parodi, 1964). Para cada tratamiento se emplearon cuatro cajas conteniendo 20 semillas o mericarpos cada una. Todas fueron ubicadas en cámara de germinación durante 30 días, con un fotoperíodo de 13 horas de luz a 20 °C y 11 horas de oscuridad a 15 °C (Crocker y Barton, 1957; Parodi, 1964; Solano et al., 1974). Las cajas se regaron periódicamente con agua destilada conteniendo unas gotas de hipoclorito de sodio (55g/l). Las plántulas se fueron retirando al extender su radícula y cotiledones, y se transplantaron a vasos de plástico con suelo sin ningún tratamiento previo.

**Fig. 1.** Esquema de los tratamientos a que fueron sometidas las semillas y mericarpos de *P. cymbalaria*.

**Fig. 1.** Scheme of treatments to which seeds and mericarps of *P. cymbalaria* were exposed.



Se evaluó la existencia de posibles diferencias en el porcentaje de germinación entre los distintos tratamientos. Las semillas con mericarpo no germinaron, independientemente del tratamiento de escarificación o frío, por lo que fueron excluidas del análisis estadístico. Se efectuó entonces un ANOVA doble con los resultados obtenidos (2 niveles de escarificación x 2 tratamientos de temperatura). Los datos cumplieron con los requisitos de normalidad y homocedasticidad (Zar, 1999).

**Estudios de reproducción vegetativa.** Durante el invierno y la primavera de 2004 se recolectaron 100 esquejes semileñosos de plantas silvestres, 50 en cada estación. Cada estaca obtenida en invierno fue tomada de una planta distinta, que fue marcada para ser usada nuevamente en la recolección de primavera. En cada caso las estacas, de entre 15 y 20 cm de longitud, se obtuvieron realizando un corte limpio, en bisel, con tijera de podar, justo por debajo de un nudo. Inmediatamente fueron trasladadas hasta el Jardín Botánico en bolsas plásticas para evitar su deshidratación y respetando su polaridad. Una vez allí se les retiró parte de las hojas dejando únicamente las superiores para que la planta pudiera continuar con el proceso de fotosíntesis. La mitad de ellas, tanto en primavera como en invierno, fueron sumergidas en hormona de enraizamiento (ácido alfa-naftalén acético al 0,3% en polvo) hasta cubrir un centímetro de la estaca, desde el área de corte (Di Benedetto, 2004). Posteriormente se plantaron en macetas conteniendo suelo del parque y se mantuvieron en el jardín botánico, bajo condiciones naturales, donde se siguió su evolución hasta fines del 2004.

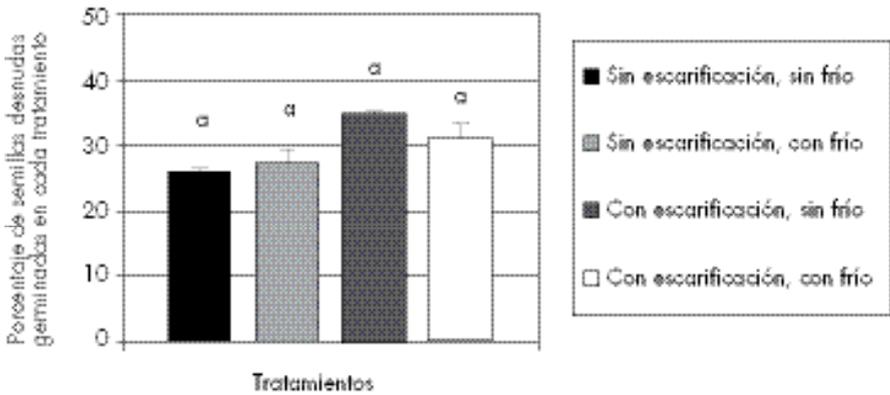
Se comparó el porcentaje de supervivencia de las plantas entre los distintos tratamientos (2 estaciones x 2 tratamientos hormonales) empleando el test de Kruskal Wallis, debido a que los datos no cumplían con los requisitos de normalidad. Las diferencias encontradas se analizaron con la prueba de Nemenyi (Zar, 1999).

## RESULTADOS

**Estudios de germinación.** Solo se observó germinación en las semillas desnudas, en tanto las semillas con restos carpelares no respondieron a ninguno de los tratamientos aplicados. No se halló interacción entre los tratamientos ( $p=0,7027$ ) ni diferencias significativas entre los porcentajes de germinación de las semillas desnudas sometidas a los tratamientos de escarificación ( $p=0,3476$ ) y exposición al frío ( $p=0,8483$ ) (Fig. 2).

**Fig. 2.** Porcentaje de germinación de semillas desnudas sometidas a distintos tratamientos. Los histogramas representan el promedio  $\pm$  1 error estándar de  $n=4$ . Los tratamientos con igual letra no difieren significativamente ( $p>0,05$ ).

**Fig. 2.** Percentage germination of nude seeds exposed to different treatments. Histograms represent the mean  $\pm$  1 standard error of  $n=4$ . Treatments with equal letter do not differ significantly ( $p>0.05$ ).



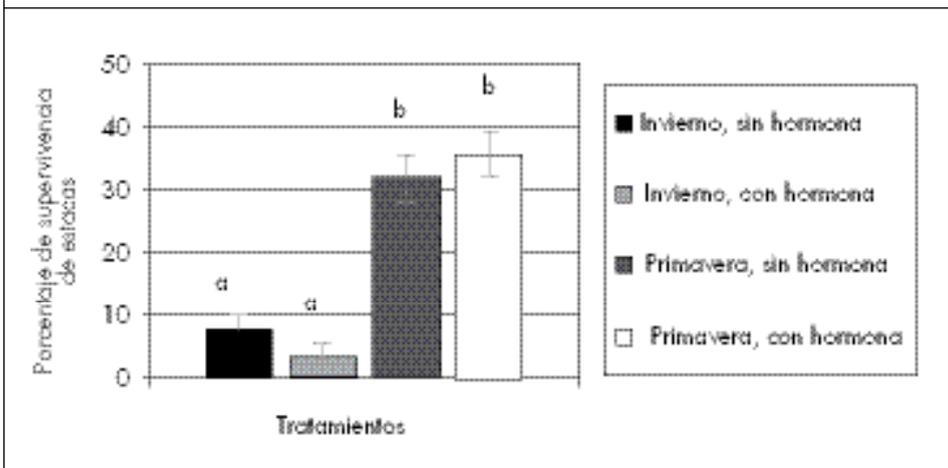
Las plántulas obtenidas por este medio de propagación no sobrevivieron más de 45 días luego de ser transplantadas, debido a que los tallos se debilitaron y las plántulas acabaron por marchitarse y volcarse.

**Estudios de reproducción vegetativa.** Todos los tratamientos aplicados produjeron plantas viables (Fig. 3), aunque se encontraron diferencias altamente significativas en los porcentajes de supervivencia de cada uno de ellos (Kruskal Wallis:  $X^2=11,862$ ,  $p=0,008$ ). El porcentaje de supervivencia resultó significativamente mayor (Test de Nemenyi:  $p<0,05$ ) cuando las estacas se recolectaron en primavera en comparación con las recolectadas en invierno. No se encontraron diferencias significativas (Test de Nemenyi:  $p>0,05$ ) entre los tratamientos hormonal y control independientemente de la estación de recolección de las estacas (Fig. 3).

Las plantas obtenidas por propagación vegetativa se conservaron en el jardín botánico, observándose producción de flores y de semillas durante los veranos de 2004 (año de la implantación) y 2005.

**Fig. 3.** Porcentaje de supervivencia de estacas sometidas a distintos tratamientos. Cada histograma es el promedio  $\pm$  1 error estándar de  $n=25$ . Los tratamientos con igual letra no difieren significativamente ( $p>0,05$ ).

**Fig. 3.** Percentage survival of stakes exposed to different treatments. Each histogram is the mean  $\pm$  1 standard error of  $n=25$ . Treatments with equal letter do not differ significantly ( $p>0.05$ ).



## DISCUSIÓN

Hasta el momento de realizar este trabajo los esfuerzos por reproducir a *Pavonia cymbalaria* a partir de semillas en el Jardín Botánico Pillahuincó habían resultado infructuosos (Andrea Long, com. pers.). Los resultados obtenidos a partir de los estudios realizados ponen de manifiesto la existencia de una dormancia exógena en las semillas de *P. cymbalaria*, que impide su germinación a menos que los restos carpelares sean removidos por completo. La dureza de los mericarpos podría estar ejerciendo una resistencia mecánica a la protrusión del embrión y limitando además la absorción de agua por parte de la semilla. Este tipo de dormancia es común en semillas “duras” que se suberizan y desarrollan una cubierta de cutina que las vuelve impermeables al agua (Geneve, 1998). En algunos casos la dureza de la cubierta es un factor genético, pero las condiciones ambientales, como una baja humedad relativa, también influyen en el porcentaje de semillas duras que aparece en cada cultivo (Crocker y Barton, 1957).

La escarificación por abrasión mecánica no resulta suficiente para promover la germinación de los mericarpos, ni produce diferencias en el

porcentaje de germinación cuando se la aplica sobre las semillas desnudas, posiblemente, en el último caso, por la delgadez de la cubierta seminal.

La falta de respuesta en las semillas y mericarpos a las bajas temperaturas indicaría la ausencia de una dormancia endógena, del tipo que puede ser interrumpida exponiendo a las semillas a temperaturas inferiores a los 10 °C (Gevene, 1998). Esta última, sin embargo, es una adaptación frecuente en muchas especies que habitan ambientes rocosos similares al que ocupa *P. cymbalaria* en el Parque Tornquist (Crocker y Barton, 1957).

La muerte de la totalidad de las plántulas luego de su trasplante podría deberse a la presencia en el suelo de organismos fúngicos causantes del llamado “mal de los almacigos”, que ataca la base del tallo o el cuello de la raíz (Pape, 1977). Esta enfermedad es causada por diversas especies de hongos de los géneros *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Phitophthora* y *Fusarium*, entre otros (Font Quer, 1963, Alexopoulos, 1977) que destruyen la base del tallo o parte de las raíces, impidiendo la absorción de agua y nutrientes. En el caso particular de *P. cymbalaria*, es necesario estudiar la forma de reducir la incidencia de esta enfermedad para evitar la muerte de las plántulas.

Pese a las dificultades de enraizamiento citadas por Fryxell (1999) para el género *Pavonia*, los resultados obtenidos demuestran la posibilidad de obtener ejemplares por medio de la propagación vegetativa. El mayor porcentaje de supervivencia de las plantas obtenidas a partir de estacas recolectadas en primavera concuerda con la bibliografía que recomienda la recolección de las mismas en las estaciones más cálidas para especies de difícil enraizamiento (Di Benedetto, 2004). Sin embargo, es importante que las plantas se encuentren en estado vegetativo, ya que el balance endógeno de hormonas-nutrientes de una rama en el estado de floración es antagónico con respecto a la rizogénesis (Di Benedetto, 2004).

El empleo de sustancias promotoras del crecimiento aumenta las posibilidades de éxito en la propagación por estacas, ya que genera un mayor porcentaje de enraizamiento, mejora la calidad del sistema radical y acorta el tiempo requerido para la formación de las raíces; aun así, las características genéticas de la especie también influyen en el proceso de enraizamiento para cada técnica específica (Di Benedetto, 2004). En este caso, el empleo de la auxina sintética ácido alfa-naftalén acético (ANA) no condujo a un mayor porcentaje de supervivencia de las estacas, razón por la cual no sería necesaria su utilización.

Para que una planta sea considerada con capacidad ornamental se requiere, entre otras cosas, que posea una buena reproducción a partir de semillas (ya que esto le otorga variabilidad genética a la especie) y alta capacidad de reproducción asexual, (para conservar las variantes deseables). Si bien la producción de plantas de *P. cymbalaria* a partir de semillas se torna dificultosa debido a la necesidad de remover la cubierta carpelar para lograr un alto índice de germinación, los resultados han sido positivos en cuanto a su capacidad germinativa, ajustando los métodos de trasplante de plántulas

para mejorar su supervivencia. Por otra parte, los resultados muestran una buena capacidad de reproducción a partir de estacas, siempre y cuando su recolección y plantación se realicen en primavera. Faltaría aún profundizar acerca de los requerimientos específicos para su mantenimiento bajo cultivo. Sin embargo, se recomienda mantener las plantas bajo radiación solar plena, ya que de esta forma la producción de flores es mayor.

## REFERENCIAS

- Alexopoulos, J.C. (1977). Introducción a la Micología. Editorial Universitaria de Buenos Aires. Buenos Aires. 615 p.
- Bewley, J.D. y M. Black (1985). Seeds: Physiology of Development and Germination. Plenum Press, New York. 367 p.
- Blackshaw, E.R. (1990). Influence of soil temperature, soil moisture, and seed burial depth on the emergence of round-leaved mallow (*Malva pusilla*). *Weed Science* 38: 518-521.
- Cabrera, A.L. (1965). Flora de la provincia de Buenos Aires. Colección Científica del INTA, Tomo 4: 174-176.
- Chorbadjian, R. y M. Kogani (2004). Estudios de dormancia y germinación de Malva (*Malva parviflora*). *Revista Latinoamericana de Ciencias de la Agricultura* 31: 129-136.
- Crocker, W. y L. Barton (1957). Physiology of Seeds: An introduction to the experimental study of seed and germination problems. Chronica Botanica Company, Waltham, Massachusetts. 267 p.
- Di Benedetto, A.H. (2004). Cultivo intensivo de plantas ornamentales: Bases científicas y tecnológicas, 1° Edición. Editorial de la Facultad de Agronomía, Buenos Aires. 288 p.
- Font Quer, P. (1963). Diccionario de Botánica. Editorial Labor S.A. Barcelona. 1244 p.
- Food and Agricultural Organization of the United Nations. Plan de acción mundial para la conservación y la utilización sostenible de los recursos fitogenéticos para la alimentación y la agricultura y Declaración de Leipzig (1996). <http://www.fao.org/ag/AGP/AGPS/GpaSP/GPASPA.pdf>. Consultado en enero 2006.
- Frankel, O.H. y M.E. Soulé (1981). Conservation and evolution. Cambridge University Press. Cambridge, United Kingdom. 327 p. Citado en: Squeo F.A., G. Arancio y J.R. Gutiérrez (2001). Libro rojo de la flora nativa y de los sitios prioritarios para su conservación: Región de Coquimbo. Ediciones Universidad de La Serena. Chile. 18: 273-280.
- Fryxell, P.A. 1999. Flora Neotrópica Monograph 76: *Pavonia cavanilles* (Malvaceae). The Organization for Flora Neotrópica. The New York Botanical Garden Press. New York. p. 108-109.
- Geneve, R.L. (1998). Seed dormancy in commercial vegetable and flower species. *Seed Technology* 20: 236-250.
- King, L.J. (1966). Weeds of the world, biology and control. Interscience Publishing, Inc. New York. 526 p.
- Kozłowski, T.T. (1972). Seed biology: Physiological ecology. Vol. 1: Importance, development and germination. Academic Press. New York. 416 p.
- Long, M.A. y C.M. Grassini (1997). Actualización del conocimiento florístico del Parque Provincial Ernesto Tornquist. Informe Final del Convenio de Colaboración Recíproca Ministerio de Asuntos Agrarios Provincia de Buenos Aires y Universidad Nacional del Sur. 257 p. Inédito.
- Pape, H. (1977). Plagas de las flores y de las plantas ornamentales. Editorial Oikos-Tau. Barcelona. 656 p.
- Parodi, L.R. (1959). Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería. Vol. 1. Editorial Acme. Buenos Aires. 930 p.
- Parodi, L.R. (1964). Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería. Vol. 2. Parte I. Editorial Acme. Buenos Aires. 706 p.
- Solano, F., J.W. Schrader, y H.D. Coble (1974). Germination and emergence of spurred anoda. *Weed Science* 22: 353-354.
- Steger, R.E. y R.F. Beck (1973). Range plants as ornamentals. *Journal of Range Management* 26: 72-74.
- Young, J.A. y C.G. Young (1999). Collecting, processing and germinating seeds of wildland plants. 4° Edición. Editorial Timber Press Inc. Portland, Oregon. 236 p.
- Zalba, S.M. y M.A. Long (2003). Jardín Botánico del Parque Provincial Ernesto Tornquist: Una experiencia para la conservación de la flora nativa. Resúmenes 29° Jornadas Argentinas de Botánica. 19 al 23 de Octubre, San Luis. p. 74.
- Zar, J. H. (1999). Biostatistical Analysis. 4° Edición. Editorial Prentice-Hall. Upper Saddle River, New Jersey. 663 p.