

DT
N° 238

**MANEJO DE LA SALINIDAD DEL SUELO
EN PLANTACIONES DE *PROSOPIS*
TAMARUGO PHIL EN LA PAMPA DEL
TAMARUGAL**





MANEJO DE LA SALINIDAD DEL SUELO EN PLANTACIONES DE *PROSOPIS TAMARUGO* PHIL EN LA PAMPA DEL TAMARUGAL

Por Mario F. León^{1*}, Eric Ibacache¹, Sergio I. Silva¹, Pedro León-Lobos¹, Ismael Aracena², Francisco Quiñones²

INTRODUCCION

El incremento de la salinidad por causas naturales y antrópicas es una amenaza global que se cierne sobre la productividad de los sistemas naturales. Particularmente, su importancia crece en regiones áridas y semiáridas donde la alta evaporación y el bajo drenaje promueven una constante acumulación de sales en la superficie. La U.S. Salinity Laboratory Staff (1954) define para las plantas un nivel tóxico de salinidad del suelo cuando la conductividad eléctrica (C.E.) supera el valor de 4 dS/m dejando sólo a unas pocas especies vegetales resistentes cuando el valor es 8 dS/m. Esto deja un margen estrecho de tolerancia a esta condición de estrés. Por ejemplo, en el extremo norte de Chile, en la extensa llanura conocida como Pampa del Tamarugal (Región de Tarapacá), crece el árbol endémico En Peligro *Prosopis tamarugo* Phil. (Fabaceae) (Ministerio Medio Ambiente 2013), una especie que debe soportar los altos depósitos de sal que se encuentran naturalmente en el suelo, con valores medidos de C.E., que llegan a 182 dS/m (datos INIA, este estudio). En este lugar se encuentra la Reserva Nacional Pampa del Tamarugal ("Reserva"), una unidad creada en 1987 y administrada por la Corporación Nacional Forestal que protege particularmente a *P. tamarugo* (www.conaf.cl). La

Reserva posee una superficie de 128.763 hectáreas que incluyen áreas con extensas plantaciones de tamarugo en alta densidad como Zapiga, Salares de Pintados y Bellavista y otra como el Salar de Llamara en la que crecen plantas adultas de la especie en poblaciones naturales de pocos individuos. Según Altamirano (2006 a), la superficie efectiva de plantaciones en el Salar Pintados-Bellavista es de 12.183 ha y en Zapiga, 3.295 ha. En toda la Reserva, tamarugo soporta las condiciones de mayor sequedad del mundo (Houston 2006, Azúa-Bustos et al., 2012).

La productividad vegetal en la Pampa del Tamarugal no podría ser concebida sin una conservación efectiva de *P. tamarugo* en su hábitat. Al ser la principal especie de la Reserva representa la base en la provisión de servicios ecosistémicos en la que se sustentan los niveles tróficos superiores, en particular la actividad ganadera por las comunidades locales (Lanino 1972). El esfuerzo para conservar en su hábitat a *P. tamarugo* no es una tarea fácil de conducir debido, entre otros factores, a la salinidad del suelo (Aguirre & Wrann 1984), la que actúa negativamente en los procesos celulares y fisiológicos ocasionando desbalance iónico, estrés osmótico, toxicidad y desbalance nutricional (Munns 2002). En el pasado, para el desarrollo

¹ Banco Base de Semillas, Instituto de Investigaciones Agropecuarias, INIA Intihuasi, Chile.

² Sociedad Química y Minera de Chile S.A.

*autor de correspondencia: mario.leon@inia.cl

de las actuales plantaciones de tamarugo en la reserva, el uso de enmiendas orgánicas (ej., guano) y azufre para contrarrestar la salinidad del suelo en el establecimiento fue una práctica habitual. En estas pruebas experimentales, el azufre ejercía un mejor efecto sobre las sales del suelo que el uso de guano (Habit 1981). Salvo este antecedente, la existencia de otros procedimientos para contrarrestar las sales del suelo en el desempeño de tamarugos es para nuestro conocimiento inexistente. Si bien experimentalmente los estados tempranos de *P. tamarugo* progresan favorablemente con niveles altos de salinidad (ej., Felker et al., 1981, Arce et al., 1990, Serrato et al., 1991), la regeneración y los estados juveniles son difíciles de observar naturalmente in situ y en efecto sólo ocurren durante episodios de aluviones cordilleranos cuando precisamente las sales del suelo se diluyen por el agua, facilitando el desempeño de las semillas y plántulas de *P. tamarugo* (Altamirano 2006 b). En este artículo describimos una técnica experimental para disminuir la carga de sales del suelo natural, a través de la preparación de un suelo experimental, en el establecimiento de plantas juveniles de *P. tamarugo* en la Pampa del Tamarugal.

SALAR DE BELLAVISTA

Las plantaciones experimentales de tamarugo fueron realizadas en el Salar de Bellavista, en el área incluida en la Reserva Nacional Pampa del Tamarugal y que se ubica a 66 km al Sur-Este de la Comuna de Pozo Almonte, Región de Tarapacá (Fig. 1). Los datos climáticos muestran que las precipitaciones son casi inexistentes y alcanzan un promedio anual de 0,06 mm en 21 años de registro (1993-2013), también presenta una temperatura mínima en invierno de $2,1^{\circ}\text{C} \pm 1,84$ (± 1 desviación

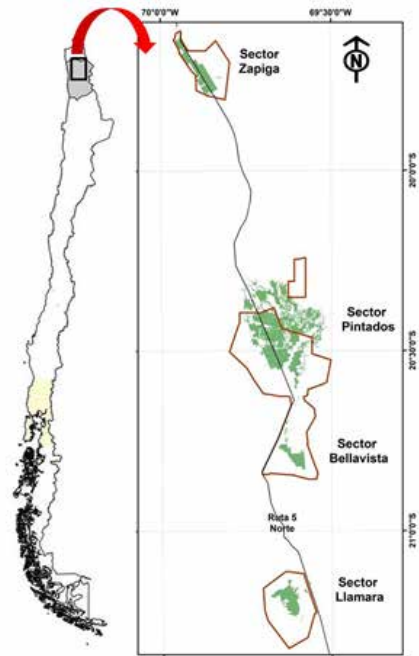


Fig. 1. Ubicación geográfica del Salar de Bellavista en la Reserva Nacional Pampa del Tamarugal (polígono rojo) y vista parcial de plantaciones de tamarugo. En el presente estudio fue necesario usar hoyaduras remanentes que no contenían la contra salina en su superficie como en la presente imagen.

Tabla 1. Salinidad del suelo en el Salar de Bellavista, Reserva Nacional Pampa del Tamarugal realizada en 2013. Las letras en negritas son usadas para destacar los niveles de conductividad eléctrica (C.E.) y las concentraciones de sodio y cloruro en el suelo

Perfil suelo (cm)	C.E. (dS/m)	pH	Saturación extracto (%)	RAS	Cationes (mmol (+) / L)		Aniones (mmol (-) / L)			
					Ca	Mg	Na	K	Cl	SO ₄
40-60	71,7	7,8	49,9	102,0	62,9	68,8	939,4	27,8	1022,9	127,6
60-80	31,9	7,9	55,8	57,8	37,3	15,1	318,4	10,6	322,1	80,7

estandar) que incrementa en verano a 29,0°C \pm 2,65 y una humedad relativa uniforme en el año que oscila de 63,7% \pm 4,62 en invierno y 62,7% \pm 2,31 en verano (www.dga.cl).

SALINIDAD DEL SUELO NATURAL DEL SALAR DE BELLAVISTA

A través de un análisis de suelo realizado en el Salar de Bellavista en 2013 (Tabla 1), se pudo confirmar que el suelo tiene una alta conductividad eléctrica, presentando, como ha sido descrito por Habit (1981), una amplia variedad de iones generadores de salinidad entre los 40 y 80 cm de profundidad. Dentro de los iones presentes, destacan sodio y cloruro que juntos poseen una elevada concentración en el perfil de suelo (Tabla 1). En el estudio se usaron estos dos iones como indicadores del estatus de salinidad en el suelo experimental en que crecieron las plantas de tamarugo.

PREPARACIÓN DEL SUELO EXPERIMENTAL

En junio 2014 se realizó una plantación con 20 individuos juveniles de tamarugos usando hoyaduras remanentes que no poseían la costra salina en el Salar de Bellavista (Fig. 2). Para la

preparación del suelo experimental ("SE"), se usó el subsuelo de la hoyadura ("control"), que fue removido hasta 60 cm de profundidad (Fig. 3A) y fue mezclado con arena fina en una proporción 1:2, respectivamente ("SE pre-lavado"). En la hoyadura se aplicó un riego de 10 L de agua con el propósito de saturar de humedad la zona profunda de la hoyadura (Lanino 1972) (Fig. 3B), enseguida el suelo experimental fue incorporado dentro de la hoyadura para su relleno y fue regado con 10 L de agua con el propósito de disminuir su carga salina ("SE post-lavado") (Fig. 4A). Después de 24 horas, se inició la plantación de tamarugos (Fig. 4B).



Fig. 2. Remoción de subsuelo de hoyaduras seleccionadas en el Salar de Bellavista.



Fig. 3. Preparación del suelo experimental. A) Remoción del suelo natural de hoyadura hasta 60 cm de profundidad y B) Aplicación de 10 litros de agua al suelo experimental ("SE post-lavado").



Fig. 4. Plantación. A) Suelo experimental horadado hasta 55 cm de profundidad para la plantación. El círculo amarillo indica la zona que ocupó en volumen el suelo experimental y B) Instalación de planta juvenil de tamarugo en el suelo experimental en junio 2014.

RIEGO EN LA PLANTACIÓN DE PLANTAS DE TAMARUGO

En el presente estudio se consideraron dos criterios para maximizar la pérdida de agua de riego en la hoyadura (Carvallo 1970), de modo de adscribir la supervivencia de las plantas al efecto del suelo experimental y no a la falta de agua. Primero, con el criterio de proporcionar un suministro lento del agua para facilitar el aprovechamiento por las plantas, se instaló un contenedor de PVC de 110 mm de diámetro con capacidad para 9 L de agua en posición vertical y un dispositivo de salida de agua que consistió en usar mecha de algodón y micro-orificios (Fig. 5A y 5B). Considerando la importancia económi-

ca del agua en las plantaciones de tamarugo (Habit 1981), se aumentó el volumen de agua de riego en el contenedor en proporción al estudiado por Carvallo (1970, 5 L/ 30 días) a otro por 9 L/20 días en los primeros seis meses y 9 L/40 días en los siguientes tres meses. Cumplido este período, el riego fue suprimido y las plantas no recibieron riego alguno. Segundo, con el criterio de disminuir la pérdida del agua por evaporación, manteniendo húmeda la zona en la que están presentes las raíces de las plantas, realizamos otra variación al estudio de Carvallo (1970) que consistió en mantener el dispositivo de salida de agua a 40 cm de profundidad del suelo (Fig. 6A y 6B) de modo de evitar su rápida evaporación (León et al., 2011).



Fig. 5. Riego de plantación. A) Instalación de tubo PVC de riego en el suelo experimental en la vecindad de planta y B) Llenado de tubo PVC con agua en junio 2014.

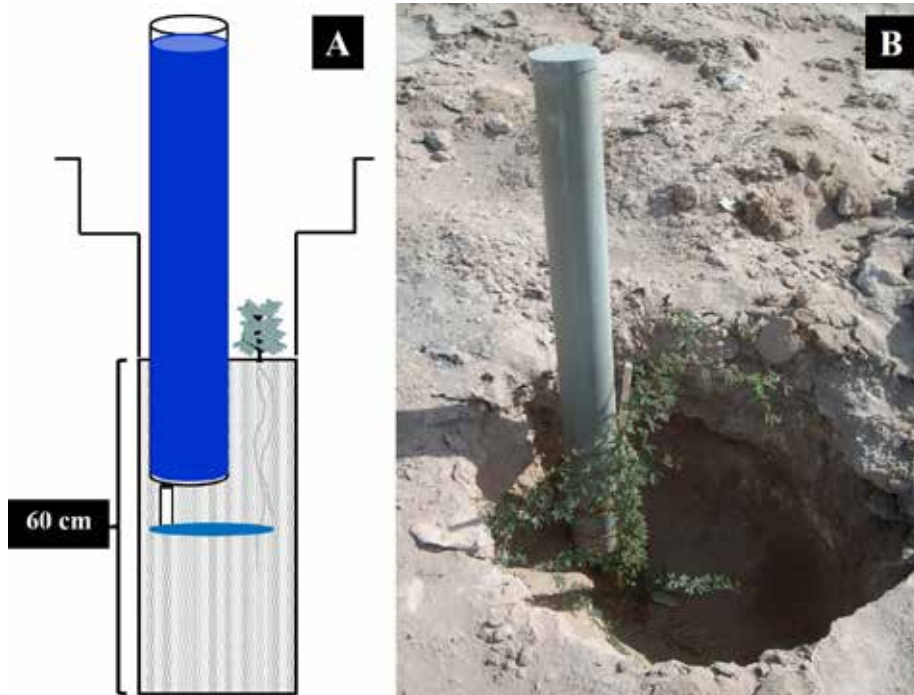


Fig. 6. Plantación definitiva. A) Esquema con vista lateral mostrando en perfil una planta juvenil de tamarugo y tubo PVC de riego en el suelo experimental de color gris. El valor indicado en el esquema indica la profundidad del suelo experimental. B). Vista parcial de línea de plantación experimental con tamarugo en el Salar de Bellavista.

PARÁMETROS ANALIZADOS DEL SUELO EXPERIMENTAL

En el estudio se midió la salinidad del suelo experimental analizando el cambio en la conductividad eléctrica, concentración de sodio y cloruro en el extracto saturado (1:5). Para esto, se tomaron 10 muestras independientes de suelo de 1,5 kilo al azar en igual número de hoyaduras seleccionadas en las etapas de preparación del suelo experimental y después de haber realizado la plantación. Primero, se colectó subsuelo natural de la hoyadura (control), arena, suelo experimental antes de ser lavado (“SE pre-lavado”), suelo experimental después de 24 horas del lavado (“SE a 24 horas”) y suelo experimental muestreado des-

pues de nueve meses del lavado inicial (“SE a 9 meses”). La profundidad del muestreo en el suelo experimental a las 24 horas y a los 9 meses fue realizada entre 15-20 cm de profundidad. Las muestras fueron enviadas para su análisis al Laboratorio de Suelos de INIA Quilamapu (www.inia.cl).

PLANTAS JUVENILES DE TAMARUGO

Las plantas de tamarugo que crecieron en el suelo experimental fueron producidas en las dependencias del Banco Base de Semillas, INIA Intihuasi (www.inia.cl) (60 km al este de la ciudad de La Serena) a partir de semillas provenientes de la acesión de tamarugo SQM-11 conservada en el banco de semillas y

colectadas en abril 2011 en el Salar Pintados-Bellavista. Las semillas fueron escarificadas en ácido sulfúrico, por 15 minutos y germinadas por 48 horas en una cámara de crecimiento (20°C, 75% de humedad relativa y 12/12 horas de fotoperiodo) para luego ser sembradas en un contenedor de 2,25 L con suelo 1:1 (tierra de hoja y arena fina, respectivamente). Debido al extraordinario crecimiento de las raíces de tamarugo, la longitud del contenedor fue 50 cm longitud. Las plantas recibieron un riego moderado de 0,3 L/contenedor cada 15 días durante un período de 150 días y no recibieron fertilizantes ni tuvieron una preparación especial al momento de la plantación (Tabla 2). Las plantas que crecieron en suelo natural fueron producidas en un vivero externo usando semillas de la accesión de tamarugo SQM-5 conservada en el banco de semillas y colectadas en abril 2011 en el sector Llamara (Tabla 2). Las semillas fueron escarificadas en ácido sulfúrico, por 12 minutos, lavadas y sembradas en un contenedor de 1L con suelo 1:3 (guano: arena fina, respectivamente). La longitud del contenedor fue 20 cm. Estas plantas recibieron un riego frecuente de 0,5 L/contenedor cada 5 días hasta su plantación. La edad de las plantas en ambas plantaciones fue de seis meses. En cada plantación, se monitoreó cada mes la supervivencia de las plantas de tamarugo hasta cumplir 15 meses desde su plantación (junio 2014 a septiembre 2015).

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los valores promedio de salinidad del suelo experimental (SE pre-lavado, SE a 24 horas y SE a 9 meses) y suelo natural (control) fue analizado con una ANDEVA de una vía. La normalidad de los datos se evaluó con test de Kolmogorov-Smirnov y la homocedasticidad con test de Bartlett (Zar 1999). Para las comparaciones a posteriori se usaron comparaciones múltiples de t-test. Los análisis fueron efectuados con software R 3.0.2 (R Core Team 2013).

RESULTADOS

El suelo experimental de la plantación presentó un nivel de salinidad significativamente menor comparado con el suelo natural del Salar de Bellavista evidenciando que es posible manejar su carga de iones salinos en una etapa inicial (Tabla 3). Este cambio físico-químico del suelo tuvo consecuencias en la supervivencia de plantas de tamarugo, el que después de un año fue de 55%. Para nuestro conocimiento este es un valor adecuado dado el extenso período de tiempo y el pequeño tamaño del diseño. Este supera largamente la supervivencia de plantas detectada en suelo natural que alcanzó el valor mínimo en un período de 70 días (Fig. 7). Particularmente, la conductividad eléctrica cambió

Tabla 2. Características del crecimiento aéreo y radicular de plantas juveniles de *Prosopis tamarugo* usadas al momento de la plantación en las dos plantaciones realizadas en el Salar de Bellavista. Los datos son promedios (± 1 error estándar, $n = 5$).

Plantación	Longitud tallo (cm)	Longitud raíz (cm)	Biomasa raíz (g)	Biomasa tallo (g)	Relación Raíz : Tallo
Suelo natural	29,4 \pm 2,38	20,1 \pm 0,42	0,1 \pm 0,03	0,3 \pm 0,05	0,24 \pm 0,06
Suelo experimental	25,2 \pm 1,92	45,9 \pm 6,07	0,9 \pm 0,10	0,9 \pm 0,15	1,08 \pm 0,17

significativamente en el suelo experimental expresando valores bajos que se relacionaron con la disminución de la concentración de sodio y cloruro (Tabla 3 y Fig. 8). Dos aspectos del manejo del suelo fueron claves para conseguir esta respuesta, primero durante la realización de la mezcla entre suelo natural y arena ("SE pre-lavado") se produjo una disminución inicial significativa de un tercio de sodio (36,6%) y cloruro (38,9%) con una caída de la conductividad de 175 a 140 dS/m (Fig. 8) y segundo al agregar 10 litros de agua en el suelo experimental ("SE a 24 horas") se intensificó la disminución de sodio (61,1%) y cloruro (62,4%) con una caída a la mitad de la conductividad de 140 a 75 dS/m (Fig. 8). El monitoreo del estatus de salinidad del suelo experimental mostró una escasa variación de sodio y cloruro en el tiempo y así mientras el valor de sodio incrementó (5,4%), el de cloruro disminuyó (0,3%). No obstante, compa-

rando esta variación de las sales junto a su conductividad eléctrica, no se detectaron diferencias estadísticamente significativas después de un año ("SE a 9 meses", Fig. 8).

Tabla 3. Tabla de ANDEVA para el efecto del suelo experimental en los parámetros de salinidad en el sector Bellavista, Pampa del Tamarugal en 2014.

Efectos	df	F	p
Conductividad eléctrica			
Suelo	3	48,25	< 0,001
Error	36		
Sodio			
Suelo	3	52,73	< 0,001
Error	36		
Cloruro			
Suelo	3	70,21	< 0,001
Error	36		

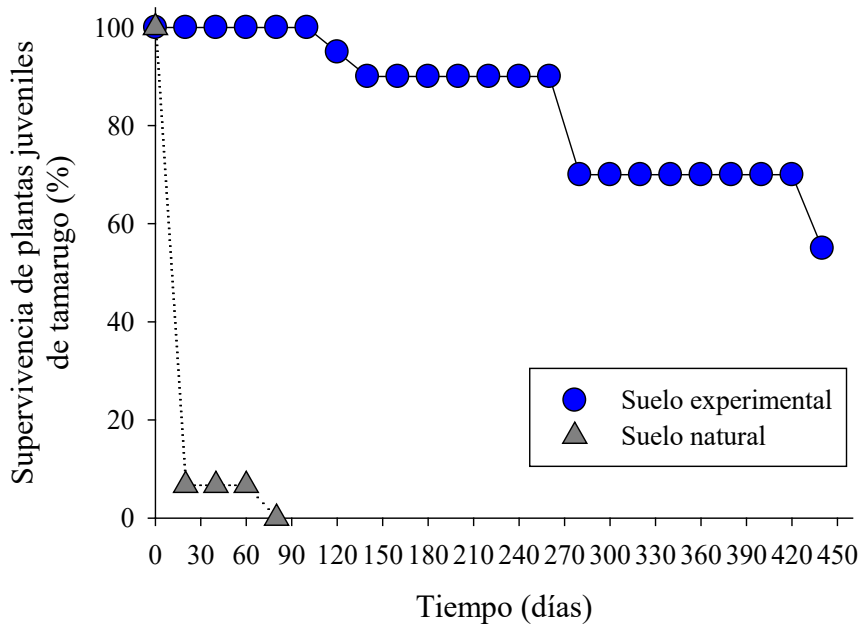


Fig. 7. Supervivencia de plantas juveniles de *Prosopis tamarugo* después de un año creciendo en suelo experimental en el sector Bellavista (2014-2015). Los símbolos son valores promedio en proporciones (n = 25).

DESARROLLO DE PLANTACIONES DE TAMARUGO EN EL SALAR DE BELLAVISTA

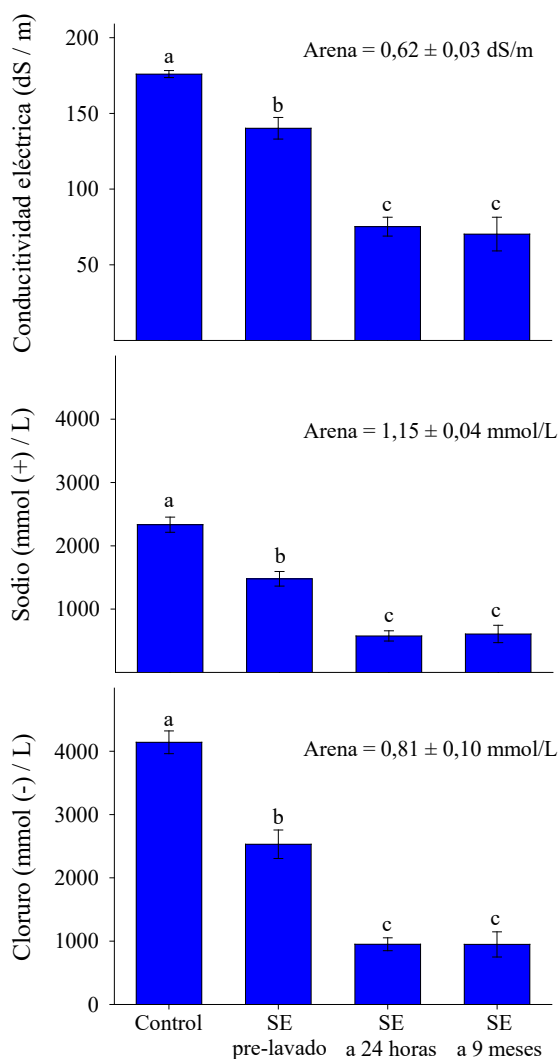


Fig. 8. Conducta de los valores de salinidad del suelo natural (control) y suelo experimental (SE) indicada por la conductividad eléctrica y la presencia de sodio y cloruro. Las barras son promedio (± 1 error estándar, $n = 10$). Se incluyen los valores de los mismos parámetros en la arena. Letras diferentes indican diferencias significativas según test a posteriori.

En este estudio usamos un suelo experimental en la que se mezcló el suelo salino del Salar de Bellavista junto con arena y encontramos una respuesta positiva en la supervivencia de plantas juveniles que resultó de 55% después de un año. Esto fue posible porque la arena favorece un mayor tamaño de poros del suelo (efecto físico) y menor compactación, lo que facilita el transporte y lavado de estas sales, hecho que permite bajar la conductividad eléctrica lo suficiente para no afectar negativamente el desempeño de las plantas juveniles de *P. tamarugo*. Probablemente, en una analogía a lo que sucede durante los episodios de aluviones de la época estival, fenómeno que concuerda con lo documentado en condiciones experimentales (ej., Felker et al., 1981, Serrato et al., 1991). La corroboración de esto ocurre con la notable disminución de iones sodio y cloruro, las sales más prevalentes en el suelo del Salar de Bellavista (Habit 1981) que incluso perduró en el tiempo. Al respecto, la mortalidad de plantas detectadas en el suelo experimental podría entonces obedecer a razones diferentes al efecto salino por ejemplo, a condiciones de manejo de las plantas durante la plantación (ej., destrucción de raíces), la disponibilidad de agua debido al término del ciclo de riego (supresión del riego a los nueve meses) o variación de la humedad en la profundidad del suelo (cambio en el nivel freático). Todos estos aspectos deben ser considerados en una validación técnica.

Disminuir la salinidad del suelo es una situación gravitante para el crecimiento y funcionamiento de las raíces de cualquier planta. La salinidad del suelo influye tanto en el desa-

rollo de la estructura aérea de la planta como en el engrosamiento de las raíces principales y secundarias y en rigor afecta su funcionamiento (Ungar 1996, Taiz & Zeiger 2006). Esta afirmación podría ser correcta aquí para *P. tamarugo* que asigna una fracción importante de los recursos al crecimiento de sus raíces como fue observado durante la propagación de plantas en el presente estudio. En un proceso natural, *P. tamarugo* desarrolla una raíz pivotante que crece hacia los estratos profundos y húmedos del suelo proporcionando agua mientras que en las capas superiores del suelo desarrolla raíces superficiales que absorben nutrientes y también agua (Mooney et al., 1980). En la plantación de tamarugo realizada directamente en el subsuelo de la hoyadura y sin tratar su salinidad hallamos una mortalidad del 100% de las plantas juveniles de tamarugo. En contraste, la mayor supervivencia de plantas juveniles detectadas en el suelo experimental ocurrió por una menor concentración de sales, único factor modificado lo que demuestra la efectividad de la técnica.

Finalmente, en esta técnica es necesario considerar que se aprovecha el suelo natural lo que da la oportunidad de usarlo. Además, la creación y manipulación del suelo experimental resulta simple de implementar porque incluye arena, un insumo barato y fácil de adquirir. De este modo, en un futuro programa de restauración de *P. tamarugo* en su hábitat, la creación de un suelo experimental se agrega como alternativa al manejo tradicional de las sales del suelo en la Pampa del Tamarugal, manejo que históricamente ha utilizado guano, cal y abonos comerciales.

AGRADECIMIENTOS

A Sociedad Química y Minera de Chile S.A. (SQM). La investigación fue parte del Plan de Manejo Ambiental de Tamarugo, Proyecto Pampa Hermosa. Agradecemos la asistencia técnica de Ismael Jiménez en el estudio.

LITERATURA CITADA

- Aguirre JJ & J Wrann (1985) Especies del género *Prosopis* y su manejo en la Pampa del Tamarugal. Estado actual del conocimiento sobre *Prosopis tamarugo*. Depósito de Documentos de la FAO. URL: <http://www.fao.org/docrep/006/AD315S/AD315S02.htm#pan1.1> (acceso 14 diciembre 2013).
- Altamirano HA (2006 a) *Prosopis tamarugo* Phil. Tamarugo. En: C. Donoso Zegers (ed.), Las especies arbóreas de los bosques templados de Chile y Argentina, pp. 534-540. Marisa Cuneo Ediciones, Valdivia, Chile.
- Altamirano HA (2006 b) Un desierto con tamarugos y algarrobos. Chile Forestal 321:20-23.
- Arce P, C Medina & O Balboa (1990) Tolerancia a la salinidad en la germinación de 3 especies de *Prosopis* (*P. alba*, *P. chilensis* y *P. tamarugo*). Ciencia e Investigación Agraria 17: 1-75.
- Azua-Bustos A, C Urrejola & R Vicuña (2012) Life at the dry edge: microorganisms of the Atacama Desert. FEBS Lett 586: 2939-2945.
- Carvallo TC (1970) Determinación de las tasas de riego en la plantación de *Prosopis tamarugo*, Phil. Tesis Ingeniería Forestal, Facultad de Agronomía, Universidad de Chile.

- Felker P, PR Clark, AE Laag & PF Pratt (1981) Salinity tolerance of the tree legumes: mesquite (*Prosopis glandulosa* var. Torryana, *P. velutina* and *P. articulata*), algarrobo (*P. chilensis*), kiawe (*P. pallida*) and tamarugo (*P. tamarugo*) grown in sand culture on nitrogen-free media. *Plant and Soil* 61 (3): 311-317.
- Habit M (1981) *Prosopis tamarugo*: arbusto forrajero para zonas áridas. FAO, Oficina Regional para América Latina. Santiago, Chile, 143 p.
- Houston J (2006) Evaporation in the Atacama Desert: an empirical study of spatio-temporal variations and their causes. *Journal of Hydrology* 330 (3-4): 402-412.
- Lanino RI (1972) Instrucciones generales para la siembra y plantación de tamarugo (*Prosopis tamarugo*, Phil.). Mimeografiado, 2 p.
- León MF, FA Squeo, JR Gutiérrez & M. Holmgren. 2011. Rapid root extension during water pulses enhances establishment of shrub seedlings in the Atacama Desert. *Journal of Vegetation Science* 22 (1): 120-129.
- Ministerio Medio Ambiente 2013. Clasificación de especies. URL: http://www.mma.gob.cl/clasificacionespecies/fichas9proceso/FICHAS_INICIO_9o_PROCESO_PDF/Prosopis_tamarugo.pdf. (Acceso 2 mayo 2015).
- Mooney HA, SL Gulmon, PW Rundel & JH Ehleringer (1980) Further observations on the water relations of *Prosopis tamarugo* of the northern Atacama Desert. *Oecologia* 44 (2): 177-180.
- Munns R (2002) Comparative physiology of salt and water stress. *Plant, Cell and Environment* 25 (2): 239-250.
- R Core Team (2013). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for statistical computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org>
- Serrato VG, M Ferro, D Ferraro & F Riveros (1991). Anatomical changes in *Prosopis tamarugo* Phil. seedlings growing at different levels of NaCl salinity. *Annals Botany* 68 (1): 47-53.
- Taiz L & E. Zeiger (2006) Fisiología Vegetal. Castelló de la Plana: Publicacions de la Universitat Jaume. 1343 pp.
- U.S. Salinity Laboratory Staff (1954) Diagnosis and improvement of saline and alkali soils.
- USDA Handbook 60. U.S. Government Printing Office, Washington, DC, USA, pp. 1-160.
- Ungar IA (1996) Effects of salinity on seed germination, growth, and ion accumulation of *Atriplex patula* (Chenopodiaceae). *American Journal of Botany* 83: 604-607.
- Zar JH (1999) Biostatistical analysis. Prentice Hall, Upper Saddle River, NJ, US. 662 pp.

