

Efecto del ácido indolbutírico sobre el enraizamiento de estacas juveniles de verano de *Nothofagus nervosa* y *Nothofagus pumilio* (Nothofagaceae)

Ariel Rolón, Carlos Mari, Hernán Mattes Fernández*, Alejandro Dezzotti, Diana Orlov

Sede San Martín de los Andes. Universidad Nacional del Comahue. Pasaje de la Paz 235. Q8370AQA San Martín de los Andes. Argentina. *hernanmattes@yahoo.com.ar

Rolón, A.; C. Mari, H. Mattes Fernández, A. Dezzotti y D. Orlov (2012) Efecto del ácido indolbutírico sobre el enraizamiento de estacas juveniles de verano de *Nothofagus nervosa* y *Nothofagus pumilio* (Nothofagaceae). Rev. Fac. Agron. Vol 111 (2): 91-98.

Los ecosistemas forestales representan refugio para la biodiversidad terrestre, componentes centrales de los ciclos biogeoquímicos globales y fuente de bienes y servicios esenciales para el bienestar humano. La aforestación basada en árboles producidos mediante la propagación asexual contribuye a la conservación de estos ecosistemas y de las especies frágiles. En este trabajo se evalúa el efecto del ácido indolbutírico (AIB) sobre el enraizamiento de estacas juveniles de verano de *Nothofagus nervosa* ((Phil.) Dim. et Mil., raulí) y *Nothofagus pumilio* ((Poepp. & Endl.) Krasser, lenga) (Nothofagaceae). En *N. nervosa* los tratamientos consistieron en la aplicación de 5.000, 10.000 y 15.000 ppm de AIB y en *N. pumilio* en la aplicación de 5.000 ppm de AIB y 0, 24, 48 y 72 h de lavado con agua. Las estacas de *N. nervosa* tratadas con 5.000 ppm de AIB exhibieron los valores significativamente mayores de enraizamiento (52 %) y longitud de raíz (6 cm). El mayor nivel de enraizamiento de las estacas de *N. pumilio* se produjo con 48 y 72 h de lavado (24 y 25 % respectivamente), mientras que la cantidad de raíces por estaca y la longitud de la raíz no varió en forma significativa entre tratamientos. La propagación agámica basada en auxinas y lavado, es una técnica biotecnológica relativamente sencilla que mejoró la rizogénesis de estacas de árboles nativos aptos para la restauración y conservación de ecosistemas forestales de la Patagonia andina de la Argentina.

Palabras clave: raulí, lenga, AIB, lavado de inhibidores, Bosques Subantárticos

Rolón, A.; C. Mari, H. Mattes Fernández, A. Dezzotti y D. Orlov (2012) Effect of indole butyric acid on rooting of juvenile summer cuttings of *Nothofagus nervosa* and *Nothofagus pumilio* (Nothofagaceae). Rev. Fac. Agron. Vol 111 (2): 91-98.

Forest ecosystems represent refuges for terrestrial biodiversity, core components of global biogeochemical cycles and sources of goods and services essential for human welfare. Afforestation based on trees produced by asexual propagation contributes to the conservation of these ecosystems and its fragile species. This paper evaluates the effect of the indole butyric acid (IBA) on rooting of juvenile summer cuttings of *Nothofagus nervosa* ((Phil.) Dim. et Mil., raulí) and *Nothofagus pumilio* ((Poepp. & Endl.) Krasser, lenga) (Nothofagaceae). In *N. nervosa*, treatments consisted in the utilization of 5,000, 10,000 and 15,000 ppm of IBA, whereas in *N. pumilio* of 5,000 ppm of IBA with 0, 24, 48 and 72 h of water washing. In *N. nervosa*, the amount of rooted cuttings and root length was the largest and mortality was the smallest with 5,000 ppm of IBA. In *N. pumilio*, the largest amount of rooted cuttings occurred with 48 and 72 h of water washing, while the number of roots per cutting and root length did not differ among treatments. Tree propagation based on auxines and water washing, is a relatively simple biotechnology that improved rhizogenesis of native tree species suitable for conservation and restoration of Patagonian forests from Argentina.

Key words: raulí, lenga, IBA, water washing, Subantarctic forests

Recibido: 26/03/2012

Aceptado: 26/10/2012

Disponible on line: 15/01/2013

ISSN 0041-8676 - ISSN (on line) 1669-9513, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, UNLP, Argentina

INTRODUCCIÓN

Los bosques naturales proveen bienes y servicios irremplazables para la humanidad y hábitat para más de la mitad de las especies conocidas de plantas y animales (Hassan et al., 2005). Sin embargo, anualmente alrededor de 60.000 km² de estos ecosistemas se degradan o desaparecen, debido principalmente a la conversión en tierras agrícolas, ganaderas y urbanas (Williams, 2006). En los últimos tres siglos, la superficie forestal mundial se redujo 40 %, de la cual tres cuartas partes se perdieron durante los últimos 200 años. Esta transformación constituye la principal causa de pérdida de biodiversidad y de emisión de gases de efecto invernadero (Hassan et al., 2005; Stern, 2007). La conservación y restauración de los ecosistemas forestales demanda la intervención de estrategias múltiples, entre las que se encuentran la aforestación y reforestación basada en árboles producidos por semilla. Sin embargo, esta intervención puede ser inviable debido a problemas biológicos que impactan sobre aspectos del mercado.

La producción de semillas de las especies de *Nothofagus* (Nothofagaceae) sudamericanas es un fenómeno discontinuo e irregular en el tiempo y espacio (Murúa & González, 1985; Donoso et al., 1993). La semillas recién caídas exhiben una viabilidad relativamente baja, inclusive en comparación con la de otras especies autóctonas, y están frecuentemente vanas o predadas, aunque en menor proporción en los periodos de mayor producción (Bustamante, 1996; Gutiérrez, 2000; Ipinza & Espejo, 2000). Este escenario promovió el desarrollo de técnicas físico-químicas para mejorar la capacidad germinativa intrínseca de estos propágulos (Calderón-Valtierra et al., 1995). La producción de plantas basada en técnicas biotecnológicas es una opción eficiente que permite la propagación masiva y la conservación de genotipos ecológica y biogeográficamente valiosos. La propagación asexual de estacas mediante la aplicación de hormonas de enraizamiento es relativamente sencilla, económica y de alto rendimiento, que puede integrarse con el cultivo *in vitro* en un sistema de propagación clonal (Slater et al., 2008).

La aplicación de la auxina ácido indolbutírico (AIB) aumenta la capacidad de enraizamiento de estacas de *Nothofagus* spp. recolectadas en primavera y verano (Silva, 1968; von Becker & Dautzenberg, 1978; Mebus, 1993; Santelices, 1993; Santelices & García, 2003; Santelices & Cabello, 2006). Sin embargo, las estacas de *Nothofagus pumilio* ((Poepp. et Endl.) Krasser) (lenga) tienden a ser más reticentes a formar raíces adventicias en comparación con las de *Nothofagus nervosa* ((Phil.) Dim. et Mil.) (raulí) (= *Nothofagus alpina* (Poepp. & Endl.) Oerst.) (Latsague & Lara, 2003). Romero (2000) y Castro (2001) no lograron el enraizamiento de estacas de verano e invierno de *N. pumilio* provenientes de juveniles y adultos con la aplicación de 500 a 4.000 ppm de AIB. Latsague & Lara (2003) y Latsague & Sáez (2006) lo atribuyeron al efecto de la concentración proporcionalmente alta de la enzima ácido indolacético oxidasa (AIA-oxidasa) y de compuestos fenólicos. Los objetivos del presente trabajo fueron evaluar el enraizamiento de estacas foliosas de primavera provenientes de árboles juveniles,

a partir de la aplicación, por un lado, de 5.000, 10.000 y 15.000 ppm de AIB (en *N. nervosa*), y por otro lado, de 5.000 ppm de AIB y 0, 24, 48 y 72 h de lavado con agua (en *N. pumilio*).

MATERIALES Y MÉTODOS

Condiciones generales del ensayo

Material vegetal. Las estacas se obtuvieron de ramas basales (en *N. nervosa*) o de la parte distal de ramas anuales (en *N. pumilio*) provenientes de árboles juveniles sanos y vigorosos de no más de 5 años localizados en bosques maduros. La edad de los renovales se estimó mediante el conteo de las cicatrices dejadas por las escamas de la yema anual (Puntieri et al., 1998).

Colección y preparación del material vegetal. El material se colectó a principios de diciembre entre las 7 y las 10, momento en el cual la temperatura del aire fue baja y la humedad relativa alta. Las estacas se transportaron hidratadas y refrigeradas al laboratorio donde se les aplicó el fungicida Benomyl (1,2 g/l) y se conservaron en un ambiente fresco y húmedo hasta el comienzo del ensayo. Las estacas tenían entre 1,7 y 1,9 mm de diámetro, se dimensionaron a 150 mm de longitud y fueron defoliadas hasta dejar 4 ó 5 hojas, considerando que en las especies evaluadas y en otras pertenecientes a las Fagáceas se sugirió dejar la mitad o un tercio de las hojas de la rama (Hogrebe, 1973; Schachler et al., 1991; Santelices, 2007).

Instalación del ensayo y tratamientos. Los ensayos se realizaron en camas de enraizamiento de 4 m², colocadas en un invernáculo con control automático de la temperatura entre 24 y 25 °C, a través de la apertura de las ventanas laterales, y con riego por microaspersión. El sustrato fue arena semigruesa con pH 6,8, la cual fue esterilizada con agua a 90 °C que circuló continuamente durante 24 h a través de un conducto dispuesto en forma homogénea en la base interior de la cama de enraizamiento. Posteriormente, al sustrato se le aplicó el fungicida Captan (1,8 g/l). Las estacas fueron tratadas con Ácido 3-Indolbutírico proanálisis al 99 % (AIB). Las concentraciones de 5.000, 10.000 y 15.000 ppm se lograron con la adición de 1, 2 y 3 g de AIB, respectivamente, a 140 ml de alcohol etílico al 96 %, e inmediatamente esta solución se mezcló en forma homogénea con 200 g de talco inerte que sirvió de formulación testigo (Mitchell & Livingston, 1973). Los preparados se conservaron en oscuridad en una estufa a una temperatura de entre 22 y 24 °C durante 24 h, para evitar la degradación de la auxina y permitir la evaporación del alcohol.

Las estacas se cortaron en la base a bisel, se les aplicó AIB en polvo sumergiéndolas previamente en agua corriente alrededor de 2 cm y luego impregnando en forma homogénea la superficie mojada con el formulado correspondiente. Las estacas fueron inmediatamente colocadas en el sustrato a 5 cm de profundidad de acuerdo a recomendaciones previas (Santelices, 1993; Santelices & Cabello, 2006). Cada unidad experimental contó con 21 estacas colocadas en forma aleatoria en las camas de enraizamiento y el ensayo duró 60 días. En *N. nervosa*, cada 30 días se registró la cantidad de estacas vivas y enraizadas, la

cantidad de callos y raíces y la longitud de la raíces. En *N. pumilio*, a los 30 días se evaluó la mortalidad y a los 60 días la cantidad de estacas vivas y enraizadas y la longitud de la raíces.

Condiciones específicas del ensayo

Las estacas de *N. nervosa* se colectaron el 3 y 15 de diciembre de 2008 en las estaciones Yuco Alto (40° 09' S y 71° 29' O, 950 m) y Pucará (40° 11' S y 71° 39' O, 700 m). Este material se reunió en una sola muestra por lo que no se tomaron en cuenta las diferentes procedencias. El efecto del AIB sobre el enraizamiento se analizó a través de un diseño experimental en bloques completamente aleatorizados y de efecto fijo. Los tratamientos fueron 0 ppm (0 %), 5.000 ppm (0,5 %), 10.000 ppm (1 %) y 15.000 ppm de AIB (1,5 %), y se utilizaron 21 estacas por unidad experimental y tres repeticiones por tratamiento. Las estacas de *N. pumilio* se colectaron el 1 de diciembre de 2009 en la estación Miralejos (40° 10' S y 71° 17' O, 1.250 m). La base de las estacas se colocó en un recipiente perforado al cual se le hizo circular agua corriente en forma continua durante 0 (testigo), 24, 48 y 72 h, y se les aplicó 0 ppm (testigo) y 5.000 ppm de AIB y el diseño experimental fue factorial completamente aleatorizado y de efecto fijo. En todos los casos, los tratamientos se evaluaron estadísticamente a través de los programas INFOSAT (Universidad Nacional de Córdoba) y STATISTICA (Statsoft, Inc.).

RESULTADOS

La cantidad de estacas de *N. nervosa* que desarrollaron callos varió entre 0 % (15.000 ppm AIB) y 30 % (5.000 ppm AIB). El 20 % de las estacas testigo formaron callos de escaso volumen en la zona de corte. La cantidad de estacas que formaron raíces varió entre 12 % (15.000 ppm AIB) y 52 % (5.000 ppm AIB), la cantidad de estacas que produjo más de 10 raíces por estaca varió entre 7 % (0 ppm AIB) y 82 % (10.000 ppm AIB) y la mortalidad varió entre 8 % (0 ppm AIB) y 77 % (15.000 ppm AIB) (Tabla 1). La longitud media de las raíces varió entre 2,5 cm (15.000 ppm AIB) y 6,0 cm (5.000 ppm AIB). El tratamiento con una concentración de 5.000 ppm de AIB produjo significativamente una mayor cantidad de estacas enraizadas y una mayor longitud de las raíces en comparación con lo observado tanto a menores como a mayores concentraciones de AIB (prueba de Tukey, $P < 0,05$, $n = 3$). La mortalidad a esta concentración fue del 20 %, que representó el menor valor en comparación con los observados a mayores concentraciones de AIB (prueba de Tukey, $P < 0,05$), y la proporción de estacas con más y menos de 10 raíces fue similar en todos los tratamientos (ANOVA, $P \geq 0,05$, $n = 3$). Aunque el tratamiento con 10.000 ppm de AIB produjo un porcentaje menor de estacas enraizadas (25 %) en comparación con el obtenido con 5.000 ppm, el porcentaje de estacas con más de 10 raíces fue alto (82 %). No se observó correlación entre la formación de callos y la inducción de raíces (coeficiente de correlación de Pearson, $P < 0,05$) (Figuras 1, 2 y 3).

Tabla 1: Estacas enraizadas de *N. nervosa* en el tratamiento testigo (T0) y tratadas con 5.000 ppm AIB (T1), 10.000 ppm AIB (T2) y 15.000 ppm AIB (T3). Unidad experimental = 21 estacas. Letras diferentes indican diferencias significativas de medias entre tratamientos (prueba de Tukey, $P < 0,05$, $n = 3$).

Trat	Repeticiones/ trat	Estacas enraizadas (%)	Error estándar
T0	3	22 ^a	4,2
T1	3	52 ^b	2,7
T2	3	25 ^a	3,2
T3	3	12 ^a	3,2

La sobrevivencia media de las estacas de *N. pumilio* a los 30 días de iniciado el ensayo fue 73 %. El proceso de mortalidad involucró el progresivo marchitamiento y la clorosis de las hojas. Al finalizar el ensayo, la sobrevivencia de las estacas tratadas con auxina fue 17 % y la del testigo 0 %. La cantidad de estacas enraizadas fue significativamente mayor con 48 (24 % de estacas enraizadas) y 72 h de lavado (25 % estacas enraizadas) en comparación con la cantidad de estacas enraizadas con 0 y 24 h de lavado (10 % de estacas enraizadas) (prueba de Tukey, $P < 0,05$, $n = 3$) (Tabla 2). La cantidad de raíces por estaca varió entre 8 (48 h de lavado) y 13 (testigo), aunque esas diferencias no fueron estadísticamente significativas (ANOVA, $P \geq 0,05$, $n = 3$). La longitud promedio de las raíces varió entre 1,95 cm (24 h de lavado) y 4,04 cm (48 h de lavado), aunque esas diferencias no fueron estadísticamente significativas (ANOVA, $P \geq 0,05$, $n = 3$) (Figuras 4, 5 y 6).

Tabla 2: Cantidad de estacas enraizadas de *N. pumilio* tratadas con 5.000 ppm de AIB (T0) y 24 h de lavado (T1), 48 h de lavado (T2) y 72 h de lavado (T3). Unidad experimental = 21 estacas. Letras diferentes indican diferencias significativas de medias entre tratamientos (prueba de Tukey, $P < 0,05$, $n = 3$).

Trat	repeticiones/ trat	Cantidad de estacas enraizadas	Error estándar
T0	3	6 ^a	1,0
T1	3	6 ^a	0,6
T2	3	15 ^b	1,2
T3	3	16 ^b	0,7

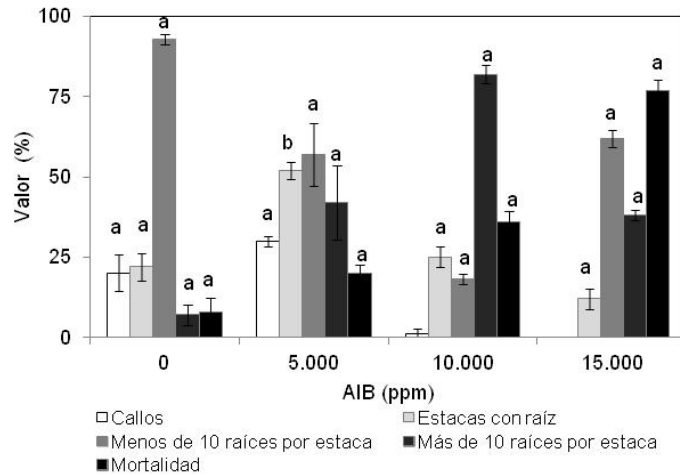


Figura 1: Producción de raíces y callos (al finalizar el ensayo) y mortalidad (a los 30 días de iniciado el ensayo) de estacas de *N. nervosa* en función de la concentración de AIB. Las líneas verticales indican el error estándar de la media. Letras diferentes indican diferencias significativas de medias entre tratamientos (prueba de Tukey, $P < 0,05$, $n = 3$).

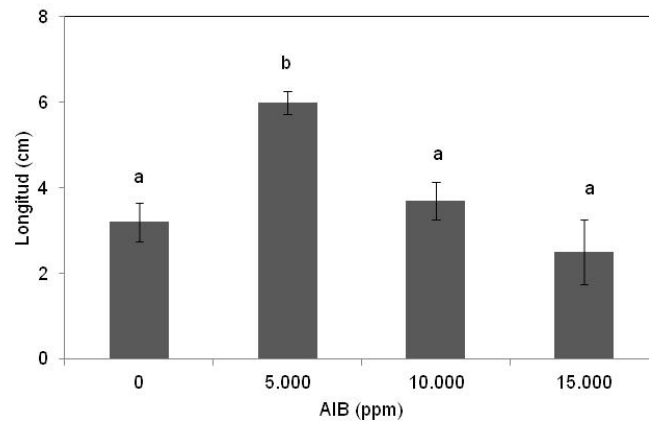


Figura 2: Longitud media de la raíz de estacas de *N. nervosa* en función de la concentración de AIB al finalizar el ensayo. Las líneas verticales indican el error estándar de la media. Letras diferentes indican diferencias significativas de medias entre tratamientos (prueba de Tukey, $P < 0,05$, $n = 3$).



Figura 3: Estacas enraizadas de *N. nervosa* tratadas con 5.000 ppm de AIB.

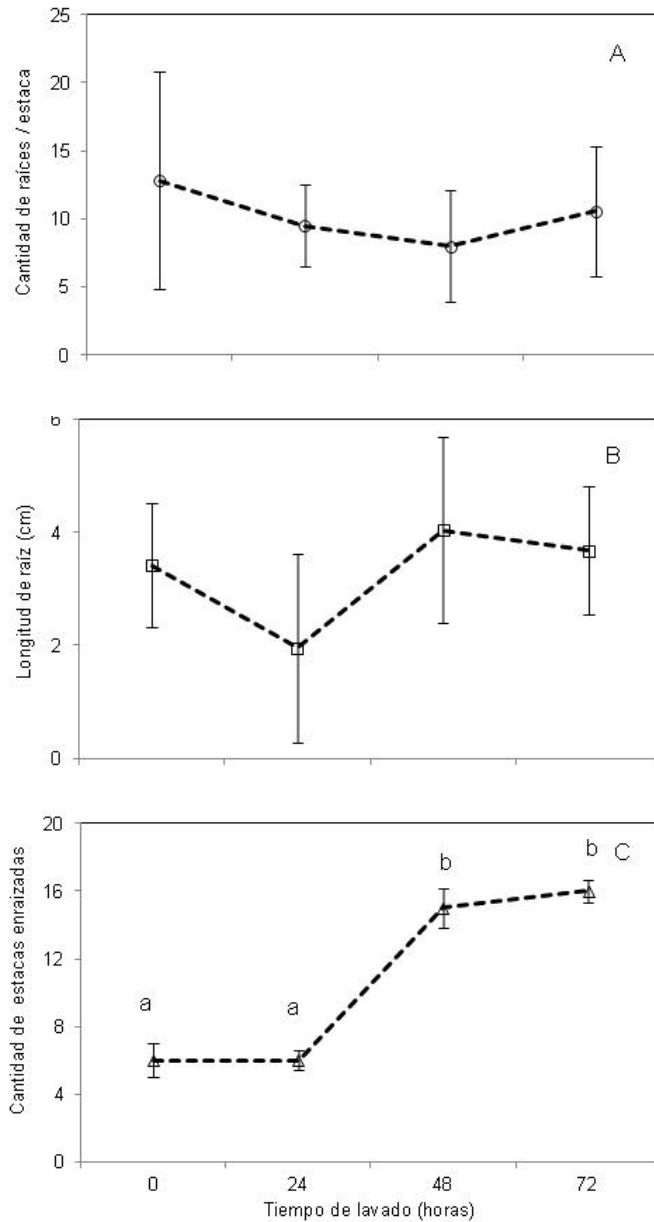


Figura 4: Cantidad de raíces por estaca (A), longitud de raíz (B) y cantidad de estacas enraizadas (C) en *N. pumilio* tratado con 5.000 ppm de AIB en función del tiempo de lavado. Las barras verticales indican el error estándar de la media. En (A) y (B) no existen diferencias significativas entre medias (Prueba de Tukey, $P \geq 0,05$, $n = 3$). Letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas de medias entre tratamientos (Prueba de Tukey, $P < 0,05$; $n = 3$).

DISCUSIÓN

El AIB promovió el enraizamiento de estacas foliosas de *N. nervosa* provenientes de juveniles de hasta 5 años obtenidas a fines de la primavera. La mayor cantidad de estacas enraizadas y la mayor longitud media de la raíz se obtuvieron con la aplicación de 5.000 ppm de AIB. Con este nivel de auxina, la cantidad de estacas que produjeron raíces fue 2,1 y 4,3 veces mayor a la obtenida respectivamente con 10.000 ppm y 15.000 ppm de AIB. El tratamiento con 10.000 ppm de AIB promovió el mayor porcentaje de estacas con más de 10 raíces (82 %). Santelices (1993) obtuvo un 40 %

de estacas enraizadas y una cantidad promedio de 10 raíces por estaca utilizando estacas de invierno de árboles de 2 años y 15.000 ppm de AIB. En este trabajo, la longitud de las raíces obtenida con 5.000 ppm de AIB fue entre 1,6 (10.000 ppm AIB) y 2,4 (15.000 ppm AIB) veces mayor que el resto de los tratamientos. La mortalidad de las estacas con esta concentración de auxina fue 1,8 veces menor que con 10.000 ppm de AIB y 3,9 veces menor que con 15.000 ppm de AIB, aunque en comparación con el tratamiento testigo la mortalidad fue 1,9 veces mayor. El aumento de la mortalidad se atribuye al efecto fitotóxico del AIB a altas concentraciones (Slater *et al.*, 2008).

En general, en diferentes especies de *Nothofagus* el mejor nivel de rizogénesis se produjo con la aplicación de hormonas en estacas cosechadas a fines de la primavera. Silva (1968) logró enraizar en muy baja proporción estacas de *N. nervosa* cosechadas a principios de noviembre y tratadas con 1.000 ppm de AIB. Von Becker & Dautzenberg (1978) lograron que estacas de *N. nervosa* recolectadas en diciembre y tratadas con 1.000 ppm de ácido indolacético (AIA) alcanzaran el mayor nivel de enraizamiento (8 %). Mebus (1993) consiguió el mayor porcentaje de enraizamiento en estacas de *Nothofagus glauca* ((Phil.) Krasser) (hualo) cosechadas en noviembre utilizando 4.000 ppm de AIB. Santelices & García (2003) lograron el mayor nivel de enraizamiento de estacas de primavera provenientes de rebrotes de tocón de *Nothofagus alessandrii* (Espinosa) (ruil) con 7.500 ppm de AIB y de *N. glauca* con 15.000 ppm de AIB. Sin embargo, Santelices (1993) alcanzó el mayor nivel de enraizamiento de *N. nervosa* experimentando con estacas juveniles de invierno y con la inmersión rápida en 15.000 ppm de AIB. Spethmann (1982) indicó que la época óptima de la cosecha de estacas en *Fagus*

sylvatica (L.) (haya europea), *Quercus robur* (L.) (roble) y *Quercus petraea* ((Matt.) Liebl.) (roble albar) (Fagaceae) es a finales de la primavera.

En *N. pumilio*, la cantidad de raíces por estaca y la longitud media de las raíces no difirió significativamente entre tratamientos. Sin embargo, la aplicación de 5.000 ppm de AIB y el lavado indujo la mayor formación de raíces adventicias en estacas juveniles, que estaría asociada a la combinación del efecto rizogénico de la auxina y de la eliminación de los inhibidores fenólicos solubles. Los tratamientos de 48 y 72 h de lavado con agua corriente produjeron 2,5 veces más estacas enraizadas que con el tratamiento testigo y con el de 24 h de lavado. Los valores significativamente más bajos de enraizamiento en los tratamientos asociados a los menores tiempos de lavado (0 y 24 h) son atribuidos, por un lado, a la mayor actividad de la AIA-oxidasa en *N. pumilio* que en *N. nervosa* y *Nothofagus obliqua* ((Mirb.) Oersted.) (roble pellín), y por otro lado, a la presencia de compuestos fenólicos inhibidores de la rizogénesis (Latsague & Lara, 2003; Latsague & Sáez, 2006).

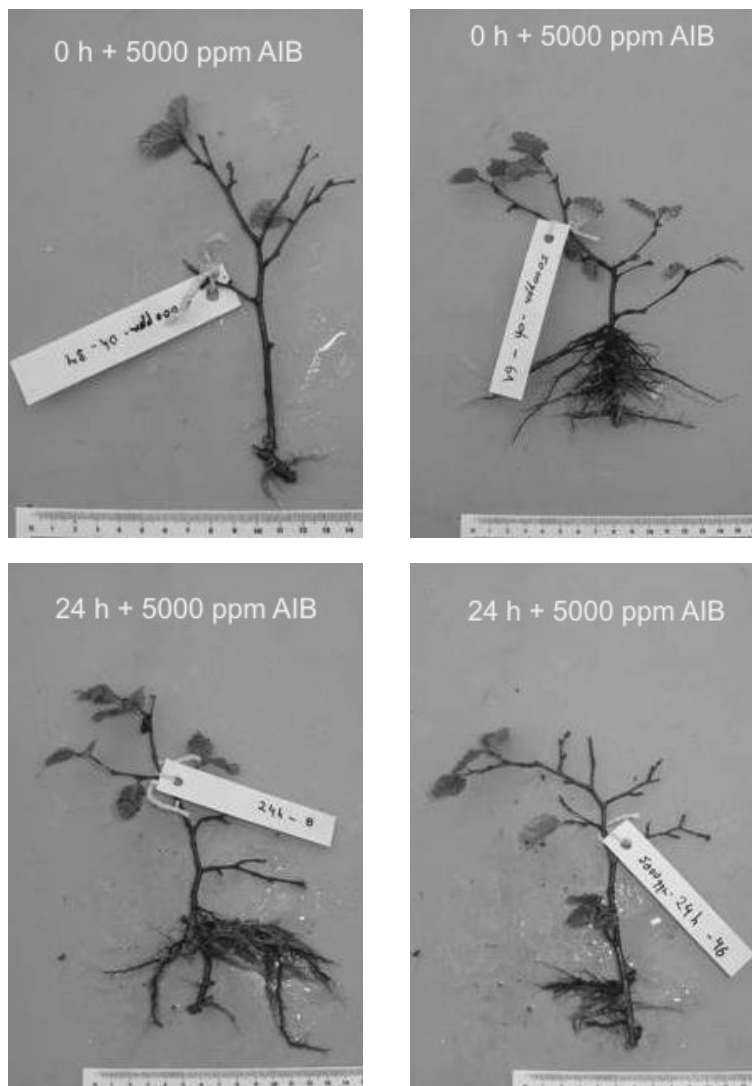


Figura 5: Estacas enraizadas de *N. pumilio* tratadas con 5.000 ppm de AIB y 0 y 24 h de lavado con agua.

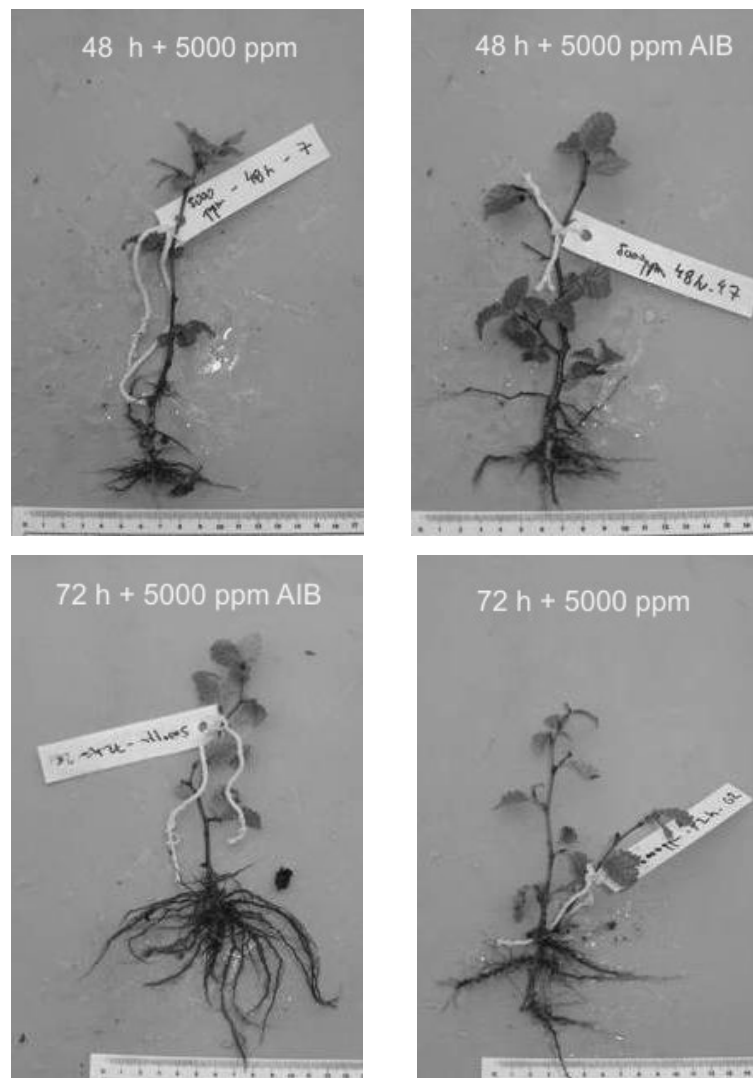


Figura 6: Estacas enraizadas de tratadas con 5.000 ppm de AIB y 48 y 72 h de lavado con agua.

CONCLUSIONES

El AIB aumentó la cantidad y longitud de raíces en las estacas foliosas de juveniles de *N. nervosa*. En *N. pumilio*, el lavado continuo de las estacas de primavera con agua corriente promovió el enraizamiento aún en aquellas no tratadas con AIB. La combinación de 48 y 72 h de lavado previo y la aplicación de 5.000 ppm de AIB se asoció a un mayor porcentaje de enraizamiento. Estos resultados constituyen el primer antecedente de enraizamiento de estacas en *N. pumilio*, una especie muy reticente a la formación de raíces adventicias. Futuras investigaciones deberían analizar si las condiciones meteorológicas que ocurren durante la recolección de material (e.g., temperatura y humedad relativa del aire), la presencia de sustancias inhibitoras de la rizogénesis (e.g., AIA-oxidasa y compuestos fenólicos), la cantidad de hojas en la estaca y la variabilidad genotípica de los árboles dadores afectan el enraizamiento de *N. nervosa* y *N. pumilio*, como sí afectan a otras especies arbóreas (Kobert, 1980; Ahuja,

1983; Paul & Feucht, 1985; Santelices & Cabello, 2006; Baltunis *et al.*, 2007; Mankessi *et al.*, 2009). La propagación vegetativa de *N. nervosa* y *N. pumilio*, a través de estacas cosechadas en primavera, es una técnica relativamente sencilla que permite la obtención de propágulos aptos para la restauración y conservación de ecosistemas sometidos a presiones antropogénicas que vulneran su calidad y extensión.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a R. Sbrancia, G. Soto, A. Mortoro y A. Guzmán por la asistencia durante las diferentes etapas del proyecto, y a las autoridades del Parque Nacional Lanín y a los propietarios de la estancia Miralejos por permitirnos coleccionar material. La Universidad Nacional del Comahue y la Fundación YPF financiaron este proyecto.

BIBLIOGRAFÍA

- Ahuja M.** 1983. Genetic control of regenerative potential in somatic tissues of aspen (*Populus*). XV International Congress of Genetics. New Dehli. pp. 397.
- Baltunis B., D. Huber, T. White, B. Goldfarb & H. Stelzer.** 2007. Genetic gain from selection for rooting ability and early growth in vegetatively propagated clones of loblolly pine. *Tree Genetics & Genomes* 3: 227-238.
- Bustamante R.** 1996. Depredación de semillas en bosques templados de Chile. En: *Ecología de los bosques nativos de Chile*. Armesto J.J., C. Villagrán & M. Kalin Arroyo, Eds. Editorial Universitaria. Santiago. pp. 265-278.
- Calderón-Valtierra X., A. Vega & C Salazar.** 1995. Un nuevo método para la germinación de *Nothofagus alpina* (Poepp. et Endl.), raulí. *Ciencia e Investigación Forestal* 9(1): 117-121.
- Castro E.** 2001. Propagación vegetativa de lenga (*Nothofagus pumilio* (Poepp. et Endl.) Krasser) mediante enraizamiento de estacas de verano. Tesis Ingeniería Forestal. Universidad Católica. Temuco. 46 pp.
- Donoso C., M. Hernández & C. Navarro.** 1993. Valores de producción de semillas y hojarasca de diferentes especies del tipo forestal siempreverde de la Cordillera de la Costa de Valdivia obtenidos durante un período de 10 años. *Bosque* 14(2): 65-84.
- Gutiérrez B.** 2000. Áreas productoras de semillas en el mejoramiento genético de *Nothofagus*. En: Ipinza R, B. Gutiérrez & V. Emhart, Eds. Universidad Austral de Chile. pp. 215-235.
- Hassan R., R. Scholes & N. Ash.** 2005. Ecosystems and human well-being: current state and trends. Millennium Ecosystem Assessment Series vol. 1. Island Press. Washington. 948 pp.
- Hogrebe H.** 1973. *Nothofagus* - Anbauten im Burgholz bei Wupertal. *Jahrbuch der Deutschen Dendrologischen Gesellschaft* 66: 99-105.
- Ipinza R. & J. Espejo.** 2000. Biología reproductiva en *Nothofagus*. En: Domesticación y mejora genética de raulí y roble. En: Ipinza R, B. Gutiérrez & V. Emhart, Eds. Universidad Austral de Chile. pp. 75-93.
- Kobert H.** 1980. Vegetative Vermehrung von Waldbäumen durch Triebstecklinge. *Der Gartenbau* 7: 312-317.
- Latsague M. & J. Lara.** 2003. Fenoles solubles totales y su relación con la inhibición de la rizogénesis en estacas de *Nothofagus pumilio* (Poepp. et Endl.) Krasser. *Gayana Botánica* 60(2): 90-93.
- Latsague M. & P. Sáez.** 2006. Fraccionamiento y recuperación de proteínas solubles libres de fenoles en estacas de lenga (*Nothofagus pumilio*). *Bosque* 27(3): 263-266.
- Mankessi F., A. Saya, C. Baptiste, S. Nourissier & O. Monteuis.** 2009. *In vitro* rooting of genetically related *Eucalyptus urophylla* x *Eucalyptus grandis* clones in relation to the time spent in culture. *Trees - Structure and Function* 23: 931-940.
- Mebus I.** 1993. Enraizamiento en estacas de *Nothofagus spp.* de la zona mesomórfica de Chile amenazadas de extinción. Tesis Licenciatura en Agronomía, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Austral de Chile. Valdivia. 68 pp.
- Mitchell J. & G. Livingston.** 1973. Métodos para el estudio de hormonas vegetales y sustancias reguladoras de crecimiento. Editorial Trillas. México. 117 pp.
- Murúa R. & L. González.** 1985. Producción de semillas de especies arbóreas en la pluviselva valdiviana. *Bosque* 6(1): 15-23.
- Paul L. & W. Feucht.** 1985. Bewurzelung von Edelsorten und Klonen von Süß- und Sauerkirschen *in vitro*. *Mitteilung Klosterneuburg* 35: 69-74.
- Puntieri J., D. Barthélémy, P. Martínez, E. Raffaele & C. Brión.** 1998. Annual-shoot growth and branching patterns in *Nothofagus dombeyi* (Fagaceae). *Canadian Journal of Botany* 76: 673-685.
- Romero M.** 2000. Propagación vegetativa en lenga (*Nothofagus pumilio* (Poepp. et Endl.) Krasser) mediante enraizamiento de estacas. Tesis Ingeniería Forestal. Universidad Católica. 54 pp.
- Santelices R. & A. Cabello.** 2006. Efecto del ácido indolbutírico, del tipo de cama de arraigamiento, del sustrato, y del árbol madre en la capacidad de arraigamiento de estacas de *Nothofagus glauca* (Phil.) Krasser. *Revista Chilena de Historia Natural* 79: 55-64.
- Santelices R. & C. García.** 2003. Efecto del ácido indolbutírico y la ubicación de la estaca en el rebrote de tocón sobre la rizogénesis de *Nothofagus alessandrii* Espinosa. *Bosque* 24: 53-61.
- Santelices R.** 1993. Propagación vegetativa de raulí, roble y coigüe a partir de estacas. *Ciencia e Investigación Forestal* 7: 37-48.
- Santelices R.** 2007. Efecto del ácido indolbutírico (AIB) y de la presencia de hojas en el arraigamiento de estacas de *Nothofagus glauca* (Phil.) Krasser cosechadas en dos épocas diferentes. *Ecología Austral* 17: 151-158.
- Schachler G., N. Kohlstock, J. Matschke & E. Eberhardt.** 1991. Autovegetative Vermehrung von Buche. *Beitr. Forstwirtschaft* 2: 55-58.
- Silva J.** 1968. Arraigamiento de estacas de raulí (*Nothofagus alpina* (Poepp. et Endl.) Oersted). Tesis Ingeniería Forestal, Universidad de Chile. Santiago. 22 pp.
- Slater A., N. Scott & M. Fowler.** 2008. Plant biotechnology: the genetic manipulation of plants. Oxford University Press. Oxford. 376 pp.
- Spethmann W.** 1982. Stecklingsvermehrung von Laubbaumarten. I. Versuche mit Ahorn, Esche, Eiche, Buche, Kirsche, Linde, Birke. *Allgemeine Forst-und Jagdzeitung* 153: 13-24.
- Stern N.** 2007. El informe Stern: la verdad del cambio climático. Ediciones Paidós. Barcelona. 389 pp.
- von Becker A. & H. Dautzenberg.** 1978. Zur Stecklingsvermehrung bei *Nothofagus procera* (Poepp. et Endl.) Oerst. *Silvae Genetica* 27(5): 178-183.
- Williams M.** 2006. Deforesting the Earth: from prehistory to global crisis. University of Chicago Press. Chicago. 561 pp.