

INFORME DE PRÁCTICA PROFESIONAL

2024

Título de la Práctica

PROPAGACIÓN DE *SALIX HUMBOLDTIANA* PARA RESCATE GENETICO DE LA ESPECIE Y RESTAURACIÓN DE RIBERAS

Lugar de realización

Estación Experimental Agropecuaria Bariloche "Dr. Grenville Morris" - INTA

Período de la práctica profesional

Inicio: 10 de septiembre de 2021

Finalización: enero 2022

Estudiante

Marina Anahí Hansen

DNI 24702717

Tutor de la UNRN

Dr. Javier Puntieri

Responsable del Establecimiento o Institución

Dr. Leonardo A. Gallo

Profesor de Práctica Profesional

Ing. Ariel Mazzoni

Director de Tecnicatura en Viveros

Tec. Gustavo Sanchez

Introducción

Salix humboldtiana, conocido comúnmente como sauce criollo, es un árbol caducifolio perteneciente a la familia *Salicaceae*. Esta especie se distribuye desde México hasta el norte de la Patagonia en Argentina y Chile. En Argentina, puede encontrarse desde las provincias del norte hasta Chubut. Es una especie arbórea que prefiere suelos bajos y arenosos, y es común a orillas de ríos y arroyos (Smith, 2020).

En la región patagónica, *Salix humboldtiana* habita principalmente en zonas ribereñas, donde se destaca por su rápido crecimiento y su notable capacidad de adaptación a diversas condiciones ambientales (Gallo et al., 2020). Sus hojas son largas, estrechas y de color verde brillante, mientras que sus ramas jóvenes son flexibles y crecen con rapidez, tiene una corteza característica, estriada y gruesa (Figura 1). Este árbol puede alcanzar alturas de hasta 20 metros, desarrollando copas amplias y abiertas (García et al., 2021).



Figura 1 Corteza característica de árbol adulto de *S. humboldtiana*

Salix humboldtiana presenta flores unisexuales organizadas en amentos (Figura 2). La especie es dioica, es decir, posee ejemplares masculinos y femeninos. Las flores masculinas producen polen, mientras que las femeninas generan semillas tras la polinización. Las semillas del sauce criollo son pequeñas, de 1 y 2 milímetros, ligeras (Figura 3 y 4) y presentan tricomas (pelos) que facilitan su dispersión por viento y agua, pero a su vez sin mediar estos factores dispersores, esta pilosidad opera como un inhibidor de la germinación (observación personal basada en ensayos de test de germinación con y sin limpieza previa de las semillas imágenes ilustrativas Anexo VI).



Figura 3 A la derecha, amentos masculinos, a la izquierda amentos femeninos de *S. humboldtiana* reproducidos en vivero



Figura 2 Semilla de *S. humboldtiana* con tricomas vista en lupa binocular

En la Patagonia, las poblaciones naturales de *S. humboldtiana* se encuentran fragmentadas y distribuidas a lo largo de varios ríos, como los ríos Neuquén, Chubut, Negro y Agrio (Gallo et al., 2020). Estas poblaciones están sometidas a diversas presiones ambientales, entre ellas, tala de ejemplares para diversos usos, alteraciones de los regímenes hídricos de los ríos y competencia con otros sauces introducidos (Gallo et al. 2016).

La hibridación con estas especies exóticas es una preocupación significativa, ya que produce una dilución del acervo genético de las poblaciones nativas y alterar

las características propias de la especie. Debido a estas amenazas, muchas de las poblaciones de *S. humboldtiana* han disminuido en tamaño y están en riesgo de desaparecer quedando en relictos pequeñas poblaciones de ejemplares puros. (Gallo et al. 2020).

Los sauces introducidos en la Patagonia, presentan una capacidad de reproducción vegetativa superior en comparación con el sauce nativo *S. humboldtiana* cuya capacidad reproductiva vegetativa es más limitada (Thomas et al. 2012). Esta diferencia es muy importante, ya que la reproducción vegetativa permite a los sauces invasores prosperar en una amplia gama de condiciones ambientales, incluso bajo estrés hídrico (Figura 5), mientras que *S. humboldtiana* depende en mayor medida de la reproducción sexual, lo que en conjunto con el fenómeno de hibridación antes mencionado, lo hace más vulnerable a la pérdida hábitat

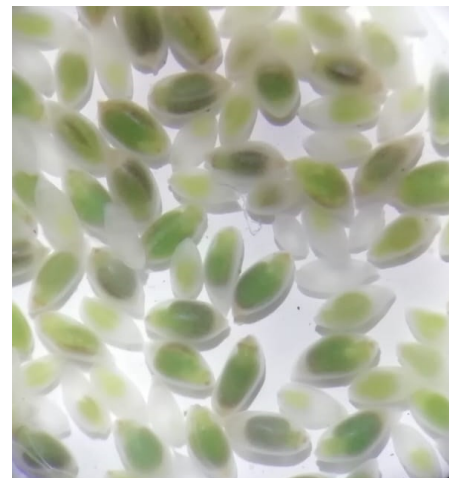


Figura 4 Semillas limpias vistas en lupa binocular

a las fluctuaciones ambientales y a la competencia con especies invasoras (Thomas et al., 2012).



Figura 5 *Salix humboldtiana* con signos de estrés hídrico, al fondo, proliferación de sauces exóticos en las orillas del río.

El estudio y propagación de *S. humboldtiana* en la Estación Experimental INTA Bariloche tiene como objetivo no solo la conservación de esta especie emblemática, sino también la restauración de los ecosistemas ribereños en los que desempeña un papel fundamental (Gallo, 2016). A través de investigaciones centradas en su biología y reproducción, se busca promover su regeneración natural y reintroducción en áreas donde ha disminuido debido a la competencia con especies invasoras (Gallo, 2016), asegurando así la estabilidad de los hábitats que esta especie nativa contribuye a sostener. La propagación efectiva de *S. humboldtiana* es crucial para estos esfuerzos, ya que su estudio permitirá desarrollar estrategias más precisas de restauración ecológica en la Patagonia (Gallo, 2020).

En el año 2015, tomé conocimiento del proyecto del INTA "Rescate Genético de *Salix humboldtiana*", lo que posteriormente me permitió participar en él. Dicha participación incluyó desde las salidas de campo para recolectar nuevo material de propagación destinado al vivero forestal del INTA hasta los primeros ensayos de propagación, siguiendo los métodos que se habían utilizado hasta ese momento. Posteriormente, a partir de las observaciones en campo y en vivero, se propuso generar cambios en el proceso de propagación. Este fue el punto de partida para la realización de esta práctica laboral.

Objetivos

El objetivo principal de la práctica laboral realizada en las instalaciones de la Estación Experimental Agropecuaria Bariloche del INTA (Fig. 6) fue colaborar en la propagación asexual de *S. humboldtiana*, la cual se estaba llevando a cabo de manera discontinua y en pequeña escala, obteniendo resultados irregulares en términos de la calidad y cantidad de las plantas disponibles para el proyecto. El método utilizado hasta ese momento, que consistía en la propagación por estacas en cama caliente (Gallo et al. 2016), presentaba un alto porcentaje de brotación de yemas, pero a su vez un sistema radicular escaso y frágil (Figura 7) con pocas probabilidades de supervivencia a campo.



Figura 6 imagen satelital de la Estación Experimental INTA Bariloche, en el recuadro 1 el sector forestal donde se realizó la práctica en el recuadro 2, la ubicación del estaquero y banco clonal de *Salix humboldtiana*.



Figura 7 Plantas de 2 años en vivero a raíz desnuda preparadas para una actividad de restauración en el río Chubut, se puede observar un sistema radicular escaso (gentileza Dr. Leonardo Gallo)

Objetivos del estudiante

- Asistir en las tareas específicas del proyecto de INTA Bariloche “Rescate genético de *Salix humboldtiana*” (Figura 8)
- Integrarse en un sistema de producción de la especie con fines específicos de rescate de clones para huerto semillero y estaquero y restauración
- Aprender a realizar muestreos y recolectar datos

Actividades realizadas

Durante la práctica laboral se llevaron a cabo las siguientes actividades:

- Recolección de material vegetativo en las márgenes del río Chubut.
- Propagación de *Salix humboldtiana* en vivero
- Instalación de ensayo clonal de diferentes ríos con material obtenido del estaquero in situ de la Estación Experimental INTA Bariloche
- Toma de datos y registro

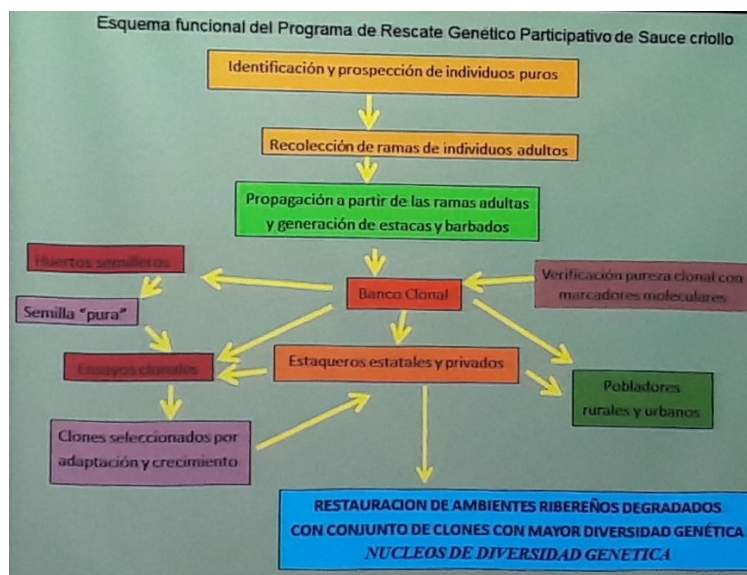


Figura 8 Esquema funcional del Programa de Rescate Genético Participativo de *S. humboldtiana* (Gallo et al. 2016)

Área de trabajo: Investigación forestal

Finalidad de la tarea: Reproducir en vivero *Salix humboldtiana* con el objetivo del rescate genético de la especie y la restauración de riveras.

Tiempo que demandó: El desarrollo completo de la actividad demandó 12hs semanales durante los meses de octubre 2021 a enero 2022

Recursos humanos involucrados:

Coordinador de las tareas, Dr. Leonardo Gallo,

Auxiliar practicante, Hansen Marina

Tareas auxiliares: personal de apoyo de INTA

Insumos necesarios

Para la recolección, vehículo utilitario para cargar el material recolectado, bolsas de consorcio reforzadas para guardar los grupos de ramas de cada ejemplar muestreado, rollos de cartón corrugado para envolver las ramas de cada árbol en forma individual formando paquetes, hilo para atar los paquetes, cinta de papel para rotular, tijera de podar de mano y tijera de altura tipo pértiga, bidones de agua con capacidad para 10 litros para mantener las muestras hidratadas durante el traslado, cuaderno de campo, lápiz, sacapuntas.

Para la propagación, bandejas forestales de 28 celdas, turba sphagnum, arena volcánica, tierra negra, maquina hormigonera (Figura 10), pala, baldes de 20 litros, zaranda, arena volcánica, compost, tierra negra, cinta de papel para rotular, lápiz, cuaderno de campo, baldes de 10 litros para la limpieza del material, detergente para vajilla, hipoclorito de sodio, agua corriente, mesa de trabajo, nylon negro, tijera de podar de mano, hormona de enraizamiento comercial, etiquetas, malla media sombra, regadera, cama caliente.

Seguimiento y control: cinta métrica, lápiz, cuaderno de campo, lupa de mano (Figura 9)

Cuidado sanitario: jabón potásico

Riego y fertilización: regadera de 10 litros, fertilizante granulado Nitrofoska azul, sistema de riego por microaspersión.

Tecnología: Invernadero de techo curvo, sistema de riego por microaspersión, mesadas de hierro ángulo y malla metálica, cama caliente, termómetro.



Figura 10 momento del llenado de bandejas



Figura 9 elementos utilizados para las mediciones del ensayo de procedencias

Recolección de muestras, 15 a 18 de septiembre de 2021

- La tarea de campo se realizó en las riberas del río Chubut, a lo largo del curso del río desde la localidad de Gualjaina hasta su desembocadura en Bahía Engaño, cerca de la ciudad de Rawson. Durante este recorrido, se identificaron tanto árboles solitarios como poblaciones fragmentadas de *S. humboldtiana*.
- Un aspecto importante en el proceso de recolección fue la selección cuidadosa de los árboles madre. Se priorizaron ejemplares adultos, de más de 50 años de edad, para minimizar la posibilidad de dilución genética producto de la hibridación entre *S. humboldtiana* y otras especies de sauces exóticos, que han invadido las márgenes del río Chubut en las últimas décadas. Cabe destacar que en muchos casos los ejemplares muestreados presentaban características de árboles sobremaduros y muy

estresados y que, debido a este fenómeno de hibridación, se decidió no trabajar con propagación a partir de semillas.

- Durante el recorrido por la ribera, se procedió a la identificación de árboles solitarios o agrupados. Una vez identificados, se inició un proceso sistematizado para la recolección y documentación de las muestras. El primer paso consistió en la descripción detallada del sitio, seguido del conteo de los árboles presentes. En algunos casos, este conteo fue exacto, mientras que en otros solo pudo ser aproximado debido al número de ejemplares que formaban la población. Se evaluó el estado general de los individuos, prestando especial atención a la posible presencia de híbridos, los cuales podían presentar características morfológicas intermedias.
- Una vez elegidos los árboles a muestrear, se procedió al corte de ramas jóvenes, seleccionando porciones leñosas de entre 0,8 y 1,20 metros de longitud (Figura 11). Estas ramas se agruparon para formar un conjunto que pudo ser empaquetado de manera segura (Figura 12). Para ello, se envolvieron con cartón corrugado y se aseguraron con hilo (Figuras 13 y 14). Cada paquete se etiquetó de manera correlativa, utilizando las letras "CH" para indicar la procedencia del río Chubut. En caso de poder determinar el sexo del ejemplar, se identificó como masculino o femenino con los símbolos correspondientes.

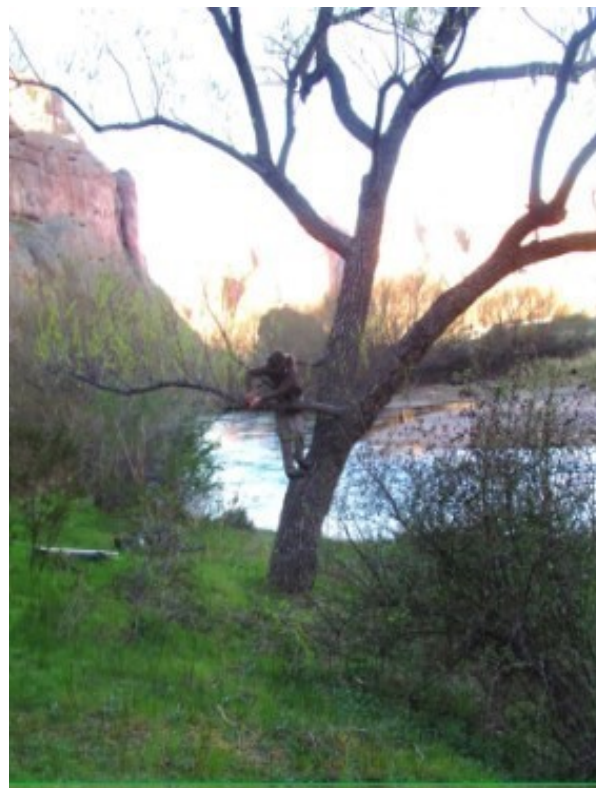


Figura 11 Recolección de ramas en un ejemplar a orillas de Dique Ameghino, provincia de Chubut (gentileza Dr. Leonardo Gallo)



Figura 12 Acondicionamiento de r mulos para empaquetado y traslado. (Gentileza Dr. Leonardo Gallo)



Figura 13 Armado de paquetes en las recolecciones de campo, posteriormente se introducían en bolsas de consorcio y se hidrataban con agua llevada en bidones para ese fin.



Figura 14 ramulos ya empaquetados listos para ser embolsados, hidratados y guardados para su traslado (gentileza Dr. Leonardo Gallo)

- Finalmente, los paquetes se colocaron en bolsas grandes de plástico color negro (bolsas de consorcio), agrupando de 4 a 5 paquetes en cada una. Estas bolsas se humedecieron con agua transportada en bidones, para mantener las muestras hidratadas durante todo el traslado, que en algunos casos se prolong  por varios días. Este último paso, fue fundamental para mantener en buen estado de conservación las muestras y también favorecer así el estado de hidratación de las mismas, ya que el ambiente en el que se encontraban y el estado general de los árboles muestreados, presentaban signos de plantas sometidas a altos niveles de estrés hídrico.

Procedimiento de propagación en vivero

Una vez transportadas las muestras al vivero, fueron descargadas en un área sombreada por  lamos, junto a un pequeño curso de agua. Las bolsas que contenían las ramas se perforaron

aleatoriamente en varios puntos y se sumergieron en el agua para mantenerlas hidratadas hasta su procesamiento.

En el vivero, el primer paso consistió en preparar el sustrato, que posteriormente se utilizó para llenar las bandejas forestales. Este sustrato se obtuvo mezclando en partes iguales turba, arena volcánica y tierra negra. Cada uno de los componentes fue previamente tamizado para eliminar impurezas y deshacer terrones, garantizando una mezcla uniforme.

Para realizar la mezcla, se empleó una hormigonera de 80 litros de capacidad, donde se combinaron las proporciones adecuadas de los materiales utilizando baldes de 20 litros como medida dosificadora. Una vez lista, la mezcla se vertió directamente sobre las bandejas forestales, que estaban dispuestas sobre un nylon en el suelo frente a la mezcladora, facilitando su llenado. Una vez completadas al ras, las bandejas se trasladaron a las mesadas del invernadero (Fig. 17), donde se ubicaron en filas de a tres y se regaron suavemente para evitar el derrame de sustrato (Fig. 15). Este riego inicial se repitió varias veces para asegurarse de que el perfil del sustrato quedara completamente humedecido. Luego, se programó un sistema de riego por microaspersión para mantener el sustrato constantemente húmedo, evitando su deshidratación (Fig. 16).

Como el único insumo que se debió comprar para la mezcla de sustrato fue turba sphagnum, se realizó el siguiente cálculo. Cada bandeja forestal constaba con 28 celdas individuales, con una capacidad de 225 cm³ por celda.

$$28 \text{ celdas} \times 225 \text{ cm}^3 = 6.300 \text{ cm}^3 = 6,3 \text{ dm}^3$$

De este total, 1/3 debió ser turba:

$$6,3 \text{ dm}^3 / 3 = 2,1 \text{ dm}^3$$

Por lo tanto, se necesitaron 2,1 dm³ de turba por cada bandeja. Como se proyectó utilizar 102 bandejas, se calculó un total de 12 bolsas de 20 dm³ de turba. Estas bandejas, una vez acondicionadas, fueron colocadas en la cama caliente y se regaron nuevamente para mantener el sustrato hidratado hasta la colocación de las micro estaquillas.



Figura 17 invernadero donde se realizó el trabajo de propagación de *S. humboldtiana*



Figura 15 ubicación de las bandejas sobre la mesada previo inicio



Figura 16 Sistema de riego por aspersión

Procesamiento (acondicionamiento, preparación y siembra)

Con las bandejas forestales preparadas, el siguiente paso fue el acondicionamiento de las ramas. Esto incluyó eliminar las ramillas y hojas adheridas, así como cualquier parte de la rama que estuviera seca o dañada. Se seleccionaron únicamente las ramas que presentaron un diámetro basal de entre 8 y 12 mm, sin signos de enfermedades, hongos o anomalías morfológicas (Fig. 18).



Figura 18 planta con anomalías morfológicas en el crecimiento

Posteriormente, las ramas seleccionadas se cortaron en secciones de aproximadamente 7 cm de longitud, asegurándose de realizar el corte justo por debajo de un nudo. Cada sección debía contener entre 3 y 4 entrenudos, y se consideró el diámetro basal de entre 6 y 8 mm como el límite adecuado para aprovechar la rama.

Corte de micro estaquillas, limpieza y siembra

El proceso de limpieza y desinfección del material vegetal comenzó con un lavado inicial en agua, con unas gotas de detergente, para eliminar partículas de sedimentos adheridas a la



Figura 20 estaquillas en un enjuague para su acondicionamiento



Figura 21 estaquillas en suspensión enraizante antes de ser llevadas a bandeja forestal



Figura 19 mesada acondicionada para trabajar en la limpieza de ramulos

corteza de las estaquillas (Fig. 19). A continuación, se enjuagó en un segundo balde con agua limpia (Fig. 20). Después, se sumergió en una solución de hipoclorito de sodio con una concentración del 0,5% durante 15 minutos. Pasado este tiempo, las estaquillas se enjuagaron nuevamente en agua limpia para luego ponerlas en un frasco que contenía una suspensión de hormona enraizante en polvo de la marca comercial Japón Fértil (ácido



Figura 22 implantación de micro estaquillas en bandejas forestales

naftalen-acético 0,01 g en inerte 100 g) en solución de 2 g x 100 ml de agua (Fig. 21). En este paso, solo el tercio inferior de las estaquillas quedó cubierto por la suspensión, el tiempo que permanecían las estaquillas en esa suspensión era variable, pero no excedió los 10 minutos.

Finalmente, las micro estaquillas se llevaron a las bandejas forestales, donde se implantaron casi completamente en el sustrato, con una pequeña parte visible en la superficie (Fig.22).

Cuidados culturales

Sanidad:

Antes de iniciar el ensayo de propagación y crecimiento, se implementó un protocolo sanitario y de acondicionamiento del lugar de trabajo. Estas actividades incluyeron un control de malezas, eliminando todas las que crecían en la unión del zócalo del invernadero con el piso de cemento. Asimismo, se detectó la presencia de algas en el piso, por lo que se realizó una limpieza utilizando una solución de hipoclorito de sodio al 5%. El lavado se efectuó con cepillo en el piso y con un paño mojado en la solución aplicado al polietileno. Finalmente, toda el área fue enjuagada con chorro de agua corriente con manguera.

Para sanitizar las bandejas de siembra, se siguió un proceso de varias etapas. Primero, se lavaron con agua corriente y, posteriormente, se realizó otro lavado con agua y detergente. Después se enjuagó nuevamente con agua limpia, cada bandeja se sumergió individualmente en un balde de 20 litros con agua e hipoclorito de sodio al 5%, se cambió el agua con hipoclorito de sodio cada vez que se vio necesario. Finalmente, se daba un último enjuague y se dejaban secar al aire libre y sol antes de ser utilizadas.

Aplicaciones sanitarias:

No se realizaron aplicaciones sanitarias, aunque hubo en stock jabón potásico y un pulverizador para una posible aplicación genérica en caso de que fuera necesario.

Riego:

El riego principal se llevó a cabo mediante un sistema de línea de microaspersores suspendidos por sobre las mesadas, con bombeo automático que operaba desde las 10:00 hasta las 18:00 horas, con ciclos de riego de 10 minutos cada hora. Se complementó con riego manual, utilizando regaderas, ya que se identificaron áreas que no se regaban adecuadamente.

Control ambiental:

Para proteger las estaquillas del efecto negativo del sol directo, se implementó un sistema de sombreo. Esto se resolvió instalando mallas de media sombra en forma de toldos sobre las mesadas donde se ubicaban las bandejas forestales con las estaquillas, asegurando así un ambiente más controlado y favorable para su desarrollo.

La ventilación del invernadero era insuficiente, contando solo con una ventana pequeña lateral, que se mantuvo abierta en forma permanente en los días y noches de mayor temperatura, igualmente el termómetro instalado en el invernadero mostraba una amplitud térmica de entre 2°C a 42°C durante el día, siendo el pico máximo entre las 11 y 2 de la tarde.

Fertilización:

Una vez que los brotes producidos por las estaquillas alcanzaron entre 5 y 10 cm de altura, se aplicó una única dosis de fertilizante granulado (Nitrofoska azul). Se utilizó aproximadamente 1 gramo por celda, realizando una pequeña perforación en el sustrato para depositar el fertilizante y luego cubrirlo. La cantidad de fertilizante se determinó consultando la ficha técnica del producto, la cual recomendaba una dosis adecuada para plantas de menos de 40 cm de altura. Aunque la recomendación original indicaba "1 cucharadita" pequeña, para este ensayo se adaptó la dosis pesando 10 veces el contenido de una cucharita descartable de postre en una balanza de precisión, lo que permitió obtener un promedio para asegurar una aplicación adecuada al estadio de crecimiento de las plantas.

Poda y raleo:

Se realizó semanalmente, un raleo de amentos y poda de ramillas laterales dejando uno o dos ejes que competían por ser el eje principal de cada plántula (Fig. 23). Esta tarea tuvo como objetivo evitar un exceso de follaje que impidiera la circulación de aire entre las celdas de las bandejas, favoreciendo el desarrollo radicular y el crecimiento vegetativo de las estaquillas.

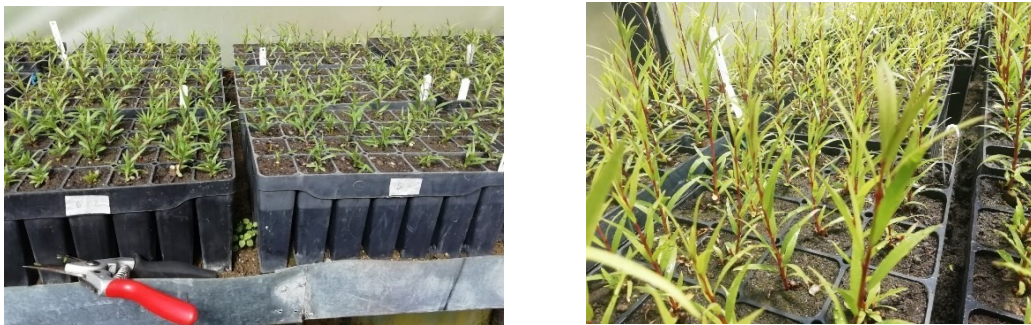


Figura 23 a la izquierda, momentos antes del primer trabajo de poda, a la derecha plantas formadas por el trabajo de poda regular

Rustificación:

En el mes de diciembre, se inició la fase de rustificación, llevando las plantas desde el invernadero hasta la cancha de cría, en ese momento las plantas presentaban una altura de



Figura 24 A la izquierda sistema radicular de una estaca utilizando el método anterior de propagación (gentileza Dr. Leonardo Gallo), a la derecha desarrollo radicular a los 20 días de implantadas las micro estaquillas.

entre 45 y 63 cm según el clon además de un sistema radicular muy desarrollado (Fig. 24, 25 y 26). Para esta etapa, se prepararon canteros de 1 metro de ancho por 20 metros de largo (Fig. 27), situados en una parcela protegida con alambrado perimetral, diseñado para evitar el ingreso de liebres y otros animales que pudieran dañar las plantas. La parcela contaba con un sistema de riego por aspersión que garantizaba una correcta hidratación de las plantas durante el proceso de adaptación al ambiente exterior.



Figura 25 Crecimiento radicular finalizada la etapa de crecimiento

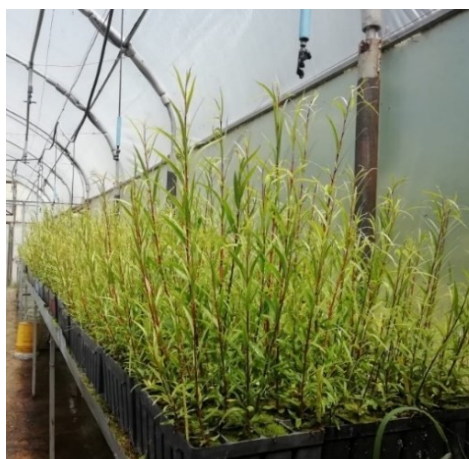


Figura 26 momento previo a una toma de datos de crecimiento en altura (h)

En cuanto a la disposición geográfica de la parcela, en su límite **este** se encuentra un cerco de pinos de gran porte que proporciona sombra parcial, mientras que en el **sur** está flanqueada por una parcela de álamos. Al **norte** y **oeste** se encontraban instalados invernaderos, que proporcionaban cierta protección adicional. Sin embargo, desde las 10:00 hasta las 18:00 horas, durante los meses de diciembre y enero, las plantas recibían exposición directa al sol, lo cual fue fundamental para fortalecerlas en esta etapa.



Figura 27 plantas instaladas en parcela de rustificación

La instalación de las plantas en los bancales fue realizada por personal de INTA, pero es importante destacar que se mantuvo la identificación individual de los clones durante todo el proceso, garantizando un seguimiento detallado de cada uno. Esta cuidadosa identificación no solo permitió un monitoreo adecuado, sino que también facilitó que otros estudiantes de grado pudieran utilizar esta plantación para realizar mediciones y obtener datos para sus trabajos de investigación.

Segunda etapa de la práctica laboral:

Instalación del ensayo de clones de diferentes procedencias

Dados los excelentes resultados obtenidos en la propagación por micro estaquillas de *Salix humboldtiana*, se propone una segunda etapa de la práctica laboral que consistió, en medir variables de Brotación y Crecimiento en clones de distintas procedencias.

Se utilizaron para ello nueve (9) clones cuyas procedencias eran de los ríos Negro, Chubut y Agrio, 3 clones de cada río. Las mediciones realizadas permitieron obtener datos sobre el crecimiento y el porcentaje de brotación de cada clon, proporcionando información para el análisis comparativo entre las distintas poblaciones.

El diseño experimental utilizado fue de bloques al azar, con tres repeticiones. La ubicación de los clones dentro de cada bloque se realizó en forma aleatoria (Fig. 28 y 29). Cada parcela (bandeja forestal), dispuso de 28 ramets de cada clon.

La ubicación de los clones dentro de la parcela de ensayo se dispuso de forma aleatoria para evitar sesgos en el análisis de resultados.

Figura 28 Esquema de ubicación de clones en las parcelas del ensayo

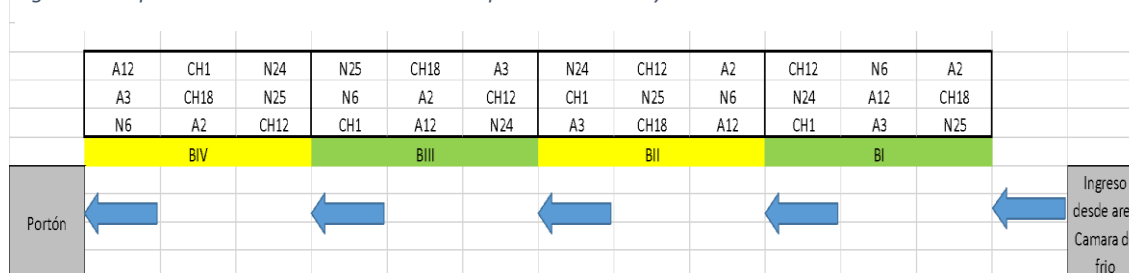


Figura 29 Perspectiva con la que se observaba y medía la brotación en los bloques del ensayo

El material vegetal utilizado para este ensayo se recolectó previamente del estaquero de la EEA INTA Bariloche (Fig. 31), en el cual las plantas ya estaban identificadas según su zona de procedencia. Para la selección de las plantas madre, se consideró el estado general de los individuos y su capacidad para proveer el material necesario (Fig. 30), asegurando la

obtención de suficientes estacas para cumplir con las repeticiones estipuladas en el diseño experimental.



Figura 31 Estaquero de Salix humboldtiana en la Estación Experimental INTA de Bariloche

Las mediciones de porcentaje de brotación, denominadas "b" se realizaron desde el 15 de octubre, durante 3 semanas en forma regular cada 7 días. (Se adjuntan planillas en anexo).

Las mediciones de crecimiento, denominadas "h", se realizaron desde el 3 de noviembre cada 7 días durante un período de 6 semanas, permitiendo un seguimiento detallado del desempeño de los clones en las distintas condiciones del ensayo.

Se adjunta en anexo III un ejemplo de planillas con el detalle de las mediciones en orden cronológico.

Para este trabajo de medición se siguió con un riguroso control del riego, para asegurar que fuera homogéneo. No se aplicaron soluciones fertilizantes, y el sustrato utilizado fue el mismo que para la actividad anterior de propagación de micro estaquillas del río Chubut. Es importante destacar que se realizaron tareas de poda de amentos y brotes, para dejar solo 1 o 2 ejes principales por cada estaquilla.

La jornada de medición, se iniciaba a primera hora, para poder terminar toda la actividad durante la jornada, realizando los registros correspondientes en un cuaderno de campo.

Una vez terminado el ensayo, las plantas logradas también fueron ubicadas en la parcela destinada a la rustificación y



Figura 30 Dr. Leonardo Gallo en el estaquero de Salix humboldtiana de a EEA INTA Bariloche, seleccionando los ejemplares para la recolección del material para la instalación del ensayo clonal



Figura 32 medición de una planta al azar al momento de retirarlas del invernadero para su instalación en la parcela de rustificación

quedaron en condiciones para ser utilizadas en trabajos de investigación posteriores, como así también la información obtenida en este ensayo (Fig. 33).

Conclusiones del trabajo realizado para la producción de clones de *Salix humboldtiana*

La práctica laboral realizada en la Estación Experimental Agropecuaria Bariloche del INTA, centrada en la producción de clones de *S. humboldtiana*, permitió avanzar en el proyecto de rescate de esta especie nativa y, al mismo tiempo, proporcionar una valiosa experiencia formativa en técnicas de propagación de árboles nativos. A continuación, se destacan las principales conclusiones obtenidas a lo largo del proceso:

1. Asistencia en las tareas del proyecto de rescate genético de *Salix humboldtiana*:

Se colaboró activamente en todas las fases del proyecto, desde la recolección de material en las márgenes del río Chubut hasta la propagación y monitoreo en vivero. El proceso de selección de plantas madre fue fundamental para garantizar la pureza genética de los clones producidos, minimizando la recolección de individuos híbridos entre *S. humboldtiana* y sauces exóticos invasores. Además, la implementación de técnicas mejoradas en el acondicionamiento del material vegetal y la preparación del sustrato optimizó la producción de clones, con mejoras notables en la sanidad y calidad de las plantas.

2. Integración en el sistema de producción: La participación en el sistema de producción de árboles nativos permitió adquirir conocimientos y generar un protocolo de propagación efectivo. Pudieron identificarse las fases clave de la propagación asexual mediante estaquillas; un método que demostró ser eficiente para *S. humboldtiana*.

A lo largo del ensayo, se implementaron medidas de control sanitario, sombreado y riego, lo que permitió mejorar la tasa de prendimiento y obtener un mayor porcentaje de éxito en el enraizamiento de las micro estaquillas.

3. Muestreo y recolección de datos: Se desarrollaron habilidades en la recolección de datos durante todo el proceso, comenzando con la identificación y descripción de ejemplares en campo y continuando con el seguimiento de las plantas durante su crecimiento en vivero y en cancha de cría. El monitoreo regular del crecimiento de las plantas, combinado con la correcta identificación y control de los clones, permitió recolectar datos valiosos que sirvieron para diferentes publicaciones científicas (ver citas bibliográficas) como así también, servirán para futuras investigaciones sobre la propagación de *S. humboldtiana*. El manejo adecuado del material genético y el seguimiento continuo de las condiciones de cultivo, proporcionaron resultados positivos en términos de calidad y tasa de supervivencia a campo de los clones producidos.

4. **Resultados y recomendaciones:** Si bien se lograron avances significativos en la producción de clones de *S. humboldtiana*, disminuyendo el tiempo de la etapa de producción en invernadero de 6 a 3 meses, el trabajo resaltó la necesidad de mejoras en la infraestructura del invernadero donde se realizó la práctica, ya que las mesas de trabajo eran muy incómodas por su altura necesitando en forma permanente utilizar un balde de 20 litros como escalón para poder realizar los trabajos en las bandejas y las mediciones, sistema de riego deficiente, ventilación muy escasa, espectro de sombra en parte del invernadero.
5. Se recomendó continuar con el monitoreo de la fase de rustificación y evaluar el comportamiento de las plantas en campo abierto, en estadíos más avanzados de crecimiento.

Conclusiones del trabajo realizado en el ensayo para medir brotación y crecimiento clones de *Salix humboldtiana*

1. La práctica laboral sobre el comportamiento de los clones de *S. humboldtiana* permitió obtener datos respecto al tiempo de brotación y de crecimiento, dependiendo de su área de procedencia. Sin embargo, es necesario continuar con las mediciones a campo para obtener información más contundente y confirmar si estas diferencias se mantienen en el tiempo.
2. El diseño experimental, organizado en bloques con repeticiones, permitió un análisis estadístico confiable, entre las diferentes poblaciones y entre clones de la misma población, eliminando posibles sesgos. A lo largo de las semanas de medición, se llevaron a cabo seguimientos rigurosos, lo que proporcionó una base de información para futuras investigaciones.
3. Es importante destacar que la participación en ensayos de este tipo es fundamental para la adquisición de habilidades técnicas, permitiendo familiarizarse con métodos de medición y toma de datos.

En resumen, la experiencia adquirida durante esta práctica laboral no solo permitió cumplir con la necesidad de encontrar una solución al problema de la calidad de plantas para el proyecto, sino que también aportó datos innovadores para el conocimiento sobre la propagación de una especie seriamente amenazada e importante en la restauración de ecosistemas ribereños en la Patagonia. A largo plazo, se espera que el conocimiento generado contribuya a fortalecer los esfuerzos de conservación de *S. humboldtiana* y mejorar su implementación en futuros programas de reforestación y restauración ecológica.

Sugerencias para optimizar la producción de clones de *Salix humboldtiana*

A partir de los resultados obtenidos durante el trabajo de propagación de *S. humboldtiana*, se han identificado algunas áreas en las que pueden realizarse ajustes y mejoras para maximizar el éxito del proyecto y asegurar la continuidad en la producción de clones. A continuación, se proponen las siguientes sugerencias:

1. **Ajustar los protocolos de nutrición:** Es necesario revisar y ajustar los protocolos de fertilización utilizados en las diferentes etapas del crecimiento de los clones. Se sugiere establecer un régimen más detallado y regular en cuanto a la aplicación de nutrientes, tanto en vivero como durante la fase de rustificación. Esto incluye una evaluación más precisa de las necesidades nutricionales de los clones, para asegurar un crecimiento uniforme y sano, y evitar el déficit o exceso de nutrientes que puedan afectar negativamente el crecimiento de la planta.
2. **Continuidad en la producción de clones con el material *in situ*:** Aprovechando el material genético que ya se encuentra disponible en el vivero y la cancha de cría, se recomienda dar continuidad a la producción de clones a gran escala. La infraestructura existente, así como la identificación previa de plantas madre de alta calidad, permite asegurar un flujo constante de material vegetal apto para la propagación, lo que favorecerá la sostenibilidad del proyecto en el largo plazo.
3. **Selección según las características de los clones:** Es esencial comenzar a realizar una selección sistemática de los clones producidos, teniendo en cuenta sus características principales y su posible uso final. Esta selección debe basarse en atributos morfológicos, como el porte y vigor de la planta, la resistencia a plagas y enfermedades, y las propiedades de crecimiento en diferentes condiciones ambientales. De acuerdo con los objetivos del proyecto, la selección de clones puede orientarse hacia diferentes fines:
 - **Uso forestal:** Clones que muestren crecimiento vigoroso, con una estructura adecuada para plantaciones de restauración o reforestación.
 - **Uso ornamental:** Clones con características estéticas destacadas, como follaje atractivo o porte particular, que puedan ser valorados en jardines, plazas o proyectos paisajísticos.
 - **Producción de beneficios no maderables:** Se sugiere explorar el potencial de los clones para la producción de recursos no maderables, como la producción de miel. La especie *S. humboldtiana* es conocida por su valor como planta melífera (Gallo et al. 2016), por lo que se podrían seleccionar clones que favorezcan la floración y atraigan polinizadores, contribuyendo al desarrollo de la apicultura en la región.

Bibliografía

- Smith, J. (2020). *Salix humboldtiana: Ecología y distribución*. Editorial Botánica Patagónica.
- García, A., Pérez, L., & Torres, M. (2021). *Restauración de ecosistemas ribereños en la Patagonia: El caso de Salix humboldtiana*. Revista de Conservación de Flora Nativa, 12(2), 45-67.
- Gallo, L. (2020). *Salix humboldtiana: A very ancient willow and the only native to Argentina*.
- Thomas, L. K., Tölle, L., Ziegenhagen, B., & Leyer, I. (2012). *Are vegetative reproduction capacities the cause of widespread invasion of Eurasian Salicaceae in Patagonian river landscapes?*
- Gallo, L. (2016). *Hacia el rescate genético del sauce criollo (Salix humboldtiana): Programa para su conservación y la restauración de ecosistemas ribereños patagónicos*. Revista Presencia, (66), 13-17.

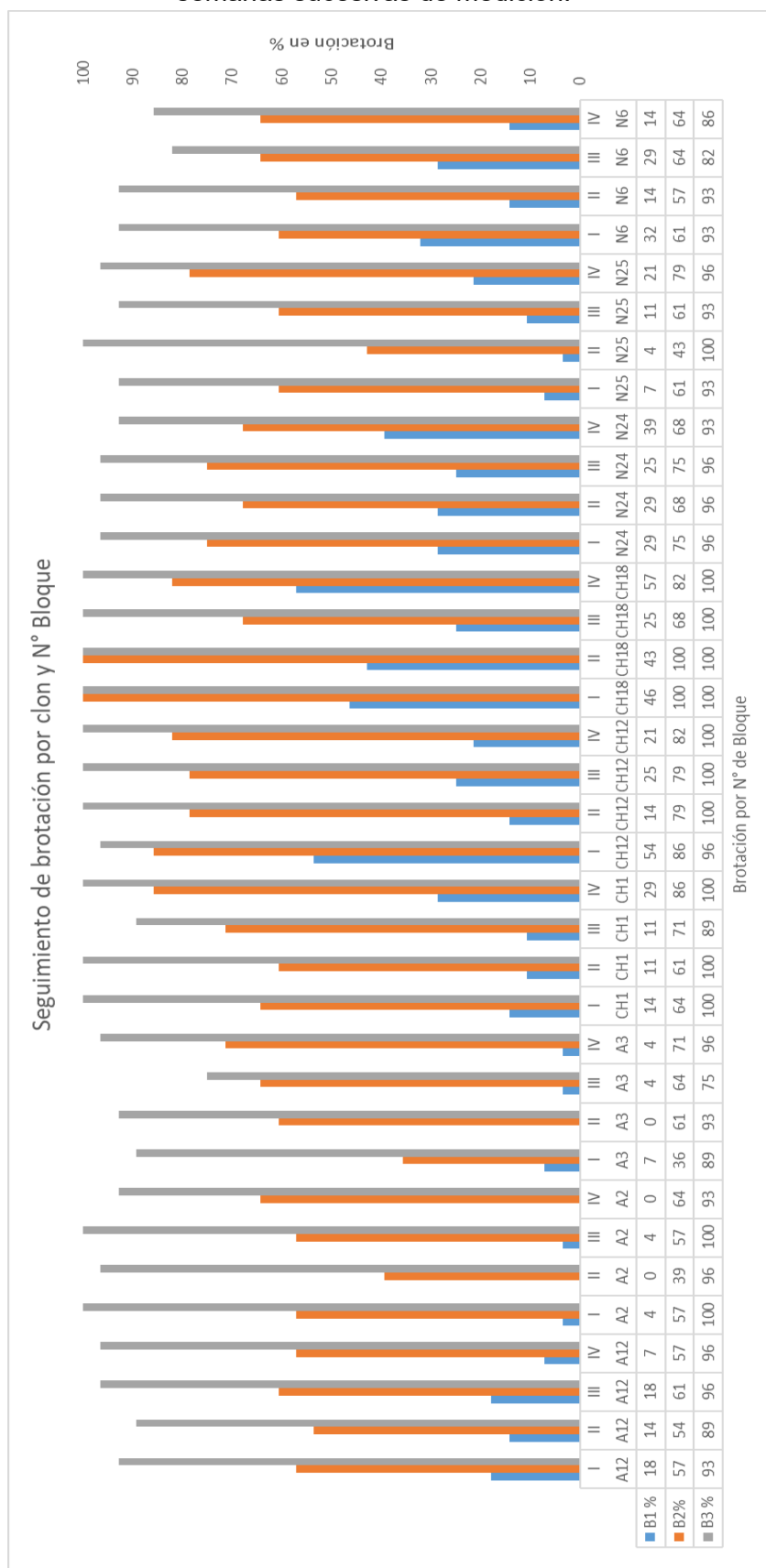
Anexo I

Ejemplo de planilla donde se volcaba la información obtenida de las mediciones semanales de brotación

Mediciones de brotación de ensayo clonal								
Fecha medición	15-oct	22-oct	27-oct	3-nov		Brotación en Porcentaje por Bloque		
Clon	bloque	B1 22/10	B2 27/10	B3 03/11		B1 %	B2%	B3 %
A12	I	5	16	26		18	57	93
A12	II	4	15	25		14	54	89
A12	III	5	17	27		18	61	96
A12	IV	2	16	27		7	57	96
A2	I	1	16	28		4	57	100
A2	II	0	11	27		0	39	96
A2	III	1	16	28		4	57	100
A2	IV	0	18	26		0	64	93
A3	I	2	10	25		7	36	89
A3	II	0	17	26		0	61	93
A3	III	1	18	21		4	64	75
A3	IV	1	20	27		4	71	96
CH1	I	4	18	28		14	64	100
CH1	II	3	17	28		11	61	100
CH1	III	3	20	25		11	71	89
CH1	IV	8	24	28		29	86	100
CH12	I	15	24	27		54	86	96
CH12	II	4	22	28		14	79	100
CH12	III	7	22	28		25	79	100
CH12	IV	6	23	28		21	82	100
CH18	I	13	28	28		46	100	100
CH18	II	12	28	28		43	100	100
CH18	III	7	19	28		25	68	100
CH18	IV	16	23	28		57	82	100
N24	I	8	21	27		29	75	96
N24	II	8	19	27		29	68	96
N24	III	7	21	27		25	75	96
N24	IV	11	19	26		39	68	93
N25	I	2	17	26		7	61	93
N25	II	1	12	28		4	43	100
N25	III	3	17	26		11	61	93
N25	IV	6	22	27		21	79	96
N6	I	9	17	26		32	61	93
N6	II	4	16	26		14	57	93
N6	III	8	18	23		29	64	82
N6	IV	4	18	24		14	64	86

Anexo II

Porcentaje de brotación por clon de *Salix humboldtiana* en los bloques I, II, III y IV, en tres semanas sucesivas de medición.



Anexo III

Ejemplo de planilla utilizada para registrar los datos de crecimiento de las plantas de una misma bandeja. Cada tabla corresponde a una fecha de medición.

			3-nov					
	Clon	bloque	h1 (cm)					
Fila	7	6	5	4	3	2	1	Promedio
4A	N25	I						
↑	3,5	2	4	5,5	3,5	4	4	2,63
→	2,5	2	4,5	4	2,5	2,5	2,5	
	2,5	2	2	3,5	2	3	2	
	4	0	0	1,5	2	0,2	2	
			10-nov					
	Clon	bloque	h2 (cm)					
Fila	7	6	5	4	3	2	1	Promedio
4A	N25	I						
↑	5	5	4,5	7,5	5,5	5	5,5	4,23
→	4	5	7	6	3	4	4	
	4	4,5	4	5	3	4	4	
	7,5	0	0	2,5	2,5	2	4,5	
			16-nov					
	Clon	bloque	h3 (cm)					
Fila	7	6	5	4	3	2	1	Promedio
4A	N25	I						
↑	10	0	1	5	4	4	7	7,30
→	6	9	7	10	6	7,5	8	
	8	8	12	9	6	7	6	
	8	8	8	12	10	8	10	
			24-nov					
	Clon	bloque	h4 (cm)					
Fila	7	6	5	4	3	2	1	Promedio
4A	N25	I						
↑	14	0	5,5	7,5	7	6	10	10,63
→	9,5	12	9	14	10	13,5	12	
	12	10	17	13	9	9,5	11	
	10	10	12	16	13,5	10	14,5	
			1-dic					
	Clon		h5 (cm)					
Fila	7	6	5	4	3	2	1	Promedio
4A	N25	BI						
↑	15	0	9	9	10	9	11,5	12,61
→	12	14,5	11,5	14	11,5	15	14	
	13,5	12,5	20	15	10	12	12	
	12,5	13	15,5	18	16	11	16	

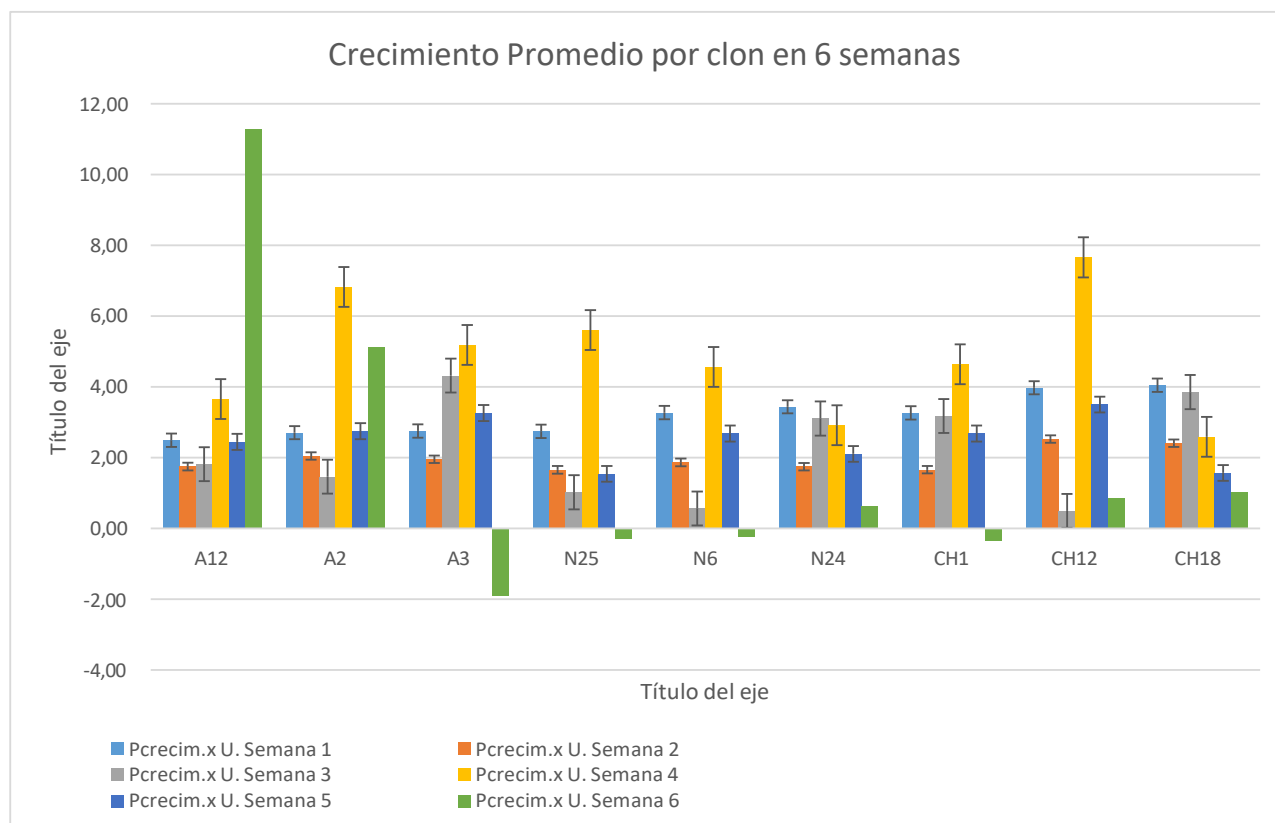
Anexo IV

Resultados obtenidos por clon, para Brotación y altura, ordenado de acuerdo a la fecha de medición.

	Rep	Clon	B1	B2	B3	B4	H1	H2	H3	H4	H5	S
H: cm	1	N25	7%	61%	93%	93%	2,63	4,23	7,30	10,63	12,61	4,65
	1	CH18	46%	100%	100%	100%	4,64	7,77	12,39	16,57	18,46	6,38
H1: 3 de nov	1	A2	4%	57%	100%	100%	2,73	4,57	8,46	13,70	17,04	5,96
H2: 10 de nov	1	A3	7%	36%	89%	96%	2,43	5,36	9,52	15,21	19,23	7,67
H3: 16 nov	1	A12	18%	57%	93%	96%	2,69	5,16	7,48	10,27	12,82	4,79
H4: 23 nov	1	N6	32%	61%	93%	93%	3,70	5,30	8,34	11,73	14,50	6,25
H5: 1 dic	1	CH1	14%	64%	100%	100%	3,09	4,73	7,70	12,45	15,05	5,46
	1	N24	29%	75%	96%	100%	4,00	5,88	9,91	14,43	17,78	6,38
S: desv.S	1	CH12	54%	86%	96%	96%	3,70	4,96	7,86	10,71	13,07	4,45
	2	A12	14%	54%	89%	93%	2,11	3,56	6,05	9,13	11,71	6,08
	2	N6	14%	57%	93%	96%	3,14	5,11	8,13	10,59	14,39	5,18
	2	A2	0%	39%	96%	96%	2,41	4,18	7,50	11,88	14,55	5,51
	2	CH18	43%	100%	100%	100%	4,69	7,55	12,55	17,29	18,96	7,09
	2	N25	4%	43%	100%	100%	2,89	4,89	8,29	13,88	14,39	5,58
	2	CH12	14%	79%	100%	100%	3,27	5,69	9,21	12,33	16,15	6,00
	2	A3	0%	61%	93%	96%	2,48	4,56	8,11	12,86	16,30	6,66
	2	CH1	11%	61%	100%	100%	3,98	6,25	10,59	16,38	19,16	6,64
	2	N24	29%	68%	96%	100%	3,61	5,57	8,86	13,20	15,54	5,66
	3	N24	25%	75%	96%	96%	2,66	4,20	6,54	10,05	11,96	5,19
	3	CH12	25%	79%	100%	100%	4,41	7,23	11,95	18,04	21,02	7,39
	3	A3	4%	64%	82%	93%	2,88	5,22	9,34	14,77	17,84	7,16
	3	A12	18%	61%	75%	82%	2,39	3,61	6,03	9,23	11,82	6,16
	3	A2	4%	57%	96%	96%	3,14	5,46	9,23	13,84	16,23	6,21
	3	CH18	25%	68%	100%	100%	3,29	5,36	8,41	11,77	13,75	5,56
	3	CH1	11%	71%	100%	100%	2,84	4,27	7,39	12,23	15,40	5,70
	3	N6	29%	64%	89%	93%	3,75	5,79	8,80	12,93	15,48	6,40
	3	N25	11%	61%	93%	100%	3,04	5,02	7,86	11,23	13,02	7,52
	4	CH12	21%	82%	100%	100%	3,64	6,84	11,84	17,54	20,68	7,79
	4	N25	21%	79%	96%	96%	2,41	3,89	5,71	8,38	10,25	3,44
	4	N24	39%	68%	93%	89%	3,48	5,07	7,84	11,46	14,05	5,99
	4	A2	0%	64%	93%	96%	2,54	4,79	8,16	12,75	15,34	6,24
	4	CH18	57%	82%	100%	100%	3,57	5,13	7,86	10,84	12,52	4,12
	4	CH1	29%	86%	100%	96%	3,14	4,43	6,70	9,88	12,04	7,52
	4	N6	14%	64%	86%	96%	2,50	4,35	7,11	10,82	12,82	5,80
	4	A3	4%	71%	96%	93%	3,23	5,34	9,14	14,02	16,52	6,71
	4	A12	7%	57%	96%	93%	2,77	4,63	7,11	10,21	12,27	4,89

Anexo V

Gráfico utilizado para observar el crecimiento por clon durante el tiempo de medición



Anexo VI

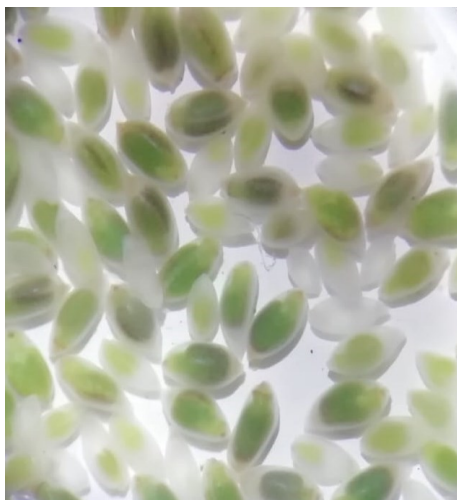


Figura 33 Semillas limpias de *S. humboldtiana* previo a la realización de un test de viabilidad



Figura 34 plántula de *S. humboldtiana* cumplidos 48 hs. de test de viabilidad en bandeja húmeda con sustrato papel, observación en lupa binocular.



Figura 36 plántula de *S. humboldtiana* 72hs de test de viabilidad



Figura 35 plántula de *S. humboldtiana* 5 días de iniciado el test de viabilidad



Figura 38 Semilla sucia de *S. humboldtiana* previo a test de germinación



Figura 37 Semilla de *S. humboldtiana* durante test de germinación con tricomas y humedecida con agua finalizando el test de 5 días