

El área ecológica y la sección del brote de origen son claves para el enraizamiento de estacas de *Berberis microphylla*, un arbusto de la Patagonia con frutos comestibles

Propagation by stem cuttings of *Berberis microphylla*, a Patagonian shrub with edible fruits

Santiago Naón ^{**, a, b}, Matías G Goldenberg ^{a, b}, Javier G Puntieri ^{a, b},
Ariel Mazzoni ^c, Emiliano Ridiero ^c, Lucas A Garibaldi ^{a, b}

*Autor de correspondencia: ^a Universidad Nacional de Río Negro, Instituto de Investigaciones en Recursos Naturales, Agroecología y Desarrollo Rural, Anasagasti 1463, San Carlos de Bariloche, Río Negro, Argentina, tel.: 54-0294-4214618, snaon@unrn.edu.ar

^b Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Instituto de Investigaciones en Recursos Naturales, Agroecología y Desarrollo Rural, San Carlos de Bariloche, Río Negro, Argentina.

^c Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Estación Experimental Bariloche, San Carlos de Bariloche, Río Negro, Argentina.

SUMMARY

Calafate (*Berberis microphylla*) is a native and widely distributed Patagonian shrub, which produces edible fruits with excellent antioxidant and nutraceutical properties. This study evaluates its multiplication by the rooting of stem cuttings, a widely used method in fruit species with little success so far in *B. microphylla*. This work was carried out using stakes prepared in late winter from the basal, middle and apical portions of the most recently developed semi-hardwood shoots. Three plant communities corresponding to contrasting environments were included (rainforest, shrubland and steppe), and four auxin (indole-butyric acid, IBA) concentrations were applied: 0 ppm (0 %), 2000 ppm (0.2 %), 5,000 ppm (0.5 %) and 8,000 ppm (0.8 %). After ninety days on a bottom-heated rooting-bed in a greenhouse, adventitious root formation was higher in cuttings derived from rainforest material. This difference was, on average, 40 % greater for the basal portions than for the middle and apical portions. The IBA treatments did not improve rooting, although the increase in root weight and length was recorded at the highest concentration as compared to the intermediate concentrations. It is concluded that the multiplication of *B. microphylla* by stem cuttings is possible, and that the geographical and topological stake origin are important factors for adventitious root development.

Keywords: wild plants, barberry, non-timber products, diversification, vegetative reproduction.

RESUMEN

El calafate (*Berberis microphylla*) es un arbusto nativo de amplia distribución en Patagonia que produce frutos comestibles con excelentes propiedades nutraceuticas y antioxidantes. Hasta el momento, la propagación de esta especie, a partir de estacas, ha sido poco exitosa debido a su escaso potencial de enraizamiento, y esta condición restringe su utilización en sistemas productivos. En este estudio se evaluó esa técnica de multiplicación utilizando estacas obtenidas a fines de invierno de secciones basales, medias y distales de brotes semi-leñosos de *B. microphylla*. Se consideraron tres áreas ecológicas correspondientes a ambientes contrastantes, bosque húmedo, matorral y estepa, y se aplicaron cuatro tratamientos de concentración de ácido indol butírico (AIB), 0 ppm (0 %), 2.000 ppm (0,2 %), 5.000 ppm (0,5 %) y 8.000 ppm (0,8 %). Transcurridos noventa días en cama caliente en invernadero, la formación de raíces adventicias fue superior en las estacas derivadas del material procedente del bosque húmedo, y esta diferencia fue, en promedio, 40 % mayor para la sección basal que para las secciones media y apical. Los tratamientos con AIB no aumentaron el enraizamiento, aunque los valores más altos de peso y longitud de las raíces correspondieron a la mayor concentración de AIB, solo superados por el tratamiento control. Se concluye que la multiplicación de *B. microphylla* a través de estacas de tallo es posible, y que, tanto el área ecológica de procedencia de la planta madre como la sección del brote del que se obtiene una estaca, inciden de manera importante en el desarrollo de raíces adventicias.

Palabras clave: plantas silvestres, calafate, producto forestal no maderero, diversificación, reproducción vegetativa.

INTRODUCCIÓN

Berberis microphylla G. Forst. (familia *Berberidaceae*), también conocido como calafate, es un arbusto espinoso de follaje persistente o caedizo que produce frutos

comestibles, ricos en compuestos fenólicos y antioxidantes con excelentes propiedades nutraceuticas. Se distribuye en Chile entre las regiones de Maule y Magallanes (Ulloa-Inostroza *et al.* 2017), y en la Patagonia Argentina entre las provincias de Neuquén y Tierra del Fuego (37° S

a 54° 8' S), habitando ambientes diversos desde el nivel del mar hasta 3.000 m s.n.m., y formando parte de diferentes comunidades vegetales (Arena 2016). La recolección de frutos de calafate es habitual entre los pobladores de la Patagonia y tradicional entre los pueblos originarios quienes, además, utilizan sus hojas, tallos y raíces (Daille y Pérez Quezada 2018). Por tratarse de un componente abundante del sotobosque es considerado uno de los productos forestales no-madereros más importantes de los Bosques Andino-Patagónicos, y una de las especies más relevantes y sub-utilizadas para la diversificación agroproductiva regional (Sotomayor y Barros 2016). Su amplia distribución y rusticidad permiten suponer buenas perspectivas de cultivo (Varas *et al.* 2013). En Argentina esta especie no forma parte de sistemas productivos convencionales hasta el momento, aunque se estima que se cosechan anualmente entre 10 y 15 toneladas de frutos de calafate provenientes de poblaciones naturales (Arena 2016).

Un aspecto clave para promover el cultivo de especies frutales no convencionales es el desarrollo de métodos de multiplicación que permitan clonar ejemplares con características deseables. La multiplicación por estacas es el método más utilizado en cultivos frutícolas desde hace cientos de años (Legué *et al.* 2014). El potencial de producir raíces adventicias a partir de porciones de tallo es bajo para muchas especies leñosas de importancia económica, lo cual desalienta su producción comercial (Hartmann *et al.* 2014). Las auxinas y otras fitohormonas como las citoquininas, giberelinas y etileno, son compuestos orgánicos producidos normalmente por las plantas que regulan el crecimiento y otros procesos fisiológicos. De estas hormonas, las auxinas son los compuestos que producen mayor efecto sobre la formación de raíces en estacas. Para el enraizamiento de estacas leñosas se encuentra muy difundida la aplicación de productos artificiales químicamente similares a las auxinas, como el ácido indol-3-butírico (AIB) (Darris 2002, Latsague Vidal *et al.* 2009). Aunque algunas especies del género *Berberis* han sido reproducidas con éxito mediante tratamientos con AIB en concentraciones de entre 2.000 ppm y 8.000 ppm (Hartmann *et al.* 2014), no se conocen resultados favorables para *B. microphylla*. Ante esta situación, algunos autores recomiendan su reproducción a partir de estacas de raíz (Arena y Radice 2014), con las limitaciones operativas a escala de producción y el potencial daño ambiental que esta práctica implica.

Los experimentos de enraizamiento de porciones de tallo de *Berberis* spp. realizados hasta el momento no han tomado en cuenta algunos de los factores que pueden incidir en el éxito de esta técnica de multiplicación (Ali *et al.* 2008). Uno de esos factores es la edad fisiológica de la porción de tallo de la cual deriva la estaca (Rasmussen *et al.* 2015, Muñoz y Molina 2016). Estacas producidas a partir de porciones de tallo de menor edad fisiológica suelen presentar mayores probabilidades de enraizamiento; tejidos jóvenes presentan mayor capacidad de desdiferenciación, que es la capacidad de algunas células somáticas diferen-

ciadas de volver a estado meristemático y diferenciarse para producir raíces adventicias u otras estructuras. Esta capacidad decrece con la edad (Hartmann *et al.* 2014, Legué *et al.* 2014, Zargar y Kumar 2018). En especies arbustivas como por ejemplo *Parkinsonia aculeata* L., se ha registrado un gradiente decreciente de emisión de raíces desde porciones proximales a porciones apicales de los mismos ejes (Abedini 2005), que puede explicarse aludiendo a gradientes en la edad fisiológica de las células meristemáticas de los tallos (Barthélémy y Caraglio 2007). Por otro lado, dado que las condiciones de desarrollo de las plantas inciden en la edad fisiológica de sus ejes, podría esperarse que hubiera diferencias en la capacidad de enraizamiento de estacas entre poblaciones de la misma especie ubicadas en áreas ecológicas con condiciones ambientales contrastantes (Barthélémy y Caraglio 2007, Tombesi *et al.* 2015).

El objetivo de este estudio fue evaluar la capacidad rizogénica de estacas de *B. microphylla* derivadas de secciones basales, medias y apicales de brotes de un año (semileñosos), con la aplicación de diferentes concentraciones de AIB, a partir de brotes provenientes de poblaciones de tres áreas ecológicas diferentes. El sistema de ramificación de *B. microphylla* es basitono, es decir, que los ejes más largos derivan de porciones basales de ejes previos que forman la estructura principal de cada planta (Arena y Radice 2014). Por esta razón, una de las hipótesis de este estudio es que la probabilidad de enraizamiento será mayor en estacas derivadas de porciones basales que en aquellas derivadas de porciones distales de los mismos brotes. Con el fin de considerar posibles diferencias entre poblaciones respecto de sus capacidades de enraizamiento, los brotes fueron obtenidos de plantas correspondientes a tres comunidades vegetales donde habita esta especie: bosque húmedo, matorral de transición y estepa (en lo sucesivo referidas como bosque, matorral y estepa respectivamente). Las notables diferencias en precipitaciones y en composición edáfica (Satti *et al.* 2007) entre estos ambientes permiten suponer que las plantas de *B. microphylla* tienen las mejores condiciones de crecimiento en el bosque, y las menos favorables en la estepa, por lo cual se espera que el nivel de enraizamiento sea máximo en las plantas de bosque y mínimo en las de estepa.

MÉTODOS

Sitios de muestreo. Los muestreos de *B. microphylla* se realizaron dentro del área de influencia del Parque Nacional Nahuel Huapi (PNNH), Argentina (figura 1). Se consideraron las tres áreas ecológicas principales del PNNH: (1) bosque Andino Patagónico, que ocupa su límite occidental y está dominado por especies de *Nothofagus* (*N. pumilio* (Poepp. & Endl.) Krasser, *N. dombeyi* (Mirb.) Oerst., y *N. antarctica* (G. Forst.) Oerst.), (2) ecotono bosque-estepa o matorral de transición, con abundancia de arbustos (*Berberis* spp., *Baccharis* spp., *Discaria chacaye* (G. Don) Tortosa, *D. articulata* (Phil.) Miers, *Schinus patagonicus*

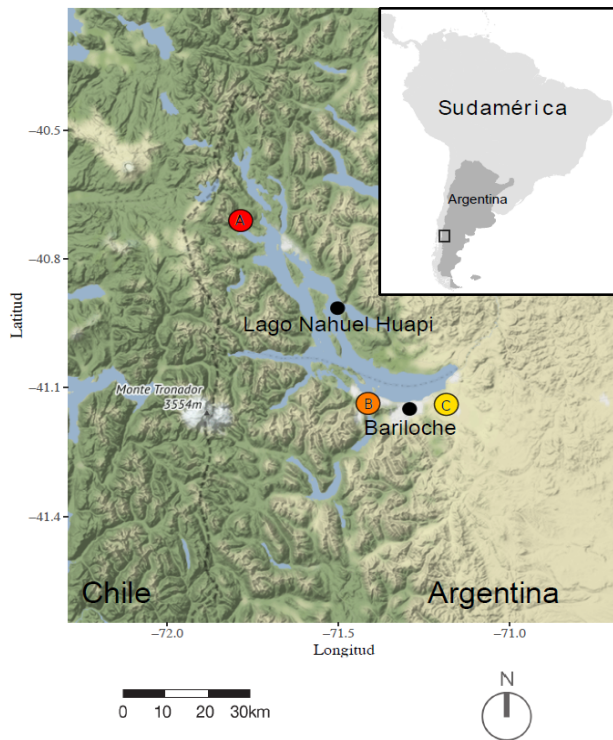


Figura 1. Referencia de los sitios de recolección del material de propagación, PNNH, Argentina. (A) Bosque: bosque de ñire cercano al Río Totoral, límite NO del Lago Nahuel Huapi, en cercanías de la frontera argentino-chilena ($40^{\circ} 42' 43''$ S y $71^{\circ} 47' 28''$ O, a 781 m s.n.m.); (B) Matorral de transición: matorral mixto en el valle de inundación del Arroyo Gutiérrez, al oeste de la ciudad de San Carlos de Bariloche ($41^{\circ} 08' 12''$ S y $71^{\circ} 24' 50''$ O, a 805 m s.n.m.); (C) Estepa: estepa gramíneo-arbustiva en los alrededores del aeropuerto de San Carlos de Bariloche, al este de la ciudad ($41^{\circ} 08' 39''$ S y $71^{\circ} 10' 34''$ O, a 834 m s.n.m.).

Reference of collection sites for propagation material, Nahuel Huapi National Park, Argentina. (A) Forest: ñire forest near the Totoral River, NW limit of Nahuel Huapi Lake, near the Argentine-Chilean border ($40^{\circ} 42' 43''$ S and $71^{\circ} 47' 28''$ W, at 781 m a.s.l.); (B) Transitional scrub: mixed scrubland in the flood valley of Arroyo Gutiérrez, west of the city of San Carlos de Bariloche ($41^{\circ} 08' 12''$ S and $71^{\circ} 24' 50''$ W, at 805 m a.s.l.); (C) Steppe: grassy shrub-steppe in the vicinity of the San Carlos de Bariloche airport, east of the city ($41^{\circ} 08' 39''$ S and $71^{\circ} 10' 34''$ W, at 834 m a.s.l.).

(Muchi), *Diostea juncea* (Gillies & Hook. ex Hook.) Miers y *Fabiana imbricata* Ruiz & Pav., entre otras especies), y algunos árboles (*N. antarctica*, *Maytenus boaria* Molina, *Lomatia hirsuta* (Lam.) Diels y *Austrocedrus chilensis* (D. Don) Pic. Serm. & Bizzarri), y (3) estepa semiárida gramíneo-arbustiva, que ocupa el límite oriental del PNNH y se compone principalmente de pastizales dominados por coirones (*Pappostipa speciosa* (Trin. & Rupr.) Romasch. y *Festuca pallescens* (St.-Yves) Parodi, entre otras especies), arbustos y subarbustos de los géneros *Azorella*, *Discaria*, *Anarthrophyllum*, *Junellia* y *Schinus* (Kitzberger et al. 2014). Los sitios de muestreo fueron los siguientes. Bosque: ñirantal próximo al río Totoral, en el límite

NO del Lago Nahuel Huapi, en cercanías de la frontera argentino-chilena ($40^{\circ} 42' 43''$ S y $71^{\circ} 47' 28''$ O, a 781 m s.n.m.). Matorral: matorral mixto en el valle de inundación del arroyo Gutiérrez, al oeste de la ciudad de San Carlos de Bariloche ($41^{\circ} 08' 12''$ S y $71^{\circ} 24' 50''$ O, a 805 m s.n.m.). Estepa: estepa gramíneo-arbustiva al este de San Carlos de Bariloche ($41^{\circ} 08' 39''$ S y $71^{\circ} 10' 34''$ O, a 834 m s.n.m.). La diversidad de comunidades vegetales de estas tres áreas ecológicas se vincula con el gradiente de precipitación decreciente de oeste a este (entre 3.000 y 700 mm anuales), y con el desarrollo edáfico. Hacia el oeste, los suelos del bosque son más fértiles y están mejor estructurados, gracias a aportes de cenizas volcánicas y de materia orgánica, y se encuentran cubiertos por una capa gruesa de mantillo, producto de la mayor cobertura vegetal. En la estepa se encuentran suelos arenosos como consecuencia de depósitos glaci-fluviales, con escasa capacidad de retención de agua y nutrientes. El área ecológica del matorral de transición, desarrollado sobre una planicie de inundación, presenta suelos con acumulación de sedimentos, de condiciones ecotonales o intermedias entre bosque y estepa (Satti et al. 2007).

Muestreo de brotes de *B. microphylla*. En cada sitio de muestreo se seleccionaron 10 plantas adultas de buen aspecto general (con abundancia de ramas provistas de hojas verdes), y de entre 1,10 m y 1,80 m de altura. En las especies patagónicas de *Berberis*, el incremento del volumen de la estructura aérea depende de la producción de brotes vigorosos formados en la porción de la planta más cercana al suelo a partir de ejes previos. De cada una de las 30 plantas madre se cortaron brotes vigorosos y de crecimiento vertical, iniciados a menos de 0,30 m sobre el suelo en la última estación de crecimiento. Al momento del muestreo, había transcurrido un año desde el inicio del alargamiento de los brotes muestreados. Se podía observar la epidermis íntegra y de color rojizo en esos brotes, lo que permite afirmar que los mismos eran de alargamiento reciente (Arena y Radice 2014) y no habían iniciado el crecimiento en grosor. La longitud de los brotes cortados varió entre 0,14 m y 1,05 m; las longitudes promedio de los brotes fueron: 0,39 m para las plantas de estepa, 0,54 m para las plantas de matorral, y 0,77 m para las plantas de bosque. El material obtenido fue colocado en agua al momento del muestreo; luego fue envuelto en tela húmeda y almacenado dentro de bolsas de polietileno negras para conservar la turgencia de los tejidos. Al día siguiente se prepararon 432 estacas foliadas (ver diseño experimental) de entre 5 y 8 cm de longitud, cada una de ellas conformada por una porción de tallo provista de entre tres y cinco nudos.

Diseño experimental. Se aplicó un diseño factorial en invernadero que incluyó las siguientes variables predictoras: área ecológica de procedencia de la estaca (bosque, matorral o estepa), sección del brote que se utilizó para su preparación (basal, media o apical), y concentración

de AIB (0 ppm, 2.000 ppm, 5.000 ppm u 8.000 ppm). Se evaluaron 12 estacas (repeticiones) para cada combinación de procedencia, sección del brote y concentración de AIB (36 combinaciones o tratamientos). El diseño factorial permitió evaluar la interacción entre las tres variables predictoras. Las concentraciones de AIB se prepararon siguiendo protocolos técnicos del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria de Argentina (INTA) (Sisaro y Hagiwara 2016). Se prepararon las concentraciones descriptas en laboratorio a partir de hormona AIB pura (99 %) en polvo, en una dilución con etanol fino de 96 % de pureza, sobre talco industrial libre de yeso, hasta conseguir una consistencia pastosa, espesa y fluida. Estas preparaciones se establecieron bajo campana de laboratorio ventilada, a temperatura ambiente durante 3 días, para favorecer la evaporación completa del etanol; una vez secas, se rompieron las costras formadas para homogeneizar el talco en su tamaño de partícula y fluidez, y se almacenaron las preparaciones en heladera hasta su utilización.

La aplicación de AIB se efectuó sumergiendo los primeros 5 a 10 mm de la parte basal de cada estaca en las preparaciones descriptas durante tres segundos. Las estacas así tratadas fueron establecidas en bandejas multiceladas con sustrato compuesto de cuatro partes de turba de *Sphagnum* neutralizada con cal (CaCO_3), dos partes de perlita, y una de vermiculita (pH del sustrato = 6,7), sobre cama caliente a 19 °C (+- 2 °C) en invernadero con humedad cercana a la saturación, controlada por nebulización aplicada durante un minuto cuatro veces por día.

A los 90 días se evaluaron para cada estaca: presencia/ausencia de raíces, número de raíces emitidas, peso seco de las raíces y longitud máxima de raíz. Para las determinaciones de los pesos secos, las muestras fueron lavadas cuidadosamente para retirar las partículas de sustrato, secadas en estufa ventilada a 60 °C hasta peso constante y pesadas con una precisión de 0,001 g.

Análisis de datos. Los datos se analizaron mediante modelos lineales generalizados. Las variables respuesta analizadas fueron: enraizamiento, número de raíces, peso seco de raíces y longitud de raíces. Los predictores de los modelos fueron la concentración de AIB (continuo), incluyendo un término cuadrático (AIB^2 , para contemplar una posible respuesta no lineal, que fue observada en gráficos preliminares), el área ecológica de procedencia (categórico de tres niveles), la sección del brote anual que se utilizó para realizar cada estaca (categórico de tres niveles) y todas las interacciones. Para la presencia de raíces, al tratarse de una variable dicotómica (presencia/ausencia), se aplicó una distribución binomial con la función *glm* del programa R 3.5.0 (R Core Team 2018) y la función de enlace “logit”. El número de raíces se modeló con una estructura de error binomial negativa con la función *glm.nb*, debido a que se observó presencia de sobredispersión con la distribución de Poisson (Garibaldi *et al.* 2019), y la función de enlace “log”. Para peso de raíces, se utilizó una distribución *gam-*

ma con la función *glm* y la función de enlace “identity” debido a la presencia de asimetría positiva. La longitud máxima de raíces se ajustó con una distribución normal con la función *lm*.

Se realizaron inferencias multi-modelo donde se evaluaron todas las combinaciones de predictores posibles y el criterio de AICc seleccionó los mejores modelos siguiendo un criterio parsimonioso (Garibaldi *et al.* 2017) utilizando la función de *dredge* y el paquete MuMin (Bartón 2009). Se calcularon los valores de importancia relativa, que suman los “pesos de Akaike” sobre todos los modelos que incluyen la variable explicativa, con la función *importance* del mismo paquete. Se verificaron los supuestos de homocedasticidad y normalidad mediante la evaluación visual de los gráficos de dispersión residual (valores residuales vs. valores predichos) y prueba de Shapiro-Wilk (*shapiro.test*). La diferencia de AICc entre el modelo nulo (sin predictores) y el modelo seleccionado (ΔAICc) fue utilizada como medida de ajuste.

RESULTADOS

Todas las variables predictoras, y algunas de sus interacciones, tuvieron efectos importantes sobre el enraizamiento (cuadros 1 y 2). Las estacas provenientes del bosque tuvieron mayor enraizamiento que aquellas de matorral y estepa, y esta diferencia fue mayor para la sección basal que para las secciones media y apical (i.e. interacción procedencia x sección del brote). El enraizamiento máximo se registró en las estacas provenientes del bosque y derivadas de la sección basal de los brotes cortados (figura 2). Las estacas de secciones medias fueron las únicas de la procedencia estepa que desarrollaron raíces (figura 2).

El efecto del AIB fue importante para las tres procedencias y las tres secciones de los brotes (cuadro 2), no así las interacciones entre el factor concentración de AIB y los otros factores. El patrón general no lineal estima menor probabilidad de enraizamiento con valores intermedios de AIB; no obstante, en todos los casos el mayor enraizamiento fue el registrado para estacas sin AIB. Por lo tanto, la probabilidad más elevada de enraizamiento (0,45) fue la correspondiente a las estacas de la sección basal de brotes provenientes del bosque y sin aplicación de AIB (figura 2). Al comparar la aplicación de concentraciones crecientes de AIB, se observó un aumento promedio de 30 % en la probabilidad de enraizamiento entre 5.000 ppm y 8.000 ppm de AIB (figura 2).

Ninguno de los predictores fue importante para explicar el número de raíces producidas por estaca (cuadro 1). Al analizar el peso seco de las raíces se observó un efecto importante de la procedencia y de la concentración de AIB, sin efectos interactivos entre factores. El área ecológica fue el factor que más afectó el peso de las raíces (cuadro 2); las estacas de la procedencia bosque fueron las que desarrollaron mayor peso de raíces. Para el tratamiento sin AIB, el peso de las raíces de las estacas del bosque fue, en

Cuadro 1. Coeficientes de los modelos mínimos (y sus errores estándar, EE) seleccionados a través de inferencia multimodelo con el criterio de AICc para: proporción de enraizamiento (en escala logit), número de raíces (escala log), peso de raíces y longitud de raíces de estacas de *Berberis microphylla*. En todos los casos los predictores son: Procedencia (bosque, matorral y estepa), sección (apical, medio y basal), AIB (ppm de AIB), AIB² (ppm de AIB al cuadrado). Las interacciones que no aparecen no fueron incorporadas en ningún modelo mínimo. El guion indica que el parámetro no se seleccionó en el modelo mínimo bajo el criterio de AICc.

Coefficients of the minimum models (and their standard errors, SE) selected through multi-model inference with the AICc criterion for: rooting proportion (in logit scale), number of roots (log scale), root weight and root length of *Berberis microphylla* stem cuttings. In all cases the predictors were: Provenance (forest, shrubland and steppe), section (basal, middle and apical), IBA (ppm IBA), IBA² (ppm IBA squared). Interactions that don't appear were not incorporated in any minimum model. The dash indicates that the parameter was not selected in the minimal model under the AICc criterion.

| Coeficientes de los modelos | | | | |
|-----------------------------|---|----------|---|--|
| Parámetro | Enraizamiento | N raíces | Peso | Longitud |
| Intercepto | -0,90 (0,43) | 2,67 | 41,87 (5,45) | 121,35 (9,55) |
| Estepa | -18,11 (1,53 x10 ³) | - | -13,21 (6,62) | - |
| Matorral | -0,31 (0,56) | - | -10,91 (5,70) | - |
| Basal | 0,70 (0,41) | - | - | - |
| Media | 4,10 x10 ⁻¹⁶ (0,53) | - | - | - |
| AIB | -3,95 x10 ⁻⁴ (2,03 x10 ⁻⁴) | - | -6,46 x10 ⁻³ (2,94 x10 ⁻³) | -0,02 (7,49 x10 ⁻³) |
| AIB ² | 3,75 x10 ⁻⁸ (2,49 x10 ⁻⁸) | - | 6,70 x10 ⁻⁷ (3,57 x10 ⁻⁷) | 2,46 x10 ⁻⁶ (9,22 x10 ⁻⁷) |
| Estepa x Basal | -0,70 (2,17 x10 ³) | - | - | - |
| Matorral x Basal | -2,08 (0,97) | - | - | - |
| Estepa x Media | 17,16 (1,53 x10 ³) | - | - | - |
| Matorral x Media | -2,10 (1,22) | - | - | - |
| Δ AICc | 36,94 | 0,00 | 2,61 | 4,40 |

* Δ AICc es la diferencia de AICc entre el modelo mínimo seleccionado y el modelo nulo.

N raíces es número de raíces. AIB es ácido indol-3-butírico.

* Δ AICc* it's the difference between the minimal model selected and the null model. N raíces is the number of roots. AIB is IBA (indole-3-butric acid).

Cuadro 2. Importancia relativa (el cual suma todos los pesos de Akaike de todos los modelos que incluyen la variable explicativa) de cada parámetro del modelo completo y sus interacciones dobles. Las interacciones triples en todos los casos tuvieron una importancia relativa menor a 0,01. Procedencia, Sección, AIB (ppm de AIB), AIB² (ppm de AIB al cuadrado).

Relative importance (which sums all the Akaike weights of all the models that include the explanatory variable) of each parameter of the full model and its double interactions. The triple interactions in all cases had a relative importance of less than 0.01. Provenance (steppe, shrubland and forest), section (apical, middle and basal), AIB (ppm IBA), IBA² (ppm IBA squared).

| Predictor | Proporción enraizamiento | N raíces | Peso de raíces | Longitud de raíces |
|--------------------------------|--------------------------|----------|----------------|--------------------|
| Procedencia | 1 | 0,09 | 0,61 | 0,11 |
| Sección | 0,96 | 0,08 | 0,11 | 0,34 |
| AIB | 0,76 | 0,36 | 0,67 | 0,87 |
| AIB ² | 0,59 | 0,39 | 0,56 | 0,84 |
| Procedencia x Sección | 0,95 | 0,08 | 0,02 | 0,02 |
| AIB x Procedencia | 0,18 | 0,08 | 0,11 | 0,01 |
| AIB ² x Procedencia | 0,13 | 0,05 | 0,11 | 0,01 |
| AIB x Sección | 0,09 | < 0,01 | 0,01 | 0,02 |
| AIB ² x Sección | 0,07 | < 0,01 | < 0,01 | 0,01 |

N raíces es número de raíces. AIB es ácido indol-3-butírico.

N raíces is the number of roots. AIB is IBA (indole-3-butric acid).

promedio, alrededor de 35 % mayor que en las estacas del matorral y 46 % mayor que en las de la estepa. El efecto del AIB sobre el peso de raíz fue no-lineal: se registraron los valores promedio máximos para los controles, los mínimos para concentraciones intermedias de AIB, y un aumento promedio de 6,73 mg entre 5.000 ppm y 8.000 ppm de AIB (figura 3A).

Al analizar la longitud máxima de raíces, el único factor de importancia que fue incorporado en el modelo mínimo según el criterio de AICc fue la concentración de AIB. Al

igual que para el resto de las variables respuesta analizadas, la longitud máxima de raíz siguió un patrón no-lineal al aumentar la concentración de AIB. La longitud máxima de raíces fue de 121 mm con el tratamiento control, de 87 mm con 2.000 ppm, la longitud mínima de 73 mm con 5.000 ppm, y la longitud mayor de los tratamientos con AIB se registró con 8.000 ppm, que fue de 103 mm (figura 3B).

DISCUSIÓN

En este trabajo se registró mayor enraizamiento en las estacas de *Berberis microphylla* derivadas de material procedente de bosque que en las estacas procedentes de matorral y de estepa. Este resultado puede explicarse por las condiciones de crecimiento de las plantas madre. Estudios realizados sobre otras especies han demostrado que el estado de las plantas de las cuales se obtienen estacas incide en las probabilidades de enraizamiento de estas (Rasmussen *et al.* 2015). Si bien en el presente estudio se procuró seleccionar individuos que se encontraran en fases de desarrollo similares en las tres procedencias de muestreo, tomando como referencia el tamaño total de sus sistemas de ramificación aéreos, se verificaron diferencias dentro y entre poblaciones de muestreo respecto de la longitud de los brotes colectados. Las mayores longitudes promedio de los brotes obtenidos en el bosque, respecto de los de matorral y estepa, podrían haber tenido un efecto importante sobre la capacidad de enraizamiento de las estacas; brotes más desarrollados podrían contener mayores reservas de carbohidratos, lo cual se relaciona directamente con la formación de raíces adventicias (Tombesi *et al.* 2015). Futuros estudios deberían contemplar la utilización de modelos jerárquicos que contemplen el anidamiento entre los factores evaluados (por ej. secciones de brote dentro de rama y rama dentro de individuo) para obtener mejores modelos.

Las diferencias de desarrollo entre los brotes de las plantas asociadas a bosque, matorral y estepa podrían vincularse a factores ambientales como el mayor nivel de pluviometría en el bosque y el tipo de suelo. Aunque jóvenes, los suelos del bosque en esta región son profundos y fértiles, con alta capacidad para formar complejos estables con la materia orgánica del suelo, producto de la acumulación de depósitos de ceniza volcánica, los que disminuyen en espesor a medida que aumenta la distancia desde la cordillera de los Andes, donde se produce la actividad volcánica (Satti *et al.* 2007). El menor grado de exposición a luz solar directa en el estrato arbustivo del bosque respecto de las plantas del matorral y la estepa, también podría ser un factor determinante del estado de las plantas madre de las cuales se obtuvieron las estacas. De hecho, reducir los niveles de irradiancia sobre las plantas madre es una práctica habitual en viveros para aumentar el potencial de enraizamiento en especies con escasa capacidad de enraizamiento o recalcitrantes (Zaczek *et al.* 1999). Se debe considerar la

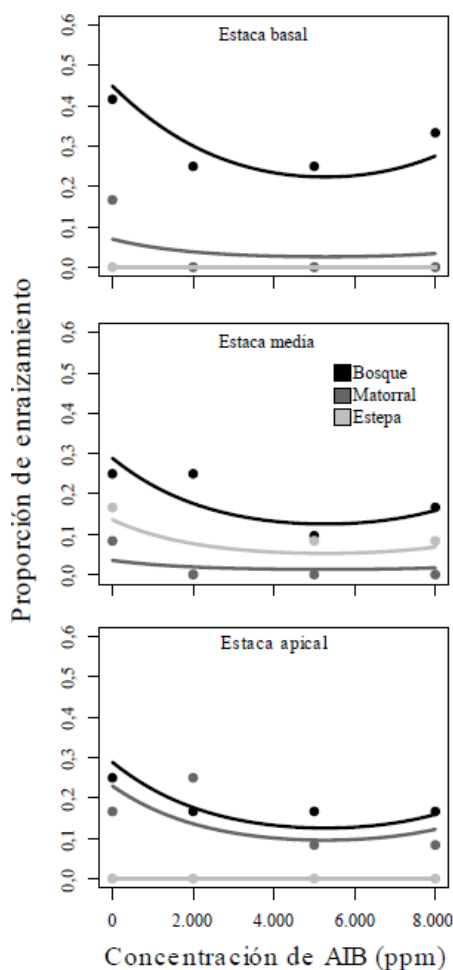


Figura 2. Respuesta de enraizamiento de estacas de *Berberis microphylla* de distintas procedencias y secciones de los brotes ante aumentos en la concentración de AIB. Las curvas representan las probabilidades de enraizamiento bajo el modelo mínimo (cuadro 1) y los puntos indican las proporciones promedio de estacas enraizadas para cada tratamiento. AIB (ppm) es partes por millón de ácido indol-3-butírico.

Rooting response of *Berberis microphylla* cuttings from different stem portions and provenance to IBA concentration increases. The curves represent rooting probabilities under the minimum model (table 1), and the dots indicate the average proportions of rooted cuttings for each treatment. AIB (ppm) is IBA (indole-3-butric acid) parts per million.

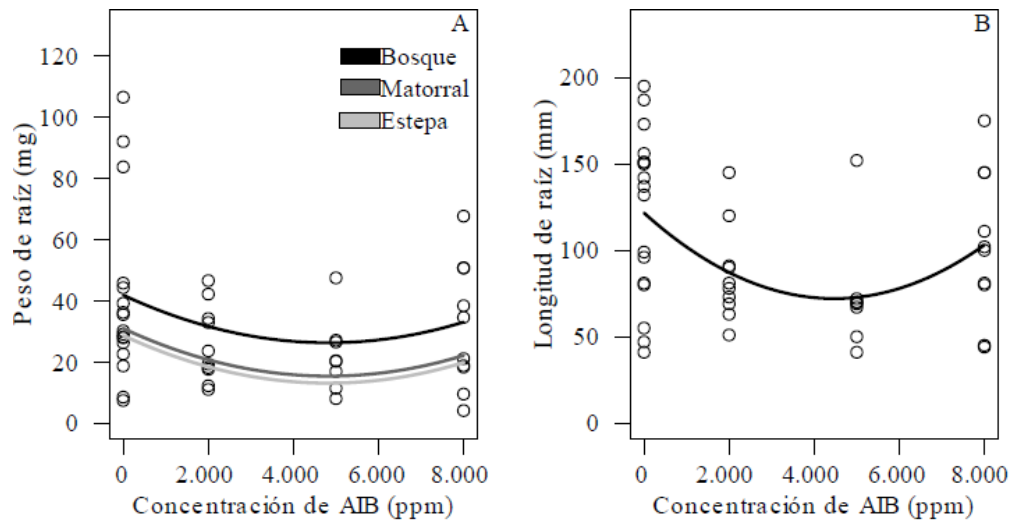


Figura 3. Respuesta del peso de raíz (A) y longitud máxima de raíces (B) de estacas enraizadas de *B. microphylla* ante aumentos en la concentración de AIB. Respecto al peso de raíces se muestra el efecto de distintas procedencias. Las curvas representan los modelos mínimos (cuadro 1) y los puntos indican los pesos y longitudes máximas de raíces medidas en el experimento. AIB (ppm) es partes por millón de ácido indol-3-butírico.

Root weight (A) and maximum root length (B) response of *B. microphylla* rooted stakes in front of increases in IBA concentration. Regarding root weight, the different provenances and IBA concentrations effects are shown. The curves represent the minimum models (table 1) and the dots indicate the root weight and maximum root lengths measured in the experiment. IBA (ppm) means parts per million of indole-3-butric acid.

posibilidad de que las plantas de las tres áreas ecológicas se hayan diferenciado en cuanto a sus fases ontogenéticas de desarrollo, sin que estas diferencias se evidencien en los tamaños de las plantas o de sus brotes. *Berberis microphylla* posee un importante desarrollo subterráneo (J. Puntieri, observación personal) cuyo tamaño dependería de la edad de la planta y que podría no verse reflejado en la altura de los sistemas de ramificación aéreos, que fue el criterio principal de selección de plantas utilizado en este estudio. Para otras especies se ha comprobado que la fase ontogenética en la que se encuentra una planta se relaciona con el potencial de enraizamiento de sus explantos (Rasmussen *et al.* 2015).

En este estudio se adoptó un criterio arquitectural en la selección de los brotes de los cuales derivaron las estacas. Se cortaron exclusivamente brotes vigorosos de desarrollo vertical que se alargaron en el periodo de crecimiento precedente al momento de muestreo, y que derivaron de porciones basales de las plantas seleccionadas. Estos son los brotes de mayor longitud que producen las plantas adultas de *B. microphylla* (Arena y Radice 2014). A pesar de estos criterios de selección de brotes, se verificaron diferencias en el enraizamiento relacionadas con la posición (basal, media o apical) de las secciones de las cuales derivaron las estacas. Sin embargo, esas diferencias no fueron similares para los brotes de las tres procedencias. El máximo enraizamiento se produjo en las estacas derivadas de la sección basal en el caso de la procedencia bosque, en las derivadas de secciones apicales en la proce-

dencia matorral, y en las estacas de secciones medias en la procedencia estepa. Estas diferencias podrían relacionarse con características como la disponibilidad de reservas, la concentración de hormonas y la capacidad de desdiferenciación de cada sección de brote, además del estado fisiológico y las condiciones ambientales de desarrollo de las plantas madre (Hartmann *et al.* 2014, Rasmussen *et al.* 2015, Zargar y Kumar 2018).

El AIB aplicado en concentraciones de hasta 8.000 ppm no aumentó la capacidad de enraizamiento de *B. microphylla*. En especies recalcitrantes, la aplicación externa de auxinas puede aumentar poco o nada la emisión de raíces (Stuepp *et al.* 2014). El efecto no-lineal de la concentración de AIB sobre todas las variables relacionadas con el enraizamiento, y el leve incremento registrado al utilizar la concentración de 8.000 ppm, permiten desestimar la idea de que ocurra toxicidad por elevada concentración de AIB y alentar la evaluación del empleo de concentraciones más altas de AIB. Para otras especies emparentadas con *B. microphylla* como *B. bealei* Fortune, *B. nervosa* (Pursh) Nutt, *B. pinnata* Buch, y otras leñosas como *Maclura pomifera* (Raf.) Schneid., *Photinia x frasseri* Dress, *Morus alba* L., *Pistacia chinensis* Bunge, y *Camellia reticulata* Lindl. entre otras, se utilizan regularmente concentraciones de AIB mayores a 8.000 ppm (10.000, 15.000 y 20.000 ppm). Algunos cultivares e híbridos de *B. thunbergii* producen raíces con concentraciones de 1.250, 1.500 y 1.870 ppm, por lo que sería conveniente explorar el rango de concentraciones menores a 2.000 ppm (Hartmann *et al.* 2014).

Estudios subsiguientes en esta línea también deberían considerar el empleo de otras sustancias promotoras del enraizamiento como el ácido alfa-naftalén-acético (ANA) y el ácido indol-3-acético (AIA). Considerando estos resultados, sería conveniente realizar nuevos ensayos que incluyan concentraciones más altas de AIB, metodologías diferentes para su aplicación, y otros productos enraizantes como el ácido alfa-naftalén-acético (ANA) y el ácido indol-3-acético (AIA) que producen efectos similares (Blythe *et al.* 2007).

La época del año en la que se establecen las estacas también debe ser evaluada. En este estudio se optó por el enraizamiento a fines del invierno que es cuando las plantas comienzan a mostrar actividad metabólica, siguiendo los resultados favorables obtenidos en otras especies (Hartmann *et al.* 2014). En contraste, para algunas especies leñosas se ha registrado mayor capacidad rizogénica a fines de verano, cuando los tejidos del año alcanzaron su máximo desarrollo y comienzan a reservar nutrientes para el letargo invernal (Hartmann *et al.* 2014). Esta información concuerda con los datos sobre la fenología del crecimiento de *B. microphylla* (= *B. buxifolia*) obtenidos por Arena y Radice (2014), de manera que futuros estudios sobre el enraizamiento de estacas de *B. microphylla* deberían incluir la cosecha de brotes a fines de verano.

Si bien los porcentajes de enraizamiento obtenidos hasta el momento fueron moderados o bajos, este trabajo señala algunas vías de ajuste de esta técnica que podrían aumentarlos. La propuesta de recurrir a la multiplicación de *B. microphylla* a través de porciones de raíces de plantas es una alternativa viable en viveros (Arena y Radice 2014), aunque podría tener efectos negativos sobre las comunidades silvestres de las cuales se obtuviera el material a multiplicar, ya que implicaría mayor grado de daño a las plantas de *B. microphylla* como a las raíces de otras especies cohabitantes, y efectos erosivos en los suelos.

No se encontró relación entre los predictores y el número de raíces de las estacas. La procedencia afectó el peso de raíces; la mayor cantidad de biomasa de raíces producida por la procedencia bosque sería consecuencia de las mejores condiciones de las plantas madre. Como en las otras variables de estudio, la longitud y el peso de raíces se vieron afectados por el tratamiento de AIB, con el registro máximo en los tratamientos control.

CONCLUSIONES

La multiplicación clonal de *B. microphylla* por medio de estacas de tallo es posible. La variable más importante para el enraizamiento fue la procedencia de las estacas: aquellas procedentes de estepa tuvieron valores muy bajos o nulos, y la mayor probabilidad de enraizamiento (0,45) se obtuvo en estacas de la porción basal de los brotes obtenidos del bosque. El área ecológica de origen de las plantas, y la posición topológica de la estaca en la planta madre, inciden de manera importante en el desarrollo de raíces

adventicias. Además, se comprueba que las aplicaciones de AIB en concentraciones entre 2.000 ppm y 5.000 ppm no aumentan el porcentaje de enraizamiento de las estacas, la longitud ni el peso de las raíces, resultando concentraciones contraproducentes respecto del control (0 ppm). El manejo de plantas madre en viveros podría ser una estrategia para producir material homogéneo y de calidad para la propagación. Otros factores, tales como la aplicación de concentraciones de AIB menores a 2.000 y mayores a 8000 ppm, de otras sustancias promotoras del enraizamiento, y el establecimiento de estacas en otras épocas del año, deberían ser evaluados en detalle en futuros estudios.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación se realizó con financiamiento de la Universidad Nacional de Río Negro (Proyecto PI UNRN 2019 40-B-804), de la Agencia Nacional de Promoción de la Investigación, el Desarrollo Tecnológico y la Innovación, a través del Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación (Proyecto PICT 2019-00393), y del Programa Ciencia y Tecnología contra el Hambre, del Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación (Proyecto PID C3). Colaboraron en este trabajo los estudiantes Débora Ismodes, Ana Franquet, Georgina Díaz y Pablo Rassori, de la Sede Andina de la UNRN.

REFERENCIAS

- Abedini W. 2005. Propagación vegetativa de *Parkinsonia aculeata* L. por estaquillado. *Quebracho - Revista de Ciencias Forestales* 12: 23-33.
- Ali M, AR Malik, KR Sharma. 2008. Vegetative propagation of *Berberis aristata* DC. An endangered Himalayan shrub. *Journal of Medicinal Plants Research* 2(12): 374-377.
- Arena ME. 2016. Estudio de algunos fenómenos morfofisiológicos y cambios bioquímicos en *Berberis microphylla* G. Forst. (sinónimo *B. buxifolia* Lam.) asociados a la formación y maduración de frutos en Tierra del Fuego y su relación con la producción de metabolitos útiles. Tesis Doctoral en Agronomía. Bahía Blanca, Argentina. Universidad Nacional Del Sur. 223 p.
- Arena ME, S Radice. 2014. Shoot growth and development of *Berberis buxifolia* Lam. in Tierra del Fuego (Patagonia). *Scientia Horticulturae* 165: 5-12. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2013.09.047>
- Barthélémy D, Y Caraglio. 2007. Plant architecture: a dynamic, multilevel and comprehensive approach to plant form, structure and ontogeny. *Annals of botany* 99(3): 375-407. DOI: <https://doi.org/10.1093/aob/mcl260>
- Bartón K. 2009. MuMIn: multi-model inference. R package, version 0.12.2. Available at: <http://r-forge.r-project.org/projects/mumin/>
- Blythe EK, JL Sibley, KM Tilt, JM Ruter. 2007. Methods of auxin application in cutting propagation: A review of 70 years of scientific discovery and commercial practice. *Journal of Environmental Horticulture* 25(3): 166-185. DOI: <https://doi.org/10.24266/0738-2898-25.3.166>

- Daille MD, J Pérez Quezada. 2018. Productos del bosque del sur de Chile: uso y recolección. Santiago, Chile. Editorial Universitaria. 304 p.
- Darris DC. 2002. Ability of Pacific Northwest Native Shrubs to Root from Hardwood Cuttings (with Summary of Propagation Methods for 22 Species). USDA Natural Resources Conservation Service. 20 p. (Technical Notes N° 30).
- Garibaldi LA, FJ Aristimuño, FJ Oddi, F Tiribelli. 2017. Inferencia multimodelo en ciencias sociales y ambientales. *Ecología Austral* 27: 348-363.
- Hartmann HT, DE Kester, FT Davies, RL Geneve. 2014. Hartmann & Kester's Plant Propagation: Principles and Practices 8 ed. Harlow, United Kingdom. Pearson. 922 p.
- Kitzberger T, M Blackhall, L Cavallero, L Ghermandi, J Gowda, K Heinemann. 2014. Comunidades dinámicas. In Raffaele E, M de Torres Curth, CL Morales, T Kitzberger. Ecología e historia natural de la Patagonia Andina: un cuarto de siglo de investigación en biogeografía, ecología y conservación. Buenos Aires, Argentina. Fundación de Historia Natural Félix de Azara. p. 37-78.
- Latsague Vidal, P Sáez Delgado, J Yáñez Delgado. 2009. Efecto del ácido indolbutírico en la capacidad rizogénica de estacas de *Eucryphia glutinosa*. *Bosque* 30(2): 102-105. DOI: <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-92002009000200006>
- Legué V, A Rigal, RP Bhalerao. 2014. Adventitious root formation in tree species: Involvement of transcription factors. *Physiologia Plantarum* 151(2): 192-198. DOI: [10.1111/ppl.12197](https://doi.org/10.1111/ppl.12197)
- Muñoz M, R Molina. 2016. Efecto del ácido indolbutírico (AIB) y edad de las estacas en el enraizamiento de *Myrceugenia exsucca*. *Bosque* 37(3): 637-641. DOI: <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-92002016000300021>
- Rasmussen A, SA Hosseini, MR Hajirezaei, U Druege, D Geelen. 2015. Adventitious rooting declines with the vegetative to reproductive switch and involves a changed auxin homeostasis. *Journal of Experimental Botany* 66(5): 1437-1452. DOI: <https://doi.org/10.1093/jxb/eru499>
- Satti P, MJ Mazzarino, L Roselli, P Crego. 2007. Factors affecting soil P dynamics in temperate volcanic soils of southern Argentina. *Geoderma* 139(1-2): 229-240. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2007.02.005>
- Sisaro D, J Hagiwara. 2016. Propagación vegetativa por medio de estacas de tallo. Buenos Aires, Argentina. INTA. 16 p.
- Sotomayor G, S Barros. 2016. Los sistemas agroforestales en Chile. Santiago, Chile. INFOR. 458 p.
- Stuepp CA, KC Zuffellato-Ribas, I Wendling, HS Koehler, C Bona. 2014. Propagación vegetativa de quiri por intermedio de brotes epicórmicos. *Bosque* 35(3): 337-345. DOI: <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-92002014000300008>
- Tombesi S, A Palliotti, S Poni, D Farinelli. 2015. Influence of light and shoot development stage on leaf photosynthesis and carbohydrate status during the adventitious root formation in cuttings of *Corylus avellana* L. *Frontiers in Plant Science* 6: 973. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00973>
- Ulloa-Inostroza EM, EG Ulloa-Inostroza, M Alberdi, D Peña-Sanhueza, J González-Villagra, L Jaakola, M Reyes-Díaz. 2017. Native Chilean Fruits, the Effects of their Functional Compounds on Human Health. In Waisundara V, N Shiomi eds. Superfood, Functional Food - An Overview of Their Processing and Utilization. Zagreb, Croatia. InTechOpen. p. 99-130. DOI: <https://doi.org/10.5772/67067>
- Varas B, MH Castro, R Rodríguez, D Von Baer, C Mardones, P Hinrichsen. 2013. Identification and characterization of microsatellites from calafate (*Berberis microphylla*, Berberidaceae). *Applications in Plant Sciences* 1(7): 1200003. DOI: <https://doi.org/10.3732/apps.1200003>
- Zaczek JJ, CW Heuser Jr, KC Steiner. 1999. Low irradiance during rooting improves propagation of oak and maple taxa. *Journal of Environmental Horticulture* 17(3): 130-133. DOI: <https://doi.org/10.24266/0738-2898-17.3.130>
- Zargar AR, D Kumar. 2018. Effect of Maturity Stage of Donor Plant on Propagation of *Diploknema butyracea* through Branch Cuttings. *World Journal of Agricultural Research* 6(1): 15-19. DOI: [10.12691/wjar-6-1-4](https://doi.org/10.12691/wjar-6-1-4)

Recibido: 10.02.22
Aceptado: 21.10.22

