

Propagación sexual de *Berberis darwinii* (Michay) en Patagonia Andina.

Sexual propagation of *Berberis darwinii* (Darwin's barberry) in Andean Patagonia

D'Ambrosio, C.G.^{1*}, Sánchez, G.¹, Mateo, M.C.¹, Riat, M.¹, Arroyo A.¹

¹Universidad Nacional de Río Negro – Tecnicatura en Viveros.
Mitre 630, San Carlos de Bariloche, Río Negro – Argentina.

ARTICLE INFO

Article history:

Received 02-12-2024

Accepted 22-09-2025

Keywords:

Dormancy

Recalcitrant

Germination power

Stratification

Gibberellic acid

Original Article,

Plant Science

*Corresponding author:

D'Ambrosio, C.G.

E-mail address:

cgdambrosio@gmail.com

ABSTRACT

Berberis darwinii Hook. is an endemic species of the Andean Patagonian Forest, appreciated for its ornamental, food, dyeing, and pharmaceutical uses. Despite its properties, its domestication and *in situ* conservation have been poorly studied in its natural distribution area. It is an invasive exotic in New Zealand, where its propagation and ecophysiology indicate that *B. darwinii* is part of the transitory seed bank in the soil.

According to the history for the genus, it is propagated by seed subjected to cold-wet stratification (EFH) for 1 to 3 months, showing a delayed germination response with an asynchronous pattern, suggesting physiological latency. Previous studies show disparate results in germination power (PG) applying EFH and scarification treatments, with null results in treatments with gibberellic acid (AG). For this test, three seed harvests were carried out and preserved using three different methods. After storage, only one batch proved viable. Pre-germination treatments of EFH and AG were applied, with and without prior soaking.

The treated seeds were sown in a seedbed, and the seedlings obtained were transplanted to multi-cell trays.

The results confirm that the seeds quickly lose their viability, tending to be recalcitrant and showing delayed germination. EFH had the highest PG and relatively synchronous germination. The seeds treated with AG were induced to germination, a propagation strategy that would allow for shorter production times in the nursery. The treatments did not differ in subsequent vegetative development.

RESUMEN

Berberis darwinii Hook. es una especie endémica del bosque Andino Patagónico, con valor ornamental, alimenticio, tintóreo y farmacéutico. A pesar de sus propiedades, su domesticación y conservación *in situ* han sido poco estudiadas en su área de distribución natural. Es exótica invasora en Nueva Zelanda, donde su propagación y ecofisiología indican que *B. darwinii* forma parte del banco de semillas transitorio del suelo. Según antecedentes para el género, se propaga por semilla sometida a estratificación fría húmeda (EFH) de 1 a 3 meses, mostrando respuesta germinativa retardada con patrón asincrónico, lo que sugiere latencia fisiológica. Estudios previos muestran resultados dispares en poder germinativo (PG) aplicando tratamientos de EFH y escarificación, con resultados nulos en tratamientos con ácido giberélico (AG).

Para este ensayo se realizaron tres cosechas de semillas que se conservaron mediante tres métodos diferentes. Luego del almacenamiento, un solo lote resultó viable. Se aplicaron tratamientos pregerminativos de EFH y AG, con y sin remojo previo. Las semillas tratadas se sembraron en almácigo, y se repicaron las plántulas obtenidas a bandeja multicelda. Los resultados confirman que las semillas perderían rápidamente su viabilidad, tendiendo a ser recalcitrantes y presentando germinación retardada. La EFH tuvo el mayor PG y germinación relativamente sincrónica. Se indujeron a germinación las semillas tratadas con AG, estrategia de propagación que permitiría acortar los tiempos de producción en vivero. Los tratamientos no se diferenciaron en el desarrollo vegetativo posterior.

Palabras clave: latencia, recalcitrante, poder germinativo, estratificación, ácido giberélico.

INTRODUCCIÓN

Descripción Botánica y ecología general

Berberis L. es el único género representante de Berberidaceae Juss. en Sudamérica. En los dominios fitogeográficos Andino Patagónico y Subantártico ha-

bitan 16 de las 26 especies argentinas, siendo *Berberis darwinii* Hook. una especie endémica del bosque andino patagónico. Es un arbusto perenne de 1 a 2,5 m de altura, con ramas cubiertas de pubescencia ferrugínea, con grupos de 5 a 7 espinas cortas, curvas, pequeñas y castañas (Orsi, 1984; Zuloaga *et al.*, 2021; SIB, 2021).

Crece bajo diferentes condiciones lumínicas mostrando plasticidad morfológica y fisiológica. En el claro y en el borde del bosque la especie es más abundante, crece más y se reproduce sexualmente. Las plantas que crecen debajo del dosel dispersadas por las aves presentan un menor vigor y normalmente no florecen (Svriz, 2015).

En Patagonia argentina, se encuentra a *B. darwinii* en bosques de *Nothofagus pumilio* (Poepp. & Endl.) Krasser, *Nothofagus dombeyi* (Mirb.) Oerst, *Austrocedrus chilensis* (D. Don) Pic.Serm. & Bizzarri, y en algunos matorrales de *Nothofagus antarctica* (G. Forst.) Oerst. También, aunque con baja cobertura, en matorrales de la especie exótica *Rosa rubiginosa* L. (Svriz, 2015).

Muestra floración bimodal escalonada, una en el período primaveral que es en forma secuencial durante un largo período de tiempo y la segunda durante el verano, más corta y no la presentan todos los individuos de una misma población. El período de fructificación ocurre entre diciembre y marzo (Palma Urquieta, 2010).

Antecedentes de cultivo y ensayos

La propagación por semillas, uno de los principales métodos de reproducción en la naturaleza y uno de los más eficientes y utilizados en la producción intensiva de plantas, requiere una alta uniformidad de germinación, siendo importante el estudio de los mecanismos inhibitorios de la germinación en la dormición de las semillas, y los métodos para superarlos (Di Benedetto, 2004).

La mayoría de los estudios y ensayos de reproducción sexual referidos al género *Berberis* se han realizado sobre calafate (*B. microphylla* G. Forst.- sinónimo *B. buxifolia* Lam.-), con diferentes resultados (Cuadro 1).

Figuroa *et al.*, 1996, aplicó a semillas de *B. microphylla* una estratificación fría húmeda (EFH) de 40 días. Luego de 30 días, logró un poder germinativo (PG) del 22 % en semillas tratadas, sin resultados en el testigo sin EFH. Luego de 90 días se obtuvo un PG del 56 % en semillas tratadas y PG del 39 % en el testigo, calificando su potencial germinativo como alto (PG final superior al 50 %). Aplicando EFH de 60 días, Caicheo

Cuadro 1. Comparación de resultados de PG para de *B. microphylla* y *B. darwinii* en la bibliografía consultada. EFH: estratificación fría húmeda seguida de la duración en días. AG: ácido giberélico. Esc.: escarificación. EIS: extracción inmediata de semillas. ETS: extracción tardía de semillas. CG: cámara de germinación seguida de la duración en días. Superv.: supervivencia de plántulas.

Table 1. Comparison of germination power (PG) results for *B. microphylla* and *B. darwinii* based on the consulted bibliography. EFH: cold-wet stratification followed by duration in days. AG: gibberellic acid. Esc.: scarification treatment. EIS: immediate seed extraction. ETS: late seed extraction. CG: germination chamber followed by duration in days. Superv.: plant survival.

<i>Berberis microphylla</i>						
Autor	Año	Tratamiento	Observaciones		PG (%)	Superv. (%)
Caicheo <i>et al.</i>	2006	EFH 60			5	
Rago <i>et al.</i>	2016	EFH 60	EIS	CG 28	63	
			ETS	CG 28	48,5	
Salinas <i>et al.</i>	2013	EFH 60	Sustrato inorg.		37,3	
			Sustrato org.		23,3	
		AG 200 ppm			0	
		Testigo			0	
Dalzotto	2019	Esc. Física		CG 30	56,6	66,6
		Esc. Química		CG 30	36,6	<3
		Esc. F y Q		CG 30	90	<3
		Testigo		CG 30	26,6	<3
		EFH 90	C/Esc.	CG 7	91,6	73,3
		Testigo		CG 7	8,3	0
Figuroa <i>et al.</i>	1996	EFH 40		CG 30	22	
		Testigo		CG 30	0	
		EFH 40		CG 90	56	
		Testigo		CG 90	39	
<i>Berberis darwinii</i>						
Figuroa <i>et al.</i>	1996	EFH 40		CG 90	16	
		Testigo		CG 90	13	
McAlpine-Jesson	2007	EFH 180	Banco semillas	a campo	80	
Svriz	2015	EFH 180	Banco semillas	a campo	95	

et al., 2006 obtuvo un PG del 5 %. También con EFH de 60 días, pero con dos tratamientos post cosecha, Rago *et al.*, 2016 logró un PG de 63 % en muestras con extracción inmediata de semilla (EIS) y un PG de 48,5 % en muestras con extracción tardía de semilla luego de almacenar las bayas 4 meses (ETS), sugiriendo que el almacenamiento post cosecha puede afectar el PG.

Dalzotto, 2019, evaluó diferentes tratamientos pregerminativos y la tasa de supervivencia post tratamiento de plántulas de *B. microphylla*. Para muestras sin EFH, se aplicó escarificación física recortando la cubierta en el extremo radicular (PG del 56,6 % con supervivencia del 66,6 %), escarificación química sumergiendo las muestras en ácido sulfúrico (H_2SO_4) concentrado (PG del 36,6 %), y una combinación entre los dos tratamientos anteriores (PG del 90 %). El control sin tratar logró un PG del 26,6 %, pero la supervivencia en los tres últimos casos fue menor al 3 %. Para muestras con EFH de 90 días, se retiró la cubierta seminal como tratamiento de escarificación logrando un PG del 91,6 % frente al 8,3 % del control sin tratar. La supervivencia alcanzó 73,3 % y 0 % respectivamente.

Salinas *et al.* (2013), evaluaron el PG mediante siembra en diferentes sustratos en vivero, luego de aplicar EFH de 60 días y tratamiento químico con 200 ppm de ácido giberélico (AG) durante 24 horas. Para las muestras con EFH, obtuvieron un PG de 37,3 % y de 23,3 % en las siembras en sustrato inorgánico y orgánico respectivamente. El tratamiento con AG y el testigo sin tratar no tuvieron resultados positivos.

Para *B. darwinii*, Figueroa *et al.* (1996) aplicaron EFH de 40 días, obteniendo luego de 90 días, un PG del 16 % frente al 13 % del testigo sin estratificar, concluyendo que la especie mostró respuesta germinativa retardada (primera emergencia de radícula luego de cuatro semanas) y un patrón de germinación asincrónico (más del 10 % de semillas germinó en diferentes meses).

En Nueva Zelanda, existen detallados estudios sobre ecofisiología del cultivo, banco de semillas, germinación y establecimiento de plántulas, a partir del estatus como invasora (McAlpine y Jesson, 2007), sin embargo, son escasos los estudios de propagación y cultivo en su área de origen en Patagonia (Svriz, 2015).

En diferentes ensayos a campo y en invernadero, se determinó que la gran mayoría de las semillas viables germinaron durante la primavera siguiente a su producción, y sólo un pequeño número sobrevivió más de 1 año, por lo que esta especie estaría formando parte del banco de semillas transitorio del suelo en su área de distribución (McAlpine y Jesson, 2007).

Por otro lado, en zonas de clima templado frío es común para las semillas de ciertas especies el requerimiento de permanecer en latencia durante un determinado período en suelo húmedo y con baja temperatura (Svriz, 2015).

En muestras estratificadas directamente en suelo para evaluar el comportamiento de *B. darwinii* en el banco natural de semillas en su área nativa de distribución, se registró un PG de alrededor del 95 % a los seis meses. Mientras que, con un ensayo de siembra directa en suelo a campo para evaluar la emergencia y sobrevivencia de plántulas en diferentes ambientes lumínicos, se logró un PG de aproximadamente el 70 % (Svriz, 2015). Por lo tanto, las condiciones de frío y humedad permitirían la estratificación de las semillas de forma natural y estarían contribuyendo a quebrar su dormancia inicial. En cuanto a sus requerimientos de germinación, sería una especie generalista a la luz mientras que para la sobrevivencia de las plántulas sería una especie propia de áreas con condiciones intermedias a altas de luz (Svriz, 2015).

De acuerdo con lo expuesto, los mayores PG se lograron a campo o en laboratorio, con resultados poco significativos en los ensayos en vivero, con poca información sobre supervivencia de las plántulas o seguimiento de posteriores etapas de crecimiento y desarrollo bajo distintos tratamientos.

En este trabajo se compara el efecto de diferentes tratamientos pregerminativos sobre el PG, los patrones de germinación y el crecimiento luego del repique.

MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo se llevó a cabo durante el año 2021 en el marco de la asignatura Viveros 2 de la Tecnicatura en Viveros y se realizó en las instalaciones del Vivero Experimental y Educativo de la Universidad Nacional de Río Negro de la ciudad de San Carlos de Bariloche (41° 08' 31" S, 71° 18' 49" O, 840 msnm).

Descripción de lotes

Se realizaron tres cosechas de bayas de *B. darwinii* en dos años consecutivos en Villa Los Coihues, en la zona sur del Municipio de San Carlos de Bariloche (41°09'08"S, 71°24'54"W) a aproximadamente 850 m.s.n.m. y se sometieron a diferentes métodos y tiempos de almacenamiento. El Lote 1 (L1-21) se colectó a fines de febrero de 2021, y se realizó una extracción inmediata de semillas (EIS, Rago, *et al.*, 2016) a pocos días de la cosecha. El despulpado se hizo en forma manual, friccionando para deshacer los frutos sobre un tamiz y bajo chorro de agua. Las semillas se dejaron secar sobre papel en lugar seco y ventilado durante 48 horas para luego ser almacenadas en frasco de vidrio a 5°C.

Los lotes 2 (L2-20) y 3 (L3- 20D) se cosecharon en febrero de 2020. Las bayas de L2-20 se almacenaron en frasco de vidrio a 5°C para su posterior despulpado manual. Se realizó una extracción tardía de semillas (ETS, Rago, *et al.*, 2016) controlando periódicamente el estado de los frutos y que no se acumule excesiva hu-

medad ni gases que indiquen algún tipo de proceso de fermentación en el interior del frasco, así como la eventual aparición de micelios. Luego de 4 meses, se realizó el despulpado manual del mismo modo que para L1-21, almacenando las semillas en frasco de vidrio a 5°C.

Para L3- 20D se realizó una ETS (Rago, *et al.*, 2016), pero en este caso, para prevenir una eventual fermentación en la pulpa de los frutos, se dejaron secar las bayas sobre papel en ambiente ventilado y seco durante 30 días, y se almacenaron en frasco de vidrio a 5 °C. Luego de 4 meses desde la cosecha, las bayas se friccionaron con un rodillo y se tamizaron para separar las semillas, que fueron almacenadas en frasco de vidrio a 5 °C.

Parámetros de calidad de los lotes

Se analizaron la pureza (%P) y las variables físicas de los lotes con tres repeticiones, utilizando una balanza de precisión. Las variables físicas medidas fueron peso total del lote (PL), la cantidad de semillas por gramo (Sg), el peso de 100 semillas (P100) y por cálculo el peso de 1000 semillas (P1000) según normas de la International Seed Testing Association (ISTA, 2016) para la posterior planificación de tratamientos pregerminativos y siembra.

Para evaluar la viabilidad mediante el test topográfico con 2,3,5-trifeniltetrazolio (Tz), se separaron aleatoriamente 16 semillas por lote, y se pre acondicionaron con remojo de 24 horas. Se reconoció la anatomía seminal con lupa binocular (aumento 40x) evaluando el corte más adecuado para exponer el embrión al Tz sin dañarlo mecánicamente (Tetrazolium Testing Handbook, 2002).

En general, la semilla en seco tiene un extremo más delgado del que suele observarse la emergencia de una sustancia mucilaginoso. Según la anatomía seminal observada, este extremo sería el correspondiente a la radícula, característica frecuente en las semillas con bajo nivel de diferenciación embrionaria (Tetrazolium Testing Handbook, 2002). Por lo tanto, se decidió realizar un corte transversal al eje mayor longitudinal en el extremo contrario sobre el endosperma, para preservar

la integridad del embrión y poder exponerlo a la solución de Tz. Realizado el corte, se cubrieron las muestras con una solución de Tz al 1% p/v en agua destilada dentro de placas Petri rotuladas y se colocaron en estufa a 30°C por 48 horas. Luego de la incubación en estufa, se cortaron las semillas longitudinalmente para observar los patrones de tinción.

Tratamientos pregerminativos

A partir de los antecedentes de cultivo consultados, se definieron los tratamientos pregerminativos (Cuadro 2) con un diseño de ensayo aleatorizado de 3 repeticiones por tratamiento para cada lote. Para cada repetición se utilizaron 0,3 g de semillas ($N \approx 45$ semillas). Para adecuarse a los tiempos disponibles para este trabajo, en abril de 2021 se distribuyó la aplicación de los tratamientos según su diferente duración para unificar la siembra a finales de junio de 2021.

Se realizó un tratamiento control (T0) que consistió en remojo de semillas por 48h en placas Petri, con cambios de agua y enjuague cada 12 horas, debido a que ciertas sustancias inhibitorias de la germinación tales como fenoles o ácido abscísico pueden acumularse en frutos o testas, como suele ocurrir con los frutos carnosos, recomendándose el lixiviado con agua (Hartmann y Kester, 2014).

Para evaluar una posible combinación de latencia interna fisiológica y externa química, se aplicó una estratificación fría húmeda de 60 días a repeticiones con remojo previo de 48h, con cambios de agua y enjuague cada 12 horas ($T1=T0+EFH_{60}$), y a repeticiones sin remojo previo ($T3=EFH_{60}$).

La estratificación se realizó en placas Petri con vermiculita humedecida con agua destilada, aplicándose con rociador Captan a $1g.L^{-1}$ como fungicida preventivo. Las respectivas repeticiones se envolvieron en papel film y se almacenaron en heladera a 5°C.

Por otro lado, la ruptura del letargo de semillas y el incremento de PG pueden promoverse con la adición de giberelinas, ya que éstas estimulan la actividad enzimática al inhibir el ácido abscísico, recomendándose

Cuadro 2. Diseño de tratamientos pregerminativos para el ensayo de propagación sexual de *B. darwinii*.

Table 2. Design of pre-germination treatments for the sexual propagation test of *B. darwinii*.

Tratamientos pregerminativos	Descripción
T0 Testigo	Remojo 48 h con cambio de agua y enjuague cada 12 h
T1 $T0 + EFH_{60}$	Remojo 48 h con cambio de agua y enjuague cada 12 h + Estratificación fría húmeda 60 días
T2 $T0 + AG_{1000ppm}$	Remojo 48 h con cambio de agua y enjuague cada 12 h + Ácido giberélico 1000 ppm 24 hs
T3 EFH_{60}	Estratificación fría húmeda 60 días
T4 $AG_{1000ppm}$	Ácido giberélico 1000 ppm 24 hs

generalmente de 200 a 1000 ppm de AG (Hartmann y Kester, 2014; Warpeha y Montgomery, 2016).

Por ello, se aplicó durante 24h ácido giberélico a 1000 ppm a repeticiones con remojo previo de 48h, con cambios de agua y enjuague cada 12 horas ($T2=T0+AG_{1000\text{ppm}}$), y a repeticiones sin remojo previo ($T4=AG_{1000\text{ppm}}$).

Germinación

A partir de la primera emergencia, se realizaron tres conteos (42, 49 y 56 días desde la siembra) para el análisis de PG y los patrones de germinación mediante la energía germinativa (EG), es decir, que tan cerca en el tiempo emergen las plántulas (Salinas *et al.*, 2013). Para este ensayo, como indicativo de EG, se compararon los PG alcanzados en cada curva de germinación en los tres conteos realizados.

Siembra y repique

A fines de junio de 2021, se realizó la siembra al voleo en 3 bandejas desinfectadas con agua clorada (una bandeja por cada repetición), rotulando los diferentes tratamientos pregerminativos y lotes. El sustrato se formuló con turba *Sphagnum spp.* (Origen Tierra del Fuego- pH 4,2) y perlita tamizada, a una relación 2:1. El pH de la turba se corrigió a valores neutros incorporando 240 g de óxido de calcio por bolsa de 120 dm³. Luego de 7 días se utilizó una muestra 1:5 v/v de turba y agua destilada (Di Benedetto, 2004; Bárbaro *et al.*, 2019) para realizar las mediciones con un medidor de pH portátil (Hanna Instruments Co.) arrojando valores de pH 5,8 y conductividad eléctrica 0,1 mS.cm⁻¹. Se agregó sobre el sustrato vermiculita para cubrir y mejorar la retención hídrica alrededor de la semilla (Di Benedetto, 2004).

Las bandejas se ubicaron en invernadero sobre mesas con calefacción basal, con temperatura de sustrato entre 7 y 15°C controlada con termostato y sistema de riego automatizado por microaspersión, con una frecuencia de 3 días a la semana durante 20 minutos.

Para determinar las semillas germinadas, se consideró la emergencia de los cotiledones como criterio de germinación (Rao *et al.*, 2014), evaluándose PG a la fecha de repique. A fines de agosto se procedió al repique a bandeja multicelda de 72 cavidades de 55 cm³, utilizando el mismo tipo de sustrato que el empleado para la siembra, sin tamizar la perlita para proporcionarle mayor porosidad. Se mantuvo el diseño aleatorizado por tratamientos y repeticiones, ubicándose las bandejas multicelda en las mismas mesas que se utilizaron para las bandejas de siembra, bajo iguales condiciones de riego.

Se registró el estado de las plántulas repicadas por tratamiento, clasificándolas en plántulas normales (cotiledones desplegados o presencia de nomofilos) y plántulas sin cotiledón (cotiledones sin desplegar).

Luego de dos semanas, para permitir que las plántulas superen el estrés del repique, se inició la dieta de nutrición con un fertilizante comercial NPK hidrosoluble 13-40-13 (Hakaphos® violeta) para estimular el desarrollo radicular en etapa de establecimiento. Se aplicó una dosificación suave de 0,5 g.L⁻¹ cada 14 días para observar eventuales reacciones, ya que no se conocen protocolos para esta especie. La aplicación se realizó con riego manual, permitiendo que el excedente percole acarreado posibles excesos de sales, a razón de 1,9 litros por bandeja. En la tercera aplicación se cambió a un NPK 15-10-15 (Hakaphos® verde) para ayudar al crecimiento vegetativo, continuando con el mismo método, dosificación y frecuencia de aplicación.

A fines de octubre, se tomó una fila de celdas al azar (6 individuos) de cada tratamiento y repetición para medir la altura de las plantas. La altura de las plantas se midió dos veces con una diferencia de 7 días, obteniendo la altura inicial (AI) y la altura final (AF). Para la comparación de tratamientos se utilizó el crecimiento expresado en porcentaje (PC) respecto a AI.

Análisis de datos

La comparación de medias para las variables de calidad y PG, se realizó ajustando modelos lineales. Las condiciones de los modelos fueron verificadas para todas las variables, excepto para PC (por lo que se trabajó con su raíz cuadrada), y para el peso de las impurezas (para el que se ajustó un modelo lineal heterocedástico con varianzas distintas para cada lote). Se trabajó con un nivel de significación del 5 % y para las comparaciones de a pares se utilizó el test de DGC (Di Rienzo *et al.*, 2002). Para determinar si existe una asociación significativa entre tratamiento y tipo de plántula repicada (normal o sin cotiledones desplegados), se utilizó el test exacto de Fisher generalizado para tablas mayores a 2x2 (Agresti, 2002). Los análisis estadísticos se ajustaron con el programa InfoStat (Di Rienzo *et al.*, 2020) y con R (R Core Team, 2023).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Parámetros de calidad de los lotes

Se registraron diferencias estadísticamente significativas entre lotes para las variables de calidad ($F_{2,6}=149,8$, $p<0,001$). Los valores medios, errores estándar y resultados de la prueba estadística para cada variable se presentan en el Cuadro 3. Respecto de la pureza, L3-20D tuvo un %P del 70,6 %, significativamente menor a los otros dos lotes que tuvieron un %P mayor al 95 %, por lo que cabe mencionar que el método de limpieza mediante tracción de bayas desecadas no fue tan efectivo como el despulpado de las bayas en fresco.

En cambio, para P1000 el mayor valor medio se registró para L3-20D.

En cuanto al test de viabilidad por Tz, se consideraron viables a las semillas con embrión totalmente teñido. L1-21 fue el único lote que mostró patrones de tinción, resultando en un 86,7 % de semillas viables, mientras que los otros dos lotes no mostraron tinción. Si bien debe considerarse el posible efecto de los diferentes métodos de almacenamiento, este resultado coincidiría con la pérdida de viabilidad observada en el género en los antecedentes consultados (McAlpine y Jesson, 2007; Salinas et al., 2013; Svriz, 2015).

Tratamientos pregerminativos

En concordancia con los resultados del test de viabilidad, L1-21 fue el único lote que germinó, por lo tan-

to, los resultados mostrados corresponden únicamente a dicho lote. En la Figura 1 se presentan las curvas de germinación acumulada para los cinco tratamientos pregerminativos evaluados en este lote, comparadas en tres conteos de plántulas a 42, 49 y 56 días desde la siembra.

En todos los casos, la primera emergencia desde la siembra demoró aproximadamente un mes, por lo que *B. darwinii* mostró respuesta germinativa retardada (Figuroa et al., 1996).

Al finalizar el ensayo, el T0 (Testigo, solo remojo) tuvo el menor PG (5,2%), lo que confirma mecanismos de latencia en la especie y la necesidad de tratamientos pregerminativos (Cuadro 4).

En el primer conteo, T1 y T3 (EFH 60 días con y sin remojo respectivamente) mostraron un PG superior al 50 %, significativamente mayor que los PG de los de-

Cuadro 3. Resultados de calidad de semilla para *B. darwinii*. P1000: Peso de 1000 semillas. Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

Table 3. Seed quality results for *B. darwinii*. P1000: 1000-seed weight. Different letters indicate statistically significant differences ($p < 0.05$).

Lote	n	Pureza (%)		P1000 (g)	
		Media	E.E.	Media	E.E.
L1-21	3	96,7 b	1,67	6,80 a	0,09
L2-20	3	97,3 b	0,35	6,40 a	0,13
L3-20D	3	70,6 a	1,33	7,60 b	0,01
F		149,8		42,4	
p-valor		<0,001		<0,001	

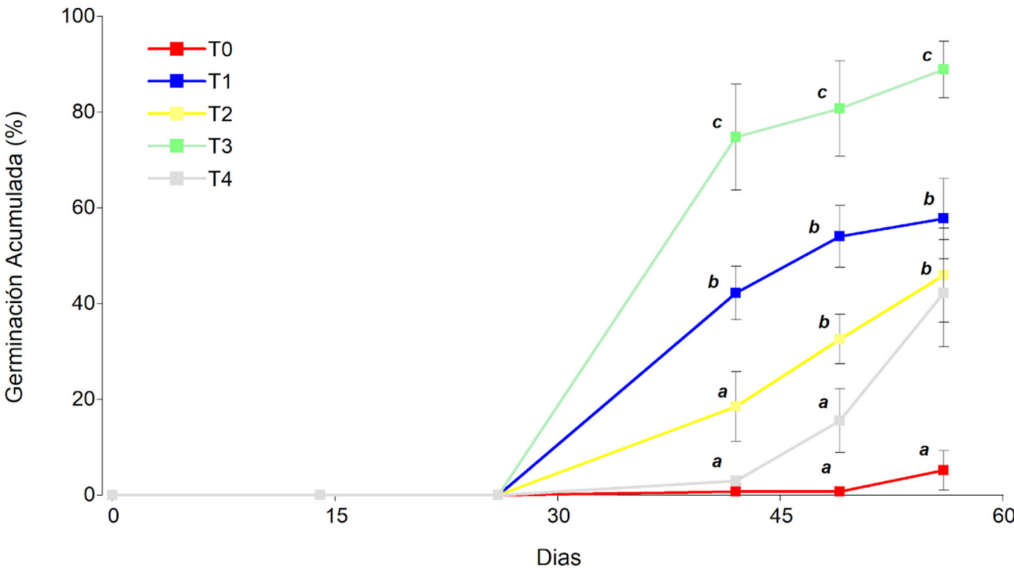


Figura 1. Curvas de germinación de *B. darwinii* según tratamientos pregerminativos aplicados en L1-21 (Germinación Acumulada = PG) Letras distintas indican medias estadísticamente diferentes ($p < 0,05$).

Figure 1. Germination curves of *B. darwinii* according to pre-germination treatments applied in L1-21 (Accumulated Germination = PG). Different letters indicate statistically different means ($p < 0.05$).

más tratamientos ($F_{4,10}=23,2$; $p<0,001$), tendencia que se mantuvo en los conteos restantes para T3. A su vez, T1 mostró en los tres conteos un PG significativamente menor a T3, manifestando una reducción de EG en la combinación EFH 60 días y remojo.

Respecto del patrón de germinación, en todos los tratamientos se hallaron en el sustrato semillas con radículas aun emergiendo durante el último conteo, aunque T3 alcanzó un PG final cercano al 90%, lo que permitiría asignarle un patrón de germinación sincrónico (Figuerola *et al.*, 1996).

Si bien en la bibliografía consultada no se habían obtenido resultados en tratamientos con menores dosis de AG (Salinas *et al.*, 2013), en este ensayo se obtuvo germinación en T2 y T4 (1000 ppm AG con y sin remojo respectivamente), aunque con un PG final bajo, menor al 50 % (Figuerola *et al.*, 1996).

En el segundo conteo, T2 se diferenció significativamente de T0 y T4, sin alcanzar los niveles de T1 y T3 ($F_{4,10}=23,2$; $p<0,001$). Esta tendencia continuó en el último conteo, momento en el que el T4 mostró un aumento en su velocidad de germinación, diferenciándose también de T0 ($F_{4,10}=13,2$; $p<0,001$).

En general, la aplicación de EFH 60 días sugiere incrementar tanto el PG como la EG, mientras que la apli-

cación de AG muestra PG bajo, aunque con el tiempo acumula mayor germinación que el testigo.

En el Cuadro 5 se presenta el conteo de plántulas al momento del repique para cada tratamiento.

En los tratamientos con AG, se observó la mayor cantidad de plántulas con cotiledones sin desplegarse completamente, 43 % para T2 y 31 % para T4, con el menor porcentaje de sobrevivencia al repique en T2 tomado a mediados de noviembre.

Esto es indicativo de una menor EG manifestada en la germinación asincrónica, explicándose también el mayor porcentaje de pérdidas en T2, ya que se habrían repicado demasiado pronto.

La mayor proporción de plántulas normales, con los cotiledones desplegados, se registró en los tratamientos con EFH 60 días, con un 92 % de plántulas normales en T1 y un 97 % de plántulas normales en T3. El test exacto de Fisher resultó significativo ($p<0,0001$), indicando que los conteos de plántulas observados se asocian a los tratamientos pregerminativos aplicados.

En cuanto al crecimiento porcentual (PC) no se registraron diferencias significativas entre tratamientos ($F=1,30$; $p=0,2981$), dada la alta variabilidad entre repeticiones, observándose un PC de aproximadamente 19 % para T0 y de 35 % para T4 (Cuadro 4).

Cuadro 4. Resultados de PG y PC para *B. darwinii* según tratamientos pregerminativos aplicados en L1-21. PG: Poder germinativo. PC: Crecimiento porcentual. Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

Table 4. Results of PG and PC for *B. darwinii* according to pre-germination treatments applied in L1-21. PG: Germinative capacity. PC: Percentage growth. Different letters indicate statistically significant differences ($p < 0.05$).

Tratamiento	n	PG (%)		PC	
		Media	E.E.	Media	E.E.
T0	3	5,20 a	4,1	18,8	9,4
T1	3	57,8 b	8,4	24,3	6,7
T2	3	45,9 b	9,8	24,6	6,5
T3	3	88,9 c	18	36,5	12,5
T4	3	42,2 b	11,2	34,9	6,4

Cuadro 5. Número de plántulas de *B. darwinii* repicadas en cada tratamiento (entre paréntesis porcentaje respecto al total del tratamiento). Normal: plántulas con los cotiledones desplegados o con presencia de nomofilos. Sin cotiledón: plántulas con cotiledones sin desplegar. Pérdidas y Sobrevivencia fueron tomadas a mediados de noviembre.

Table 5. Number of *B. darwinii* seedlings transplanted in each treatment (percentage of total treatment in parentheses). Normal: seedlings with cotyledons unfolded or with true leaves present. Without cotyledon: seedlings with unfolded cotyledons. Losses and Survival were recorded in mid-November.

Tratamiento	Plántulas repicadas		Pérdidas	Sobrevivencia (%)
	Normal	Sin cotiledón		
T0	5 (71,4)	2 (28,6)	1	85,7
T1	72 (92,3)	6 (7,7)	2	97,4
T2	35 (56,5)	27 (43,6)	13	79,0
T3	110 (97,4)	3 (2,7)	1	99,1
T4	39 (68,4)	18 (31,6)	3	94,7

Con este artículo se procura contribuir al conocimiento, conservación, domesticación, propagación y posterior uso sustentable de los recursos vegetales patagónicos, complementando las técnicas de propagación existentes para *Berberis* L. con nuevos estudios sobre reproducción sexual en *B. darwinii*, que permitan el establecimiento de cultivos in vitro con fines ornamentales, de restauración y de conservación.

CONCLUSIONES

Berberis darwinii es una especie cuyas semillas mostrarían una clara tendencia a la recalcitrancia seminal, por lo que no admitirían almacenamientos prolongados, debiendo utilizarse semillas de la misma temporada de cosecha, aplicando una rápida extracción de pulpa y limpieza luego de la colecta, además de homogeneizar los métodos de almacenamiento para evaluar su eventual influencia en el PG y EG.

Esta especie necesita tratamientos pregerminativos para romper sus mecanismos de latencia, comprobándose en este trabajo que EFH 60 días fue la estrategia más efectiva en PG y EG. Tomando en cuenta que la especie muestra respuesta germinativa retardada y la EFH 60 días combinada con remojo previo disminuyó significativamente su PG y EG, es conveniente ensayar combinaciones de remojo o lixiviado previo con diferentes tiempos de estratificación para comprobar una posible reducción de los tiempos de tratamiento.

Los tratamientos con AG mostraron un PG relativamente bajo, aunque se presentan también como posible estrategia de propagación, ya que reemplazando la estratificación se lograría una importante reducción en el tiempo de producción de plantines. No obstante, la combinación de AG con remojo previo tuvo una supervivencia al repique significativamente menor que el resto de los tratamientos, lo que indicaría una disminución de la EG. Se considera recomendable evaluar con mayor detalle los efectos sobre PG y EG de diferentes concentraciones de AG con y sin remojo o lixiviado previo.

DECLARACIÓN DE CONFLICTOS DE INTERÉS

Los autores declaran que este trabajo no presenta conflicto de intereses.

REFERENCIAS

Agresti, A. 2002. Categorical data analysis. Second edition. New York: Wiley, pp 91-101.

Bárbaro, L.A., Karlanian, M.A., Rizzo, P., Riera, N. 2019. Caracterización de diferentes compost para su uso comercial como componentes de sustratos. Chilean journal of agricultural & animal science. 35(2), 126-136.

Caicheo, A., Vera, M., Dollenz, O., Yaguello, J., Massardo, F. 2006. Germinación de cinco especies nativas con valor ornamental de la XII Región. Agro Sur 34 (1-2), 47-48.

Dalzotto, D. 2019. Biodiversidad regional: Estrategias de propagación, propiedades nutricionales y funcionales de los frutos del calafate (*Berberis microphylla* G. Forst.). Tesis de Grado. Universidad Nacional de Río Negro. Sede Atlántica.

Di Benedetto, A. 2004. Cultivo intensivo de especies ornamentales. Bases científicas y tecnológicas. Editorial Facultad de Agronomía Universidad de Buenos Aires, pp. 34-46.

Di Rienzo, J.A.; Guzmán A.W.; Casanoves F. 2002. A Multiple Comparisons Method based on the Distribution of the Root Node Distance of a Binary Tree. Journal of Agricultural, Biological, and Environment Statistics, 7(2): 1-14.

Di Rienzo, J.A., Casanoves, F., Balzarini, M.G., Gonzalez, L., Tablada, M., Robledo, C.W. InfoStat versión 2020. Centro de Transferencia InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

Figueroa, J.A., Armesto, J.J., Hernández, J.F. 1996. Estrategias de germinación y latencia de semillas en especies del bosque templado de Chiloé, Chile. Revista Chilena de Historia Natural 69, 243-251.

Hartmann, H.T., Kester, D.T. 2014. Plant Propagation Principles and Practices. 8th Edition. Hartmann Kester Davies Geneve (Eds), pp. 113-292.

International Seed Testing Association (ISTA). 2016. Reglas Internacionales para el Análisis de las Semillas. Zürichstr. 50, CH-8303 Bassersdorf, Suiza ©2016 International Seed Testing Association (ISTA). Online ISSN 2310-3655. Consultado en Mayo 2021.

McAlpine, K.G., Jesson L.K. 2007. Linking seed dispersal, germination and seedling recruitment in the invasive species *Berberis darwinii* (Darwin's barberry). Plant Ecology 197, 119-129. <http://dx.doi.org/10.1007/s11258-007-9365-y>

Orsi, M.C. 1984. Berberidaceae, en: Correa M.N. (ed). Flora Patagónica. Colección Científica del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. 8 (4a), Buenos Aires, pp. 325-348.

Palma Urquieta, C.A. 2010. Evaluación de la viabilidad polínica de cuatro especies pertenecientes al género *Berberis* L. (Berberidaceae). Tesis de Grado. Facultad de Ciencias Agrarias. Escuela de Agronomía. Universidad Austral de Chile, pp. 1-30

R Core Team (2023). _R_: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <<https://www.R-project.org/>>.

Rago MM, Contardi L, Urretavizcaya MF. 2016. Aspectos de la calidad de semillas de *Berberis microphylla* de una población silvestre de la Laguna La Zeta, Chubut. Dominguezia Vol. 32 (2), 71-72.

Rao, N.K.; Hanson, J.; Dulloo, M. E.; Ghosh, K.; Nowell, D. & Larinde, M. 2014. Manual of seed handling in genebanks. Handbooks for Genebanks No. 8. Bioversity International, Rome, Italy.

Salinas, J., Acuña, B., Uribe, A., Díaz, E. 2013. Bosque Nativo. Producción de árboles y arbustos nativos con fines de restauración de bosques y áreas degradadas en la Región de Aysén. Producción de calafate (*Berberis microphylla* G. Forst.), ciruelillo (*Embothrium coccineum* J.R. Forst. & G. Forst.) y fujino (*Lomatia ferruginea* (Cav.) R. Br.) INFOR – MINAGRI. Chile. <https://doi.org/10.52904/20.500.12220/21054>

- Sistema de Información de Biodiversidad (SIB). 2024. Sistema de Información de Biodiversidad de la Administración de Parques Nacionales, Argentina. <https://sib.gob.ar/especies/berberis-darwinii> Consultado en Mayo 2021.
- Svriz M. 2015. Ecofisiología de *Berberis darwinii* Hook. en su área nativa de distribución. Tesis de Posgrado. Universidad Nacional del Comahue. Centro Regional Universitario Bariloche.
- Tetrazolium Testing Handbook. Contribution N° 29 To the Handbook on Seed Testing. 2002. U.S.A. Association of Official Seed Analysts. http://gsem.weebly.com/uploads/9/3/5/1/9351412/tetrazolium_testing_handbook_2001-2005_-_part_ii.pdf
- Warpeha, K.M., Montgomery, B.L. 2016. Light and Hormone Interactions in the Seed to Seedling Transition. *Environmental and Experimental Botany*. 121: 56-65.
- Zuloaga, F. O., Morrone, O., Belgrano, M. (eds.). 2021. Catálogo de las Plantas Vasculares del Cono Sur (Argentina, Sur de Brasil, Chile, Paraguay y Uruguay). <http://www.darwin.edu.ar/Proyectos/FloraArgentina/FA.asp>. Consultado en mayo de 2021.

