# $\Phi YTON$

### REVISTA INTERNACIONAL DE BOTÁNICA EXPERIMENTAL INTERNATIONAL JOURNAL OF EXPERIMENTAL BOTANY

FUNDACION ROMULO RAGGIO Gaspar Campos 861, 1638 Vicente López (BA), Argentina www.revistaphyton.fund-romuloraggio.org.ar

## Caracterización de semilla, germinación y plántula de *Cologania broussonetii* (Balb.) DC.

Seed, germination and seedling characterization of Cologania broussonetii (Balb.) DC.

Lovey<sup>1</sup> RJ, P Perissé<sup>2</sup>, C Vieyra<sup>3</sup>, JC Coraglio<sup>3</sup>

Resumen. Cologania broussonetii (Balb.) DC. (Fabaceae) crece desde los Andes orientales de Bolivia hasta el Noroeste Argentino, sierras de Córdoba y San Luis. Se la reconoce como una forrajera nativa. Los objetivos de este estudio fueron: caracterizar la semilla, la germinación y la plántula de C. broussonetii. La caracterización de la estructura de la semilla se realizó mediante cortes a mano alzada analizados con microscopio óptico y estereoscópico. Los tratamientos para los ensayos de germinación fueron: (1) semillas intactas sin escarificar a 25 °C constante, (2) semillas escarificadas a 25 °C constante, (3) semillas intactas sin escarificar a 20-30 °C alternante, y (4) semillas escarificadas a 20-30 °C alternante. Los resultados mostraron que las semillas son de forma variable según su posición en la legumbre. La cubierta seminal es brillante, marrón rojizo con vetas negras, presenta el hilo rodeado de una corona con arilo con doble lengüeta hilar; el micrópilo es deltoide y la lente visible. El embrión acumula las sustancias de reserva y está rodeado por una capa de endosperma conspicua. El embrión es de posición axial subtipo englobado, la plúmula está moderadamente desarrollada y el extremo de la radícula, protegida por un capuchón radicular, es triangular. Los ensayos de germinación mostraron que las semillas escarificadas superaron el 90% de germinación, mientras que las semillas sin escarificar no alcanzaron el 50%. La máxima germinación se registró a 20-30 °C a los 15 días de la siembra. La germinación es faneroepígea; los cotiledones presentan margen entero, el primer par de hojas es unifoliolado con estípulas y las siguientes hojas alternas son trifolioladas y estipuladas. La morfología de la plántula de C. broussonetii se corresponde con los tipos Sloanea subtipo Sloanea y Sophora.

**Palabras clave:** *Cologania broussonetii*; Semilla; Escarificación; Germinación; Plántula.

Abstract. Cologania broussonetii (Balb.) DC. (Fabaceae) grows from the Bolivian eastern Andes to the north west of Argentina, Cordoba hills and San Luis Province. It is recognized as a native forage. The objectives of this study were to characterize the seed, the germination and the seedling of C. broussonetii. Seed structure was characterized through free hand sections and analyzed with optical and stereoscopic microscopy. The germination assay treatments were: (1) intact non-scarfied seeds at 25 °C constant, (2) scarified seeds at 25 °C constant, (3) intact non-scarified seeds at 20-30 °C alternating, and (4) scarified seeds at 20-30 °C alternating. Results showed that seed is variable in shape depending upon its position within the legume. Seed coat is shiny, reddish brown with black streaks. The hilum is surrounded by a corona and it presents an aril with double hilar tongue. The micropyle is deltoid and the lens is visible. The embryo accumulates reserve substances and it is surrounded by a conspicuous endosperm layer. The embryo is in axile position investing subtype, the plumule is moderately developed and the radicle apex, protected by a radicle pocket, is triangular. Germination assays showed that scarified seeds exceeded 90% germination; meanwhile intact seeds did not reach the 50%. Maximum germination occurred at 20-30 °C, 15 days after seeding. Germination is phaneroepigeal; cotyledons present entire margin, the first pair of leaves is unifoliolated subtended by a pair of stipules. The following alternating leaves are trifoliolated and stipulated. Seedling morphology of C. broussonetii corresponds with the types Sloanea subtypes Sloanea and Sophora.

Keywords: Cologania broussonetii; Seed; Scarification; Germination; Seedling.

Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba, Av. Valparaíso S/N Ciudad Universitaria, C.C. 509, 5000, Córdoba, Argentina.

Address Correspondence to: Ing. Agrón. (MSc.) Rita Lovey, e-mail: rilovey@agro.unc.edu.ar Recibido / Received 24.VIII.2009. Aceptado / Accepted 20.X.2009.

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup>Departamento Fundamentación Biológica, Botánica Taxonómica.

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> Departamento Fundamentación Biológica, Botánica Morfológica.

<sup>&</sup>lt;sup>3</sup> Departamento Producción Animal, Forrajes y Manejo de Pasturas.

#### INTRODUCCIÓN

Cologania broussonetii (Balb.) DC. (Fabaceae) crece desde los Andes orientales de Bolivia hasta el Noroeste Argentino, sierras de Córdoba y San Luis, desde el nivel del mar hasta los 1000 m de altura (Burkart, 1952; Zuloaga y Morrone, 1999). Es una hierba o subarbusto perenne, con tallos volubles, hojas trifolioladas, de flores violáceas vistosas (Burkart, 1952). Por la belleza de sus flores podría considerarse como una especie ornamental (Sércic et al., 2006). Se la reconoce como una forrajera de adecuada digestibilidad hasta el estado de vaina, que aporta valor proteico en los pastizales de cumbre y suficiente producción de semillas para la resiembra natural (Correa et al., 2002; Vieyra et al., 2008).

La morfología de las semillas de las leguminosas ha sido ampliamente estudiada (Corner, 1976; Gunn, 1981; Manning y van Staden, 1987; McDonald et al., 1988; Perissé y Planchuelo, 2004) y como es conocido, en la mayoría de ellas es común la presencia de una cierta proporción de semillas duras (Carámbula, 1981; Esau, 1982; Werker, 1997; Maddaloni y Ferrari, 2005). Esta forma de dormición constituye un problema para la implantación de cultivos o la resiembra natural de las especies; sin embargo, diversos estudios demostraron que la escarificación mecánica es un tratamiento eficiente para superar dicha dormición (Gill y Vear, 1965; Carámbula, 1981; Bewley y Black, 1994). Por otro lado, está demostrado que la alternancia de temperaturas favorece la germinación de ciertas especies (Popinigis, 1985; Copeland y McDonald, 2001). Debido a la escasa información disponible sobre C. broussonetii es importante comprobar la presencia de semillas duras, conocer las temperaturas óptimas para su germinación, y evaluar el comportamiento durante la misma. Además, resulta de utilidad el estudio de los caracteres morfológicos de la semilla para su reconocimiento en bancos de semillas y en estudios ecológicos relacionados con el desarrollo y cambios en la vegetación (Niembro Rocas, 1989; Rodríguez y Faya de Falcón, 1997; Bianco et al., 2000). Asimismo, la caracterización morfológica de la plántula con propósitos agronómicos constituye otra herramienta para su reconocimiento a campo, y contribuye en estudios de poblaciones y de su capacidad de regeneración natural (Duke y Polhill, 1981; Ye, 1983; Sorol et al., 2005). En base a los antecedentes expuestos se plantearon los siguientes objetivos: realizar la caracterización de (1) la semilla, (2) la germinación y (3) la plántula de C. broussonetii.

#### MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal. Se recolectaron frutos maduros en una población de *C. broussonetii* en el cerro Pan de Azúcar (31°14′15 S y 64°20′11 O), Provincia de Córdoba, Argentina,

en abril de 2005. Los frutos se almacenaron en bolsas de papel a temperatura ambiente hasta la dehiscencia de los mismos; posteriormente, se separaron manualmente las semillas y se conservaron a temperatura ambiente hasta el momento de la realización de los ensayos.

Caracterización morfológica de la semilla. Para la caracterización morfológica de la semilla se tuvo en cuenta la clasificación de Martin (1946) y Kirkbride et al. (2003), y para la determinación del color de la cubierta seminal se utilizó la carta de colores de Munsell (2000). El análisis de la estructura de la semilla se realizó mediante cortes a mano alzada en los planos transversal y sagital analizados con microscopio óptico y estereoscópico. Las imágenes fueron registradas con una cámara digital.

Germinación y caracterización morfológica de la plántula. En los ensayos de germinación se evaluaron: (1) semillas intactas sin escarificar a 25 °C constante, (2) semillas escarificadas a 25 °C constante, (3) semillas intactas sin escarificar a 20-30 °C, y (4) semillas escarificadas a 20-30 °C. El escarificado se realizó con lija de esmeril, en las caras laterales de la cubierta seminal, para evitar daños en la radícula del embrión. Las semillas se sembraron sobre bandejas con papel de germinación embebido en agua destilada; cada repetición se dispuso en bolsas de polietileno cerradas. Teniendo en cuenta las temperaturas sugeridas para especies de leguminosas estivales (ISTA, 2003), los ensayos se llevaron a cabo en cámaras de germinación con un periodo luz-oscuridad de 8-16 h, respectivamente. Se registró el número de semillas germinadas a los 4, 8, 12 y 15 días a partir de la siembra. Se consideró germinada aquella semilla con una radícula emergida de 2 mm de longitud (germinación sensu stricto).

La descripción de la plántula se realizó siguiendo la terminología propuesta por Duke y Polhill (1981), los esquemas de clasificación de Ye (1983) y los tipos morfológicos de plántula de De Vogel (1979, 1980). Los ejemplares están depositados en el Herbario ACOR y en la Colección de Semillas de la Facultad de Ciencias Agropecuarias (UNC) en Córdoba, Argentina.

El diseño experimental fue completamente aleatorizado, con cuatro repeticiones de 25 semillas para cada tratamiento. Los datos se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA) y la prueba de Tukey para determinar el efecto de los tratamientos, con un nivel de significancia del 5%, utilizando el programa InfoStat (2004).

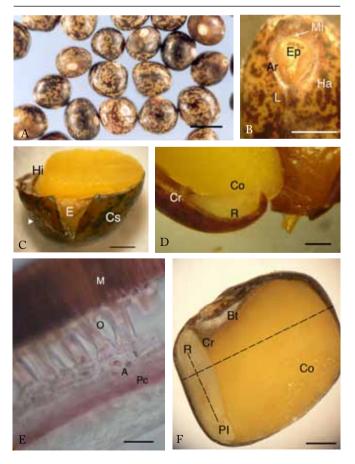
#### RESULTADOS

Caracterización de la semilla. Las semillas de *C. brousso-netii* adoptan forma variable, desde reniforme hasta trapezoidal o cuadrangular, según su posición en la legumbre (Fig. 1A). La cubierta seminal es brillante, marrón rojizo (2.5YR, Valor 5 intensidad 3) con vetas negras (5YR, Valor 2.5 intensidad 1); al microscopio se observan numerosos poros conspicuos.

El hilo es de forma oval, se encuentra en posición lateral, rodeado por un halo o corona, presenta arilo con doble lengüeta y el surco hilar está cubierto por el epihilum. El micrópilo de forma deltoide se encuentra adnato al hilo en el extremo del lóbulo radicular. La lente es visible sobre la línea del rafe y presenta dos elevaciones con un surco entre ambas (Fig. 1B-C). Si bien la semilla es exendospermada, presenta una capa conspicua de endosperma ligeramente transparente, revistiendo

Fig. 1. Características morfológicas de la semilla de *Cologania broussonetii*. A, semillas; B, región hilar; C, corte transversal por hilo; D, corte longitudinal del lóbulo radicular; E, corte transversal de cubierta seminal; F, corte longitudinal sagital; A, capa de aleurona; Ar, arilo con doble lengüeta; Bt, barra de traqueidas; Co, cotiledón; Cr, capuchón radicular; Cs, cubierta seminal; E, endosperma; Ep, epihilum; Ha, halo; Hi, hilo; L, lente; M, macroesclereidas; Mi, micrópilo; O, osteoesclereidas; Pc, parénquima compacto; Pe, parénquima esponjoso; Pl, plúmula; R, radícula. Cabeza de flecha, poros. Barra, A-D y F: 0,5 mm; E: 50 µm.

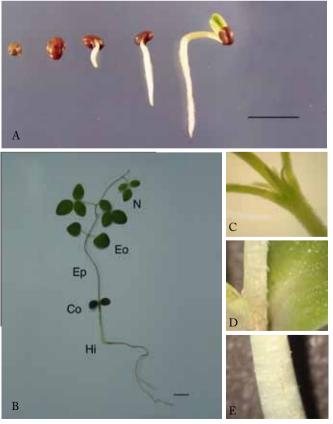
**Fig. 1.** Morphologycal seed characteristics of *Cologania broussonetii*. A, seeds; B, hilar region; C, hilum transversal cross section; D, radicle lob longitudinal section; E, seed coat cross section; F, sagital seed section. A, aleurone layer; Ar, aril with two hilar tongue; Bt, tracheid bar; Co, cotyledon; Cr radicle cap; Cs seed coat; E, endosperm; Ep, epihilum; Ha, halo; Hi, hilum; L, lens; M, macrosclereids; Mi, micropyle; O, osteoesclereids (hour glass cells); Pc, compact parenchyma; Pe, spongy parenchyma; Pl, plumule; R, radicle. Arrow head, pores. Bar, A-D and F: 0.5 mm; E: 50 μm.



toda la superficie interna de la cubierta seminal y que forma un capuchón alrededor del ápice radicular (Fig. 1C-D). La estructura anatómica de la cubierta seminal muestra los siguientes estratos: la epidermis compuesta por una capa compacta de macroesclereidas (90,08 µm de espesor), una capa subepidérmica de osteoesclereidas (67,62 µm). El endosperma adnato a la cubierta seminal está formado por una capa de aleurona, varias capas de células parenquimáticas compactas (73 µm) y un parénquima esponjoso que varía entre 235,2 y 294 µm, según la región de la semilla (Fig. 1E). La barra de traqueidas piriforme está dispuesta a lo largo del surco hilar (Fig. 1F). El embrión es de posición axial subtipo englobado, el eje hipocótilo-radicular forma un ángulo recto con el eje de la semilla. La plúmula está moderadamente desarrollada y el extremo de la radícula es triangular (Fig. 1F).

Fig. 2. Germinación y plántula de *Cologania broussonetii*. A, secuencia de germinación; B, plántula normal; C, detalle de estípulas en eofilos; D, pelos retrorsos en epicótilo; E, pelos en hipocótilo. Eo, eofilos; Ep, epicótilo; N, nomofilo; Co, cotiledones; Hi, hipocótilo; Ep, epicótilo. Barra A-D: 1,5 cm.

Fig. 2. Germination and seedling of *Cologania broussonetii*. A, germination sequence; B, normal seedling; C, eophyll stipules detail; D, hairs in epicotyl; E, hypocotyl hairs. Eo, eophylls; Ep, epicotyl; N, nomophyll; Co, cotyledons; Hi, hypocotyl; Ep, epicotyl. Bar A-D: 1.5 cm.



#### Germinación y caracterización morfológica de la plán-

tula. Los resultados de los ensayos de germinación muestran que las semillas escarificadas superaron el 90% de germinación, mientras que las semillas intactas no escarificadas no alcanzaron el 50% de germinación para ambas temperaturas (Tabla 1). Las semillas no germinadas son aquellas no embebidas durante el período de duración del ensayo.

**Tabla 1.** Germinación (%) de semillas intactas y escarificadas de *C. broussonetii* bajo dos condiciones de temperatura. DDS, días después de la siembra.

**Table 1.** Germination (%) of intact and scarified seeds of *C. broussonetii* under two temperature conditions. DDS, days after seeding.

Tratamientos		4 DDS	8 DDS	12 DDS	15 DDS
25 °C	intactas	0	1	6	44
	escarificadas	34	64	70	96
20-30 °C	intactas	0	5	10	20
	escarificadas	70	92	96	100

La germinación se corresponde con el tipo morfológico faneroepígea. Luego de la emergencia de la radícula, el hipocótilo se alarga notoriamente elevando los cotiledones reservantes, aún envueltos por el episperma. Después de un breve reposo en el desarrollo, los cotiledones se despliegan quedando completamente expuestos al desprenderse del episperma junto con el endosperma; inmediatamente desarrolla el epicótilo con un primer par de hojas simples opuestas y las subsiguientes hojas compuestas alternas espiraladas (Fig. 2).

La plántula se caracteriza por sus cotiledones oblongos con margen entero que permanecen fotosintetizantes aún después del despliegue del tercer nomofilo (Fig. 2B). A la altura del nudo cotiledonar se visualiza una coloración púrpura; el hipocótilo con pelos cortos perpendiculares al eje (Fig. 2E), exhibe un conspicuo engrosamiento hacia la base (Fig. 2B). En el epicótilo se observan pelos retrorsos (Fig. 2D). Los eofilos (hojas simples opuestas) tienen pecíolo con pelos retrorsos y estípulas lineares interpeciolares fusionadas con las del eofilo opuesto (Fig. 2C); la lámina es simple ampliamente aovada, de base truncada y el ápice es emarginado con un mucrón en la escotadura, pubescente en la cara abaxial. Los nomofilos (hojas pinado-trifolioladas alternas) presentan estípulas lineares pubescentes, libres; pecíolo pubescente y de base engrosada formando un pulvínulo; raquis y peciólulos pubescentes; folíolos elípticos mucronulados de margen liso, el terminal de mayor tamaño, pubescentes en la cara abaxial, presentan estipelas (Fig. 2B). La plántula se corresponde con los tipos morfológicos Sloanea subtipo Sloanea y Sophora.

#### DISCUSIÓN

Los caracteres morfológicos de la semilla de C. broussonetii concuerdan, en términos generales, con los señalados por Kirkbride et al. (2003) para el género Cologania. Sin embargo, a diferencia de lo informado por dichos autores, la cubierta seminal es siempre brillante marrón rojizo con vetas negras y la capa de endosperma se encuentra adnata a la cubierta seminal. La distribución de los tejidos de la cubierta seminal de C. broussonetii concuerda con el patrón descripto para las leguminosas según Corner (1976), Gunn (1981), Manning y van Staden (1987), entre otros. Simultáneamente, en este trabajo se informa por primera vez sobre la presencia de poros en la cubierta seminal, así como también de la presencia de un capuchón radicular cuyo origen es claramente endospérmico. Esta estructura, similar a la informada en soja por McDonald et al. (1988) y en Lupinus por Perissé y Planchuelo (2004), podría ser interpretada como una protección del meristema radical durante la germinación. Por otro lado, el embrión presenta radícula triangular en contraste con la forma bulbosa informada por Kirkbride et al. (2003). El embrión curvo con cotiledones masivos y que cubren más de la mitad del eje hipocótilo radicular concuerda con la división axial, subdivisión englobado propuesta por Martin (1946), y las interpretaciones de Esau (1982) y Werker (1997).

El alto porcentaje de semillas intactas no embebidas evidencia la presencia de un porcentaje significativo de semillas duras (dormición impuesta por cubiertas). Como se demostró en este trabajo, en concordancia con lo citado por Gill y Vear (1965), Carámbula (1981) y Bewley y Black (1994), esta problemática fue superada por medio de escarificación mecánica. Este tipo de dormición fue atribuida, por diversos autores, a las características morfológicas del episperma de las leguminosas (Carámbula, 1981; Esau, 1982; Werker, 1997; Maddaloni y Ferrari, 2005). Asimismo, la presencia de cierta proporción de semillas duras sería un mecanismo eficiente para enfrentar períodos desfavorables y favorecer la persistencia de esta especie como lo expresa Carámbula (1981). Por otro lado, se comprobó que las temperaturas alternantes de 20-30 °C favorecieron el proceso de la germinación. Estos datos pueden explicarse teniendo en cuenta lo señalado por Copeland y McDonald (2001) quienes sostienen que la alternancia de temperaturas crea un cambio en el balance inhibidor-promotor de la germinación: el inhibidor decrece durante el ciclo de baja temperatura y el promotor aumenta durante la fase de alta temperatura. Al mismo tiempo, en coincidencia con Popinigis (1985) las fluctuaciones de temperaturas simularían las que ocurren normalmente en el banco de semillas del suelo y favorecerían la germinación de las especies nativas.

En relación al tipo morfológico, la plántula de *C. brous-sonetii* coincide con uno de los seis tipos de plántulas seña-

lados por Duke y Polhill (1981) característicos entre las leguminosas, el tipo Sloanea subtipo Sloanea (sensu De Vogel 1979, 1980). Si bien esta clasificación considera la germinación partiendo de la semilla teniendo en cuenta los estados de desarrollo de la plántula y su morfología, incluye tanto semillas endospermadas como exendospermadas. Por otro lado, según el esquema de clasificación de Ye (1983) que enfatiza caracteres funcionales en relación a la morfología, la plántula concuerda con el tipo Sophora. Este tipo de plántula comprende sólo semillas exendospermadas y plántulas con cotiledones masivos, reservantes, que una vez expuestos a la luz son fotosintéticamente activos y luego caen. Por lo tanto, y según los resultados del presente trabajo, esta especie se ajusta en forma más precisa a la clasificación sensu Ye (1983).

La caracterización de la semilla, la plántula y la germinación de *C. broussonetii* constituyen un aporte en el reconocimiento de la especie a campo, en concordancia con lo señalado por Niembro Rocas (1989), Rodríguez y Faya de Falcón (1997), Bianco et al. (2000) y Sorol et al. (2005). Esto es importante para el manejo de la especie como recurso forrajero alternativo, en estudios ecológicos y en la domesticación de plantas nativas para distintos usos, como los indicados por Correa et al. (2002), Sércic et al. (2006) y Vieyra et al. (2008). Se efectuarán futuros estudios en relación a la estructura anatómica-función de la plántula, y la perennidad de la especie.

#### **AGRADECIMIENTOS**

El presente trabajo contó con la financiación de la Secretaría de Ciencia y Técnica de la Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

#### REFERENCIAS

- Bewley, J.D. y M. Black (1994). Seeds Physiology of Development and Germination. New York Plenum Press. 445 p.
- Bianco, C.A., C.O. Nuñez y T.A. Kraus (2000). Identificación de frutos y semillas de las principales malezas del centro de la Argentina. Ed. Fundación Universidad Nacional de Río Cuarto, Córdoba. 141 p.
- Burkart, A. (1952). Las Leguminosas Argentinas silvestres y cultivadas. Ed. Acme Agency, Buenos Aires, Argentina. 569 p.
- Carámbula, M. (1981). Producción de semillas de plantas forrajeras. Ed. Hemisferio Sur. Montevideo, Uruguay. 518 p.
- Copeland, L.O. y M.B. McDonald (2001). Principles of Seed Science and Technology. 5. Seed germination. 78–84 pp. Norwell Massachusetts. Academic publishers. 4th ed.
- Corner, E.J.H. (1976). The Seeds of Dicotyledons, vols. I & II, Cambridge University Press, Cambridge.
- Correa, R.J., A. Quiroga y P.H Watkins (2002). Valor Nutritivo Estival de Especies Forrajeras Herbáceas del Pastizal Natural de la Subcuenca del Río Los Puestos, Ambato, Catamarca. Congreso Regional de Ciencia y Tecnología NOA2002. Se-

- cretaría de Ciencia y Tecnología UNCatamarca. Producciones Científicas Sección: Ciencia de la Ingeniería, Agronomía y Tecnología. http://www.docstoc.com/docs/3271442/CON-GRESO-REGIONAL-de-Ciencia-y-tecnología-Secretaría-de-Ciencia.
- De Vogel, E.F. (1979). Morphological types in dicot seedlings, with reference to their origin. *Bulletin Societé Botanica Française* 126. Actualalités Botaniques, vol 3, p. 173-182.
- De Vogel, E.F. (1980). Seedling of Dicotyledons: structure, development, types. Centre for Agricultural Publishing and Documentation (PUDOC), Wageningen, Netherlands. 465 p.
- Duke, J.A. y R.M. Polhill (1981). Seedlings of Leguminosae. En: R.M. Polhill y P.H. Raven (eds), pp. 941-949. Advances in Legume Systematics. Royal Botanic Gardens, Kew, U.K. 1050 p.
- Esau, K. (1982). Anatomía de las plantas con semillas. Ed. Hemisferio Sur. Buenos Aires. 512 p.
- Gill, N.T. y K.C. Vear (1965). Botánica Agrícola. Ed. Acribia, Zaragoza, España. 564 p.
- Gunn, C.R. (1981). Seeds of Leguminosae. En: Polhill, R.M. y Raven, P.H. (eds.), pp. 913-925. Advances in Legume Systematics. Part 2. Royal Botanical Garden, Kew.
- InfoStat (2004). Infostat versión 2004. Grupo InfoStat, F.C.A. Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- ISTA, International Seed Testing Association (2003). Rules for seed testing. ISTA, Basserdorf, Switzerland.
- Kirkbride, J.H. Jr., C.R. Gunn y A.L. Weitzman (2003). Fruits and seeds of genera in the subfamily Faboideae (Fabaceae). Technical Bulletin n°1890. 1212 p. United States Department of Agriculture. Agricultural Research Service. Washington DC.
- McDonald, M.B.Jr., C.W. Vertucci y E.E. Ross (1988). Seed coat regulation of soybean seed imbibition. *Crop Science* 28: 993-997.
- Maddaloni, J. y L. Ferrari (2005). Forrajeras y pasturas del ecosistema templado húmedo de la Argentina. INTA, Universidad Nacional de Lomas de Zamora. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Argentina. 2° ed. 522 p.
- Manning, J.C. y J. van Staden (1987). The systematic significance of testa anatomy in the Leguminosae. An ilustrated survey. *South African Journal of Botany* 53: 210-230.
- Martin, A.C. (1946). The comparative internal morphology of seeds. *The American Midland Naturalist* 36: 513-660.
- Munsell soil color charts (2000). Revised washable edition Ed. Gretagmacbeth. New Winsor, US. 55 p.
- Niembro Rocas, A. (1989). Semillas de plantas leñosas. Morfología comparada. Ed. Limusa. México D.F. 224 p.
- Perissé, P. y A.M. Planchuelo (2004). Seed coat morphology of *Lu*pinus albus L. and *L. angustifolius* L. in relation to water uptake. Seed Science and Technology 32: 69-77.
- Popinigis, F. (1985). Fisiologia da semente. Brasilia- DF. 2° ed. 289 p. Rodríguez, N.E., L.M Falcón y S.M. Pieri (1997). Malezas. Reconocimiento de semillas y plántulas. Ed. EEA Manfredi- EEA. Paraná, Entre Ríos, Argentina. 204 p.
- Sércic, A., A. Cocucci, S. Benítez-Vieyra, A. Cosacov, L. Díaz, E. Glinos, N. Grosso, C. Lazarte, M. Medina, M. Moré, M. Moyano, J. Nattero, V. Paiaro, C. Trujillo, P. Wiemer (2006). Flores del Centro de Argentina. Una guía ilustrada para conocer 141 especies típicas. Academia Nacional de Ciencias, Córdoba, Argentina. pp. 202-203.

- Sorol, C.B., M.B. Otegui, A. Fleck y G. Klekailo (2005). Contribución al estudio de las poblaciones de *Astronium balansae* Enhl. Caracterización de la plántula. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 40, p. 78. Suplemento.
- Vieyra, C., J.C. Coraglio, M. Steinberg, R. Lovey, P. Perissé (2008). Calidad forrajera, poder germinativo y rendimiento de semillas de *Cologania broussonetii* (Balb.) DC. 31 Congreso Argentino de Producción Animal. Potrero de los Funes, San Luis. Vol. 28, p. 452-453.
- Werker, E. (1997). Seed Anatomy. Gebrüder Borntraeger, Berlin, Stuttgart, pp. 424.
- Ye, N. (1983). Studies on the seedling types of dicotyledonous plants (Magnoliophyta, Magnoliopsida). *Phytologia* 54(3): 161-189.
- Zuloaga, F.O. y O. Morrone (1999). Catálogo de las plantas vasculares de la República Argentina II. Fabaceae- Zygophyllaceae (Dicotyledoneae). Eds. F.O. Zuloaga y O. Morrone. 623-1269 pp. Monographs in Systematic Botany from The Missouri Botanical Garden Press, USA.