

Universidad Nacional del Comahue Centro Regional Universitario Bariloche

# Berries nativos patagónicos: Conocimiento tradicional y perfil antioxidante



Trabajo de Tesis para optar al Título de Doctora en Biología

Farmacéutica Melina Fernanda Chamorro

Directora: Dra. Ana Ladio

Codirector: Dr. Guillermo Schmeda

Hirschmann

Año:2020

A Agustina y Marcos que llenan mis días de amor y admiración.

A mi mamá Ángela mi gran pilar, ejemplo de superación y valentía.

A Antonio Bergant quien fuera una gran persona, un abuelo amoroso y un gran colaborador de esta tesis.

# ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS3
RESUMEN4
ABSTRACT <b>7</b>
INTRODUCCION GENERAL
OBJETIVOS GENERALES
CAPÍTULO I: Estudio macroetnobotánico de los berries de la Patagonia argentina <b>20</b>
CAPÍTULO II: Conocimiento ecológico local de especies de berries y sus alimentos locales er una comunidad rural de la Patagonia argentina65
CAPÍTILO III: Composición de polifenoles y bio-actividad de especies de berries nativos de la Patagonia argentina99
CAPÍTULO IV: Prácticas de manejo sobre especies con frutos comestibles en una comunidad rural del NO de la Patagonia
CAPÍTULO V: Taller de validación e intercambio de saberes con la Comunidad de Cuyín Manzano
CONCLUSIONES GENERALES Y PERSPECTIVAS 199
BIBLIOGRAFÍA
ANEXO 1
APTÍCULO DE RESDALDO

## **AGRADECIMIENTOS**

- A **Marcos** mi compañero de vida que me animó a seguir este camino, cuidó de nuestra hija y fue muy importante para el desarrollo de esta tesis.
- A Antonio, quien fue fundamental en el trabajo de campo. Gracias por su dedicación, por las largas charlas manejando hacía Cuyín Manzano (muchas veces en su propio auto), por los almuerzos a orillas del río, por disfrutar conmigo de los paisajes de estas tierras. A mi suegra Alenka que fue un gran sostén en Bariloche y me dio lo mejor de ella. A ambos por haber iluminado nuestros días y seguir acompañándonos.
- A **mis nonos** que ya no están, pero cuyo esfuerzo fue muy importante para mi formación universitaria.
- A mis amigos y compañeros de Ecotono, por el sostén y a muchos de ellos por la ayuda desinteresada: Coli, Flor, Maricel, Carla Massini, Ramiro, Nico Cecchetto, Lucía, Adriana Rovere, Chichi, Vilma y muchos más. También a mis compañeras del grupo de Etnobiología con quienes a lo largo de este tiempo compartí y aprendí mucho: Especialmente a Melisa, Antonela, Simone, Carla, Soledad y Betina.
- A la **comunidad de Cuyín Manzano** por permitirme llevar a cabo este trabajo.
- Al equipo de dirección de esta tesis. A la Dra. Ana Ladio por compartir sus conocimientos, asistencia continua y enriquecedoras discusiones de las diferentes ideas que conforman esta tesis. Al Dr. Guillermo Schmeda Hirshmann por abrirme las puertas de su laboratorio de Productos Naturales de la Universidad de Talca. Al Dr. Felipe Jiménez Aspeé por su enorme ayuda y enseñanzas. A la Dra. Cristina Theoduloz, el Dr. Alberto Burgos y a todo el equipo por su generosidad.
- A quienes contribuyeron en mi formación de trabajo de laboratorio, inmensamente agradecida a la Dra. Gabriela Reiner, y también a la Dra. Carolina Quintero y la Lic. Mariana Langenheim por su profesionalismo, generosidad y entusiasmo. A los ayudantes de campo y colaboradores: Noel Serra, Claudio Ziperovich, Marianela Vigna, Marcela Navas y Luciana Amassari.
- A mis amigas y amigos de Bariloche, de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UBA; a mis amigas y a mi amigo Carlitos Zarza de mi querida Bella Vista por la escucha, el aliento y por ser parte de este andar.
- A mi papá, hermanos, sobrinos, la familia de Bariloche y de Buenos Aires por su cariño.
- A maestros y pofesores de la Escuela Normal de Bella Vista, de la UBA (Vanina Netti y Patricia Arza) y a mi mamá que me inspiraron para seguir en ciencia.
- Al CONICET por confiarme esta beca en temas estratégicos. Al CIEFAP y a quien coordinó el proyecto estratégico de PFNM Los berries nativos patagónicos en el desarrollo local de la provincia de Río Negro: Prácticas de manejo y multiplicación en integración con estudios etnobotánicos, socioeconómicos y del perfil antioxidante, Ing. Cristina Résico, al Ministerio de Ciencia y Técnica de la Nación PICT 1073 y al CONICET PIP 0466 Y 0723 por apoyar económicamente esta investigación.
- A la **Argentina** y la **Universidad del Comahue**, con el deseo de que la información aquí provista sea utilizada para el desarrollo local, regional, en futuras investigaciones y para la conservación biocultural.

### RESUMEN

Los berries, entendidos como pequeños frutos carnosos comestibles, son un tópico de particular interés en el campo de los alimentos funcionales. Se sabe que son ricos en compuestos polifenólicos que podrían ser los responsables de ejercer efectos benéficos para la salud, como por ejemplo la prevención de enfermedades cardiovasculares. Las especies más populares ya fueron domesticadas hace tiempo y representan una fuente de desarrollo económico-social para distintas comunidades locales alrededor del mundo. En la Patagonia argentino chilena existen numerosas especies de berries nativos, silvestres o semi-domesticados que, sin embargo, han sido escasamente investigadas.

El estudio de los berries patagónicos desde la aproximación etnobiológica y etnofarmacológica permite visibilizar y poner en valor parte del patrimonio biocultural de la región. Mediante la documentación y exploración del conocimiento ecológico local (CEL), es posible evidenciar no sólo la diversidad de especies útiles, sino también sus formas de uso y prácticas asociadas. En este sentido, adquiere gran importancia el estudio de los alimentos locales y medicinas en las que se emplean estas especies, ya que conjugan no sólo la biodiversidad propia del lugar sino también un cúmulo de conocimientos de claro origen cultural.

Los objetivos generales de esta tesis fueron:

- 1) Caracterizar y analizar patrones macroetnobotánicos de conocimiento y uso en materia alimenticia y funcional para los berries patagónicos de Argentina, tanto nativos como exóticos.
- 2) Describir el CEL sobre los berries patagónicos en una comunidad rural actual e indagar el rol que desempeñan las plantas nativas y exóticas, así como también detallar el conocimiento sobre alimentos locales que contengan berries y explorar la interfaz alimentomedicina en la población.
- 3) Caracterizar el perfil de compuestos fenólicos y la bio-actividad de especies de berries nativos de gran importancia cultural en la Patagonia.
- 4) Conocer las prácticas de manejo que se realizan en torno a las especies de berries en una comunidad actual de la Patagonia y evidenciar la existencia de patrones diferenciales según el origen biogeográfico de las plantas.

En el **Capítulo I** se exploran los patrones macroetnobotánicos de uso de berries nativos y exóticos comestibles para la Patagonia argentina mediante una revisión bibliográfica cualicuantitativa. Tras la aplicación de criterios de inclusión, el análisis se basó en 41 publicaciones, cuya información fue sistematizada en 357 citaciones de utilización. Se calculó la riqueza y se usaron índices de consenso etnobotánicos como el CU (consenso de uso, referido al uso comestible), el CUF (consenso de uso funcional, es decir uso dual, comestible y medicinal) y el UV de las especies para usos medicinales (índice de versatilidad utilitaria, representativo del número acumulado de usos que puede tener una planta). Además, se describen alimentos locales (como la asociación única de una especie recolectada o cultivada localmente y una forma de uso específica), dolencias en las que se usan los berries, medicinas (tanto preparaciones, como los frutos sin procesar empleados para tratar una dolencia). A nivel de los patrones de uso, se encontró que las especies nativas poseen el mayor CU y la mayor riqueza citada, tanto como comestible como funcional. Un total de 72 especies de berries (56 nativas y 16 exóticas) fueron registradas.

Entre las especies de mayor CU se destacan: *Berberis microphylla*, *Ribes magellanicum*, *Fragaria chiloensis*, *Ephedra ochreata*, *Aristotelia chilensis*, *Gaultheria mucronata* y *Berberis darwinii*. La riqueza de berries fue utilizada en 160 alimentos locales, entre los que el 45% representa al consumo de los frutos frescos. Las especies con mayor UV encontradas son: *Aristotelia chilensis*, *Berberis microphylla y Luma apiculata*. Las distintas partes de las plantas de berries dan lugar a 52 medicinas, principalmente infusiones. Estos resultados describen patrones de conocimiento y uso a nivel macroetnobotánico, con una marcada prevalencia de especies nativas en ambos. Además, conforma una valiosísima información para futuros análisis de propiedades emergentes.

En el Capítulo II se estudia el CEL y los patrones de conocimiento y uso de berries. Se llevó a cabo un trabajo de campo de índole etnobotánico, en la localidad de Cuyín Manzano (Neuguén), que incluyó la solicitud del consentimiento previo informado a los habitantes, el uso de enlistados libres, observación participante, entrevistas semiestructuradas y en profundidad durante 2 años junto al 90% de la población. Los datos fueron analizados con los mismos índices etnobotánicos que en el Capítulo I. En este caso de estudio, donde se pueden ver patrones a una micro escala, tanto la riqueza citada como la importancia cultural de las especies nativas es igual al de las exóticas. En dicha localidad se conocen y usan 20 especies de berries (10 nativas, 10 exóticas), que conforman 44 alimentos locales, 13 con berries nativos y 31 con berries exóticos. Con los berries exóticos también se elaboran numerosos dulces que contribuyen a la preservación de los alimentos. Las especies de mayor CU son: Berberis microphylla, Fragaria chiloensis, Aristotelia chilensis, Rosa rubiginosa y Prunus cerasus. En integración con el Capítulo I, se logró describir los distintos niveles en que la interfaz alimento-medicina se expresa en esta comunidad. Dos infusiones (de las especies exóticas Sambucus nigra y Rosa rubiginosa), fueron interpretadas como alimentos funcionales locales, ya que en base a los testimonios en la misma administración se buscarían objetivos alimenticios y de prevención o tratamiento de enfermedades. Estos resultados muestran el carácter flexible del CEL con una gran importancia de las especies exóticas, así como también el rol significativo que estas especies estarían teniendo en las vidas de los pobladores de las comunidades rurales patagónicas. Este estudio de caso permite evidenciar la existencia de un valioso patrimonio biocultural que está vigente en cada uno de los alimentos y medicinas locales.

El **Capítulo III** consta de la identificación de compuestos polifenólicos y de la determinación de la capacidad antioxidante y de inhibición de enzimas implicadas en síndrome metabólico de tres berries de gran importancia cultural para la Patagonia. Se colectaron frutos de *Berberis microphylla, Berberis darwinii* y *Fragaria chiloensis chiloensis* ssp. *chiloensis f. patagónica* de poblaciones del Parque Nacional Nahuel Huapi y alrededores. Para las determinaciones cuali-cuantitativas de polifenoles se empleó cromatografía líquida acoplada a arreglo de diodos y espectrometría de masa. También, se evaluó la actividad antioxidante in vitro y la inhibición de las enzimas α-glucosidasa, α-amilasa y lipasa de los extractos de los frutos. El perfil de polifenoles más complejo se encontró en las muestras de *Berberis*, con 10 antocianinas, 27 ácidos hidroxicinámicos, 3 proantocianidinas, 2 flavan-3-ol y 22 flavonoles. La frutilla nativa presenta 4 antocianinas, 9 elagitaninos, dos dímeros de proantocianidinas, un flavan-3-ol y cinco flavonoles. Las muestras de *Berberis* mostraron

la mejor capacidad antioxidante, mientras que *Fragaria* mostró una mayor actividad para inhibir la α-glucosidasa y la lipasa. Esta información amplía el conocimiento para el género *Berberis*. Por un lado, es la primera vez que se propone una identidad de las proantocianidinas en las especies de *Berberis*, así como también es el primer aporte a la descripción de la composición y contenido de antocianinas y ácidos hidroxicinámicos de *Berberis darwinii*.

En el Capítulo IV se estudian las prácticas de manejo que se están llevando a cabo con la biodiversidad actual de berries y otros frutos carnosos en la comunidad de Cuyín Manzano. Para ello, mediante el uso de la metodología etnobotánica, se pudo caracterizar el abanico de prácticas de manejo asociado a cada una de las especies tomando como marco conceptual el modelo de los autores Casas et al. (1996, 1997). La información fue analizada mediante el uso del número de prácticas de manejo (NPM), la riqueza, el CU, la intensidad de manejo (IM) y el análisis de discurso principalmente. Se encontró que las principales prácticas de manejo son la recolección, tolerancia, protección, el cuidado de plantas heredadas, la siembra y el trasplante. Además, el patrón de prácticas de manejo es distinto según sea el origen biogeográfico de la especie. Para las especies nativas la recolección de sus frutos es la práctica principal. Mientras que las especies exóticas son mayoritariamente trasplantadas, protegidas y también se recolectan sus frutos en igual proporción. Pero también se registró el cuidado de árboles exóticos que han sido heredados, de padres y abuelos, que son elementos significativos material- y emotivamente para los pobladores. La riqueza total involucra a 27 especies (28 etnoespecies), 10 nativas y 17 exóticas, y el CU fue semejante entre nativas y exóticas. En cambio, el NPM es mayor para las especies exóticas, así como también para aquellas especies de mayor importancia cultural. Además, se encontró que las especies introducidas son más intensamente manejadas. Las especies nativas que parecen estar sujetas a procesos de domesticación incipiente son Berberis microphylla y Fragaria chiloensis. Este análisis contribuye a describir procesos actuales del manejo de la flora nativa y exótica dando cuenta del rol de las acciones humanas en la construcción de paisajes y en la procura de alimentos frutales. El manejo de frutos comestibles en comunidades rurales involucraría numerosas situaciones de contacto con la naturaleza que podrían impactar positivamente en la conservación.

En el **Capítulo V**, se detalla una experiencia de taller participativo junto con los pobladores de Cuyín Manzano que actuó como forma de validación de todos los resultados encontrados.

En su conjunto, este trabajo pone de manifiesto la magnitud del CEL y la importancia de estudiar las prácticas de manejo locales asociadas a los berries patagónicos y sus múltiples implicancias. Actualmente los frutos de origen exótico cumplen un rol fundamental en la diversificación de la dieta y son parte sustancial de la vida de los pobladores. Esta información constituye una oportunidad para el desarrollo local; las distintas especies y sus alimentos locales poseen gran potencialidad como alimentos funcionales. Por otro lado, el cultivo de berries nativos patagónicos puede constituir una alternativa socio-económica regional que reemplace o complemente la explotación ganadera. Además, las prácticas de manejo detectadas con plantas nativas y exóticas muestran la importancia de incluir la

dimensión humana en proyectos de conservación de la biodiversidad, bajo una perspectiva que cobra cada vez más relevancia mundial: "la conservación biocultural". Finalmente, el aporte del estudio de los componentes del patrimonio local, como son los berries patagónicos, da cuenta de la necesidad de valorar la herencia biocultural de los pueblos originarios que sigue viva hasta el día de hoy.

## **ABSTRACT**

Berries, defined as little fleshy edible fruits, are currently a topic of particular interest within the field of functional foods. They are known to be rich in polyphenolic compounds which could have beneficial effects on health, such as the prevention of heart disease. The most popular species have long since been domesticated and represent a source of economic-social development for different communities around the world. Many species of native, wild and semi-domesticated berries grow in Argentine-Chilean Patagonia. However, little research has been carried out on them.

Studying Patagonian berries from an ethnobiological and ethnopharmacological perspective highlights their value as part of the region's biocultural heritage. By means of exploration and documentation of local ecological knowledge (LEK), not only can the diversity of useful species be appreciated, but also the associated practices and methods of use. In this way, the study of local foods and medicines that use these species takes on great importance, since it involves both the biodiversity of the region and the accumulation of knowledge which is clearly cultural in origin.

The general objectives of this thesis were:

- 1) To characterize and analyze macroethnobotanical patterns of knowledge and use of native and exotic Argentine Patagonian berries in terms of food and functionality.
- 2) To describe LEK of Patagonian berries in a rural community and investigate the role currently played by native and exotic plants. Furthermore, to record in detail the knowledge of local foods that contain berries and explore the food-medicine interface in the population.
- 3) To characterize the phenolic compound profile of native Patagonian berries and the bioactivity of species of great cultural importance.
- 4) To identify management practices currently carried out with regard to berry species in a Patagonian community, showing the presence of differential patterns according to the biogeographical origin of the plants.

In **Chapter I,** the macroethnobotanical use patterns of edible native and exotic berries in Argentine Patagonia are explored by means of a quali-quantitative bibliographical review. Following application of the criteria used, the analysis was based on 41 publications, from which information was systematized as 357 cites of uses. Species richness was calculated, and ethnobotanical consensus indices were used, such as CU (consensus of use, referring to food uses), CFU (consensus of functional use; that is, dual use – food and medicine) and VU of the species used medicinally (index of versatility of use, indicating the number of uses a plant may have). In addition, local foods were described (such as the unique association of a species collected or cultivated locally with a specific use), ailments for which berries are used, medicines (both preparations and unprocessed fruits used to treat an ailment) and

plant drugs (whether fruits or other plant parts). With regard to use patterns, it was found that native species had higher CU and higher richness cited, both for food and functional use, than exotic species. A total of 72 berry species (56 native and 16 exotic) were registered. Among the species with high CU values the following stand out: *Berberis microphylla*, *Ribes magellanicum*, *Fragaria chiloensis*, *Ephedra ochreata*, *Aristotelia chilensis*, *Gaultheria mucronata* and *Berberis darwinii*. Berries were used in 160 local foods, of which 45% involved consumption of fresh fruit. The species with the highest VU values were: *Aristotelia chilensis*, *Berberis microphylla and Luma apiculata*. The different parts of the berry plants gave rise to 52 medicines, principally infusions. These results describe patterns of knowledge and use on a macroethnobotanical level, with marked prevalence of native species in both cases. Moreover, they constitute invaluable information for future analysis of emergent properties.

In Chapter II LEK is studied, and the patterns of knowledge and use of berries. Ethnobotanical fieldwork was carried out in the village of Cuyín Manzano (Neuquén). Previous informed consent was obtained from the inhabitants, and the work consisted of free listing, participant observation, and semi-structured and in-depth interviews. Over a period of 2 years, 90% of the population was interviewed. The data were analyzed with the ethnobotanical indices detailed in Chapter I. In this case study, where patterns can be seen on a micro scale, both richness of species cited and cultural importance were similar for native and exotic plants. In this locality, inhabitants knew and used 20 species of berries (10 native, 10 exotic) which formed part of 44 local foods, 13 with native berries and 31 with exotic species. Numerous jams were made from the exotic berries, which contributes to preservation of the foods. The species with highest CU values were: Berberis microphylla, Fragaria chiloensis, Aristotelia chilensis, Rosa rubiginosa and Prunus cerasus. Integrating this information with Chapter I, it was possible to describe the different levels of expression of the food-medicine interface in this community. Two infusions (of the exotic species Sambucus nigra and Rosa rubiginosa) were interpreted as local functional foods, since according to informants the objectives of consuming these infusions were nutritional and the prevention or treatment of ailments. These results show the flexible character of LEK, since great importance is given to exotic species, and these plants also play an important role in the lives of inhabitants of rural Patagonian communities. This case study enables us to show the existence of a valuable biocultural heritage, present in each of the local foods and medicines.

Chapter III deals with identification of polyphenolic compounds, and determination of the antioxidant capacity and enzyme inhibiting ability involved in the metabolic syndrome of three culturally important Patagonian berries. Fruits of *Berberis microphylla*, *Berberis darwinii* and *Fragaria chiloensis* were collected from populations in Nahuel Huapi National Park and its surroundings. For the quali-quantitative analysis of polyphenols, liquid chromatography was used, coupled with a diode array and mass spectrometry. Furthermore, antioxidant activity was measured in vitro, as well as inhibition of the  $\alpha$ -glucosidase,  $\alpha$ -amylase and lipase enzymes from the fruit extracts. The most complex polyphenol profile was found in the samples of *Berberis*, with 10 anthocyanins, 27 hydroxycinnamic acids, 3 proanthocyanidins, 2 flavan-3-ols, and 22 flavonols. *Fragaria* 

chiloensis presented 4 anthocyanins, 9 ellagitannins, 2 proanthocyanidin dimers, 1 flavan-3-ol, and 5 flavonols. The *Berberis* samples showed the greatest antioxidant capacity, while *Fragaria* presented the highest level of  $\alpha$ -glucosidase and lipase inhibitor activity. This information contributes to knowledge of the *Berberis* genus. This is the first time identification has been proposed for the proanthocyanidins in *Berberis* species, and the first description of the composition and content of *Berberis darwinii* anthocyanin and hydroxycinnamic acid.

Chapter IV describes the management practices currently carried out with the biodiversity of berries and other fleshy fruits present in the Cuyín Manzano community. Ethnobotanical methodology was used for this purpose, and the range of management practices associated with each species was characterized, taking the Casas et al. (1996, 1997) model as a conceptual framework. The information was analyzed mainly using the number of management practices (NMP), richness, CU, management intensity (MI) and discourse analysis. It was found that the principal management practices were harvesting, tolerance, protection, the care of inherited plants, sowing and transplanting. In addition, the pattern of management practices differed according to the biogeographical origin of the species. The principal practice for native species was harvesting of the fruit. In contrast, the exotic species were mainly transplanted, protected, and the fruits were also harvested, in the same proportion. Also recorded was the care of exotic trees which had been inherited from parents and grandparents, and these were important to inhabitants, both materially and emotionally. Total richness was 27 species (28 ethnospecies), 10 native and 17 exotic species, and the CU was similar for both. In contrast, the NPM was greater for exotic species and also for species of high cultural value. In addition, it was found that the introduced species were more intensely managed. The native species that appeared to be subject to incipient domestication processes were Berberis microphylla and Fragaria chiloensis. This analysis contributes to the description of existing management processes of native and exotic flora, taking into account the effect of human action on landscape construction and the acquisition of edible fruits. Management of edible fruits in rural communities involves considerable contact with nature, which could have a positive impact on conservation.

In **Chapter V**, a participatory rural appraisal workshop with the inhabitants of Cuyín Manzano was detailed, this tool has allowed the validation of all the results previously found.

As a whole, this work shows the magnitude of LEK and the importance of studying local management practices associated with Patagonian berries, and their many implications. Exotic fruits now play a fundamental role in diversification of the local diet, and constitute a substantial part of inhabitants' lives. This information represents an opportunity for local development; the different species and their foods have great potential as functional foods. Moreover, cultivation of native Patagonian berries could represent a socioeconomic regional alternative to replace or complement livestock farming. In addition, the management practices identified for native and exotic plants demonstrate the importance of including the human dimension in biodiversity conservation projects, from a perspective that is growing in importance throughout the world: biocultural conservation. Finally,

studying components of the local heritage, like Patagonian berries, highlights the need to value the biocultural inheritance of indigenous peoples, which is still important to them today.

# INTRODUCCIÓN

El estudio de las plantas comestibles es clave para resolver las problemáticas actuales en materia de seguridad alimentaria. De acuerdo a la FAO (2013), la seguridad alimentaria debe contemplar: (1) la disponibilidad de alimentos, considerando la calidad y cantidad, (2) el acceso, es decir asegurando el derecho de las sociedades para hacer uso de sus alimentos culturalmente importantes, (3) las condiciones de salud, seguridad y bienestar asociadas a esa alimentación deseada y (4) la estabilidad, es decir, no puede haber seguridad alimentaria si a largo plazo los puntos anteriores no se garantizan de manera sostenible. Particularmente, las plantas silvestres cumplen un importantísimo rol en la alimentación de muchísimas comunidades locales, sin embargo, su continuidad parece estar en riesgo. La plataforma IPBES 2019 alerta sobre la rápida pérdida de la biodiversidad del planeta (Viña et al., 2019). El mal uso de la tierra con gran protagonismo de la agricultura extensiva y la ganadería es considerada una de las principales causantes directas de este fenómeno (Viña et al., 2019). Visibilizar especies culturalmente importantes que puedan ser nuevas opciones de cultivos, y que constituyan alternativas para el desarrollo económico y social local, serían significativos aportes en materia de seguridad alimentaria y para los modelos productivos de la región.

Las plantas comestibles y los alimentos a base de plantas son elementos estratégicos para la salud mundial. Se sabe que una dieta pobre, con un bajo consumo de frutas y verduras, está fuertemente relacionada con la mortalidad por enfermedades no transmisibles (enfermedades cardiovasculares y respiratorias crónicas, y el cáncer principalmente) (GBD, 2017; OMS, 2013). En este sentido, se plantea que el desafío actual es generar políticas centradas ya no en los nutrientes, sino en alimentos saludables (Forouhi y Unwin, 2019). La implementación de alimentos a base de plantas en las dietas ha mostrado grandes beneficios para la salud, aportando compuestos que pueden actuar como antioxidantes, anti-inflamatorios y fito-estrógenos, entre otros mecanismos (Lampe, 1999; Liu, 2004a; Slavin y Lloyd, 2012; Wang et al., 2011).

Se reconoce que las sociedades locales son grandes portadores del conocimiento referido a las plantas (Gavin et al., 2015; WHO, 2013). En este sentido, se define al conocimiento ecológico local (CEL), como un corpus complejo que incluye saberes, prácticas y creencias diversas sobre los ecosistemas, incluidas las plantas, generado a través de la experiencia directa y el contacto con el medio ambiente (Berkes et al., 2000; Ladio, 2011). El CEL es construido por las comunidades aborígenes y/o rurales a partir del contacto histórico e íntimo con su entorno, es mantenido por procesos diversos de transmisión cultural, y efectivamente aplicado en sus sistemas de subsistencia (Ladio, 2004). Lejos de ser estático, el CEL se caracteriza por ser dinámico y flexible, dado a que es sensible a los cambios socioambientales. Por lo tanto, pueden ser evidenciados tanto procesos de pérdida como de adquisición de conocimientos (Ladio y Albuquerque, 2014; Reyes-García et al., 2013). La etnobotánica se posiciona actualmente como una disciplina que estudia el CEL asociado a las plantas, pudiendo identificar y explicar patrones y procesos locales, así como regionales o globales (Albuquerque y Medeiros, 2012). La complejidad de las relaciones entre el ser humano y la naturaleza y esta necesidad de documentarlas e interpretarlas, requiere del uso de múltiples herramientas provenientes de las ciencias sociales (Guber, 2001; Valles, 1999), además de aquellas de las ciencias naturales (Albuquerque et al., 2010; Höft et al., 1999). En consecuencia, sus marcos teóricos y métodos, tanto cualitativos como cuantitativos, tienen como objetivo abarcar la integralidad de la relación humano-planta. La aproximación etnobotánica puede realizarse en diversas escalas. Desde su desarrollo histórico como disciplina, su principal escala ha sido el estudio de caso, es decir las investigaciones que se centran en sociedades o comunidades en particular. Este abordaje de microescala permite evidenciar los saberes, prácticas y valores relacionales que se construyen de manera situada en cada lugar. El trabajo de campo permite evidenciar la existencia de vínculos únicos con las especies que son compartidos de diversas maneras por

Mientras que recientemente se ha propuesto un nuevo campo denominado "macroetnobotánica", con el objetivo de sistematizar grandes conjuntos de datos (de muchas comunidades) que permitan la identificación de patrones en una macroescala,

sus integrantes (Ladio y Molares, 2017).

regional e inclusive global (Gutiérrez Santillán et al., 2019). La complementación de los estudios a distintas escalas podría contribuir a profundizar la comprensión de las distintas relaciones que se entretejen entre personas y plantas.

La etnofarmacología, en una microescala, se ha caracterizado por el estudio de las plantas medicinales utilizadas en las comunidades locales, pero actualmente también se dedica a las plantas comestibles. Se han hecho numerosas contribuciones para caracterizar los compuestos químicos y analizar la actividad de plantas utilizadas localmente, como *Aloe vera* (aloe), *Eucalyptus* spp. (eucalipto), *Curcuma longa* (cúrcuma), *Euterpe oleracea* (açai) y jarillas (*Larrea* spp.) entre muchas otras (Yeung et al., 2018; Leonti y Casu et al., 2013; Carabajal et al., 2013). En los últimos años, la etnofarmacología ha hecho foco especialmente en las plantas comestibles en busca no sólo de nutrientes sino también de compuestos de actividad farmacológica (Yeung et al., 2018). Dichos recursos vegetales componen la dieta y el arsenal médico de una gran parte de las culturas del presente. Son el resultado de un largo y dinámico proceso de validación cultural que depende de la experiencia directa que tienen las personas con dichas plantas (Albuquerque, 2014).

Desde la nutrición y la farmacología surge el concepto de alimento funcional. Este concepto tiene su origen en Japón en los años '80, como alimentos para usos específicos en salud (FOSHU, Foods for Specified Health). En la actualidad la "Functional Food Science in Europe" (FUFOSE) propone como alimento funcional aquel que "ha demostrado satisfactoriamente que afecta de manera beneficiosa una o más funciones del cuerpo, más allá de los efectos nutricionales adecuados, de una manera que sea relevante para un mejor estado de salud y bienestar y / o reducción del riesgo de enfermedad" (Howlett, 2008). Particularmente, sustancias extra-nutricionales presentes en las plantas, como los polifenoles, serían las responsables de reducir el estrés oxidativo en las células y así evitar el desarrollo de enfermedades (Liu, 2004; Seeram et al., 2005; Wang et al., 2011). A partir de estudios etnobotánicos, se sugiere que existe una riqueza de cerca de 3000 especies comestibles de frutales a nivel global que podrían tener gran potencialidad (Rapoport y Ladio, 1999), por lo que la integración con estudios desde la etnofarmacología podría ser clave para el hallazgo de este tipo valioso de alimento.

En los contextos locales, la alimentación y la sanación, estarían fuertemente relacionadas. Estudios seminales realizados por Etkin y Ross (1991) y actuales (Pieroni et al., 2007; Heinrich et al., 2006) dan cuenta que en los sistemas de salud tradicionales no es posible separar tan claramente los usos medicinales de los comestibles. Estos aspectos son entendidos de manera integral y a veces indivisible, tanto desde su aspecto funcional como cultural-simbólico (Jennings et al., 2015; Roulette et al., 2018). Como respuesta a la búsqueda de funcionalidad, los seres humanos han seleccionado recursos duales (comestible-medicinal). Por ejemplo, Alarcón et al. (2015) dan cuenta de la existencia de plantas alimenticias y medicinales en España, y Jennings et al. (2015) de alimentos medicinas en Bangladesh, ambos en comunidades locales. Particularmente las especies con frutos comestibles desempeñarían un rol muy importante en las etnofarmacopeas del mundo (Abbasi et al., 2013; Jennings et al., 2015; Kujawska y Pieroni, 2015).

En general, los berries (entendidos como pequeños frutos carnosos comestibles para los humanos) originarios del hemisferio norte han sido los más estudiados hasta el momento por su alto contenido en antioxidantes naturales. Así se han caracterizado los perfiles químicos, la bio-actividad, e inclusive, se han probado dietas suplementadas con berries en humanos, que muestran resultados muy promisorios principalmente en la prevención y tratamiento de desórdenes metabólicos (Fang, 2015; Hannum, 2004; Nile y Park, 2014; Overall et al., 2017; Paredes-Lopez et al., 2010). Estos frutos tienen en su composición una gran cantidad y diversidad de compuestos fenólicos que serían los principales responsables de sus efectos saludables (Del Rio et al., 2010; Naseri et al., 2018; Szajdek y Borowska, 2008). En cuanto a los berries nativos de Sudamérica, han sido poco estudiados y existe un creciente interés por explorar su potencialidad (Schreckinger et al., 2010).

La Patagonia albergaría una gran riqueza de berries con la que sus habitantes han experimentado durante miles de años. Tomando la definición de Pochettino (2015), los berries corresponden a frutos carnosos de árboles y arbustos de áreas templadas, en general rojos o también llamados "fruta fina". En general, en estado fresco, poseen alta proporción de agua, azúcares de fácil digestión y absorción, fibras, minerales y vitaminas (Hurrell et al., 2010). Estos frutos se pueden clasificar principalmente en bayas, fruta de

pepita (fruto pomo), de carozo (drupas y polidrupas) y frutos agregados (receptáculos engrosados que reúnen frutos parciales). Diferentes estudios arqueológicos y etnobotánicos en Patagonia han documentado que desde tiempos ancestrales las especies con frutos silvestres han sido importantes en la dieta de las poblaciones locales (Rapoport y Ladio, 1999; Schmeda-Hirschmann et al., 2019). Muchos de estos frutos pueden ser considerados como "berries". Por lo tanto, habría un gran número de berries silvestres o semi-domesticados (es decir, que se encuentran bajo un proceso de selección humana), cuya riqueza total no ha sido descripta hasta el momento.

Algunas de las especies han comenzado a ser estudiadas por su composición química y actividad biológica en la Patagonia chilena. El análisis de los frutos ha incluido metodologías de la metabolómica, una disciplina emergente enfocada en la caracterización completa de intermediarios metabólicos, metabolitos y metabolitos secundarios de las plantas (German et al., 2005). Se ha estudiado ampliamente la química de las bayas del maqui (*Aristotelia chilensis*)(Brauch et al., 2016; Escribano-Bailón et al., 2006; Ruiz et al., 2010a), que las posicionaron como un superfruto. También otros berries nativos como *Rubus geoides, Ribes magellanicum, Fragaria chiloensis, Berberis microphylla* han sido investigados para las poblaciones silvestres de Chile (Jiménez-Aspee et al., 2015a, 2016a; Ruiz et al., 2013; Thomas-Valdés et al., 2018). Sin embargo, en Argentina sólo se han hecho avances desde la agronomía, principalmente para *B. microphylla* (Arena et al., 2017, 2012; Arena y Radice, 2014), pero poco se conoce de la composición química y bio-actividad de los berries nativos de poblaciones argentinas. En este sentido, uno de los trabajos pioneros ha sido el de Schmeda-Hirschmann et al., 2005, en el que se describe de forma general la composición de frutos de las yungas de la provincia de Salta.

En la actualidad, los berries parecen ser muy utilizados como alimentos en las comunidades locales. Muchas bayas pequeñas son objeto de distintas prácticas de post-cosecha, como la preparación de dulces, jaleas, jugos y bebidas alcohólicas (Ladio y Lozada, 2001; Rapoport y Ladio, 1999). En algunos casos, estas preparaciones en la zona se han incorporado a la actividad comercial de pequeña escala (Ladio, 2011; Damascos et al., 2008). Heinrich et al. (2006), proponen un nuevo marco teórico definiendo a los alimentos locales como aquellos

recursos localmente obtenidos por recolección o cultivo que son consumidos, a menudo bajo transformaciones culinarias, y que en algunos casos constituyen especialidades. Por lo tanto, es probable que exista una gran diversidad de alimentos locales asociada a los berries patagónicos, ya sea como frutos sin transformar, así como en distintas preparaciones. El empleo de los berries en las comunidades locales parece no limitarse a su uso alimenticio. Varias investigaciones en la Patagonia dan cuenta que las especies con frutos carnosos también conforman recursos medicinales (Estomba et al., 2006; Ladio et al., 2013; Ochoa et al., 2010). Por ejemplo, para la parrilla (*Ribes magellanicum*), en la comunidad Mapuche Cayulef, se citaron usos alimenticios así como también para tratar enfermedades del hígado y la sangre (Ladio, 2006). No sólo los frutos tienen funciones medicinales, por ejemplo, en la misma comunidad las hojas del maqui (*Aristotelia chilensis*), fueron citadas para tratar diarreas (Ladio, 2006). Un desafío para la etnobotánica y la etnofarmacología consiste en comprender las lógicas de utilización de estos recursos como alimentos y/o medicinas. El estudio a macro y microescala de los usos comestibles y medicinales de los berries, que incluya las formas de elaboración, brindaría un mayor acercamiento al conocimiento de los

Las personas que viven en las áreas rurales, históricamente y en la actualidad, se encuentran manejando diariamente gran parte de la biodiversidad, incluidas las especies con berries. Los pobladores rurales desarrollan múltiples estrategias para incrementar la abundancia, diversidad y/o disponibilidad de recursos naturales de importancia para el desarrollo de su vida y su familia, en las cuales todo su CEL es recreado (Fowler y Lepofsky, 2011). Estas acciones tienen la potencialidad de modificar rasgos morfológicos e inclusive genéticos de las plantas (fenotipo y genotipo), por lo tanto son interpretadas como modeladoras de poblaciones de especies y de paisajes (Casas et al., 2017). La literatura etnobotánica, ha descripto en los últimos años la existencia de un continuum de prácticas de manejo asociadas a las especies con frutos comestibles (Blancas et al., 2010; Casas et al., 2007; Ju et al., 2016; Lins Neto et al., 2014; Parra et al., 2010, 2012a). La intensidad con la que estás prácticas son ejercidas sobre las especies podrían desencadenar procesos de domesticación incipiente, como se ha mostrado con especies de Cactaceae (Lins Neto et al., 2014). Sin

usos locales de estos recursos.

embargo, estas prácticas no han sido caracterizadas en profundidad para los berries nativos y exóticos de la Patagonia. Las especies que se manejan, las prácticas involucradas y la intensidad aplicada sobre ellas, tendrían implicancias directas en el ecosistema en cuanto que determinan cuales especies se están favoreciendo, y cuáles no. Por lo tanto, el estudio del manejo de los berries sería de gran importancia en la conservación de esta biodiversidad.

Los habitantes de la Patagonia han construido una larga historia de interacción con las especies vegetales nativas, desde hace miles de años (Schmeda-Hirschmann et al., 2019), que probablemente haya propiciado una gran experimentación con estos recursos. Luego, la llegada de los colonizadores generó la introducción de numerosas plantas exóticas. Este fenómeno trajo aparejado la fuerte presencia de estas especies en los cultivos (Ladio, 2017), pero también en los espacios silvestres (Ezcurra y Brion, 2005). Por lo tanto, el análisis del origen biogeográfico de los berries usados por las sociedades podría ser una variable de interés. Su interpretación permitiría explicar patrones diferenciales a nivel regional y local en su uso y manejo.

Las especies exóticas en otros sitios de Argentina ocupan un lugar muy destacado en las tradiciones alimentarias. En el Norte de Argentina, se han descriptos fenómenos de apropiación cultural muy fuertes con especies de *Citrus* spp. (limones, naranjas, naranjas amargas, pomelos, entre otros) que fueron traídas por los jesuitas en los siglos XVI y XVII. (Hilgert et al., 2014; Stampella et al., 2013). Otro caso paradigmático es el de los "duraznos de Juella" o "duraznos de la Quebrada", también se trata de una especie introducida, *Prunus persica*, que en la actualidad se cultiva y comercializa en la Quebrada de Humauaca, Jujuy (Lambaré et al., 2015). En Patagonia, varios estudios han mostrado que las plantas exóticas fueron ocupando cada vez un rol más significativo en las herbolarias locales (Molares y Ladio, 2009). Es probable entonces, que los berries exóticos estén desempeñando importantes roles en las comunidades locales. En consecuencia, los estudios a micro y macroescala podrían hacer visible la existencia de patrones diferenciales en el uso y el manejo de las especies, según estas sean nativas o exóticas.

Las aproximaciones a macro y microescala desde diversos enfoques en el estudio de los berries, podrían contribuir a la valorización del patrimonio biocultural de la Patagonia. Este es entendido como el conjunto de la riqueza biológica, así como de una amplia gama de manifestaciones posibles de una cultura (Maffi, 2005; Martinez-Reyes, 2012; Pretty et al., 2009). La riqueza de especies utilizadas con fines alimenticios, funcionales o medicinales, los alimentos locales y las medicinas constituyen indudablemente una parte importante del patrimonio de los pueblos del mundo (Heinrich et al., 2006a; Pieroni et al., 2016). Los estudios de macroescala, permiten documentar, caracterizar y evidenciar parte del CEL y sus patrones, a nivel regional. Los estudios a microescala hacen posible el acercamiento a los contextos, procesos y prácticas actuales en las comunidades rurales. Además, a una escala aún menor, desde la etnofarmacología se pueden mostrar otras potencialidades de los recursos naturales.

Esta tesis reúne múltiples aproximaciones en el estudio de los berries de la Patagonia Argentina. El enfoque holístico de este tipo de tesis permite obtener una idea global del patrimonio biocultural, ecológico y local que, siguiendo a Baines (2018), es incorporado/encarnado por las comunidades locales. Este patrimonio biocultural ha sido reconocido por múltiples instituciones de injerencia mundial (CBD, 2012; FAO, 2013; WHO, 2013), como un elemento clave para la humanidad en tiempos de cambio global y pérdida de la diversidad cultural y biológica. Dichas instituciones llaman al estudio urgente de todos los componentes naturales y culturales que permitan promover, restaurar y garantizar la seguridad alimentaria y la salud, en sintonía con la conservación biológica y cultural.

## **OBJETIVOS GENERALES**

- Caracterizar el patrimonio comestible y funcional de berries de la Patagonia argentina.
   Indagar en la existencia de patrones macroetnobotánicos en el conocimiento y uso de los mismos en materia alimenticia y funcional.
- 2. Describir el conocimiento ecológico local sobre los berries patagónicos en una comunidad rural actual. Indagar en la existencia de patrones en el conocimiento y uso de los mismos en materia alimenticia y funcional. Describir los alimentos locales que contengan berries y explorar la interfaz alimento-medicina en la población.
- **3.** Conocer el perfil de compuestos fenólicos, la actividad antioxidante y la capacidad de inhibir enzimas implicadas en el síndrome metabólico, de especies representativas de berries nativos de la Patagonia y de gran importancia cultural para la región.
- **4.** Caracterizar las prácticas de manejo que se realizan en torno a las especies de berries y otros frutales en una comunidad actual de la Patagonia y evidenciar la existencia de patrones diferenciales de manejo entre especies nativa y exóticas.

# Capítulo I

Estudio macroetnobotánico de los berries de la Patagonia argentina

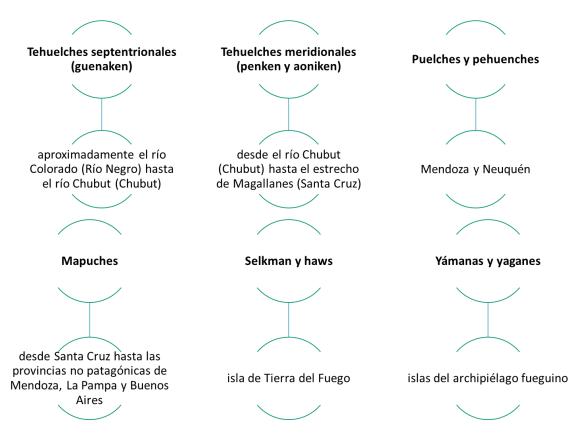
### INTRODUCCIÓN

Se define como macroetnobiología a la aproximación que se focaliza en el análisis a macro escala de los patrones de uso y conocimiento de los recursos naturales (Albuquerque y Medeiros, 2012; Gutiérrez Santillán et al., 2019). Dentro de ella, la macroetnobotánica, centrada en el análisis de grandes conjuntos de datos sobre el uso de plantas, se caracteriza por ser una disciplina en creciente auge. El estudio de patrones a macroescala ha mostrado empíricamente que los enclaves con mayor diversidad biocultural, es decir con co-ocurrencia de diversidad biológica y cultural, se encuentran estrechamente vinculados a territorios con mayor heterogeneidad ambiental y/o de diversidad lingüística (Gutiérrez Santillán et al., 2019). Esto implica que el conocimiento y uso de mayor cantidad de especies en un territorio depende de variables tanto ecológicas como culturales.

La Patagonia argentina, lejos de ser un desierto deshabitado, idea que se ha instalado en el sentido común de ciertos sectores de las sociedades urbanas, alberga distintos ambientes y ha sido tierra de diversas culturas (y aún así lo es aunque con diversas transformaciones). Convencionalmente se considera como extremo norte de la Patagonia argentina al Río Colorado y desde allí comprende las provincias de Neuquén, Río Negro, Chubut, Santa Cruz, Tierra del Fuego e Islas Malvinas. Pero también, algunas definiciones inlcuyen el sur de Mendoza y La Pampa. Esta región comprende cuatro provincias fitogeográficas: Altoandina, Subantártica, Patagónica y del Monte, cada una con sus diferentes unidades vegetacionales (Oyarzabal et al., 2018). La provincia Subantártica con montañas y glaciares, bosques, praderas y turberas. Luego la provincia Altoandina, con sus altas cumbres, laderas escarpadas y estepas graminosas o de caméfitos en cojín. Las provincias Patagónica y del Monte, se caracterizan por la presencia de montañas bajas y mesetas, vegetación arbustiva, graminosa, matas en cojín y matorral xerófilo entre otra. Además, se reconoce una nueva zona caracterizada por la fuerte modificación del paisaje: "los agro ecosistemas", representados por los valles irrigados del norte de la Patagonia (Paruelo et al., 1998).

Por otro lado, son numerosas las comunidades originarias que habitaron y habitan aún la Patagonia. Ladio y Molares (2014) citan de manera muy sintetizada grandes grupos

culturales: los Tehuelches septentrionales (Guenaken), Tehuelches meridionales (Penken y Aoniken), Puelches y Pehuenches, Mapuches, Onas (Selkman) y Haws, Yámanas y Yaganes (Fig. 1.1). Sin embargo, la diversidad cultural y lingüística que se alberga al interior de cada grupo, de acuerdo a su localidad, historia y formas de revitalizar su cultura hacen que esta síntesis no refleje en forma completa la heterogeneidad cultural de la región.

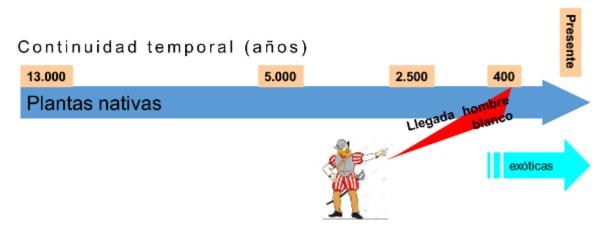


**Figura 1.1** Pueblos originarios de la Patagonia y su distribución en las provincias actuales. Adaptado de: Ladio y Molares 2014.

Culturas y plantas nativas poseen una larga historia de interacción en la Patagonia. Las primeras ocupaciones humanas serían de hace 13000-10000 años antes del presente (AP) (Borrero, 2015; Borrero et al., 2019). El sitio arqueológico más emblemático, constituye Monte Verde, un yacimiento a cielo abierto cercano a Puerto Montt, Chile. En este lugar además de restos de caza, se encontraron morteros y restos vegetales, dando cuenta del uso comestible o medicinal de las plantas (Hajduk et al., 2008). La investigación

arqueobotánica del uso de plantas se ha incrementado en los últimos años (Caruso Fermé et al., 2018; Llano y Barberena, 2013; Otaola y Llano, 2015). En una reciente revisión Schmeda-Hirschmann et al. (2019), resumen la información disponible y dan cuenta de la existencia de restos de numerosos berries en sitios arqueológicos: *Fragaria chiloensis*, *Berberis* spp., *Ribes magellanicum*, *Ericaceae* y *Rubus* spp. Los autores también destacan los hallazgos hechos por Martínez Tosto et al. (2016), de restos de *Empetrum rubrum* y *Gaultheria mucronata* (Ericaceae) en probables macrolitos humanos. Estos hallazgos encontrados en el sitio Casa de Piedra, Santa Cruz, Argentina, pertenecientes a la transición Pleistoceno-Holoceno, constituyen fuertes indicios del consumo de berries nativos en la dieta paleolítica de la Patagonia.

La llegada de los colonizadores fue un gran hito en la relación de los habitantes originarios de la Patagonia y las plantas. Los nuevos habitantes no llegaron solos, con ellos se fueron sumando numerosos elementos de su cultura, incluidas las plantas. Muchas de ellas se incorporaron en los sistemas hortícolas, con tal impacto que inclusive habrían desplazado cultivos de especies nativas y tradicionales de la zona (Ladio, 2017). Otro fenómeno de gran importancia, es que muchas de las especies introducidas se asilvestraron y forman parte importante de la flora patagónica (Ezcurra y Brion, 2005). Estos cambios, son preocupantes para la biología de la conservación ya que muchas de estas especies tienen comportamiento invasor (Fernández, 2007; Zimmermann et al., 2011) y constituyen una gran amenaza para la biodiversidad (Lockwood et al., 2013; Viña et al., 2019). Por otro lado, se ha establecido que la introducción de especies exóticas podría ser uno de los factores implicados en la erosión del conocimiento sobre plantas nativas (Molares y Ladio, 2009).



**Figura. 1.2** Ilustración de la historia de interacción de los habitantes de la Patagonia y las plantas. Desde los primeros hallazgos arqueológicos, la llegada de los colonizadores, hasta la actualidad.

El enfoque macroetnobotánico comprende grandes desafíos, dado que trata de integrar información compleja y heterogénea, mayormente derivada de análisis bibliográficos cualitativos y/o cuantitativos. Estas revisiones sistemáticas tienen como objetivo la síntesis de información sobre una determinada pregunta que implica la relación ser humano-planta. Por ejemplo, Molares y Ladio, (2009) se plantearon la existencia de un cuerpo de conocimiento común de plantas medicinales de la Patagonia argentino-chilena con predominancia de especies nativas. Las autoras encontraron una riqueza de 505 especies documentadas en la bibliografía, compuesta en un 60% de especies nativas. En ese cuerpo de conocimiento, las familias botánicas más consensuadas eran aquellas también populares en otras etno-farmacopeas del mundo como Asteraceae y Lamiaceae. Por otra parte, Quave et al. (2012), buscaron caracterizar las principales especies medicinales usadas en Europa, encontrando de manera semejante la existencia de un patrón común de uso, aunque también con particularidades regionales.

La macroetnobotánica permite mostrar principios subyacentes que podrían explicar los vínculos entre las personas y su ambiente que quizás no pueden ser evidenciados en estudios de caso individuales. Por ejemplo, una pregunta frecuentemente abordada en etnobiología es si el ambiente influye en la selección de especies útiles. Medeiros et al.

(2013), estudiando los patrones de uso de plantas medicinales en Brasil, encontraron que el origen biogeográfico, el hábito de crecimiento y la parte usada de la planta, variaba con el ecosistema donde la sociedad se emplazaba. Ochoa y Ladio (2011), revisaron el uso de plantas con órganos de almacenamiento subterráneo comestibles (POAS) en la Patagonia y se interesaron en estudiar si la riqueza de especies estaba relacionada con el ambiente. Los autores encontraron que la estepa y las zonas de transición de la Patagonia serían ambientes con la mayor riqueza de POAS.

Otra implicancia de los estudios a macroescalas es que permiten ver vacíos en los temas de estudio. Con respecto a las culturas, recientemente una investigación evidenció que se han hecho más indagaciones de uso de plantas medicinales entre latinos que viven en las ciudades que entre otro grupo de migrantes, invisibilizando el aporte en la herbolaria urbana de otros grupos sociales (Ladio y Acosta, 2019). Por su parte, Ochoa y Ladio (2011) también advierten de la existencia de vacíos en el registro del uso de POAS en la bibliografía, mostrando el desinterés por ciertos temas de estudio. También, alertan sobre la interpretación cultural errada de los autores sobre los usos de las especies, hecho que también afecta el estudio de patrones de uso generales.

La macroetnobotánica también permite observar procesos temporales. Łuczaj y Szymański (2007) revisaron 42 trabajos etnográficos sobre usos de plantas silvestres comestibles de Polonia. En esa investigación, se encontró que dichas especies antiguamente se usaron como un recurso importante para combatir las hambrunas. En cambio, en la actualidad, se utilizan solo frutos y semillas de manera marginal. Por lo tanto, se interpreta que las plantas silvestres están desempeñando un rol menor y que las tradiciones culinarias se estarían perdiendo rápidamente en esa región. Coincidentemente, Molares y Ladio (2009) para el caso de las plantas medicinales y Ochoa y Ladio (2011) para el caso de las POAS, encontraron una disminución a lo largo del tiempo en la riqueza de especies nativas documentada por la literatura en Patagonia. Por lo tanto, la importancia de estos estudios radica en la visibilización de procesos aparentes de erosión cultural.

Otro aporte del enfoque macroetnobotánico es hacer visible la existencia de patrones taxonómicos en la selección de especies. En este sentido un trabajo pionero fue el de Moerman (1991), que mostró que el uso medicinal de plantas en la etno-farmacopea de Norte América estaba fuertemente relacionado a ciertas familias botánicas como Lamiaceae y Asteraceae. Por otro lado, familias como Poaceae, tenían un bajo número de especies medicinales con respecto al total de especies de la familia. Esta tendencia también fue probada por Bennet y Husby (2008) evidenciando que el número de especies medicinales para dichas familias era superior al esperado por el azar. Se sabe que estas familias poseen ciertos compuestos químicos que le confieren gran bio-actividad a las plantas. Por lo tanto, se interpreta que la eficacia farmacológica es un factor muy importante en la selección de especies en las etno-farmacopeas del mundo (Ladio y Acosta, 2019; Moerman, 1991; Molares y Ladio, 2009).

Además, los estudios a macroescala pueden sintetizar y sistematizar una parte importante del patrimonio biocultural de los pueblos del mundo, evidenciando la potencialidad como alimento funcional de sus especies constitutivas. Por ejemplo, los estudios sobre la medicina herbal China han conseguido su reconocimiento a nivel mundial, mediante la caracterización de los compuestos principales de sus plantas de importancia regional (Heinrich y Barnes, 2015; Leonti et al., 2013). También estos estudios pueden ser poderosas herramientas para evidenciar especies de gran interés. En este sentido, el amplio uso de las bayas de Goji (*Lycium barbarum* y *L. chinense*) en la medicina herbal china (Yao et al., 2018) o inclusive, la amplia utilización de los frutos patagónicos de maqui, han generado el impulso de mayores estudios de su composición química y actividad farmacológica (Brauch et al., 2016; Davinelli et al., 2015; Romanucci et al., 2016).

Estos estudios a macroescala son oportunidades únicas para el estudio no sólo de las especies, sino también de sus formas de uso como los alimentos locales (definidos en la Introducción) y las medicinas herbales. El relevamiento de los alimentos locales en Patagonia ha sido escasamente registrado, a pesar de su importancia en la gastronomía regional. En cambio, las medicinas si han suscitado importante atención. Forman parte de las "prácticas médicas tradicionales" sensu Elisabetsky (2002) y su análisis puede brindar

información extra, como las combinaciones de plantas en las preparaciones que podrían tener efectos sinérgicos, entre otros mecanismos que aún no han sido completamente explorados por la ciencia y merecen especial atención.

Las grandes bases de datos etnobotánicos también permiten realizar comparaciones entre el CEL de distintos grupos culturales. Cómo es el caso del trabajo de Kujawska et al. (2017) en el que se analizan las semejanzas y diferencias en las etnofarmacopeas de Guaraníes, *Criollos* e inmigrantes polacos en Misiones. Los autores encontraron que la riqueza de especies utilizadas entre los distintos grupos era diferente. Sin embargo, se observaron semejanzas en el repertorio de enfermedades entre *Criollos* y polacos, entendidos como grupos culturalmente más cercanos que los Guaraníes. Estos resultados evidencian que los distintos grupos humanos que habitan el mismo territorio y comparten el mismo entorno vegetal pueden utilizar la flora de manera diferencial como consecuencia de sus diferentes cosmovisiones.

La sistematización de los trabajos etnobotánicos y su análisis, permiten caracterizar la biodiversidad de especies útiles con importantes implicancias en el desarrollo regional. Los estudios llevados a cabo a esta escala, pueden visibilizar especies cuyos atributos comestibles y beneficios saludables son reconocidos por un grupo amplio de personas y sociedades (Łuczaj y Szymański, 2007; Molares y Ladio, 2009; Ochoa y Ladio, 2011; Quave et al., 2012). En este sentido, a pesar de la heterogeneidad que caracteriza a las revisiones bibliográficas, existen especies que poseen alto valor de consenso entre trabajos (Molares y Ladio, 2009; Ochoa y Ladio, 2011). Justamente, los índices de consenso son herramientas que permiten evaluar cuan popular es una especie (Molares y Ladio, 2009). Por otro lado, teniendo en cuenta que la eficacia farmacológica parece ser un criterio de selección muy fuerte en las herbolarias locales (Moerman, 1991), el mayor consenso de una especie medicinal puede ser indicativo de mayor bio-actividad. De forma similar, es de esperar que el mayor consenso comestible lo tengan aquellas especies de mejores aptitudes organolépticas, o bien de mayor productividad.

Particularmente, la etnobotánica de plantas comestibles de Argentina se encuentra aún en pleno crecimiento. Una de las obras emblemáticas y pioneras ha sido "Plantas indígenas de la Argentina con Frutos o Semillas comestibles" de Ragonese y Martínez Crovetto (1947). Para el nordeste del país se destaca la cuantiosa obra de Martínez Crovetto, quien es considerado uno de los fundadores de la etnobotánica en el país (Pirondo y Keller, 2012). El autor, originario de la provincia de Corrientes, profundizó en los conocimientos de las etnias guaraní de su provincia y de Misiones, pero también de Tobas y Vilelas del Chaco. Arenas y su equipo de trabajo han desarrollado su línea de investigación en torno a la provincia fitogeográfica del gran Chaco. Tal es el caso de comunidades de las provincias de Formosa y Salta, para las que se han hecho profundas descripciones de las tradiciones alimentarias y las plantas utilizadas por las etnias Toba y Wichí (Arenas, 2003; Suárez, 2014). Por su parte, Scarpa describe la alimentación y las plantas utilizadas por los criollos del oeste formoseño (Scarpa, 2012). Para las yungas salteñas, Hilgert describe las plantas comestibles utilizadas en una comunidad de la Quebrada de Humahuaca. En el centro del país, más recientemente se han descripto las plantas utilizadas por comunidades de la provincia de Córdoba (Toledo et al., 2007). También se realizaron trabajos para La Rioja y La Pampa (Anton et al., 2007; Muiño, 2012). En Patagonia, hace tiempo se ha estudiado la temática con trabajos iniciales de Martínez Crovetto principalmente en Tierra del Fuego (Martinez Crovetto, 1982, 1968) y luego las desarrolladas por Ladio y colaboradores (Ladio, 2005, 2001; Ladio y Lozada, 2000; Ladio y Rapoport, 1999; Ochoa y Ladio, 2015, 2011, entre otras). Sin embargo, hasta el momento no se habían conducido investigaciones focalizadas en la etnobotánica de los pequeños frutos carnosos del sur del país.

En este Capítulo se buscará sintetizar el patrimonio bio-cultural de berries patagónicos de la Argentina. A lo largo de esta tesis, para simplificar la lectura, se usará la palabra "berry" en un sentido amplio, para designar a: especies con frutos carnosos comestibles de tamaño pequeño y sabor preferentemente dulce. Esta palabra hará referencia a toda una planta y no sólo a sus frutos. Se trata de especies silvestres, cultivadas y/o en estado intermedio de domesticación. Por otro lado, teniendo en cuenta los antecedentes de la importancia de las

especies exóticas en el patrimonio etnobotánico patagónico (Molares y Ladio, 2009), se contempla el estudio de los berries nativos y exóticos.

### **OBJETIVOS**

- 1) Sistematizar la información etnobotánica disponible sobre los berries de la Patagonia argentina. Además, indagar en términos macroetnobotánicos, la existencia de patrones diferenciales de conocimiento y uso de los berries, según sea el origen biogeográfico de las especies.
- 2) Describir los alimentos locales que contienen y se elaboran con estos frutos.
- 3) Establecer en qué proporción las especies de berries son usadas de forma funcional.
- 4) Estudiar el patrimonio de especies funcionales de la Patagonia argentina, para aquellas que pudiesen ser objetivo de estudios etnofarmacológicos.
- 5) Indagar en la existencia de patrones macroetnobotáncios de conocimiento y uso funcional de las especies, según sea el origen biogeográfico de las especies.
- 6) Describir los usos medicinales, versatilidad de uso, medicinas y drogas vegetales de cada una de las especies de berries.
- 7) Analizar si existe un patrón de abandono del conocimiento de las especies de berries nativas y exóticas a lo largo del tiempo.

### **HIPÓTESIS**

- 1. Dada la larga historia de interacción entre las distintas sociedades patagónicas y las plantas nativas, se espera encontrar patrones diferenciales de macroescala en el conocimiento y uso de las especies, según sea el origen biogeográfico de las especies. Por lo tanto, a) la riqueza, b) la frecuencia de citación y c) el consenso de uso de los berries nativos será mayor que el de exóticas.
- 2. De manera similar, se espera que el número de alimentos locales por especie, sea mayor para los berries nativos.

- Dada la evidencia científica que apoya el valor funcional de los frutos del tipo berries, se espera que la riqueza de especies funcionales sea mayor, en comparación a la riqueza de especies solo comestibles.
- 4. Dada la mayor experimentación con las especies nativas, se espera encontrar patrones diferenciales de macroescala en el conocimiento y uso de aquellas especies funcionales, según sea el origen biogeográfico de las especies. Por lo tanto, a) la riqueza, b) la frecuencia de citación y c) el consenso de uso funcional de los berries nativos será mayor que el de exóticas.
- 5. Dada la existencia de procesos de erosión de conocimientos, los artículos más viejos citan más riqueza de especies totales, nativas y exóticas que los más nuevos.

### **REGIÓN DE ESTUDIO**

Los artículos seleccionados fueron estudios realizados en comunidades rurales y urbanas de la Patagonia argentina con criollos, Mapuches, Tehuelches, Selk'nams, Yaganes y Yámanas o sus descendientes. Se incluyeron también trabajos de La Pampa, y el sur de Mendoza dados los fuertes lazos culturales y características ecológicas similares con el resto de la Patagonia argentina. Los sitios donde se realizaron los trabajos de campo documentados, están distribuidos en un área que se extiende aproximadamente entre 37° y 54° lat. S de la Argentina. Abarcan las provincias fitogeográficas: subantártica, altoandina, patagónica y del monte, (Oyarzabal et al., 2018). Con amplia variabilidad en las precipitaciones que puede oscilar de los 300 mm en la estepa a los 3000 mm en la montaña (Aisen et al., 2017), constituye una región muy heterogénea con respecto a su vegetación, y con una alta proporción de endemismos (Ezcurra y Brion, 2005).

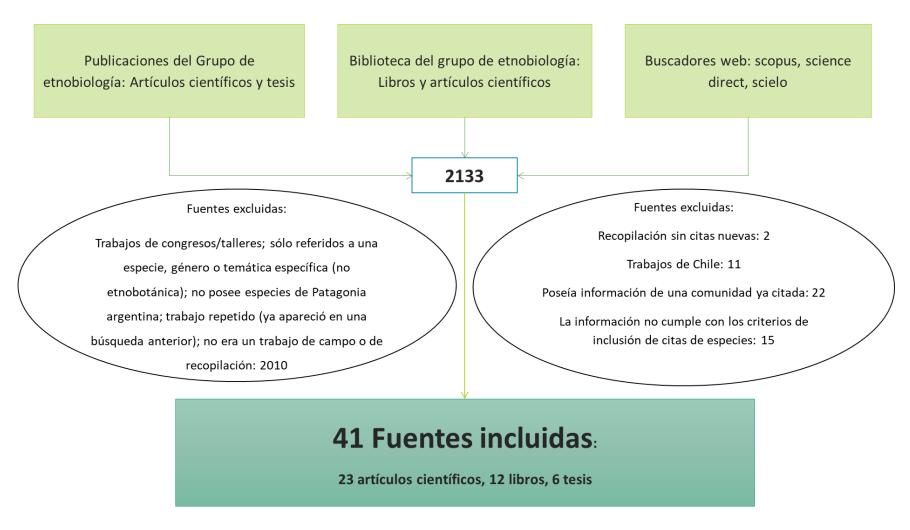
### **METODOLOGÍA**

El análisis bibliográfico incluyó el análisis cuali-cuantitativo de textos de índole etnobotánico, etnohistórico y arqueológico, publicados desde 1880 al presente, que mencionan el uso de frutos nativos en la región (Franco Trindade Medeiros, 2009). La Figura 1.3 muestra los motores de búsqueda y los criterios de exclusión para las fuentes

bibliográficas. La revisión bibliográfica siguió los lineamientos generales de (Medeiros et al., 2013). Las palabras claves utilizadas fueron: frutos comestibles y Patagonia, plantas comestibles y Patagonia, plantas medicinales y Patagonia, flora de la Patagonia y usos, etnobotánica de la Patagonia, usos medicinales y alimenticio y Patagonia, frutos nativos de la Patagonia, tanto en español como en inglés. La búsqueda web representa a los artículos hallados hasta el 23 de Agosto de 2016. En total, se revisaron 2133 títulos de los cuales, luego de revisar sus resúmenes, o capítulos en el caso de los libros, se fueron desechando textos de acuerdo a criterios de exclusión (Fig. 1.3). Un total de 41 fuentes fueron finalmente incluídas.

A cada fuente y a la información contenida en ella, se le aplicaron los criterios de inclusión mostrados en la Figura 1.4. Una vez seleccionado el texto, se registraron todas las especies de berries citadas en el mismo. Por lo tanto, cada cita corresponde a una especie referida por una publicación, con su correspondiente información etnobotánica. La heterogeneidad fitogeográfica del enfoque bibliográfico condujo a la inclusión de una gran diversidad de plantas, formas de vida y familias botánicas que fueron utilizadas por la mayoría de las poblaciones originarias de la región (Correa, 1998; Ezcurra y Brion, 2005). La distribución de las especies fue corroborada en el Catálogo de las Plantas Vaculares del Cono Sur (Zuloaga et al., 2009).

Se definió especie nativa a aquella originaria de Argentina, y exótica a aquella que no cumple dicho requisito (Ezcurra y Brion, 2005). Las especies citadas podían ser silvestres, asilvestradas o en condiciones de cultivo.



**Figura 1.3** Motores de búsqueda (cuadrados superiores) y criterios de exclusión (círculos) para las fuentes bibliográficas revisadas. Criterios adaptados de Medeiros et al. (2013).

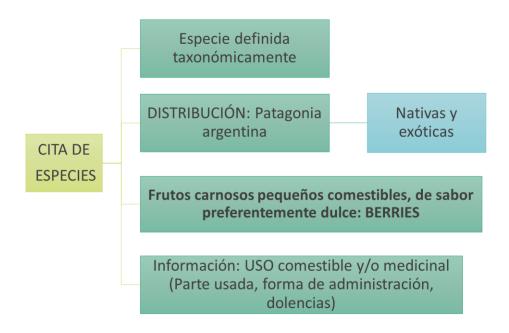


Figura 1.4 Criterios de inclusión para las citas de especies.

La información seleccionada fue la siguiente: especie, nombres locales, tipo de fruto, alimentos locales, dolencias, medicinas con berries, droga vegetal usada, año de publicación. La cual fue sistematizada en una única base de datos. Se siguieron las siguientes definiciones y clasificaciones.

<u>Especies</u>. Todos los nombres científicos fueron actualizados siguiendo la nomenclatura de The Plant List (www.theplantlist.org).

<u>Tipo de fruto</u>. Está información se completó o corroboró siguiendo a Correa (1998, 1988, 1984 a y b, 1971).

Alimento local. Un alimento local, adaptando lo propuesto por Heinrich et al. (2006) (descripto en la Introducción), es definido como: una combinación única de una especie localmente recolectada o cultivada y una forma de uso comestible. Por lo tanto, los alimentos locales fueron clasificados siguiendo categorías habitualmente empleadas en etnobotánica (Ladio, 2001) como: fruto fresco (F), dulces (S), bebidas sin alcohol (D), chicha (C), otros (OT).

<u>Categoría de citas</u>. Cada cita fue clasificada según el uso descripto para la especie como: comestible o funcional (si además de usos comestibles se describían usos medicinales).

<u>Categoría de especie</u>. A cada especie se la categorizó como comestible (si solo tenía citas de uso alimenticio) o funcional (si además tenía alguna cita de uso medicinal o preventivo).

Dolencias. Se adaptó la clasificación de dolencias de Molares y Ladio (2009) con algunas modificaciones, por lo cual fueron categorizadas como: respiratorias (RS), gastrointestinales (GI), urinarias(U), dolor e inflamación (DI), dermatológicas (DE), fiebre (F), obstétricas (OBS), ginecológicas (GIN), sangre (S), circulatoria y del corazón (CI), nerviosas (NS), síndromes culturales (SC), osteo-articular y muscular (OA y M), alergias (AL), odontológicas (OD), oftalmológicas (OF), refrescante (RE), otras (OT). Esta clasificación fue adoptada para sintetizar la variada información encontrada en la bibliografía, por lo que en su mayoría corresponden a categorías éticas. Sin embargo, las categorías sangre y refrescante se mantuvieron ya que su interpretación es más compleja. Bajo la primera, se encuentran referencias del tipo: "para componer la sangre", "para limpiar la sangre". En cuanto a refrescante, si bien muchas veces aparece junto a dolencias como: "para la fiebre", es una categoría muy frecuente y podría conllevar otra lógica de uso. Por lo tanto, con la intención de reflejar lo mejor posible lo citado, se respetaron estas dos categorías émicas (aunque sujetas a la interpretación de los autores de los trabajos).

Medicinas. Esta palabra se usó para designar a las medicinas herbales o fitomedicinas. Y hacen referencia a las formas en que se administran las plantas medicinales. Incluyen a todas las transformaciones, en las que por ejemplo se podría estar favoreciendo la concentración de ciertos compuestos activos (Heinrich y Barnes, 2015). Las medicinas fueron categorizadas según la forma de administración como: ingestión de fruto (F), infusión (In), decocción (De), baños, lavados y frotamientos (Ba), gargarismos (Ga), cataplasmas y compresas (Ca), cremas, pomadas y ungüentos (Cr), otros (Ot).

<u>Droga vegetal</u>. La parte de la planta usada con fines medicinales es designada como droga vegetal, ya que hace referencia a órganos que muy probablemente concentren los principios activos (Heinrich y Barnes, 2015). Las drogas vegetales fueron categorizadas

como: fruto (f), flores (fl), hojas (h), ramas (r), corteza o tallo (co), raíz (rz), planta entera (pl).

La base constó de 357 citas en total. Cada fila de la base representa una cita de un autor sobre una especie, con su correspondiente información etnobotánica, nombre de la revista, autores, y año de publicación.

### Análisis de datos

En etnobotánica se han desarrollado numerosos índices, con el fin de resumir la información cualitativa (Hoffman y Gallaher, 2007). Estos índices también dan una idea de la importancia cultural de una especie par un determinado grupo humano (Hoffman y Gallaher, 2007). A su vez dada la naturaleza de los datos, comúnmente de carácter categórico y/o con distribución no normal, los test no paramétricos, como el test binomial, test de Mann Whitney y de Kruskal–Wallis, entre otros, son los más usados y permiten poner a aprueba las hipótesis (Albuquerque et al., 2014b; Conover, 1971; Höft et al., 1999).

o Por otro lado, para evaluar la relación del tiempo en la riqueza de especies citadas, se decidió implementar modelos lineales generalizados (GLM) que han tenido mayor desarrollo en la ecología y en el análisis de datos categóricos en los últimos años (Agresti, 2015, 2007; Zuur et al., 2009). Estos modelos permiten analizar datos cuya variable respuesta no tiene una distribución normal, brindan información de la forma en que se relacionan las variables y de la fuerza del efecto (Agresti, 2007). Para analizar los datos con variable respuesta del tipo conteo se utilizaron GLMs con distribución Poisson y función link Log, adecuada para este tipo de comparaciones (Agresti, 2015, 2007). Cuando, tras al evaluación de los parámetros, no se cumplía el supuesto de sobredispersión, se utilizó la distribución binomial negativa (Agresti, 2015, 2007; Zuur et al., 2009).

Los análisis se llevaron a cabo con los paquetes: "MASS", "nlme" del software R versión 3.6.0 (R Core Team, 2019). Los modelos, sus parámetros y errores se encuentran detallados en el Apéndice 1.

Se calcularon los siguientes índices y proporciones

Riqueza: R = ∑ número de especies acumulado en los trabajos analizados. Fue calculada en total, y para cada artículo, y según el origen biogeográfico. Cabe aclarar que en este Capítulo el concepto de especie se asume que se corresponde con el concepto de etnoespecie de Hunn (1982), es decir que incluye a la mirada local de las plantas considerando los nombres vulgares que figuran en cada uno de los trabajos. Por otro lado, se calculó la riqueza de familias botánicas. También, se calculó la riqueza de especies comestibles y de las especies funcionales.

Frecuencia de citas:  $FC = \sum$  citas para cada especie. Fue calculada para las especies nativas y para las exóticas.

Consenso de uso: CU= ∑ fuentes que citan una especie/N. Dónde N= número total de fuentes bibliográficas. Esta herramienta es frecuentemente usada en el análisis de la información etnobotánica (Cornara et al., 2014; Eyssartier et al., 2008; Molares y Ladio, 2009; Tardío y Pardo-de-Santayana, 2008). Este índice permite ponderar el acuerdo existente dentro de una comunidad o diversos autores (y sus publicaciones) sobre el uso de una determinada especie y/o familia botánica.

Alimentos locales. Los porcentajes de cada categoría fueron calculados en relación al total de alimentos locales. %ALC  $_{A}$ =R $_{SCA}$ / $\Sigma$ R $_{SCA...i}$  x 100. Donde %AL $_{A}$ = el porcentaje de alimentos locales de la subcategoría A (por ejemplo, bebida); R $_{SCA}$ = riqueza de especies de la subcategoría A; y  $\Sigma$ R $_{SCA...i}$ = total de alimentos locales.

Número de alimentos locales: NAL= ∑ alimentos locales por especie

Consenso de uso funcional: CUF=  $\sum$  citas funcionales de una especie o familia /N x 100.

Índice de versatilidad de usos medicinales: UV= ΣUVis/N (Albuquerque et al., 2006), donde UVis = el número de usos medicinales registrados por la fuente bibliográfica i, para una especie s. N= número total de fuentes. Este índice indica la versatilidad de una especie, es decir, para este caso la diversidad de dolencias tratadas (Molares y Ladio, 2009; Phillips y Gentry, 1993; Tardío y Pardo-De-Santayana, 2008).

Proporción de medicinas y drogas vegetales. De forma similar a los alimentos locales, el porcentaje de cada categoría fue calculado en relación a la suma total de medicinas/ drogas vegetales.

Las variables empleadas para testear las hipótesis fueron:

- R (cuantitativa, discreta)
- FC (cuantitativa, discreta)
- CU (cuantitativa, discreta)
- NAL (cuantitativa, discreta)
- CUF (cuantitativa, discreta)
- Año de publicación (cuantitativa, discreta)
- Origen (categórica): nativa o exótica
- Categoría de especie (categórica): comestible o funcional

## Análisis estadísticos

- La riqueza fue comparada con el uso del test binomial (p< 0.05). Este test también fue utilizado para comparar la frecuencia de citas de especies nativas y exóticas (p< 0.05).</li>
   Para evaluar si el CU es mayor para las nativas, se empleó el test de Mann Whitney (p< 0.05).</li>
- La evaluación de los NAL para especies nativas y exóticas se llevó a cabo empleando el test de Mann Whitney (p<0,05)</li>
- La riqueza de especies funcionales y sólo comestibles, fue comparada mediante el test binomial (p< 0.05).</li>
- Para comparar la riqueza de especies funcionales nativas y exóticas, se usó el test binomial (p< 0.05). De igual manera, la frecuencia de citas de nativas y exóticas fue comparada mediante el test binomial (p< 0.05). Para evaluar si el CUF es mayor para las nativas, se empleó el test de Mann Whitney (p< 0.05).</p>
- Para comparar si la riqueza de especies disminuye con el año de publicación, se llevaron a cabo tres GLMs (riqueza total, de nativas y de exóticas) (p<0,05). La variable respuesta fue la riqueza y la covariable el año de publicación.

La Figuras 1.3 se realizó en Graphpad Prism 5. Las Figuras, 1.4, 1.5, 1.6 se realizaron en Excel 2016, de Microsoft Office.

#### **RESULTADOS**

# 1. Berries de la Patagonia argentina

## 1.1 Evaluación de Patrones de conocimiento y uso

Los resultados muestran la existencia de un patrón diferencial en relación al origen biogeográfico. En concordancia con la hipótesis 1 a) y 1 b), la riqueza total de berries (p<0,05, test binomial) y la frecuencia de citas es mayor para las especies nativas (p<0,05, test binomial).

# 1.2 Riqueza y consenso de uso (CU) de especies

La riqueza total (R) de 72 especies (56 nativas y 16 exóticas) se encuentra descripta en la Tabla 1.1. La riqueza promedio por trabajo fue de 8,5 especies (mín: 1, máx: 43). La Figura 1.3 muestra algunas de las especies con mayor CU. Las especies nativas con mayor CU son Berberis microphylla, Ribes magellanicum, Fragaria chiloensis, Ephedra ochreata, Aristotelia chilensis, Gaultheria mucronata, Berberis darwinii y Berberis empetrifolia (Fig. 1.4 a). Las especies exóticas con mayor CU son Sambucus nigra, Rubus idaeus, Prunus cerasus, Rosa rubiginosa, Ribes aureum y Ribes uva-crispa.

En concordancia con la hipótesis 1 c), el CU también es mayor para los berries nativos (p<0,05, test de Mann Whitney) (Fig. 1.4 b).



**Figura 1.3.** Berries de la Patagonia argentina. 1. *Berberis microphylla*, 2. *Aristotelia chilensis*, 3. *Fragaria chiloensis*, 4. *Ribes magellanicum*, 5. *Berberis darwinii*, 6. *Gaultheria mucronata*, 7. *Empetrum rubrum*, 8. *Amomyrtus luma*, 9. *Ugni molinae*, 10. *Luma apiculata*.

**Tabla 1.1** Berries de la Patagonia argentina. Origen: na (nativa), ex (exótica), alimentos locales: F (fruto), D (dulce), B (bebida), Ch (chicha), OT (otros), NM (no mencionado) y NAL (Número de alimentos locales por especie).

Especie	Nombre local	Familia	Fruto	Origen	F	D	В	Ch	ОТ	NAL
Amomyrtus luma (Molina) D.Legrand & Kausel	Luma, luma blanca, luma colorada, roloncavi, palo madroño, cachao	Myrtaceae	Baya	na	1	1	1	1	1	5
Aristotelia chilensis (Molina) Stuntz	Maqui, maquei, queldron, koelon, maki, klon	Elaeocarpaceae	Baya	na	1	1	1	1	1	5
Austrocactus patagonicus (F.A.C. Weber ex Speg.) Hosseus	Chupa sangre, fruto de la barda	Cactaceae	Baya	na	1	0	0	0	0	1
Berberis darwinii Hook.	Michay, calafate, rullin, chacaihua, klün	Berberidaceae	Baya	na	1	1	1	1	1	5
Berberis empetrifolia Lam.	Calafatillo, zarcillo, monte negro, calafate enano, cherque	Berberidaceae	Baya	na	1	1	1	1	0	4
Berberis ilicifolia L.f.	Calafate	Berberidaceae	Baya	na	1	0	1	0	0	2
Berberis microphylla G.Forst.	Michay, michai, klün, gayaukhia,	Berberidaceae	baya	na	1	1	1	1	1	5

	khalgo, sand calafate									
Berberis ruscifolia Lam.	Quebrachillo, sacha uva, uvilla	Berberidaceae	Baya	na	1	0	0	0	0	1
Berberis serratodentata Lechl.	Saloll	Berberidaceae	Baya	na	1	0	0	0	0	1
<i>Berberis trigona</i> Kunze ex Poepp. & Endl.	Calafate, michay, michay chileno	Berberidaceae	Baya	na	1	1	0	1	0	3
Cereus aethiops Haw.	Albaricoque	Cactaceae	Baya	na	1	0	0	0	0	1
Condalia microphylla Cav.	Piquillín, trüka	Rhamnaceae	Drupa	na	1	1	1	0	1	4
Empetrum rubrum Vahl ex Willd.	Mutilla, uvilla de perdicita, brecillo, murtilla de magallanes, mahueng, kapa, sebisa	Ericaceae	Drupa	na	1	0	0	0	0	1
Ephedra chilensis C.Presl	Pingo-pingo, sulupe, solupe, trasmontana, cupara, camán	Ephedraceae	Bráctea	na	1	0	1	0	0	2
Ephedra ochreata Miers	Solupe, fruta del piche, fruta del bicho, fruta del quirquincho, tramontana,	Ephedraceae	bráctea	na	1	0	1	1	1	4

	sulupe, camán,									
	hamo									
Ephedra triandra Tul.	Tramontana,	Ephedraceae	Bráctea	na	1	1	1	0	0	3
	frutilla del									
	campo, pico de									
	loro									
Fragaria chiloensis (L.) Mill.	Frutilla, fresa,	Rosaceae	Conocarpo	na	1	1	1	1	1	5
	llahuén,									
	quellguen, frutilla									
	silvestre, lahueñe									
Fragaria vesca L.	Frutilla	Rosaceae	Conocarpo	ex	1	0	0	0	0	1
Fuchsia magellanica Lam.	Chilco, chilcón,	Onagraceae	Baya	na	1	0	0	0	0	1
	aljaba, congo,									
	chavalongo, palo									
	blanco, tilco,									
	chilca									
Gaultheria antarctica Hook.f.	NM	Ericaceae	Baya	na	1	0	0	0	0	1
Gaultheria mucronata (L.f.) Hook. &	Chaura, gus,	Ericaceae	Baya	na	1	0	0	1	0	2
Arn.	gush, amaiingur									
Gaultheria phillyreifolia (Pers.) Sleumer	Chaura, murtillo,	Ericaceae	Baya	na	1	0	0	0	0	1
	cabra									
Gaultheria poeppigii DC.	Manzanita,	Ericaceae	Baya	na	1	1	0	0	1	3
	manzanita del									
	campo									

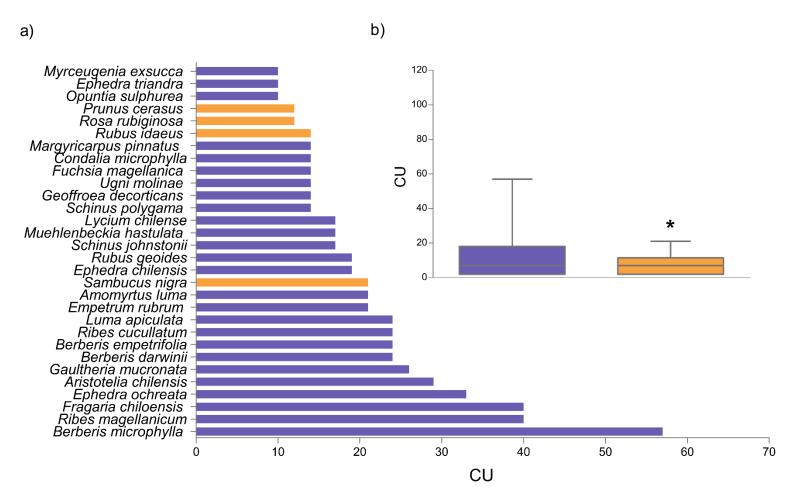
Gaultheria pumila (L.f.) D.J.Middleton	Mutilla, chaura, shanamaim	Ericaceae	Baya	na	1	0	0	0	0	1
Geoffroea decorticans (Hook. & Arn.) Burkart	Chükal, chañar	Fabaceae	Drupa	na	1	1	1	1	1	5
Gunnera magellanica Lam.	NM	Gunneraceae	Drupa	na	1	0	0	0	0	1
Luma apiculata (DC.) Burret	Arrayán, palo colorado, cuthu, quetri, arrayán rojo, palo colorado, temu, arama, quitri, kollimamüll, kütri	Myrtaceae	Baya	na	1	1	1	1	1	5
Luzuriaga radicans Ruiz & Pav.	Quillineja, quila del monte	Alstroemeriaceae	Baya	na	0	0	0	0	0	0
Lycium chilense Bertero	Llaullín, yauyín, coralillo, matacaballo, chayem	Solanaceae	Вауа	na	1	0	0	0	0	1
Lycium tenuispinosum S.B. Jones & W.Z. Faust	Yaoyín	Solanaceae	Baya	na	1	0	0	0	0	1
Maihuenia patagonica (Phil.) Britton & Rose	Yerba del guanaco	Cactaceae	Baya	na	1	0	0	0	0	1
Maihuenia poeppigii (Otto ex Pfeiff.) F.A.C.Weber	Maihuén	Cactaceae	Baya	na	1	0	0	0	0	1

Maihueniopsis darwinii (Hensl.) F.Ritter	Chupasangre	Cactaceae	Baya	na	1	0	0	0	1	2
Margyricarpus pinnatus (Lam.) Kuntze	Yerba de la perdiz, perlilla, manzanita, perla	Rosaceae	Drupa	na	1	0	0	0	0	1
Morus alba L.	Mora	Moraceae	Multidrupa	ex	1	0	0	0	0	1
Morus nigra L.	Mora	Moraceae	Multidrupa	ex	1	0	0	0	0	1
Muehlenbeckia hastulata (Sm.) I.M.Johnst.	Quilo, quineo, zarzaparrilla	Polygonaceae	Multidrupa	na	1	1	1	0	1	4
Myrceugenia exsucca (DC.) O.Berg	Patagua, pitra, temu, picha, peta, petra	Myrtaceae	Baya	na	1	0	0	0	1	2
Myrteola nummularia (Lam.) O.Berg	Murta, té de las Malvinas	Myrtaceae	Вауа	na	1	0	1	0	1	3
<i>Opuntia sulphurea Gillies</i> ex Salm-Dyck	Kochen, penca, tuna, quiscalora	Cactaceae	Baya	na	1	0	0	1	0	2
Persea lingue (Miers ex Bertero) Nees	Lingue, lige, liñe, litchi	Lauraceae	Вауа	na	0	0	0	1	0	1
Philesia magellanica J.F.Gmel.	Coicopihue	Philesiaceae	Baya	na	1	0	0	0	0	1
Podocarpus nubigenus Lindl.	Mañío macho, uva de la cordillera	Podocarpaceae	Drupa	na	1	0	0	0	1	2
Prumnopitys andina (Poepp. ex Endl.) de Laub.	Lleuque	Podocarpaceae	Drupa	na	1	0	0	1	1	3

Damasco	Rosaceae	Drupa	ex	1	0	0	0	0	1
Cerezo	Rosaceae	Drupa	ex	1	0	0	0	0	1
Guindo	Rosaceae	Drupa	ex	1	0	0	0	0	1
Ciruelo	Rosaceae	Drupa	ex	1	0	0	0	0	1
Corinto	Grossulariaceae	Baya	ex	1	0	0	0	0	1
Parrilla, zarzaparrilla, parrillita, parrilla de hojas chicas	Grossulariaceae	Вауа	na	1	1	0	1	1	4
Grosellero	Grossulariaceae	Baya	na	1	0	0	0	0	1
Parrilla, zarzaparrilla, parrilla patagónica, grosellero, mulul, shétrrhen, shéthen, shitrr, shett	Grossulariaceae	Вауа	na	1	1	0	1	1	4
Grosella	Grossulariaceae	Baya	ex	1	0	0	0	0	1
Grosella	Grossulariaceae	Baya	na	1	0	0	0	0	1
Corinto	Grossulariaceae	Baya	ex	1	0	0	0	0	1
	Cerezo Guindo Ciruelo Corinto Parrilla, zarzaparrilla, parrillita, parrilla de hojas chicas Grosellero Parrilla, zarzaparrilla, parrilla patagónica, grosellero, mulul, shétrhen, shéthen, shitrr, shett Grosella	Cerezo Rosaceae  Guindo Rosaceae  Ciruelo Rosaceae  Corinto Grossulariaceae  Parrilla, Grossulariaceae  zarzaparrilla, parrilla de hojas chicas  Grosellero Grossulariaceae  Parrilla, Grossulariaceae  Parrilla, Grossulariaceae  Parrilla, Grossulariaceae  parrilla patagónica, grosellero, mulul, shétrrhen, shéthen, shitrr, shett  Grosella Grossulariaceae	Cerezo Rosaceae Drupa Guindo Rosaceae Drupa Ciruelo Rosaceae Drupa Corinto Grossulariaceae Baya Parrilla, Grossulariaceae Baya parrillita, parrilla de hojas chicas Grosellero Grossulariaceae Baya Parrilla, Grossulariaceae Baya Parrilla, Grossulariaceae Baya Parrilla, Grossulariaceae Baya parrilla, Grossulariaceae Baya  Parrilla, Grossulariaceae Baya  Farrilla, Grossulariaceae Baya  Corosella Grossulariaceae Baya  Corosella Grossulariaceae Baya	Cerezo Rosaceae Drupa ex  Guindo Rosaceae Drupa ex  Ciruelo Rosaceae Drupa ex  Corinto Grossulariaceae Baya ex  Parrilla, Grossulariaceae Baya na  zarzaparrilla, parrilla de hojas chicas  Grosellero Grossulariaceae Baya na  Parrilla, Grossulariaceae Baya na  Parrilla, Grossulariaceae Baya na  parrilla, Grossulariaceae Baya na  carzaparrilla, parrilla patagónica, grosellero, mulul, shétrrhen, shéthen, shitrr, shett  Grosella Grossulariaceae Baya ex	Cerezo Rosaceae Drupa ex 1 Guindo Rosaceae Drupa ex 1 Ciruelo Rosaceae Drupa ex 1 Corinto Grossulariaceae Baya ex 1 Parrilla, Grossulariaceae Baya na 1 zarzaparrilla, parrilla de hojas chicas Grosellero Grossulariaceae Baya na 1 Parrilla, Grossulariaceae Baya na 1 Parrilla, Grossulariaceae Baya na 1 Corinto Grossulariaceae Baya na 1 Rosaceae Baya na 1	Cerezo Rosaceae Drupa ex 1 0 Guindo Rosaceae Drupa ex 1 0 Ciruelo Rosaceae Drupa ex 1 0 Corinto Grossulariaceae Baya ex 1 0 Parrilla, Grossulariaceae Baya na 1 1 zarzaparrilla, parrilla de hojas chicas Grossulariaceae Baya na 1 1 zarzaparrilla, grossulariaceae Baya na 1 1 zarzaparrilla, grossulariaceae Baya na 1 1 correctedore Grossulariaceae Baya na 1 1 correcte	Cerezo Rosaceae Drupa ex 1 0 0 Guindo Rosaceae Drupa ex 1 0 0 Ciruelo Rosaceae Drupa ex 1 0 0 Corinto Grossulariaceae Baya ex 1 0 0 Parrilla, Grossulariaceae Baya na 1 1 0 0 zarzaparrilla, parrilla de hojas chicas Grosellero Grossulariaceae Baya na 1 1 0 0 Parrilla, garrilla, garrilla, parrilla, patagónica, grosellero, mulul, shétrrhen, shéthen, shitrr, shett Grosella Grossulariaceae Baya ex 1 0 0	Cerezo Rosaceae Drupa ex 1 0 0 0 Guindo Rosaceae Drupa ex 1 0 0 0 Ciruelo Rosaceae Drupa ex 1 0 0 0 Corinto Grossulariaceae Baya ex 1 0 0 0 Parrilla, Grossulariaceae Baya na 1 1 0 1 zarzaparrilla, parrillita, parrilla de hojas chicas Grosellero Grossulariaceae Baya na 1 0 0 0 Parrilla, grossulariaceae Baya na 1 1 0 1 zarzaparrilla, parrilla patagónica, grosellero, mulul, shétrrhen, shéthen, shitrr, shett Grosella Grossulariaceae Baya ex 1 0 0 0	Cerezo Rosaceae Drupa ex 1 0 0 0 0  Guindo Rosaceae Drupa ex 1 0 0 0 0  Ciruelo Rosaceae Drupa ex 1 0 0 0 0  Corinto Grossulariaceae Baya ex 1 0 0 0 0  Parrilla, Grossulariaceae Baya na 1 1 0 1 1  zarzaparrilla, parrilla de hojas chicas  Grosellero Grossulariaceae Baya na 1 1 0 1 1  Parrilla, Grossulariaceae Baya na 1 1 0 1 1  Zarzaparrilla, parrilla de hojas chicas  Grosellero, Grossulariaceae Baya na 1 1 0 1 1  Farrilla, Grossulariaceae Baya na 1 1 0 0 1 1  Zarzaparrilla, parrilla patagónica, grosellero, mulul, shétrrhen, shéthen, shitrr, shett  Grosella Grossulariaceae Baya ex 1 0 0 0 0

Rosa rubiginosa L.	Rosa mosqueta	Rosaceae	Cinorrodon	ex	1	1	1	0	0	3
Rubus geoides Sm.	Frutilla de la	Rosaceae	Multidrupa	na	1	1	1	0	1	4
	cordillera, frutilla									
	de la zorra,									
	frutilla de									
	Magallanes,									
	frambuesa									
	silvestre,									
	miñemiñe,									
	numiñe, waásh									
	shal									
Rubus idaeus L.	Frambuesa	Rosaceae	Multidrupa	ex	1	1	0	0	0	2
Rubus radicans Cav.	Miñe-miñe, zarza	Rosaceae	Multidrupa	na	1	0	0	0	1	2
Rubus ulmifolius Schott	Murra, zarzamora	Rosaceae	Multidrupa	ex	1	1	0	0	0	2
Sambucus nigra L.	Sauco	Adoxaceae	Baya	ex	1	1	1	0	1	4
Schinus fasciculata (Griseb.) I.M. Johnst.	Molle	Anacardiaceae	Drupa	na	1	0	1	1	0	3
Schinus johnstonii F.A. Barkley	Molle, michí,	Anacardiaceae	Drupa	na	1	0	1	1	1	4
·	molle huingán		·							
Schinus molle L.	Aguaribay,	Anacardiaceae	Drupa	na	1	1	1	0	1	4
	gualeguay, árbol									
	de la pimienta									
Schinus odonellii F.A.Barkley	Molle, michí	Anacardiaceae	Drupa	na	1	0	1	0	0	2
Schinus patagonicus (Phil.) I.M. Johnst.	Laura	Anacardiaceae	Drupa	na	1	0	0	1	0	2

Schinus polygama (Cav.) Cabrera	Molle, incienso	Anacardiaceae	Drupa	na	1	0	1	1	1	4
Schinus roigii Ruiz Leal & Cabrera	Molle	Anacardiaceae	Drupa	na	0	0	0	0	0	0
Tristerix corymbosus (L.) Kuijt	Quintral, liga, muérdago cordillerano, cúchral, quinchral	Loranthaceae	Baya	na	1	0	0	0	0	1
Ugni molinae Turcz.	Murta, uñi, murtilla	Myrtaceae	Baya	na	1	1	1	0	1	4
Vitis vinifera L.	Uva, parra	Vitaceae	Baya	ex	1	0	0	0	0	1
Total					69	22	24	20	25	160



**Figura 1.4** a) Los 30 berries de mayor consenso de uso (CU) de la Patagonia argentina. b) Comparación entre el CU de especies nativas y exóticas. Azul= nativas, Anaranjado= exóticas. El asterisco "\*" muestra diferencias significativas (p<0,05, test de Mann Whitney). La escala de la Figura b), está adaptada a la Figura 2.2 con fines comparativos.

## 1.3 Riqueza y consenso de uso de familias botánicas de berries

Las especies de berries están representadas en 24 familias botánicas, siendo las principales Rosaceae (12 especies), Grossulariaceae (8 especies), Anarcardiaceae y Berberidaceae (7 especies cada una). En cuanto a las familias con valores más altos de CU se encuentran: Berberidaceae, Rosaceae y Grossulariaceae.

#### 2. Alimentos locales con berries

Se identificaron 160 alimentos locales con berries descriptos para la Patagonia argentina, 137 con especies nativas y 23 con especies exóticas. En concordancia con la hipótesis 2, el NAL de las especies nativas es mayor que el de las especies exóticas (p<0,05, test de Mann Whitney).

La mayoría de las publicaciones muestran el consumo de los berries en estado fresco (43% del total) (Fig. 1.5). Esta forma de consumo es muy común tanto para berries nativos como exóticos (39% y 70%, respectivamente). Por otro lado, existe una amplia variedad de preparaciones que en general involucran el agregado de azúcar. Se trata de las mermeladas, jaleas, conservas, entre otros (14%) que permiten la conservación de los alimentos por mayor tiempo (Fig. 1.4). Lamentablemente la información vertida en los textos, en general, no ofrece riqueza de recetas o detalles de las preparaciones culinarias.

Otra importante forma de aprovechamiento de los berries es la elaboración de bebidas. Entre ellas, las no alcohólicas (16%) con frutos de 24 especies distintas, como *Ephedra triandra*, *Aristotelia chilensis* y *Berberis microphylla*. El uso de la bebida fermentada "chicha" (12%) le sigue en orden de importancia, para la cual se utilizan 20 berries diferentes, entre las que se destacan *Schinus polygama*, *Geoffroea decorticans*, *Ribes magellanicum* y *Amomyrtus luma*, entre otras.

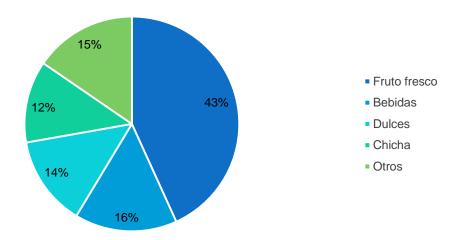


Figura 1.5 Alimentos locales con berries de la Patagonia argentina

# 3. Berries funcionales de la Patagonia argentina

# 3.1 Riqueza y consenso de uso funcional (CUF) de especies

En contraposición con la hipótesis 3, la proporción de berries funcionales en el registro total es del 42% (30 especies, Tabla 1.2), similar a las no funcionales (58%, 42 especies) (p>0,05, binomial test).

Las principales especies funcionales según los valores de CUF son *Aristotelia chilensis*, *Ribes magellanicum*, *Ephedra ochreata*, *Berberis microphylla*, *Fragaria chiloensis*, *Luma apiculata* y *Amomyrtus luma* (Tabla 1.2). Y dentro del grupo de las especies exóticas, *Sambucus nigra*, *Rosa rubiginosa* y *Prunus cerasus* (Tabla 1.2).

# 3.2 Evaluación de patrones de conocimiento y uso funcional de berries

Por otro lado, en concordancia con la hipótesis 4 a), la riqueza de especies funcionales está compuesta mayoritariamente por nativas (90%, p<0,05, test binomial). Paralelamente, se encontró que la FC y el CUF de las nativas es significativamente mayor que el de las exóticas (p<0,05, test binomial y test de Mann Whitney respectivamente), en concordancia a las hipótesis 4 b) y 4 c).

Los berries funcionales registrados para la Patagonia argentina se utilizan para una variada gama de dolencias (Tabla 1.2, Fig. 1.6). Principalmente afecciones gastrointestinales, respiratorias, dermatológicas, ginecológicas, obstétricas, del sistema nervioso, del corazón y sistema circulatorio, la fiebre, el dolor y la inflamación entre otras. En este sentido, las especies más versátiles según su valor UV son: *Aristotelia chilensis*, usada para tratar más de diez afecciones, le siguen *Berberis microphylla*, *Luma apiculata*, *Sambucus nigra*, *Fragaria chiloensis*, *Fuchsia magellanica*, entre otras (Tabla 1.2).

**Tabla 1.2** Berries funcionales de la Patagonia argentina; valores de CUF (Consenso de uso funcional) y UV (Valor de uso medicinal); dolencias: RS (respiratorias), GI (gastrointestinales), U (urinarias), DE (dermatológicas), DI (dolor e inflamación), F (fiebre), OBS (obstétricas), GIN (ginecológicas), S (sangre), CI (circulatorias y del corazón), NS (nerviosas), SC (síndromes culturales), OA y M (osteoarticulares y musculares), AL (alergias), OD (odontológicas), OF (oftalmológicas), RE (refrescante), OT (otras); medicinas: F (Ingestión de fruto), In (infusión), De (decocción), Ba (baños, lavados y frotamientos), Ga (gargarismos), Ca (cataplasmas y compresas), Cr (cremas, pomadas y ungüentos); drogas vegetales: f (fruto), fl (flores), rz (raíz), pl (planta entera); NM (no mencionado).

Especie	CUF	UV	Dolencias	Medicinas y drogas vegetales
Aristotelia chilensis (Molina) Stuntz	19,0	0,55	GI, F, RS, DE, DI, U, NS, OA y	F-In(h,f)-Ca(h)-Ba(f, h)-Ga(f, h)
			M, S, R, OT	
Sambucus nigra L.	14,3	0,31	RS, F, GI, DI, CS, OT	In(f, fl)-De(h, co, f)-Ba
Ephedra ochreata Miers	14,3	0,24	GI, DE, OA y M, U, GIN, DI, RS	In(f)-De(r, rz)-Ga(st)
Ribes magellanicum Poir.	14,3	0,19	S, GI, RS, CI, F, AL	In(h, r, co)-De(rz)
Berberis microphylla G.Forst.	11,9	0,38	F, GI, OT, RS, DE, DI	F-In(f, h)-De(pl, co, rz)
Amomyrtus luma (Molina) D.Legrand & Kausel	11,9	0,17	DI, NS, CS, GI, OT	In(r, co, h)-De(r,co)-NM(f,pl)

Luma apiculata (DC.) Burret	11,9	0,36	GI, DE, RS, NS, DI, F, S, OT	F-In(f, fl, h, co)- De(h, rz, co)-Ba(h)-
				Ex(co)-Gar(h)
Fragaria chiloensis (L.) Mill.	11,9	0,26	OBS, GIN, GI, S	In(h, pl)-De(rz, pl)
Schinus johnstonii F.A. Barkley	9,5	0,10	OD, DI, RS	In(st)-De(rz)-Ex(h)
Geoffroea decorticans (Hook. & Arn.) Burkart	9,5	0,12	RS, S	F-In(f, fl, h, co)-De(co)-Ot(co)
Ribes cucullatum Hook. & Arn.	9,5	0,17	GI, S, U, GIN, CI	In(h, co)-De(rz)
Berberis darwinii Hook.	7,1	0,14	F, GI, DI, OT	In(f,h)-De(rz)
Berberis empetrifolia Lam.	7,1	0,05	GI, F	F-De(rz)
Ephedra chilensis C.Presl	7,1	0,17	U, GIN, GI, DE, OA y M	In(f, r)-De(r, rz, pl)
Fuchsia magellanica Lam.	7,1	0,26	U, GIN, CI, F, R, GI	In(h, fl, co), De(co, h, fl)
Margyricarpus pinnatus (Lam.) Kuntze	7,1	0,05	U, GI	In(f)-De(pl)
Schinus odonellii F.A.Barkley	4,8	0,02	NS	NM(h)
Ephedra triandra Tul.	4,8	0,00	NM	NM (r)
Myrceugenia exsucca (DC.) O.Berg	4,8	0,05	DE, OA y M	NM (h)

Muehlenbeckia hastulata (Sm.) I.M.Johnst.	4,8	0,12	GI, U, DE, CI, OA y M	In(h)-Cr(rz)
Condalia microphylla Cav.	4,8	0,05	GI, F	De(co)
Rosa rubiginosa L.	4,8	0,12	RS, DI, DE, OD	De(f)
Schinus fasciculata (Griseb.) I.M. Johnst.	2,4	0,10	DI, RS, DE, OA y M	De(r)-Ba(r)
Schinus molle L.	2,4	0,02	RS	De(co,rz)
Schinus polygama (Cav.) Cabrera	2,4	0,00	NM	NM
Schinus roigii Ruiz Leal & Cabrera	2,4	0,00	NM	NM
Berberis trigona Kunze ex Poepp. & Endl.	2,4	0,02	F	F
Gaultheria phillyreifolia (Pers.) Sleumer	2,4	0,05	DE, F	NM
Tristerix corymbosus (L.) Kuijt	2,4	0,07	GI, RS, OF	F-NM(h,pl)
Prunus cerasus L.	2,4	0,12	GI, U, RS, CI, NS	NM

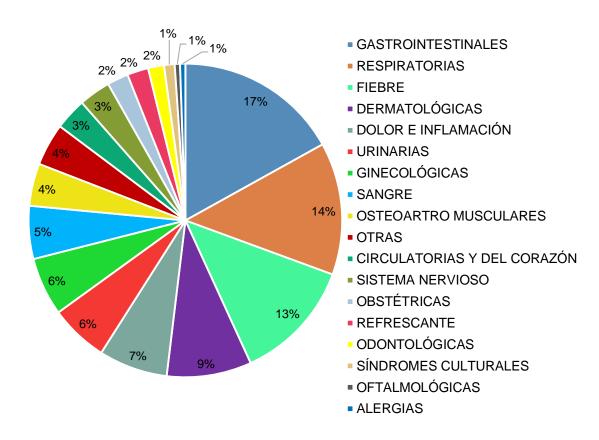
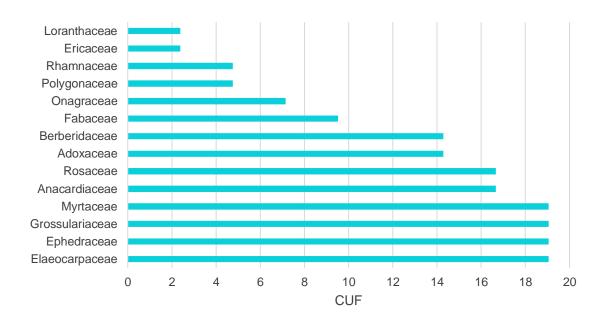


Figura 1.6 Dolencias tratadas con berries de la Patagonia argentina.

# 3.3 Riqueza y consenso de uso funcional de familias

Las berries funcionales incluyen a 14 familias botánicas (Fig. 1.7). Entre ellas, Anacardiaceae con 6 especies, Berberidaceae, Rosaceae con 4 especies cada una y Ephedraceae y Myrtaceae con 3 especies. A nivel del CUF, Elaeocarpaceae, Ephedraceae, Grossulariaceae, Myrtaceae, Anacardiaceae, Rosaceae, Adoxaceae y Berberidaceae, son familias con los valores más altos.



**Figura 1.7** Consenso de uso funcional (CUF) de las familias botánicas de berries de la Patagonia argentina.

# 3.4 Medicinas con especies funcionales de berries

Un total de 52 medicinas que contienen distintas partes de las especies de berries, entre las cuales las decocciones (35%) e infusiones (33%) son las más comunes (Tabla 1.2). Entre las formas de uso externo, se destacan los baños (9%), gargarismo (6%), la aplicación de exudados y cataplasmas (4% cada una), en los que se suelen emplear las partes aéreas como las hojas. Las pomadas y otras medicinas representan el 4% restante. En cuanto a las drogas vegetales usadas, principalmente son las hojas (22%), frutos (19%), corteza o tallo (18%) y raíces (18%).

# 4. Patrón de conocimiento a lo largo del tiempo

Se encontró que la riqueza total de berries y la riqueza de berries nativos disminuye en función del año de publicación (p<0,05, GLM, apéndice 1). Por otro lado, la riqueza de especies exóticas presentó un aumento marginalmente significativo (p=0,0577, GLM, Apéndice 1).

## DISCUSIÓN

Este trabajo conforma un importante aporte para la macroetnobiología. Se ha descripto no sólo la riqueza de especies acumulada de berries para la Patagonia argentina, sino también, su reportorio de alimentos locales, usos medicinales y medicinas. Los resultados evidencian patrones de conocimiento y uso, en tanto hay especies que son usadas por múltiples grupos humanos en la región. Un mayor número de trabajos de distintas localidades, podrá dar una visión aún más completa de estos patrones. Por otro lado, preocupantemente, encontramos que el número de especies de berries en total y de especies nativas citadas por artículo disminuyó con el año de publicación, mostrando un posible patrón de pérdida del conocimiento y erosión biocultural.

Estos hallazgos apoyan la existencia de patrones en la macroescala, que constituye una de las grandes preguntas de la macroetnobiología (Gutiérrez-Santillán et al., 2019) y que ha sido poco explorada hasta el momento en la región (Molares y Ladio, 2009; Quave et al., 2012). Por otro lado, esta información puede ser usada en complemento con el análisis de otras variables que ayuden a explicar el patrón encontrado. Por ejemplo, el mayor consenso podría ser explicado por especies de distribución más amplia o de mayor abundancia. La disponibilidad del recurso, ha sido señalado como un factor determinante en la selección de especies en las herbolarias locales e intensamente estudiado por la etnobotánica (Albuquerque et al., 2019). Conjugar los datos aquí presentados con variables ecológicas, podría contribuir a explicar los patrones de conocimiento hallados en este macro nivel por lo que futuros trabajos en esta línea podrán ser realizados (Gutiérrez Santillán et al., 2019).

El patrón de uso a macroescala muestra una gran diversidad de especies comestibles nativas que han sido parte fundamental de la alimentación de los pueblos originarios, pero que también tiene uso funcional. Esto se evidencia al corroborarse las hipótesis 1, 2 y 4 que dan cuenta que dichas plantas poseen en el registro un rol significativo en las costumbres de la región. Las especies principales como *Berberis microphylla*, *Ribes magellanicum*, *Fragaria chiloensis*, *Ephedra ochreata* y *Aristotelia chilensis*, serían especies muy importantes del patrimonio de berries de la Patagonia argentina.

Las especies que constiyuen los alimentos locales que fueron detallados tienen mucha potencialidad. *Aristotelia chilensis* posee bayas de sabor ácido que han recibido gran atención como súper alimento por su alto contenido en antocianinas (Brauch et al., 2016, Ruiz et al., 2010). *F. chiloensis* posee frutos de extraordinario aroma y ha servido para la obtención de *Fragaria x annanasa*, la frutilla que se cultiva y comercia en todo el mundo (Finn et al., 2013). En cambio, el resto de las especies, no han sido destacadas por la ciencia hasta el momento, a pesar que las especies tienen una fuerte tradición identitaria de utilización (Molares y Ladio, 2014).

Cabe señalar que desde un punto de vista productivo, se está avanzando en Chile con el estudio de *A. chilensis* y *B. microphylla* para su domesticación donde también crece naturalmente (Pino et al., 2017; Vogel et al., 2011). En cambio, si bien *R. magellanicum* ha comenzado a ser estudiada desde el punto de vista agronómico (Arena y Coronel, 2011), no se tiene conocimiento de su posible domesticación. Hasta el momento, no se encontró información de posibles estudios productivos sobre *Ephedra ochreata*, mostrando que este aspecto amerita un mayor desarrollo.

Por otro lado, los resultados sobre las familias botánicas de mayor consenso de uso, podrían ser tenidos en cuenta para la investigación de otras especies, que también puedan presentar ventajas agronómicas. Por ejemplo, si bien *B. microphylla* posee mayor consenso dentro de la familia de las Berberidaceae, *B. darwinii* podría tener ventajas productivas. Mientras la primera posee frutos solitarios, la segunda fructifica en forma de racimo, con un mayor número de frutos (Landrum, 2007). De todas formas, se requieren estudios en cuanto al tamaño de los frutos y la proporción de semillas, entre otros.

Las principales familias botánicas que poseen frutos comestibles son aquellas con alta proporción de frutos carnosos de los bosques andino patagónicos. Si bien es un carácter más frecuente de las familias botánicas tropicales, se estima que el 50% de las especies leñosas del bosque templado de Sudamérica poseen frutos carnosos (Aizen y Ezcurra, 1998). Para la Patagonia argentina se encontró que las familias que aportan mayor riqueza de especies con berries son principalmente Rosaceae, Grossulariaceae, Anarcardiaceae y

Berberidaceae, todas ellas provenientes de especies leñosas. Y coinciden con aquellas de mayor consenso (Berberidaceae, Rosaceae y Grossulariaceae). A su vez, esto podría estar relacionado con la presencia de compuestos químicos que influyan en el sabor de los frutos. La construcción de árboles filogenéticos, que puedan ayudar a explicar alguno de estos patrones puede ser una alternativa de evaluación con los datos aquí registrados (Albuquerque et al., 2019b).

La gran cantidad de alimentos locales que proveen las especies nativas, llama la atención especialmente. Estos resultados, dan indicios del probable rol protagónico que pudieron tener los berries en la seguridad alimentaria de la región. Por otro lado, se observa que hay un gran aprovechamiento de los frutos en su estado fresco. Estos resultados mostrarían que las prácticas locales promueven la obtención de máximos beneficios nutricionales de estos recursos. Un menor procesamiento de los alimentos se traduce en general en una mayor disponibilidad de los nutrientes, como la vitamina C (Shahidi, 2009), mientras que la preparación de dulces y bebidas con frutos indica estrategias que propician la conservación en el tiempo, el almacenamiento y aprovechamiento de excedentes. Las bebidas con berries son importantes alimentos locales, que se evidencian en la amplia riqueza de especies nativas empleadas. Por lo que se puede interpretar que las bebidas han sido importantes elementos de diversificación de la dieta. Este tipo de preparaciones son una alternativa para aquellos frutos que quizás no tengan buenos atributos, ya sea en contenido de pulpa o sabor, y que igualmente pueden ser aprovechados bajo estas formas de procesamiento. Usos similares de los frutos silvestres, como el de frutas frescas, en dulces, jaleas y licores, han sido descriptos en la actualidad por Łuczaj y Szymański (2007) en Polonia.

Según el registro, las comunidades de la Patagonia argentina también han incursionado extensamente con la diversidad de frutos de berries en la elaboración de bebidas fermentadas, principalmente bajo la forma de chicha. La chicha es una bebida fermentada elaborada con frutos y semillas, que en muchos casos eran masticados por las personas y luego almacenados para su fermentación. Esta preparación era y es de gran valor cultural y espiritual ya que se bebe en las festividades del pueblo Mapuche (Pardo y Pizarro, 2005). Por su parte desde el campo de la microbiología se aisló a la levadura *Pichia kudriavzevii* de

berries nativos de la Patagonia, que podría ser uno de los microorganismos responsables de los procesos de fermentación (Del Mónaco et al, 2016). Por otro lado, si bien no se documentó el uso medicinal de estas preparaciones, el consumo moderado de bebidas fermentadas ha sido vinculado con la prevención de enfermedades cardiovasculares y cáncer, debido a su contenido en alcohol y polifenoles (Arranz et al., 2012). Esto abre un extenso abanico para la exploración microbiológica y etnofarmacológica de bebidas locales, teniendo en cuenta el amplio conocimiento que los habitantes de la Patagonia poseían. Por su parte, Sõukand et al. (2015), llevaron adelante una investigación sobre los productos fermentados que se elaboraban en Europa del este, mediante revisión de bibliografía y estudios de caso. Los autores encontraron más de 100 especies involucradas en estas preparaciones y otros alimentos con fines medicinales, mostrando el enorme aporte de estas elaboraciones en la soberanía alimentaria.

El patrimonio de berries de la Argentina posee una gran riqueza de especies que han sido aprovechadas desde su valor funcional y por lo tanto pueden constituir alternativas de alimentos saludables o fitoterápicos. Las 30 especies, mayormente nativas, aquí listadas que surgen del análisis macroetnobotánico, representan 30 oportunidades de estudio que además pueden ser guiados por los valores de consenso. Desde la cosmovisión Mapuche, alimentarse con frutas silvestres implica nutrirse con la energía de la Tierra (llamada en la lengua nativa del mapuzungum: "afutum"), energía que no se puede transferir de ninguna otra manera (Ladio y Molares, 2017). En otras palabras, la clasificación de una especie como funcional está inseparablemente respaldada por la cosmovisión local. Reyes-García (2010) propone especialmente que deben atenderse dichas cosmovisiones para interpretar el uso de las plantas medicinales en los contextos tradicionales, y no sólo considerar su eficacia farmacológica.

Se encontró que en el patrimonio local de berries hay igual riqueza de especies comestibles que funcionales. Entre las especies de mayor consenso funcional, algunas han sido recientemente estudiadas, sin embargo, poco se sabe de la química y bio-actividad de otras. Ya se han demostrado las propiedades analgésicas y antiinflamatorias, de *A. chilensis* (Romanucci et al., 2016). Éstas coinciden con el tratamiento del dolor y la inflamación y

podrían estar relacionadas con otras dolencias encontradas en este trabajo. Jiménez Aspee et al. (2015), aportan evidencia del potencial antioxidante y del perfil químico de los frutos de *R. magellanicum*, de la Patagonia argentino-chilena. *E. ochreata*, es una de las especies menos estudiadas, no es un fruto verdadero según la botánica, sino que se trata de un grupo de brácteas modificadas. Otras especies como *B. microphylla*, han sido recientemente estudiadas y revelan un prometedor contenido antioxidante y propiedades antidiabetógenas (Reyes-Farias et al., 2016; Ruiz et al., 2010). Más ensayos y un mayor análisis se requerirían para relacionar estos hallazgos químicos y biológicos, con las propiedades saludables aquí presentadas.

Los resultados del estudio a macroescala para las familias botánicas con especies funcionales, muestran familias de interés farmacológico: Eleaeocarpaceae, Ephedraceae, Grossulariaceae y Myrtaceae. Elaeocarpaceae es la familia a la que pertenence *A. chilensis*, para la cual ya se han citado algunos de sus atributos saludables y que posee altos niveles de consenso. Otra familia de gran interés que se destaca en la bibliografía es Ephedraceae. Si bien, esta familia es famosa por poseer efedrina, las especies del continente americano contienen el alcaloide en niveles muy bajos o no lo contienen, pero sí se cree que poseen otros compuestos nitrogenados de interés terapéutico (Caveney et al, 2001). Por otro lado, otros estudios han logrado probar la presencia de proantocianidinas en *E. ochreta*, *E. chilensis*, pero su ausencia en *E. triandra* (Ricco, et al 2003). Por lo que aún resta mucho por estudiar de esta familia y sus especies del "nuevo" mundo. Con respecto a Grossulariaceae (familia a la que pertenecen los *Ribes*) y Myrtaceae, sus especies patagónicas han sido estudiadas en los últimos años. En la revisión de Schmeda-Hirschmann et al. (2019), se da cuenta de las propiedades antioxidantes de los frutos de ambas familias y de los posibles efectos hipotensores y antimicrobianos de *Ugni molinae* (Myrtaceae).

En cuanto a las dolencias, el cúmulo de trabajos sistematizados muestra la potencialidad de los berries que han sido utilizados como elementos terapéuticos. Un amplio espectro de dolencias es tratado con berries, aunque las principales son las digestivas y respiratorias. Molares y Ladio (2009) también encontraron que las afecciones digestivas eran muy frecuentemente tratadas con plantas medicinales de la Patagonia. Por otro lado, se aprecia

una gran versatilidad en el uso medicinal de las especies de berries. Varios trabajos han propuesto que este carácter le brinda flexibilidad a las herbolarias regionales permitiendo la alternancia de usos de acuerdo a los contextos y necesidades (Rossi-Santos et al., 2018). Particularmente, en concordancia con Molares y Ladio (2009), *A. chilensis* y *S. nigra* se distinguen como los elementos más versátiles. Otras especies de gran versatilidad encontradas en el patrimonio de berries de Argentina son *B. microphylla y Luma apiculata*, cuyo estudio químico ha comenzado, pero su estudio farmacológico es aún incipiente (Schmeda-Hirschmann et al., 2019). Cada dolencia citada para cada especie, representa un desafío para la etnofarmacología en pos de explicar los mecanismos y moléculas que podrían estar involucradas.

Los berries de Argentina son también una importante fuente de medicinas, en las que toda la planta es aprovechada de manera integral. Un gran número de medicinas han sido descriptas, entre las que las infusiones y decocciones constituyen las formulaciones principales elaboradas con la riqueza de berries. Estos procesos podrían estar favoreciendo la extracción de los principios activos (Atoui et al., 2005). Además, las distintas drogas vegetales provenientes de los berries son utilizadas. Es decir que, otras partes vegetales además de los frutos pueden ser fuente de metabolitos de interés. De hecho, los frutos de los berries se caracterizan por poseer grandes proporciones de agua (Hurrell et al., 2010), por lo que otras partes de la planta podrían poseer mayor concentración de metabolitos secundarios. Por ejemplo, las hojas de *Morus alba* han sido descriptas por poseer considerable cantidades de polifenoles (Sánchez-Salcedo et al., 2015). Toda esta información, muestra la amplia experimentación de los habitantes de la Patagonia argentina con los berries, haciendo uso de las distintas partes de la planta y desarrollando distintas formulaciones además del consumo fresco.

Siguiendo a Maffi, (2005) el amplio desarrollo de conocimientos sobre las plantas nativas como los evidenciados en esta revisión, probablemente sea resultado de la co-evolución entre personas y plantas en estas tierras. Éste es concebido como un proceso en el que las personas transforman, y por lo tanto experimentan con su entorno con el fin de asegurar la perpetuación de sus formas de vida (Albuquerque et al., 2019b; Laland et al., 2016). Sin

embargo, las especies exóticas también ocupan un lugar importante, reflejando posiblemente patrones ligados a un manejo adaptativo, es decir, que los usos de las plantas reflejan los cambios socioambientales que se están dando en la región, en particular el de las invasiones biológicas de plantas (Zimmermann et al., 2011).

Finalmente, es preciso considerar que este estudio macroetnobotánico se basó en información secundaria. Si bien se ha logrado una síntesis a partir de información fragmentaria y dispersa, ésta tiene limitaciones. Cada uno de los autores que han formado parte de este trabajo en forma indirecta, han plasmado sus sesgos y propias visiones acerca del uso de las distintas especies (Ochoa y Ladio, 2011). Muy probablemente, información valiosa de primera mano ha sido reinterpretada o invisibilizada bajo el sesgo de las tradiciones culinarias propias de cada autor. Probablemente este análisis pueda ser mejorado con otras herramientas, como las proporcionadas por el meta-análisis (Gutiérrez Santillán et al., 2019), en las que se pueda calificar a las fuentes bibliográficas, aunque esto también implicaría una fuerte reinterpretación con sesgos. Por otro lado, realizar trabajos de campo junto con numerosas comunidades que se encuentran distantes geográficamente y culturalmente entre sí, es prácticamente una tarea difícil de llevar a cabo, por lo que este estudio es un puntapié para propulsar la temática y repensar futuros análisis colaborativos.

## **CONCLUSIONES**

El enfoque macroetnobotánico muestra la existencia de un patrimonio biocultural de berries de la Patagonia argentina. Éste está conformado por una gran riqueza de berries (72 especies), 160 alimentos locales, 52 medicinas y un amplio espectro de dolencias tratadas con estas especies. En su conjunto, este trabajo proporciona una imagen general (que abarca casi 136 años, aunque con muchos vacíos, y un amplio rango geográfico) que muestra no solo el potencial de estudio de todas estas especies patagónicas, sino también el gran patrimonio alimentario local. Esta información apoya la importancia de considerar a la diversidad biocultural local (especies más conocimientos locales) como un elemento sustancial para el desarrollo del sistema alimentario de la región. El papel de dichas especies

y sus alimentos locales genera resiliencia alimentaria, propiciando alternativas distintas frente a cambios ambientales y sociales (Berkes et al., 2000; Sõukand et al., 2015).

Este cúmulo de información proporciona además una base sólida para trabajar conjuntamente con otros grupos de investigación en la búsqueda de patrones geográficos y temporales que amplíen el conocimiento a una escala macroecológica. La posibilidad de estudiar patrones desde la macroetnobotánica en colaboración con otros grupos (redes), puede ser muy relevante dado que de este modo se podría monitorear la explotación de las especies a nivel regional, y evidenciar su estado de conservación. Dado que gran parte de las especies en uso son silvestres, se podría evidenciar el posible grado de vulnerabilidad en que se encuentran efectivamente, considerando los distintos niveles de presión de recolección. Por otra parte, se podrían propulsar la domesticación de poblaciones de especies que posean altos rendimientos y propiedades organolépticas y funcionales destacables, como estrategias de desarrollo regional.

# Capítulo II

Conocimiento ecológico local de especies de berries y sus alimentos locales en una comunidad rural de la Patagonia argentina

## INTRODUCCIÓN

Las plantas silvestres y cultivadas comestibles son un componente primordial en la dieta de las poblaciones rurales del mundo (Pieroni et al. 2016), por lo que constituyen un aspecto esencial de su soberanía alimentaria. Varios autores han distinguido que los conocimientos ecológicos locales (CEL) referidos a las plantas comestibles constituyen un cuerpo específico de saberes y prácticas directamente vinculados con la supervivencia y la herencia cultural (Berkes et al., 2000; Pieroni et al., 2016). Se sustenta en la transmisión social de saberes locales (Lozada et al., 2006), por lo que es considerado un eje relevante del patrimonio biocultural. A través de los estudios de caso en comunidades locales (aproximación que llamamos aquí de microescala), es posible identificar los conocimientos compartidos en una población y los vínculos específicos que cada una de las personas entablan con las distintas especies.

Las múltiples dimensiones que posee este corpus complejo sobre plantas comestibles, solo puede ser acabadamente comprendido si se considera la cosmovisión del grupo que lo sustenta, es decir las visiones compartidas sobre dichos elementos (Berkes et al., 2000). En particular, la cultura alimentaria de una comunidad, refleja no sólo formas similares de relacionarse con el entorno y utilizarlo, sino también aspectos cognitivos comunes (Pieroni et al., 2016). Por ejemplo, cómo categorizar a las plantas, ya sea si son o no comestibles, si tienen sabor agradable o no, o si remiten a tradiciones ancestrales (Heinrich et al., 2006). Además, no menos importante, en el estudio de dicha percepción es necesario incluir valores relacionales vinculados a lo emocional y vivencial que influye en las personas en los procesos de selección y uso (Muradian y Pascual, 2018).

Documentar en detalle el CEL sobre plantas comestibles adquiere gran relevancia, debido a la existencia de procesos de pérdida de conocimientos locales. La migración de los jóvenes a la ciudad y el envejecimiento de las poblaciones rurales han sido interpretadas como causas del abandono de prácticas que se desarrollan en los sistemas tradicionales de obtención de alimentos (Moreno-Calles et al., 2013). La homogenización de los paisajes y los procesos de globalización de la agricultura (Eyssartier et al., 2011), así como el abandono

de la recolección de plantas silvestres (Menéndez-Baceta et al., 2012; Reyes-García et al., 2013), también han sido señalados como tendientes a la pérdida de la biodiversidad local, y con ella, de los conocimientos relacionados a las plantas (Bvenura y Sivakumar, 2017; Hilgert et al., 2014; Reyes-García et al., 2013).

Las especies exóticas, parecen jugar un rol muy importante en los sistemas de conocimiento actuales. La significancia de las plantas exóticas ha sido asociada con diversos procesos vinculados a la imposición de dietas exógenas (Eyssartier et al., 2011; Ochoa y Ladio, 2011), a la perdida de costumbres culinarias (Ochoa y Ladio, 2011), a los reemplazos por otros recursos más abundantes o disponibles (Rossi-Santos et al., 2018) entre otros factores. Por su parte, Medeiros et al. (2013) han sugerido que las especies introducidas pueden sustituir a las especies nativas o bien cubrir nuevas necesidades en la farmacopea local, por tanto, cumplen un rol complementario. En este sentido, en el análisis a macroescala del Capítulo I se muestra cómo un gran número de especies exóticas aparecen en la dieta y la etnofarmacopea de la región patagónica. Estos procesos de cambio, han sido asociados al concepto de hibridación, como procesos de reconversión cultural que actúan de manera dinámica cuando distintas sociedades se ponen en contacto (García Canclini, 1990). En etnobotánica, estos procesos en el que un elemento de otra cultura se conjuga con los locales han sido definidos como de hibridización cultural (Ladio y Albuquerque, 2014) y están siendo descriptos en los últimos años para las comunidades locales (Medeiros et al., 2017; Medeiros et al., 2013; Richeri et al., 2013).

Los pobladores rurales recrean el patrimonio alimenticio local en su vida cotidiana. Esta reproducción articula elementos tangibles e intangibles que deben ser dilucidados. Un caso ampliamente difundido es por ejemplo el de la dieta mediterránea que comprende una gran cantidad de verduras y frutas, principalmente domesticadas, además de frutos secos. Las aceitunas y el aceite de oliva son la fuente principal de grasas y ácido linoleico (Cortes Sánchez-Mata y Tardío, 2016; Pieroni et al., 2016). Pero también, se ha descripto que las plantas comestibles silvestres integran este patrimonio, representando prácticas locales de recolección y elaboración culinaria (Cortes Sánchez-Mata y Tardío, 2016). Con la intención de cuantificar esta parte del patrimonio de distintas regiones, Menéndez-Baceta et al.

(2012) encontraron 49 especies silvestres comestibles en Gorbeialdea, que representa casi el 3% de la flora del país Vasco. Mientras que para toda España las plantas silvestres comestibles documentadas, representan el 6% de la flora del país (Menéndez-Baceta et al., 2012; Tardío et al., 2006). Plantas silvestres, variedades específicas de plantas cultivadas, forman parte no solo de los paisajes regionales naturales y antrópicos, sino también están incluidas en prácticas agrícolas, formas de procesamiento pos-cosecha, recetas familiares, conmemoraciones locales, cantos, leyendas, entre otras (Bussmann et al., 2016; Eyssartier et al., 2011; Pieroni et al., 2016; Sedrez dos Reis et al., 2014).

En el estudio de las plantas comestibles, la exploración de los alimentos locales, además representa una expresión fundamental del patrimonio comestible. Heinrich et al. (2006), incluyen dos dimensiones importantes bajo el marco conceptual que comprende a los alimentos locales, el geográfico y el cultural. Los autores refieren que los alimentos locales a base de plantas, poseen ingredientes que crecen en un determinado lugar (son recolectados, o cultivados) y son preparados en platos o especialidades por parte de un grupo humano acotado (cultural, social o políticamente). En esta definición, los autores contemplan que el origen biogeográfico de las especies utilizadas puede ser exótico. Como por ejemplo, podrían ser los duraznos y alimentos preparados con ellos en el norte de Argentina (Lambaré et al., 2015), ya que son producidos o recolectados y preparados para su consumo local.

El estudio del CEL comestible en la microescala, además de visibilizar el patrimonio local y sus potencialidades, permite comprender cómo los seres humanos han experimentado con la diversidad de su entorno vegetal en busca de bienestar. Como fue establecido por Etkin y Ross (1982), el estudio etnofarmacológico en las comunidades rurales e indígenas, debe ser abordado entendiendo la existencia de la integralidad de los conceptos de alimentación y salud. Además, los autores proponen que, con la ingestión de plantas de forma repetitiva, como puede ocurrir en la dieta y también en las medicinas herbales, una gran cantidad de compuestos activos (los metabolitos secundarios de las plantas), están siendo introducidos. Este tipo de interconexión entre dieta y salud en los contextos tradicionales, ha sido denominada como interfaz alimento-medicina, definida como una línea difusa entre lo que

es un alimento y un elemento terapéutico. En su exploración, numerosas investigaciones han buscado identificar la identidad de las especies que cumplen roles duales (Alarcón et al., 2015; Jennings et al., 2015; Roulette et al., 2018; Touwaide y Appetiti, 2015), probablemente por el creciente interés en la búsqueda de alimentos funcionales.

Múltiples conceptos surgen en la literatura etnobotánica y etnofarmacológica en los que se manifiesta la interfaz alimento-medicina. Alarcón et al. (2015), usan el término de "plantas alimento-medicina" (health-food plants), para designar a las especies que tienen usos duales. Para las formas de uso, es decir aquellas transformaciones humanas de las plantas para su ingestión o consumo, hay cierto consenso en la literatura en considerar "alimento medicina" (food medicine), a aquellos alimentos usados para tratar una afección particular (Kujawska y Pieroni, 2015; Pieroni y Price, 2006; Pieroni y Quave, 2006; Roulette et al., 2018). Estos serían usados, por lo general, dentro de un contexto alimenticio (Pieroni y Quave, 2006). Pieroni y Quave (2006), además, proponen como "alimento funcional tradicional" (folk functional foods), a aquellos alimentos que no tienen como fin tratar una patología concreta, sino que son considerados "saludables" o con un rol preventivo. En definitiva, estos conceptos muestran la superposición de usos y en consecuencia la multifuncionalidad de las especies.

La investigación etnobotánica de los frutos comestibles, y en particular de los berries y sus alimentos locales, puede contribuir en gran medida a la etnofarmacología. Varios estudios etnobotánicos han destacado la prevalencia y la importancia actual de los conocimientos vinculados específicamente a las frutas, en comparación a otras categorías como por ejemplo el uso de hojas comestibles, (Kujawska y Łuczaj, 2015; Łuczaj y Szymański, 2007a; Menéndez-Baceta et al., 2012). Esto da cuenta, de que a pesar de los procesos de pérdida del conocimiento que han sido observados, el CEL sobre frutos comestibles podría estar menos afectado que otros grupos de la flora. Por otro lado, se ha incrementado la evidencia que muestra la potencialidad de los berries (Asgary et al., 2018; Nile y Park, 2014; Skrovankova et al., 2015) y sus biocompuestos (Naseri et al., 2018). Finalmente, el estudio de los alimentos locales que contienen berries, es en la actualidad una oportunidad para la etnofarmacología, en tanto se pueda evidenciar el abanico de biocompuestos que se ponen

disponibles para las personas en los frutos sin procesar, así como en las distintas recetas, es decir a partir de la acción gastronómica humana transformadora (Heinrich, 2015; Pieroni et al., 2016).

Son múltiples las implicancias del estudio del CEL sobre plantas comestibles, que además incluyan la exploración de la interfaz alimento medicina. Este estudio permite visibilizar la riqueza de especies comestibles y funcionales (de uso dual), sus familias botánicas, alimentos locales, usos medicinales, medicinas, drogas vegetales y aproximarse a las lógicas de uso. En esta riqueza además se pueden encontrar especies claves (como se detalló en el Capítulo I), que pueden contribuir a visibilizar especies, actualmente en uso, y que podrían convertirse en cultivos alternativos. De aquí que estos estudios a microescala puedan contribuir a dar respuestas de salud global, pero también se podrían propiciar acciones de desarrollo local.

Este estudio se llevó a cabo en la Comunidad de Cuyín Manzano que posee una larga trayectoria de interacción entre las personas y su entorno. Estudios arqueológico han revelado que esta comunidad tiene una historia de poblamiento de 9000 AP y que se presume era un lugar donde las personas se asentaban por un tiempo prolongado (Hajduk et al., 2008). Por otro lado, el CEL sobre plantas comestibles y medicinales de los pobladores de Cuyín Manzano, ya ha sido motivo de investigación en estudios de hace 16 años (Lozada et al., 2006) y otro más recientes sobre órganos subterráneos comestibles (Ochoa y Ladio, 2015). Por lo tanto, Cuyín Manzano constituye una comunidad rural con una larga historia de interacción y documentado conocimiento sobre el tópico de interés de esta Tesis.

#### **OBJETIVOS**

- Explorar y documentar detalladamente el CEL sobre los berries patagónicos, en una comunidad rural actual y determinar el consenso de uso para cada especie involucrada.
   Además, indagar en la existencia de patrones diferenciales de uso comestible, según sea el origen biogeográfico de las especies.
- 2) Documentar los alimentos locales que contienen y se elaboran a partir de los berries.

- 3) Establecer en qué proporción las especies de berries son usadas de forma funcional.
- 4) Estudiar el CEL sobre las especies funcionales, cuál es el consenso de uso funcional y la versatilidad de uso medicinal de cada una de las especies de berries. Además, indagar en la existencia de patrones diferenciales en el uso funcional, según sea el orígen biogeográfico de las especies.
- 5) Indagar en las medicinas elaboradas con las drogas vegetales de las especies de berries.
- 6) Explorar la existencia de la interfaz alimento-medicina en la población de estudio, mediante la identificación de la superposición de especies, formas y lógicas de uso.
- 7) Comparar como varió el conocimiento de las especies nativas y exóticas de berries entre las personas en un lapso de 16 años.

## **HIPÓTESIS**

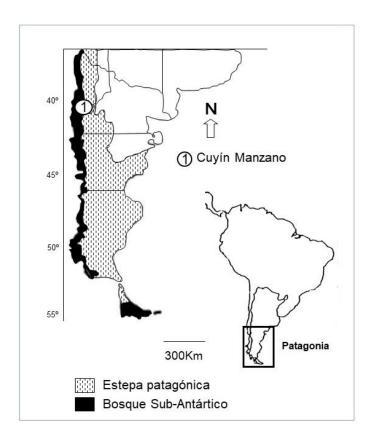
- 1. Dada la larga historia de interacción de las personas y las plantas nativas, existen patrones diferenciales de conocimiento y uso de los berries por parte de los habitantes de una comunidad rural, según sea el origen biogeográfico de las especies. Por lo tanto, se espera que: a) la riqueza, b) la frecuencia de citación y c) el consenso de uso de los berries nativos sea mayor que el de exóticas.
- 2. De manera similar, se espera que el número de alimentos locales por especie, sea mayor para los berries nativos.
- 3. Dada la evidencia científica que apoya el valor funcional de los frutos del tipo berries, se espera que la riqueza de especies funcionales sea mayor, en comparación a la riqueza de especies solo comestibles.
- 4. Como las especies nativas de berries han tenido mayor historia de uso funcional en la región, que las especies exóticas, se espera que ese mismo patrón se repita en la actualidad. Por lo tanto, a) la riqueza, b) la frecuencia de citación y c) el consenso de uso funcional de las especies nativas de berries será mayor que el de exóticas.

5. El conocimiento sobre berries de las personas en una comunidad rural, antes y después de 16 años, varía entre nativas y exóticas.

## **ÁREA DE ESTUDIO**

Cuyín Manzano es una comunidad rural, de la provincia de Neuquén (40° 45 S y 71° 10 O), que se encuentra dentro del Parque Nacional Nahuel Huapi (PNNH), a 70 km de la ciudad de Bariloche. Además, es parte de la Reserva de la Biosfera Andino Norpatagónica (UNESCO). El clima en la región es frío y húmedo, con precipitaciones de régimen mediterráneo, lluvias y nevadas principalmente en invierno (TMA 7,4 °C). Esta comunidad está ubicada principalmente en la costa del río Cuyín Manzano, en un ambiente ecotonal entre la estepa y el bosque (Fig. 2.1). La estepa se caracteriza por especies de *Senecio* spp., *Stipa* spp. y *Mulinum spinosum* (Cav.) Pers, entre otras (Ochoa y Ladio, 2015). Mientras que en el bosque abundan especies como *Austrocedrus chilensis* (D. Don) Pic.Serm. & Bizarri, *Lomatia hirsuta* (Lam.) Diels, *Maytenus boaria* Mol., y sobre los 900 msnm *Nothofagus pumilio* (Poepp. & Engl.) Krasser (Ochoa y Ladio, 2015).

Debido a fuertes procesos de emigración, la población ha decrecido en lo últimos años y en la actualidad hay 13 familias habitando el lugar. El origen de la población es mixto, algunas personas son descendientes directos de pobladores Mapuches y Tehuelches, otros con ascendencia mixta, conocidos como criollos. La actividad económica de los pobladores se ha diversificado con el tiempo, se dedican a la ganadería, el turismo, las artesanías, pero también como empleados, principalmente de la escuela pública albergue que se encuentra en el lugar, y de una estancia privada cercana.



**Figura 2.1** Sitio de estudio: Cuyín Manzano, PNNH, Neuquén. Adaptado de Molares y Ladio (2012).

## **METODOLOGÍA**

El trabajo de campo siguió el Código de Ética de la Sociedad de Etnobiología (ISE, 2006) y la Declaración del Consenso sobre estudios de campo etnofarmacológicos (Heinrich et al., 2018). Como se trata de un área de reserva, para llevar a cabo esta investigación cada año se solicitó el permiso de la Administración de Parques Nacionales. En la comunidad, previo pedido y obtención del CPI (Consentimiento Previo Informado), se realizaron enlistados libres, entrevistas semiestructuradas, entrevistas en profundidad y observación participante junto a los informantes (Albuquerque et al., 2010; Guber, 2001). Para su desarrollo se usaron herramientas del método etnográfico, en las que se buscó que el investigador ejerza la menor directividad de las respuestas (Guber, 2001). Participó el 90% de la población (11 hogares) incluyendo a varios integrantes de cada una de las familias, y

cada hogar fue visitado múltiples veces durante 2015-2018. La edad de los informantes adultos fue de 31-67 años. Los pobladores fueron consultados sobre las plantas con frutos comestibles pequeños (berries), silvestres y cultivadas que crecen en el lugar. Todas las especies fueron mencionadas por su nombre común y luego identificadas taxonómicamente. Se realizaron caminatas con informantes, donde se colectó material de referencia. Para el reconocimiento de las especies se usaron los herbarios de campo y material del Herbario del Grupo de Etnobiología del INIBIOMA, que además se complementó con fotografías. Los especímenes se encuentran depositados en el herbario del Grupo de Etnobiología del INIBIOMA (cuyos números de voucher aparecen en la Tabla 1). La nomenclatura empleada fue adapta a The Plant List (www.theplantlist.org). El tipo de fruto fue clasificado siguiendo a Correa (1998, 1984, 1984, 1971).

#### Análisis de datos

Para este Capítulo se calcularon: NAL (número de alimentos locales por especies) para las especies nativas y exóticas, alimentos locales, dolencias, UV y medicinas. También los índices CU (Consenso de Uso), CUF (Consenso de Uso Funcional), pero en este caso referidos al total de entrevistados (11).

Adicionalmente, se calculó la superposición de formas de uso como: Superposición de formas de uso= ∑ mismas formas de uso comestible y medicinal/ total de alimentos locales. Es decir, aquellos alimentos locales que también poseen uso medicinal (ya sea para tratar una dolencia o para prevenirla).

Las variables consideradas en los análisis estadísticos fueron:

- Riqueza y frecuencia de citas, para especies nativas y exóticas.
- NAL
- Funcionalidad de la especie (comestibles, funcionales).
- CU y CUF de especies y familias. Todas estas variables fueron descriptas en el Capítulo I.
- Orígen (nativa, exótica).

- Tiempo (antes, después).
- ∑ de personas que citó una determinadad especie en cada trabajo (de hace 16 años y del presente).

## Análisis estadístico y no estadístico

- El análisis de datos, sigue la estructura empleada en el Capítulo I para el análisis del
   CEL de los berries de la Patagonia argentina.
- En adición, en este Capítulo se complementó con análisis del tipo cualitativo (Albuquerque et al., 2014; Guber, 2001; Valles, 1999). Específicamente a través de la utilización del análisis de discurso, en el que se reflejan concepciones individuales, pero también colectivas (Valles, 1999). Mediante esta técnica, se seleccionaron los fragmentos de los discursos de los pobladores, que se consideraron más representativos o significativos, y se incluyeron en el texto con las respectivas iniciales del autor.
- Para el caso del objetivo de comparación del conocimiento de berries entre los pobladores del relevamiento etnobotánico realizado en el 2000 (Lozada et al. 2006) y el presente, se emplearon modelos lineales generalizados (GLM) (Agresti, 2015, 2007; Zuur et al., 2009). Se comparó el número de personas que citó a cada especie (variable cuantitativa) antes (Lozada et al. 2006) y después (datos de esta tesis) como variable respuesta, mientras que el origen y la variable tiempo con 1 (antes) y 2 (después) fueron las variables predictivas categóricas. El análisis se llevó a cabo con el paquete SPSS 17.0.

La Figura 2.2 se realizó en Graphpad Prism 5. Las Figuras, 2.3, 2.4, 2.5 se realizaron en Excel 2016 de Microsoft Office.

#### **RESULTADOS**

## 1. Berries de Cuyín Manzano

## 1.1 Evaluación de patrones de conocimiento y uso de los berries de Cuyín Manzano

En contraposición a las hipótesis 1 a) y b), la riqueza total de especies de berries y la frecuencia de citas son iguales entre plantas nativas y exóticas (p>0,05, test binomial, en ambos casos).

## 1.2 Riqueza y consenso de uso de especies

Se encontró una riqueza de 20 especies de berries (Tabla 2.1) y en promedio se citaron 11 especies por poblador (mín: 7, máx: 19). La identidad de todas las especies encontradas en este capítulo también fue corroborada en una instancia posterior, en un taller participativo de validación y devolución de resultados (Capítulo V).

Las especies nativas con mayor CU son *Berberis microphylla*, *Fragaria chiloensis* y *Aristotelia chilensis*, seguidas por otras especies de Berberidaceae: el "michay de la costa" (*B. empetrofollia*) y el "michay de la cordillera" (*B. serratodenta*) (Fig. 2.2 a). Según el CU, las especies exóticas más importantes son *Rosa rubiginosa*, *Prunus cerasus*, *Sambucus nigra*, *Prunus avium*, *Prunus domestica* y la mundialmente conocida *Rubus idaeus*, entre otras (Fig. 2.2 a).

A diferencia de lo propuesto en la hipótesis 1 c), el CU para los berries nativos es igual al de los exóticos (p>0,05, test de Mann Whitney) (Fig. 2.2 b). Algunos de los frutos de los berries de Cuyín Manzano se muestran en la Figura 2.3.

Se cultivan de manera habitual seis de las especies de berries exóticos (*Fragaria* × *ananassa*, *Prunus cerasus*, *Prunus avium*, *Prunus domestica*, *Rubus ideaeus*, *Ribes uva-crispa*) que tienen como objetivo principal el autoconsumo. Una sola pobladora comercializa a muy pequeña escala algunos dulces, ya que cuenta con un invernadero y una huerta de mayor extensión, que le brinda un pequeño excedente de frutos para la venta.

## 1.3 Riqueza y consenso de uso de familias botánicas

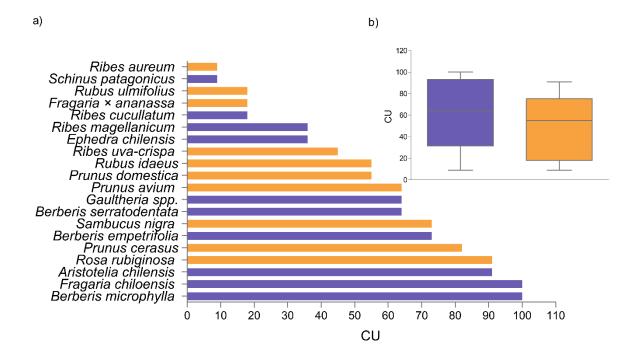
Las especies de berries de Cuyín Manzano incluyen a 8 familias botánicas. Rosaceae es la familia que más contribuye al listado (8 especies), le siguen Grosulariaceae (4 especies) y Berberidaceae (3 especies). Las familias con mayor CU son Berberidaceae, Rosaceae y Elaeocarpaceae.

**Tabla 2.1** Berries de Cuyín Manzano. Origen: na (nativa), ex (exótica), alimentos locales: F (fruto), D (dulce), B (bebida), OT (otros), y NAL (Número de alimentos locales por especie).

Especie	Voucher	Nombre local	Familia	Fruto	Origen	F	D	В	ОТ	NAL
Aristotelia chilensis (Molina)	500 MC	Maqui	Elaeocarpaceae	baya	Na	1	0	0	0	1
Stuntz										
Berberis empetrifolia Lam.	501 MC	Michay de la	Berberidaceae	baya	Na	1	0	0	0	1
		costa								
Berberis microphylla G.Forst.	284 MC	Michay,	Berberidaceae	baya	Na	1	1	1	1	4
		calafate								
Berberis serratodentata Lechl.	528 MC	Michay de la	Berberidaceae	baya	Na	1	0	0	0	1
		cordillera								
Ephedra chilensis C.Presl	503 MC	Cola de	Ephedraceae	bráctea	Na	1	0	0	0	1
		caballo								
Fragaria × ananassa	504 MC	Frutilla	Rosaceae	conocarpo	Ex	1	1	0	1	3
(Duchesne ex Weston)		cultivada								
Duchesne ex Rozier										

Fragaria chiloensis (L.) Mill.	504 MC	Frutilla de campo	Rosaceae	conocarpo	Na	1	0	0	0	1
Gaultheria mucronata (L.f.)	505 MC	Mutilla	Ericaceae	baya	Na	1	0	0	0	1
Hook. & Arn.										
Prunus avium (L.) L.	506 MC	Cerezo	Rosaceae	drupa	Ex	1	1	0	1	3
Prunus cerasus L.	507 MC	Guindo	Rosaceae	drupa	Ex	1	1	1	1	4
Prunus domestica L.	507 MC	Ciruelo	Rosaceae	drupa	Ex	1	1	0	1	3
Ribes aureum Pursh	BCRUE113	Parrilla	Grossulariaceae	baya	Ex	1	1	0	1	3
		cultivada								
Ribes cucullatum Hook. & Arn.	510 MC	Parrilla,	Grossulariaceae	baya	Na	1	0	0	0	1
		zarzaparrilla								
Ribes magellanicum Poir.	511 MC	Zarzaparrilla,	Grossulariaceae	baya	Na	1	0	0	0	1
		parrilla de								
		campo								
Ribes uva-crispa L.	BCRUE114	Grosella	Grossulariaceae	baya	Ex	1	1	0	1	3
Rosa rubiginosa L.	Ladio 136	Mosqueta	Rosaceae	cinorrodon	Ex	1	1	1	1	4

Rubus idaeus L.	Ladio 154	Frambuesa	Rosaceae	multidrupa	Ex	1	1	1	1	4
Rubus ulmifolius Schott	Ladio 137	Murra	Rosaceae	multidrupa	Ex	1	0	0	1	2
Sambucus nigra L.	516 MC	Sauco	Adoxaceae	baya	Ex	1	1	0	0	2
Schinus patagonicus (Phil.) I.M.	Ladio 104	Laura	Anacardiaceae	drupa	Na	1	0	0	0	1
Johnst.										



**Figura 2.2** a) Consenso de uso comestible (CU) de berries en Cuyín Manzano. b) Comparación entre el CU de especies nativas y exóticas. Azul: nativas, Anaranjado: exóticas. No se encontraron diferencias significativas (p>0,05, test de Mann Whitney).



**Figura 2.3** Berries de Cuyín Manzano a) *Berberis microphylla* b) *Gaultheria mucronata* c) *Prunus cerasus* y d) *Ribes aureum*.

## 2. Alimentos locales con berries

En Cuyín Manzano se describieron 44 alimentos locales con berries, 13 alimentos con berries nativos y 31 alimentos con berries exóticos (Tabla 2.1). En contraposición a la hipótesis 2, el NAL es mayor para las especies exóticas (p<0,05, teste de Mann Whitney). Respecto del total de alimentos locales con berries, el 45% corresponde al consumo como frutos frescos, pero también otras formas de consumo fueron documentadas (Fig. 2.3).

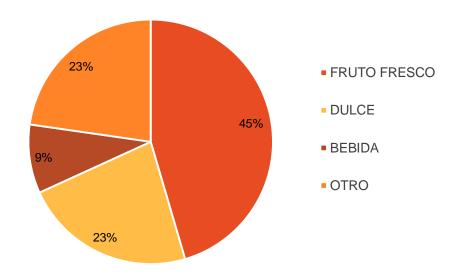


Figura 2.4 Alimentos locales con berries de la comunidad de Cuyín Manzano.

## 2.1 Formas de consumo de alimentos locales con berries nativos

El uso en fresco implica en general la recolección en simultáneo con el consumo, sin una instancia de almacenamiento. En los relatos aparecen las frases de que los frutos se comen: "Así no más" (MC), "De la planta" (ER). Otro poblador refería para la ingestión de frutos de A. chiloensis: "Cuando tenés hambre, en cualquier momento" (DR). De igual manera, uno de los habitantes de la comunidad señalaba que cuando sale al campo con las chivas se lleva un puñado de frutillas silvestres para comerlas enseguida en su casa y compartirlas con su perro. En cambio, otro relato decía: "Tiene mucha pepa, más comen las gallinas" (MC), refiriéndose a los frutos de michay producidos por plantas que tiene en la casa. Sin embargo, uno de los pobladores relata una forma de comer los frutos de michay por parte de sus hijos: "Los chicos guardan en el freezer y van comiendo" (DR). También hay casos de mínimo procesamiento, como el colado de los frutos para la obtención de jugo, o el agregado de azúcar, ambos alimentos con las bayas de michay.

Los relatos dan cuenta que la elaboración de alimentos con frutos nativos es cada vez menos frecuente. Los pobladores describen: "Hice para probar no más, pero ahora no hago más" (MC, NC), referidos al dulce de A. chiloensis y de B. microphylla. Sobre el dulce de maqui un poblador relataba: "El dulce es muy seco, no tiene mucha azúcar (el fruto), hay que ponerle un poco de agua. Hacían mis abuelos y mi mamá. Ahora ya no hace más..." (DR). Para el dulce de michay varios relatos se asemejaban al siguiente: "Una vez hice el dulce, se hace como cualquier dulce. Pero es mucho trabajo cosechar la fruta." (ML, ER). Otro poblador decía: "El michay no tiene mucho ácido, queda más como una jalea que como una mermelada" (EC). Mientras que la pobladora que comercializa dulces caseros compartía el siguiente relato y reflexión, también sobre el dulce de michay: "Sólo lo hacía antes y para la venta únicamente. Es muy trabajoso porque la planta tiene muchas espinas y tenía que cobrarlo más caro. La gente a veces no lo compra por eso, no lo valora... Entonces dejé de hacerlo... Pero tal vez haga dulce de manzana con michay, mezclado para que rinda más." (TC). El tamaño pequeño de los frutos nativos y la presencia de abundantes semillas en las Berberidaceae, aparecen como las principales causas de abandono de estas prácticas culinarias.

#### 2.2 Formas de consumo de alimentos locales con berries exóticos

Los berries exóticos son consumidos en una gran diversidad de formas (Tabla 2.1), entre ellas como fruta fresca. Se comen crudas cerezas, frambuesas, ciruelas, entre otras. Las guindas son muy valoradas: "Es muy fresca, podes comer un montón y no te llena. Puedo estar todo el día prendida a la guinda." (TC). También las frutillas: "No llego a hacer dulce, que ya mis hijas se las comieron todas." (ML). Otro caso menos frecuente es el consumo de las grosellas con sal, solas o en ensaladas, que fue citado por una de las familias. Mientras el consumo de los frutos frescos de Rosa rubiginosa no es una práctica habitual, ya que se señala que poseen una "pelusa" (TC, MC), sin embargo, en una de las familias los niños señalaron que si ingieren los frutos de esta manera. Las frutillas y frambuesas también son consumidas como postre tras el agregado de azúcar o crema. Las cerezas son empleadas en la preparación de ensaladas de fruta y para decorar tortas. Por otro lado, los berries de parrilla cultivada y sauco son considerados indigestos para su consumo crudo.

En la elaboración de dulces los berries exóticos son ingredientes de gran importancia. Con los 10 frutos exóticos citados, se elaboran dulces. Una estrategia usada para su elaboración, cuando se cuenta con poca cantidad de frutos, consiste en la adición de manzanas a la preparación. Es el caso de un poblador que cultiva frambuesas, pero en poca cantidad, que relató que adiciona manzanas a la preparación con el fin de incrementar el volumen y proporcionar brillo y suavidad al producto final. En el caso de *Prunus avium*, varios pobladores mencionaron: "*No sirve para dulce, porque no tiene ácido*" (NC, DR). Sin embargo, la pobladora que comercializa estos alimentos relataba que en su receta ella coloca los carozos, que le proporcionan pectina que espesa la preparación. La misma persona describía que el dulce de *Rubus idaeus* es el más solicitado, y que también lo cuela porque hay clientes que le solicitan sin semillas.

Por otro lado, hay frutos que sólo se consumen en forma de dulces o jarabe como los de: *Rosa rubiginosa* (en la mayoría de los casos), *Ribes aureum* y *Sambucus nigra*. Una de las pobladoras compartía su receta para el dulce de *R. rubiginosa*: "*Primero se le da un hervor a la fruta. Después se filtra con una rejilla blanca, no tienen que quedar ni pepas ni pelusa.* A la pulpa se le agrega azúcar y se deja hervir" (TC). Con respecto a los frutos de *S. nigra*, el 50% de las personas que citaron el consumo de los frutos mencionó la elaboración del jarabe. Esta preparación se describió que es como el dulce, pero "más corredizo", ya que en su elaboración se le agrega agua y en la mayoría de los casos involucra una etapa de filtrado donde las semillas son descartadas.

Las bebidas son otra importante categoría de alimentos locales a base de berries exóticos. Las bebidas con alcohol están representadas principalmente por un licor: el guindado. Esta bebida se elabora con los frutos de la especie exótica *Prunus cerasus*, y se sirve cuando llega una visita al hogar. "Se hace poniendo la fruta en una botella, azúcar, un poco de sal y después el alcohol" (MC). Pero también, se citó la elaboración de un licor con los frutos de *Prunus domestica* (Capítulo V). Otro tipo de bebida muy importante son las infusiones (Capítulo V). Una de ellas se elabora con los frutos secos de *Rosa rubiginosa*, "Ponés los frutitos en el horno hasta que se doren y listo, con eso te hacés el té, es ríquisimo" (NC). En cambio, la infusión de *Sambucus nigra* se elabora colocando una cucharada del jarabe en

una taza, a la que luego se le adiciona agua hirviendo. Otra alternativa, es agregar la jalea a una infusión de té negro (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze).

Otras formas de consumo es la adición de los frutos a la pastelería hogareña, en compotas y conservas usadas como postre. Los frutos de cereza, guindas y parrilla cultivada, son utilizados en la elaboración de tortas y tartas. En las compotas, las ciruelas son hervidas en agua y azúcar. Esta misma preparación también se suele hacer con frutos que han sido previamente secados en el hogar llamados "orejones". La conserva de guindas, es también un alimento que fue mencionado reiteradas veces durante las entrevistas.

## 3. Berries funcionales de Cuyín Manzano

## 3.1 Riqueza y consenso de uso funcional de especies

La superposición de uso comestible y medicinal, fue documentado para 6 especies (30% del total de la riqueza de especies citadas). Este porcentaje hace referencia a 4 especies nativas y 2 exóticas. Sin embargo, a diferencia de lo propuesto en la hipótesis 3, la proporción de especies comestibles y funcionales no difiere (p>0,05, test binomial). Como se muestra en la Tabla 2.2, las especies de berries funcionales con mayor CUF son las exóticas *Rosa rubiginosa* y *Sambucus nigra*, le siguen las nativas *Aristotelia chilensis*, *Ribes magellanicum* y *Berberis microphylla*. *Ribes cucullatum* fue mencionada como medicinal pero no se recordaba su uso concreto.

## 3.2 Evaluación de patrones de conocimeinto y uso funcional de berries

En contraposición de la hipótesis 4, a), b) y c), la riqueza, la frecuencia de citación y el CUF de las plantas nativas es similar al de las exóticas (p>0,05, test de Mann Whitney).

Las especies de berries de Cuyín Manzano son utilizadas para tratar principalmente afecciones respiratorias (43%), entre otras (Tabla 2.2, Fig. 2.4). Sambucus nigra es una de las especies más versátiles, le siguen Rosa rubiginosa, Aristotelia chilensis y Ribes magellanicum con el mismo valor de UV y por último Berberis microphylla (Tabla 2.2).

**Tabla 2.2** Berries funcionales de Cuyín Manzano; valores de CUF (Consenso de uso funcional) y UV (Valor de uso medicinal); dolencias: RS (respiratorias), GI (gastrointestinales), U (urinarias), DE (dermatológicas), S (sangre), OT (otras); medicinas y drogas vegetales: f (fruto), fI (flores), rz (raíz), pI (planta entera); NM (no mencionado).

Especie	CUF	UV	Dolencias	Medicina y droga vegetal
Rosa rubiginosa L.	73	0,82	RS (gripe, tos)	Infusión (f)
			DE (cicatrizante)	Crema (f)
Sambucus nigra L.	73	0,91	RS, OT (tos, da calor al cuerpo)	Infusión (f)
			U (para los riñones)	Infusión (fl)
			RS (tos)	Decocción (f)
			RS, U (tos, para los riñones)	Jarabe (f)
Aristotelia chilensis (Molina) Stuntz	36	0,45	GI (diarrea)	Ingestión del fruto
			RS (tos)	Infusión( f)
Ribes magellanicum Poir.	18	0,27	SA, DE (para limpiar la sangre, para	Decocción (rz, pl)
			las heridas)	

Berberis microphylla G.Forst.	9	0,09	GI (para el dolor de panza)	Ingestión del fruto
Ribes cucullatum Hook. & Arn.	9	-	NM	NM

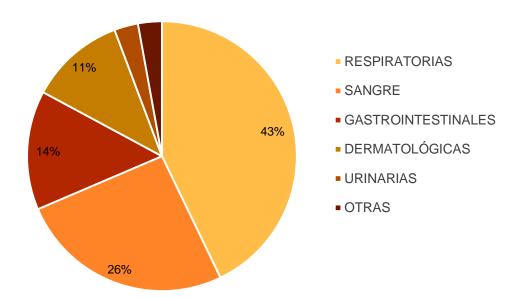


Figura 2.5 Dolencias tratadas con especies de berries en Cuyín Manzano.

# 3.3 Riqueza y consenso de uso funcional de familias

Siguiendo con el análisis de las familias botánicas a las que pertenecen las especies funcionales de berries que se conocen en Cuyín Manzano, estas son 5: Grossularaciaceae (2 especies) y Rosaceae, Berberidaceae, Elaeocarpaceae y Adoxaceae (1 especie cada una). En cuanto al CUF, Adoxaceae (73%), Rosaceae (73%), y en menor medida Elaeocarpaceae (36%), son las familias que se destacan.

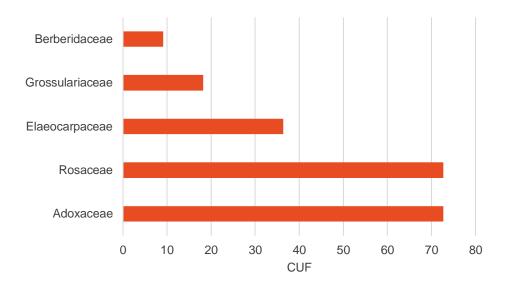


Figura 2.6 Consenso de uso funcional (CUF) de las familias botánicas de berries de Cuyín Manzano.

## 3.4 Medicinas con especies funcionales de berries

En Cuyín Manzano se emplean 10 medicinas (5 con especies nativas y 5 con especies exóticas), elaboradas con las distintas partes de las plantas de berries (Tabla 2.2). Estas incluyen infusiones (33%), jarabes (25%), el consumo de los frutos frescos (17%), decocciones (17%) y cremas (8%) (Tabla 2.2).

Para la elaboración de estas medicinas a base de berries, se emplean principalmente los frutos (34%), las hojas (17%), la planta entera (17%), la corteza (10%), flores, semillas y raíces (8% cada una) (Tabla 2.2). Estos resultados también muestran una superposición de la parte usada, el fruto usado como alimento y medicina.

## 4. Superposición de usos

Se encontró que cinco de estas medicinas eran también consideradas alimento: la infusión de sauco, de mosqueta, los frutos de maqui y michay, y el jarabe de sauco, que representan el 11% de los alimentos locales. El jarabe de sauco, es administrado sólo (sin diluir) principalmente a los niños, pero también a adultos cuando padecen estados gripales. Por otro lado, se identificaron 2 infusiones: el té de sauco y el de mosqueta en las que no sólo había superposición de las formas de uso sino también en el objetivo buscado por las personas tras la ingestión. El té de sauco ya fue descripto como alimento, y se mencionaba que, además, se bebe por las noches para "dar calor al

cuerpo" (NC, TC, DR). De forma análoga, al té de mosqueta, en muchos casos fue difícil categorizar si se trataba de una bebida recreacional o para dar calor o se administraba cuando las personas ya padecían alguna enfermedad.

## 5. Conocimiento de berries antes y después

Las especies citadas por los pobladores en el trabajo de campo del 2000 en relación con el de esta tesis se parecen en un 62%. En concordancia con la hipótesis 5, el conocimiento sobre berries entre los pobladores varió entre el antes y el después, aunque de manera marginalmente significativa (p=0,06, GLM). El origen biogeográfico de las especies varió significativamente con el antes y el después, las exóticas tienen mayor probabilidad de ser citadas en el presente (p<0,05, GLM).

## DISCUSIÓN

Tanto el estudio de caso aquí presentado como los resultados del Capítulo I del análisis de macroescala, coinciden en tres especies de mayor consenso como comestibles: *B. microphylla*, *F. chiloensis* y *A. chilensis*, que actualmente están siendo intensamente estudiadas desde lo etnofarmacológico y agronómico (Schmeda-Hirschmann et al., 2019). También se documentó el uso de estas especies en otras comunidades del norte de la Patagonia. *B. microphylla* y *F. chiloensis* han sido citadas por su recolección y uso comestible en la población Mapuche Rams (Ladio, 2001). Mientras que se tiene registros del consumo de *B. microphylla* y *A. chiloensis* en la población Cayulef (Ladio, 2006). Éstas, así como la totalidad de especies de berries que se presentaron en el Capítulo I, tienen una notoria historia de uso y representan un campo para la innovación (Neri-Numa et al., 2018; Schreckinger et al., 2010). En consecuencia, podrían ser incluidas en programas agrícolas de Argentina que remplacen o complementen la recolección. Estas acciones pueden ser llevadas a cabo bajo políticas que tengan en cuenta las variedades locales y su identidad de origen (Bérard y Marchenay, 2006), y así propiciar su desarrollo productivo sin perder de vista su importantísimo valor cultural.

Berberidaceae, Rosaceae y Elaeocarpaceae son las familias de mayor CU, llamativamente también están entre las más consensuadas en el análisis macroetnobotánico (Capítulo I), y son de gran interés para la zona. Berberidaceae es una familia que está muy representada en Cuyín Manzano, en comparación con otras familias que sólo contienen especies nativas. Un factor, probablemente fundamental para que sean un recurso persistente en los ambientes rurales de la Patagonia, es que las Berberidáceas poseen espinas. Estas constituyen verdaderas defensas físicas a la depredación

de los herbívoros, como el ganado que es un componente principal en la formas de vida de los pobladores rurales de Cuyín Manzano y de la región (Gowda et al., 2014). Por otro lado, las especies de las Berberidaceaes poseen atractivas bayas violáceos-azules, de sabor dulce acidulado ricas en minerales (Damascos et al, 2008), consumidas también en poblaciones urbanas de Bariloche (Ladio, 2005). Además, especialmente de importancia, es que sus especies tienen amplia distribución, particularmente *B. microphylla*, abarcando desde el bosque hasta la estepa patagónica, por lo que está presente inclusive en zonas más áridas.

Rosaceae es una familia que posee frutos silvestres y/o de importancia comercial como las frambuesas, cerezas, guindas, de reconocidas propiedades organolépticas en el mundo (Abbasi et al., 2013; Hurrell et al., 2010; Łuczaj y Szymański, 2007; Segura et al., 2018). En esta comunidad, a esta familia pertenecen la frutilla nativa y la rosa mosqueta, ambas de gran consenso. Las características de la frutilla nativa ya fueron descriptas en el Capítulo I. Con respecto a la rosa mosqueta, los pobladores la emplean en la elaboración de dulces e infusiones. Los dulces tienen importancia comercial en la región, se venden en ferias de Bariloche y son comercializados por pobladores de la Comarca Andina en Chubut (Ladio, 2005; Ochoa et al., 2019). También otras especies exóticas como la frambuesa y la murra, citadas en Cuyín Manzano, poseen destacadas propiedades organolépticas. Para estas dos especies, ha sido descripto el cultivo en Pilcaniyeu del Limay, Río Negro (Eyssartier et al., 2015), así como su comercialización en Bariloche (Ladio, 2005). Por lo tanto, no hay dudas que Rosaceae es una familia muy importante, dado su aporte de berries de gran valor para esta comunidad y en la región. Mientras que a Elaeocarpaceae, sólo está representada por el maqui, pero que, como fue expuesto, reúne un gran número de citas. Por lo que es posible que las especies nativas de estas familias, sean buenas candidatas para su mejoramiento y posterior cultivo a nivel local y regional.

Los resultados encontrados dan cuenta como las personas han empleado los berries para diversificar su dieta, mediante una diversidad de combinaciones de especies y formas de consumo: los alimentos locales. En contraposición a las hipótesis planteadas, los berries exóticos son las especies que aportan mayor cantidad de alimentos locales, por lo que cumplen un rol muy importante. Esto probablemente se deba a que muchas de estas especies han sido domesticadas, con mejores atributos organolépticos que las nativas. Similar a lo encontrado en el Capítulo I, la principal forma de consumo es fresco. Este tipo de empleo, llamado en la literatura como "snack", sería una forma muy frecuente de consumir berries en Patagonia (Ladio, 2001) y en otras partes del

mundo (Kalle y Sõukand, 2016). Esto probablemente se deba a su tamaño pequeño, en algunos casos ausencia de semillas, y que no requieren ser pelados (Neri-Numa et al., 2017).

También es frecuente la elaboración de dulces, jarabes, conservas, o el secado de los frutos, como formas de aprovechar los excedentes y conservar por más tiempo el recurso. La elaboración de dulces con los frutos de rosa mosqueta y murra, como ya fue descripta, pero también con sauco y frambuesa, es un recurso comercial de gran importancia para la región (Ladio, 2005; Ochoa et al., 2019). Pero también estas prácticas, inclusive con las mismas especies de berries, han sido descriptas para otras comunidades del mundo y en el país. Por ejemplo, se elaboran mermeladas y jaleas de *S. nigra* y *R. idaeus*, por distintas comunidades de los Alpes en Italia (Pieroni y Giusti, 2009; Vitalini et al., 2013), en Bielorrusia (Sõukand et al., 2017) y en Austria (Grasser et al., 2012). Además, se ha registrado la elaboración de mermeladas con *S. nigra var peruviana* en comunidades de las yungas salteñas (Schmeda-Hirschmann et al., 2005)

Los licores son otra interesante categoría. En Cuyín Manzano, se elabora el guindado con los frutos exóticos de *P. cerasus*. Este tipo de alimentos también es común en otras partes del mundo, por ejemplo, en Gorbeialdea (país Vasco) se documentó la elaboración de un licor con una especie silvestre también de *Prunus*, *P. spinosa* (Menéndez-Baceta et al., 2012). Por otro lado, los resultados hallados en Cuyín Manzano muestran que no se elaboran licores con especies nativas. Si bien, tampoco es frecuente su documentación en las publicaciones de comunidades rurales de la Patagonia argentina, si se encontró su registro en la tesis de Richeri (2016). La autora cita al licor, jugo y dulce con *B. microphylla*, como alimentos que se elaboran y regalan entre vecinos de comunidades rurales de Chubut. Por otro lado, aparece el registro de la comercialización de licores y helados en comunidades urbanas de Tierra del Fuego Argentina (Devereux, 2006). Para la Patagonia chilena Muñoz et al., (1981), se cita la elaboración de licores con los berries nativos del maqui y la murta (*Ugni molinae*). Las causas de su baja documentación en comunidades rurales de la Patagonia argentina, sería un tópico de interés para futuros estudios.

En Cuyín Manzano, los berries son principalmente usados para tratar afecciones respiratorias, probablemente las más prevalentes en zonas de clima frío como la Patagonia. El sauco y la mosqueta se destacan como las especies con mayor valor de CUF, muy usadas para la tos y la gripe. El sauco además fue la especie con la mayor versatilidad de usos medicinales, para el que además existe una investigación sobre sus propiedades medicinales. Hay evidencia que respalda los efectos terapéuticos de *S. nigra* en las enfermdades respiratorias y el asma (Nile y Park, 2014), así como sus propiedades antibacterianas, antivirales, entre otras (Młynarczyk et al., 2018). El trabajo de

Schmeda-Hirschmann et al. (2005) ya daba indicios del importante contenido de fenoles totales y actividad antioxidante de los frutos de sauco de las yungas de Salta. En tanto que, *Rosa canina*, especie muy emparentada con *R. rubiginosa*, ha sido estudiada por su uso en osteoartritis y afecciones de la piel (Chrubasik et al., 2008). En los estudios etnobotánicos, el sauco fue citado por su uso en resfríos y fiebre en la comunidad de Pichileufu (Río Negro) (Eyssartier et al., 2011), así como la mosqueta para afecciones respiratorias en la comunidad de Nahuelpan (Chubut) (Molares y Ladio, 2014). Por lo tanto, ambas especies exóticas serían importantes elementos de la etnofarmacopea local y regional como se mostró en el Capítulo I.

Por otro lado, Adoxaceae y Rosaceae son las familias que más se destacan por su valor funcional. En el primer caso representada sólo por el sauco, que como se mostró posee un alto valor funcional, y en el segundo por un mayor número de especies que contribuyen al alto valor de CUF de la familia. Esta información puede ser utilizada para futuros análisis que den cuenta de la mayor o menor proporción de especies medicinales en una familia botánica, como los trabajos de Moerman (1991) y posteriores (Moerman, 2013). De esta forma se podría contribuir a explicar lso factores que influyen en la selección de especies medicinales, como fue desarrollado en el Capítulo I.

Entre las formas de uso medicinales de los berries, los resultados dan cuenta de la ingestión de los frutos. Se sabe que, en general, los frutos en estado fresco contienen mayor cantidad de vitaminas y también de otros compuestos como los flavonoides (Klopotek et al., 2005). La ingestión de frutos sin procesar para tratar afecciones, ya fue citado por Martínez Crovetto (1980). El autor describía que los Mapuches de los alrededores del lago Cholila (Chubut), comían los frutos del maqui como "sudorífico". Sería muy interesante identificar los compuestos presentes en los frutos que podrían ser los responsables de las actividades farmacológicas citadas en este trabajo.

Los resultados muestran que las personas no sólo consumen los frutos frescos, sino que también emplean una diversidad de preparaciones medicinales, generando cambios en la composición química inicial de los berries. Por lo general, durante el procesamiento los frutos son sometidos al calor, y según la preparación, son combinados con agua y azúcar. En particular, se conoce que las soluciones acuosas, como es el caso de las infusiones usadas en Cuyín Manzano, son buenos vehículos de compuestos activos como los polifenoles de las plantas (Atoui et al., 2005; Carabajal et al., 2017), que apoya su uso funcional. Por su parte, la infusión de frutos de *S. nigra*, demostró contener importantes cantidades de polifenoles y antocianinas, similares a un extracto etanólico al 70% (Duymuş et al., 2014). De forma similar, la infusión de los frutos de la mundialmente conocida *R. rubiginosa*, ha sido recientemente caracterizada por aportar compuestos con actividad

antioxidante (Jiménez-López et al., 2017). El uso medicinal de las infusiones con especies de berries también ha sido documentado en la literatura de Patagonia. Por ejemplo Martínez Crovetto, (1968), menciona: "El té de las hojas y la corteza se bebe contra el dolor de estómago", haciendo referencia al uso de *Ribes magellanicum* por las comunidades selk´nam de Tierra del Fuego.

Las formas de tipo dulce como jarabes caseros, pueden aportar ácidos fenólicos, fibras y sólidos solubles, entre otros (Abbès et al., 2011; Quispe et al., 2014; Seglina et al., 2006). Son escasos los registros de este tipo de preparaciones, pero Houghton y Manby, (1985) citan que las flores de *Fragaria chiloensis* eran usadas por los Mapuches para la elaboración de un jarabe para la fiebre. Sin embargo, la información de los atributos medicinales y funcionales de las distintas formas de uso de berries nativos, es aún un campo desconocido que merece ser exhaustivamente explorado.

El análisis de los resultados permitió reinterpretar la profundidad de la interfaz alimento medicina en Patagonia, esquematizada en la Figura 2.7. Se encontró superposición de usos (comestible y medicinal) para una misma especie, visibles en el porcentaje de especies funcionales, como ya lo ha mostrado Ladio (2006) para la Patagonia. Pero, las personas no solo han experimentado con las plantas y descubierto sus propiedades medicinales, sino que también han desarrollado diversas formas de preparación. Estas pueden ser entendidas como un amplio universo de formas de uso, que notoriamente también forman parte de una tradición alimentaria local que concibe a las plantas desde una lógica funcional y complementaria para la salud y su vida: los alimentos locales y medicinas.

Los resultados muestran mismas formas de uso que resultaron ser efectivas a nivel comestible y medicinal (superposición de formas de uso según el contexto), coincidentes con los denominados "alimentos medicina" (Kujawska y Pieroni, 2015; Pieroni y Price, 2006; Pieroni y Quave, 2006; Roulette et al., 2018). Pero a diferencia de lo propuesto por Pieroni y Quave (2006), en esta comunidad, los alimentos medicina no sólo son empleados en el contexto gastronómico sino también en el terapéutico. Nuevamente, se puede diferenciar un subgrupo: los "alimentos funcionales locales", similar a los "alimentos funcionales tradicionales" siguiendo también a Pieroni y Quave (2006). Pero a diferencia de lo propuesto por los autores, estos no sólo tienen una función preventiva, sino también pueden emplearse para tratar una dolencia. Estos serían los casos de las infusiones de *R. rubiginosa* y *S. nigra*, para los que en su ingestión pareciera buscarse múltiples objetivos. Este análisis da cuenta no solo de la existencia de la interfaz alimento medicina, sino también de la profundidad que puede alcanzar en estos contextos rurales.



Figura 2.7 Interfaz alimento medicina

Este estudio etnobotánico permitió caracterizar el CEL sobre los berries en la actualidad. Muchas de las especies citadas en este trabajo coinciden con las documentadas en el trabajo de campo realizado en el año 2000 por Lozada et al. (2006) para las especies comestibles y medicinales de Cuyín Manzano, que podría estar mostrando una persistencia del conocimiento de la biodiversidad comestible. Pero, en contraposición, si bien las autoras no calcularon el índice UV, pareciera que actualmente el número de dolencias tratadas con los berries es menor. Por ejemplo, para *R. cucullatum* se habían documentado 3 usos medicinales, mientras en la actualidad los entrevistados no recordaron ninguno. Similarmente, *E. chilensis* había sido considerada como medicinal para tratar afecciones urinarias, y en el presente sólo se la considera comestible. Estos posibles procesos de pérdida del conocimiento a nivel de los usos medicinales, también podrían explicar porque la proporción de especies funcionales no fue mayor a las especies sólo comestibles, como se esperaba en la hipótesis 3. Los resultados de este trabajo podrían ser útiles para realizar un análisis exhaustivo, que permita evidenciar fehacientemente los cambios en el CEL a lo largo del tiempo.

Podemos interpretar el patrón de uso de berries nativos como un signo de alerta sobre la necesidad de mayores estudios de los procesos que conciernen a la flora nativa. Los resultados muestran que, los berries nativos son consumidos para el autoconsumo, principalmente frescos, directo de la planta y en pocas cantidades. En cambio, la elaboración de dulces con estos frutos es una práctica que, según los testimonios, está en abandono en la actualidad. Antecedentes similares ocurren en el norte del país con la "aloja", elaborada con los frutos de distintas especies de Prosopis spp., que

se realiza cada vez con menos frecuencia en los hogares (Anton et al., 2007; Muiño, 2012). De igual manera, un estudio que indagó los procesos de pérdida del uso de plantas silvestres en Estonia, encontró que tanto el consumo como snack de los frutos, así como las mermeladas, estarían siendo recientemente abandonados (Kalle y Sõukand, 2013).

Por otro lado, la pérdida de prácticas culinarias, como la elaboración de dulces, puede llevar a la pérdida del conocimiento como ya se registró en esta comunidad rural (Lozada et al., 2006). A nivel global estos procesos, representan una amenaza del patrimonio intangible de los pueblos del mundo (Bvenura y Sivakumar, 2017; Reyes-García et al., 2013; Sõukand et al., 2017). Otro aspecto de gran relevancia, es el que aporta el relato de la pobladora (TC) que señala que el dulce de michay no es valorado y, por eso, no lo elabora más. Aquí se pone en evidencia la necesidad de promover la puesta en valor de estos frutos nativos, por ejemplo, por sus potencialidades como alimentos funcionales como se verá en el Capítulo III, como estrategia para la conservación de las prácticas locales.

Son visibles los procesos de hibridización del CEL de los berries que se están dando en esta comunidad. A nivel de la riqueza, es clara la inclusión de nuevas especies como la frambuesa y la grosella, que no aparecían anteriormente entre las especies comestibles de Cuyín Manzano (Lozada et al. 2006). Pero también a nivel de los alimentos locales, ya que el NAL es mayor para los berries exóticos que nativos, dando cuenta de la importancia de estas especies en la dieta de los pobladores. Por otro lado, es interesante como algunos alimentos locales sólo se realizan con berries exóticos y no así con berries nativos. Por ejemplo, se elaboran infusiones con los frutos de rosa mosqueta, aunque en su interior tienen una "pelusa", que puede ser comparado con la abundancia de semillas en el michay, y que no representa un obstáculo para su uso. Por lo que más que dificultades en el procesamiento, la elaboración de infusiones con frutos tal vez no haya sido una práctica propia de ésta comunidad y se la haya incorporado con el tiempo. Probablemente, en Cuyín Manzano no sólo se introdujeron especies sino también formas de uso, producto de procesos de hibridización cultural (Ladio y Albuquerque, 2014).

Los patrones de conocimiento y uso encontrados, dan cuenta que las especies exóticas son elementos que se han incorporado fuertemente en la dieta como en la herbolaria de esta comunidad rural patagónica. En Cuyín Manzano, se mostró que la riqueza, la frecuencia de citación, el CU y el CUF son iguales para especies nativas y exóticas. Por otro lado, la comparación entre el antes y el después da cuenta de que las exóticas han incrementado su importancia cultural con respecto a las nativas, en cambio el conocimiento de plantas nativas no varió. Los berries exóticos

cumplen un rol social muy significativo que puede ser identificado, por ejemplo, en el guindado que se comparte con las visitas. En su conjunto, muestran el importante rol de estas especies en la vida de las personas. Esto puede ser explicado, ya que si bien la comunidad tiene una larga historia de interacción con las especies nativas y su conocimiento se ha trasmitido generación en generación, también se ha entretejido una historia común con las especies exóticas. A nivel regional, en el Capítulo I se da cuenta de una fuerte presencia de especies introducidas y a nivel local, Lozada et al. (2006) ya documentaban el uso de *Prunus cerasus y P. domestica* como parte del CEL de Cuyín Manzano. Por lo que estos hallazgos evidencian la apropiación cultural de especies exóticas de berries, como también ha sido descripto con especies de citrus y duraznos en el norte de Argentina (Hilgert et al., 2014; Lambaré et al., 2015; Stampella et al., 2013).

## **CONCLUSIONES**

El CEL sobre berries comestibles sigue siendo un elemento significativo de la vida cotidiana del lugar. Pero no sólo los frutos, sino también sus alimentos locales y medicinas, que diversifican la dieta y son parte de tradiciones culinarias, son elementos que se comparten socialmente, y forman parte de contextos de sanación. Alimentos y medicinas con berries adquieren una dimensión única, dado que, los integrantes de las familias están involucrados tanto en la obtención de los frutos, como en la elaboración, almacenamiento y administración. Especialmente los berries exóticos cumplen un rol destacado en la dieta y en materia funcional y medicinal, mostrando procesos de hibridización y apropiación cultural, dando cuenta del carácter dinámico del CEL. Por lo que no hay dudas que los berries nativos y exóticos están siendo vívidamente utilizados y permiten recrear conocimientos y prácticas culturales. Finalmente, se requiere más investigación de toda esta riqueza de especies, sus alimentos locales y su potencialidad como alimentos locales funcionales, que añadan aún más valor a todo este patrimonio biocultural de la Patagonia.

# Capítulo III

Composición de polifenoles y bio-actividad de especies de berries nativos de la Patagonia argentina

## **INTRODUCCIÓN**

El estudio etnofarmacógico de los berries patagónicos, especialmente aquellos nativos que crecen espontáneamente, permite la integración de otros aspectos importantes para la valorización del patrimonio biocultural. La etnofarmacología ha sido definida como el estudio de los efectos fisiológicos y la caracterización fitoquímica de las drogas vegetales, así como también de la forma en que las personas identifican, preparan y administran las plantas dentro del contexto de cada cultura (Etkin, 2001). Es decir, puede ser entendida como la conjunción de la etnografía médica y la etnobiológica mediante el estudio de los agentes biológicamente activos (Etkin y Elisabetsky, 2005; Heywood, 2011). De esta forma, la investigación etnofarmacológica contribuye a visibilizar el potencial biológico, químico y farmacológico de las plantas que ha sido aprovechado en gran parte por los pueblos desde tiempos inmemoriales (Cortes Sánchez-Mata y Tardío, 2016).

Según Bvenura y Sivakumar (2017), las plantas silvestres son consideradas un "tesoro oculto", dado que para muchas especies se han comprobado sus aportes en vitaminas, minerales, ácidos grasos, carotenos, fibras y fenoles entre otros (Bvenura y Sivakumar, 2017; Cortes Sánchez-Mata y Tardío, 2016). Heywood (2011) alerta sobre la escasez de evidencia científica sobre los beneficios nutricionales y saludables de las plantas silvestres utilizadas por distintas culturas. Por su parte, Heinrich et al. (2016), señalan que es prioritario el estudio de sus metabolitos secundarios, más que de sus nutrientes. Estos autores refieren que, en las dietas actuales, la cantidad de plantas silvestres consumidas es escasa, por lo que su aporte nutricional no sería suficientemente significativo. Por lo tanto, se propone poner el foco en aquellas plantas alimenticias locales que posean una aplicación concreta para la salud. En este sentido, los Capítulos I y II dan cuenta del amplio número de dolencias que pueden ser tratadas con las distintas especies de berries nativos de la Patagonia, mostrando la relevancia de su estudio etnofarmacológico.

Dentro del mundo vegetal, los berries son considerados recursos claves para afrontar los problemas de salud a los que actualmente se enfrentan las personas. Entre sus atributos más estudiados se encuentra la prevención de enfermedades cardiovasculares, diabetes, cáncer y obesidad, entre otras (Jimenez-Garcia et al., 2013; Paredes-López et al., 2010). Por ejemplo, un meta-análisis que incluyó a 22 ensayos controlados aleatorizados, mostró que el consumo de berries (principalmente distintas especies de *Vaccinium*) disminuye los niveles de lipoproteína de baja densidad (LDL), de glucemia, hemoglobina glicosilada y el factor de necrosis tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), así como también de los valores de presión arterial sistólica y del índice de masa corporal (Huang et al., 2016). La publicación concluye que el consumo de berries es una forma segura de prevenir y controlar las

enfermedades cardiovasculares. Por lo tanto, los berries pueden ser empleados como alimentos funcionales o en el desarrollo de nutracéuticos. Los nutracéuticos son formas farmacéuticas como cápsulas, comprimidos, entre otros, que suplementan la dieta con el fin de prevenir o tratar una enfermedad o desorden (Kalra, 2003; Mahabir, 2014).

Los polifenoles de los berries serían moléculas claves, principalmente en la prevención del estrés oxidativo. Se dice que una sustancia antioxidante es aquella que a bajas concentraciones tiene una capacidad alta de contrarrestar los efectos de los radicales libres (principalmente especies del oxígeno y nitrógeno) que pueden producir daño en los distintos componentes celulares (Shahidi y Naczk, 2004). Entre los antioxidantes naturales de los berries, se destacan la vitamina C, los carotenos y los polifenoles, siendo estos últimos los más abundantes (Nile y Park, 2014; Szajdek y Borowska, 2008). Entre los posibles mecanismos de acción se encuentra la capacidad de los polifenoles de neutralizar radicales libres, inhibir enzimas pro-oxidantes y restaurar enzimas antioxidantes (Denev et al., 2012). Pero también se han propuesto otros mecanismos de acción para explicar su bio-actividad, entre ellos la interacción a nivel de la membrana plasmática con proteínas y fosfolípidos, y la regulación de vías de transducción de señales (Kim, Quon y Kim, 2014; Vauzour et al., 2010). De esta manera, los polifenoles protegen directa e indirectamente a los tejidos de los efectos de los radicales libres involucrados en el desarrollo de distintas enfermedades crónicas y el envejecimiento (Nile y Park, 2014; Paredes-Lopez et al., 2010).

Los compuestos fenólicos son un grupo muy diverso de moléculas, caracterizados por poseer al menos un anillo aromático y cumplir importantes funciones en las plantas. Entre ellos, se encuentran los flavonoides (como las antocianinas, flavonoles y flavanoles), ácidos fenólicos (como los derivados del ácidos benzoico y cinámico), proantocianidinas y taninos solubles (principalmente ésteres del ácido gálico y elágico) (Szajdek y Borowska, 2008). Aquellos fenoles con al menos dos anillos aromáticos son comúnmente denominados polifenoles (Lattanzio, 2013). Todas estas moléculas cumplen diversos roles en las plantas: protegen de la radiación UV, atraen polinizadores, son defensas químicas frente a predadores, pestes y patógenos, así como también forman parte de la pared celular y actúan como mensajeros químicos (Cheynier et al., 2013).

El consumo de berries también está siendo estudiado en la prevención y tratamiento del síndrome metabólico que incluye hiperglucemia, hipercolesterolemia e hipertensión arterial. Por ejemplo, según un estudio de Törrönen et al. (2012), la suplementación de la dieta humana con dos tazas (150 g) de arándano rojo (*Vaccinium vitis-idea*) o grosellas negras (*Ribes nigrum*) reduce los niveles de glucosa e insulina posprandiales en los primeros 30 minutos después de la ingesta. En otra

investigación de Basu et al., (2009), que se llevó a cabo con mujeres de mediana edad con diagnóstico de síndrome metabólico, se les proporcionó 25 gramos de un polvo de frutillas comerciales liofilizadas dos veces al día por cuatro semanas. Los resultados mostraron un aumento de las concentraciones plasmáticas de ácido elágico, y principalmente, el mejoramiento en el perfil lipídico de las pacientes. Múltiples estudios también se han desarrollado evaluando dietas suplementadas con frutos o extractos de uvas y arándanos, en los que se observaron efectos que podrían ser beneficiosos en la prevención y tratamiento de los desórdenes metabólicos (Vendrame y Klimis-Zacas, 2019).

Se propone que, particularmente las antocianinas, son capaces de actuar como antioxidantes en las células pancreáticas, y así las protegerían del estrés oxidativo inducido por la glucosa. Por otro lado, también se probó que pueden inhibir enzimas como la  $\alpha$ -glucosidasa (Naseri et al., 2018). Mediante estos y otros mecanismos de acción farmacológica, las antocianinas de los berries podrían desempeñar un importante rol en el manejo y la prevención del síndrome metabólico.

La riqueza de berries nativos patagónicos pareciera albergar una diversidad de compuestos fenólicos con múltiples acciones beneficiosas para la salud humana. El maqui (*Aristotelia chilensis*) es uno de los frutos más estudiados, que se caracteriza por su alto contenido en antocianinas duplicando los valores del sauco (*Sambucus nigra*) (Brauch et al., 2016). La antocianina mayoritaria es la delphinidina-3-sambubiosido-5-glucosido. Además posee otros flavonoides, derivados del ácido ferúlico y del ácido hidroxicinámico, entre otros compuestos (Schmeda-Hirschmann et al., 2019). Entre las propiedades exploradas se encuentran su actividad como regulador en el metabolismo de la glucosa, inhibición de peroxidación lipídica, inhibición de la α-glucosidasa y la lipasa pancrética, y su actividad antioxidante, entre muchas otras (Romanucci et al., 2016).

Otro de los frutos nativos que está recibiendo reciente atención es la murta (*Ugni molinae*). Para estos frutos se ha descripto su composición de antocianinas (mayoritariamente pelargonidina-3-arabinosa y delfinidina-3-glucosido), ácido cafeico, derivados de la quercetina, entre otros (Junqueira-Gonçalves et al., 2015). Se han estudiado los frutos de murta por su potencial antimicrobiano, antioxidante y en la inhibición de enzimas involucradas en el envejecimiento de la piel (Garcia-Diaz, 2019; López de Dicastillo et al., 2017). Sin embargo, la rica biota de especies con berries no ha sido explorada en su totalidad a pesar que dichas plantas son utilizadas como alimento, medicinas o alimentos-medicina desde tiempos ancestrales (Molares y Ladio, 2009).

Para este Capítulo se eligieron tres especies nativas que como se mostró en los Capítulos previos, son de particular importancia etnobotánica en la Patagonia: Berberis microphylla G. Forst (Berberidaceae), B. darwinii Hook. (Berberidaceae) y Fragaria chiloensis (L.) Mill. (Rosaceae). B. microphylla y B. darwinii, son arbustos perennifolios espinosos que pueden llegar a los 1,5 m de altura. Son endémicas del suroeste de Sudamérica (Argentina y Chile). Sus bayas son subglobosas de 7-11 mm y 7-8 mm de diámetro respectivamente, de color negruzco descriptas por Landrum (1999) y Damascos (2011). Estas especies son componentes comunes de la flora del Parque Nacional Nahuel Huapi (PNNH), presentes tanto en ambientes prístinos como en aquellos con cierto grado de perturbación (Damascos et al., 2011). Fragaria chiloensis es una hierba perenne de 4-25 cm, que según Finn et al., (2013) se originó en Norte América y por dispersión de pájaros llegó a las costas de Chile donde se extendió su distribución. Los autores también proponen que esta especie fue domesticada desde hace 1000 años por Picunches y Mapuches, que habitaban los alrededores del río Bío-Bío en Chile. F. chiloensis crece de forma espontánea, por lo que es habitual que sea llamada como frutilla "silvestre" (Cheel et al., 2005). Su fruto es un conocarpo sub-globoso u ovoide, con aquenios superficiales (Correa, 1984b). Se han caracterizado dos formas: F. chiloensis ssp. chiloensis f. patagónica y F. chiloensis ssp. chiloensis f. chiloensis. La primera posee frutos pequeños, de receptáculo rojo y aquenios amarillos, es abundante en Chile y Argentina (Salvatierra et al., 2013). La segunda conocida como frutilla blanca, posee el receptáculo de color blanco o rosado y aquenios de color rojo, se caracteriza por ser más aromática y ser resistente a ciertas pestes; además se encuentra distribuida principlamente en Chile (Salvatierra, 2013; González et al., 2009 a y b).

Los frutos del género *Berberis* han sido poco estudiados por su composición química, y de polifenoles en particular, pero podrían ser de especial interés como alimentos funcionales (Mokhber-Dezfuli et al., 2014; Srivastava et al., 2015). Compuesto por más de 500 especies distribuidas en el mundo, la sustancia activa del género más descripta ha sido la berberina y otros alcaloides presentes principalmente en raíces y corteza (Bober et al., 2018; Khan et al., 2016; Mokhber-Dezfuli et al., 2014; Srivastava et al., 2015). En la actualidad, existe un creciente interés en sus frutos ya que se reconoce que pueden ser importantes fuentes de compuestos fenólicos (Ersoy et al., 2018; Gundogdu, 2013; Hassanpour y Alizadeh, 2016). Sin embargo, para especies no patagónicas, sólo se ha encontrado el trabajo de Sun et al., (2014) para frutos *B. heteropoda*, especie nativa de Xinjiang Uygur, Región autónoma de China, también usada tradicionalmente como alimento y medicina. Los autores describen la presencia de delphinidin-3-O-glucopiranósido, cianidina-3-O-glucopiranósido, petunidina-3-O-glucopiranósido, peonidina-3-O-glucopiranósido,

malvidina-3-O-glucopiranoósido como antocianinas principales. Por otro lado, en los últimos años se ha incrementado el estudio de especies de *Berberis* patagónicos de poblaciones chilenas. La composición de compuestos fenólicos ha sido recientemente revisada por Schmeda-Hirschmann et al. (2019) y se detalla en la Tabla 3.1. Por otro lado, la actividad antioxidante (medida con la técnica ORAC) ha sido descripta para 120 especies de plantas alimenticias en Chile, entre las que *B. microphylla* sobresale con el mayor valor en sus frutos (Speisky et al., 2012). Lo mismo ocurre cuando se estudiaron otros berries nativos de Chile, donde también *B. microphylla* se destaca en diversos ensayos de actividad antioxidante (Ramirez et al., 2015). La elevada capacidad antioxidante de estas bayas ha sido asociada con su alto contenido de antocianinas (Ruiz et al., 2010a). Desde la agronomía, entre otras aproximaciones, se ha estudiado cómo afectan la luz y el uso de fertilizantes en los compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante para muestras argentinas (Arena et al., 2017). Además, desde la farmacología recientemente se ha evidenciado que las antocianinas de *B. microphylla* serían potentes vasodilatadores arteriales, de interés en el desarrollo de nutracéuticos para tratar patologías vasculares crónicas (Calfío y Huidobro-Toro, 2019).

Por otra parte, del género *Fragaria*, *F. x ananassa* ha sido ampliamente estudiada y en los últimos años también se han incrementado los estudios de frutillas silvestres patagónicas. Los polifenoles mayoritarios en *F. x ananassa* son las antocianinas, entre ellas los derivados de pelargonidina y cianidina (Aaby et al., 2012; Giampieri et al., 2014). En cuanto a la investigación de sus propiedades saludables, podrían ser beneficiosos en los ya mencionados desordenes metabólicos crónicos y además en la prevención y tratamiento del cáncer (Giampieri et al., 2014). La información sobre las frutillas nativas patagónicas de muestras provenientes de Chile también ha sido revisada por Schmeda-Hirschmann et al., (2019). Los autores dan cuenta en el estudio de la capacidad antioxidante de las frutillas patagónicas, en sus dos formas (blanca y roja), así como también de la inhibición de la  $\alpha$ -glucosidasa y la lipasa pancreática. La actividad antioxidante de las muestras chilenas de *F. chiloensis* ha sido relacionada con su contenido de antocianinas y elagitaninos principalmente (Cheel et al., 2007).

La investigación de la bio-actividad y los perfiles químicos de los berries nativos patagónicos se ha centrado principalmente en muestras de Chile. Sin embargo, el estudio de muestras provenientes de Argentina podría mostrar patrones diferenciales. Por ejemplo, al analizar frutos de *Ribes magellanicum* (parrilla) de ambos lados de la cordillera de los Andes, se encontró que las muestras argentinas tenían un perfil más complejo de compuestos fenólicos (Jiménez-Aspee et al., 2015). También se observaron diferencias en la composición y la bio-actividad para la especie *Geoffroea* 

decorticans (chañar) (Jiménez-Aspee et al., 2017). Dada la barrera geográfica que representan los Andes patagónicos, las poblaciones de las especies involucradas en esta tesis podrían tener características diferenciales en sus metabolitos, debido a diversos factores como los ambientales y/o genéticos. Por lo tanto, mucho queda por estudiar sobre las similitudes y diferencias existentes para especies que se comparten entre ambos países, como en el caso de *Berberis microphylla, B. darwinii* y *F. chiloensis*.

**Tabla 3.1** Compuestos fenólicos en especies de *Berberis* patagónicos informados en la literatura. Fuente: (Schmeda-Hirschmann et al., 2019).

B. empetrifolia	B. ilicifolia	B. microphylla
Ruiz et al., 2013b	Ruiz et al., 2013b	Ruiz et al., 2010;
Ruiz et al., 2013b	Ruiz et al., 2013b	Ruiz et al., 2010;
		Ruiz et al., 2010
		Ruiz et al., 2014a
		Ramirez et al., 2015
Ruiz et al., 2013a	Ruiz et al., 2013a	Ruiz et al., 2010
Ruiz et al., 2013b	Ruiz et al., 2013b	Ruiz et al., 2010;
		Ramirez et al., 2015
		Ruiz et al., 2010
		Ruiz et al., 2014a
		Ramirez et al., 2015
Ruiz et al., 2013b	Ruiz et al., 2013b	Ruiz et al., 2010; Ramirez et al., 2015
		Ramirez et al., 2015
	Ruiz et al., 2013b  Ruiz et al., 2013b  Ruiz et al., 2013a  Ruiz et al., 2013b	Ruiz et al., 2013b  Ruiz et al., 2013b  Ruiz et al., 2013b  Ruiz et al., 2013a  Ruiz et al., 2013a  Ruiz et al., 2013b  Ruiz et al., 2013b

Ruiz et al., 2013a	Ruiz et al., 2013b	Ruiz et al., 2010
		Ruiz et al., 2010
		Ruiz et al., 2010
		Ruiz et al., 2014a
Ruiz et al., 2013b	Ruiz et al., 2013b	Ruiz et al., 2010
		Ramirez et al., 2015
		Ruiz et al., 2010
Ruiz et al., 2013b	Ruiz et al., 2013 b	Ruiz et al., 2010; Ramirez et al., 2015
		Ruiz et al., 2014a
		Ruiz et al., 2010
		Ramirez et al., 2015
Ruiz et al., 2013b	Ruiz et al., 2013b	Ruiz et al., 2010;
		Ramirez et al., 2015
Ruiz et al., 2013b	Ruiz et al., 201b3	Ruiz et al., 2010
		Ruiz et al., 2010
		Ruiz et al., 2014a
	Ruiz et al., 2013b  Ruiz et al., 2013b  Ruiz et al., 2013b	Ruiz et al., 2013b  Ruiz et al., 2013b  Ruiz et al., 2013b  Ruiz et al., 2013b  Ruiz et al., 2013b

Malvidina 3-rutinósido-5-glucósido			Ruiz et al., 2010
Malvidina-3-O-(6´´ coumaroil)glucósido			Ramirez et al., 2015
Malvidina 3-O-(6´´ acetil) galactoside			Ramirez et al., 2015
Flavonoles			
Kaempferol (K)			Ruiz et al., 2014b; Mariangel et al.,
			2013
K-ramnósido			Ruiz et al., 2014b
Quercetina (Q)			Mariangel et al., 2013
Q-3-O-glucósido (isoquercitrina)	Ruiz et al., 2014b	Ruiz et al., 2014b	Ruiz et al 2010; Ruiz et al., 2014b
Q-3-galactósido	Ruiz et al., 2014b	Ruiz et al., 2014b	Ruiz et al 2010; Ruiz et al., 2014b
Q-3-O-ramnósido (quercitrina)			Ruiz et al 2010; Ruiz et al., 2014b
Q-3-rutinósido	Ruiz et al., 2014b	Ruiz et al., 2014b	Ruiz et al 2010; Ruiz et al., 2014b;
			Mariangel et al, 2013
Q-3-rutinósido-7-glucósido			Ruiz et al 2010
Q-3-(6"-acetil)-hexósido1			Ruiz et al 2010
Q-3-(6"-acetil)-hexósido2			Ruiz et al 2010
Q-3-malonilgalactósido			Ruiz et al., 2014b

Q-3-malonilglucósido		Ruiz et al., 2014b
Isoramnetina-3-O-glucósido		Ruiz et al 2010; Ruiz et al., 2014b
Isoramnetina-3-galactósido	Ruiz et al., 2014b	Ruiz et al 2010; Ruiz et al., 2014b
soramnetina-3-rutinósido	Ruiz et al., 2014b	Ruiz et al 2010; Ruiz et al., 2014b
soramnetina-3-rutinósido-7-glucósido		Ruiz et al 2010
soramnetina-3-(6"-acetil)-hexósido		Ruiz et al 2010
Isoramnetina-3-malonilgalactósido		Ruiz et al., 2014b
soramnetina-3-malonilglucósido		Ruiz et al., 2014b
Mircetina (Mi)		Mariangel et al., 2013
Mi-3-O-glucósido		Ruiz et al 2010; Ruiz et al., 2014b
Mi-3-rutinósido		Ruiz et al 2010; Ruiz et al., 2014b
Mi-3-rutinósido-7-glucósido		Ruiz et al 2010
Fenilpropanoides		
Ácido caféico		Mariangel et al., 2013
Ácido cumárico		Mariangel et al., 2013
Ácido ferúlico		Mariangel et al., 2013

Derivados del ácido cafeoilquínico	
Ácido cafeoilquínico isómero 1-3	Ruiz et al., 2013b
Ácido <i>cis-</i> 4-O cafeoilquínico	Ruiz et al., 2013b
Ácido 5-O-cafeoilquínico	Ruiz et al., 2013b
Ácido <i>cis-</i> 5-O-cafeoilquínico	Ruiz et al., 2013b
Ácido 4-O-cafeoilquínico	Ruiz et al., 2013b
Ácido dicafeoilglucárico isómero 1-2	Ruiz et al., 2013b
Ácido 3,5-dicafeoilquínico	Ruiz et al., 2013b
Ácido 4,5-dicafeoilquínico	Ruiz et al., 2013b
Ácido dicafeoilquínico	Ruiz et al., 2013b
Ácido caffeoylglucaric isómero 1-4	Ruiz et al., 2013b
Ácido 3-O-trans-cafeoilglucárico	Ruiz et al., 2014a
Ácido 4-O-trans-cafeoilglucárico	Ruiz et al., 2014a
Ácido 5-O-trans-cafeoilglucárico	Ruiz et al., 2014a
Ácido p-coumaroilquínico	Ruiz et al., 2013b
Ácido feruloilquínico isómero 1-2	Ruiz et al., 2013b

		Ruiz et al., 2013b
		Mariangel et al., 2013
		Mariangel et al., 2013
Ruiz et al., 2014b	Ruiz et al., 2014b	Ruiz et al., 2014b
	Ruiz et al., 2014b	
	Ruiz et al., 2014b	

#### **OBJETIVOS**

- 1) Describir el contenido y composición de polifenoles de frutos de: *Berberis microphylla, B. darwinii* y *Fragaria chiloensis* de poblaciones de Argentina.
- 2) Determinar la actividad antioxidante de los frutos citados, mediante métodos espectrofotométricos.
- 3) Evaluar la capacidad de inhibir enzimas asociadas al síndrome metabólico.
- 4) Co-relacionar la composición de los principales compuestos fenólicos con la bio-actividad evaluada.

### **MATERIALES Y MÉTODOS**

#### Obtención de las muestras

Los frutos de las especies seleccionadas se recolectaron durante la temporada de verano (diciembre-febrero) de 2016-2017, en el Parque Nacional Nahuel Huapi y sus alrededores. Las especies, sitios de muestreo y localización geo-referenciada aparecen en la Tabla 3.4. El material vegetal fue identificado por la Dra. Ana Ladio y la Farm. Melina Chamorro y depositados en el Herbario del Grupo de Etnobiología del INIBIOMA, Laboratorio Ecotono, Bariloche, Argentina. Para la determinación de las especies de *Berberis* se siguió a Landrum (2007) y todos los nombres fueron actualizados según The Plant List (www.theplantlist.org).

Para hacer representativo el muestro por sitio, se desarrollaron protocolos de muestreo. Para la recolección de las bayas de las especies de *Berberis* cuando fuera posible, se seleccionaron 10-15 individuos de la misma especie. Se buscó que todas las plantas contengan frutos maduros. La única excepción fueron los individuos de *B. microphylla* de Brazo Rincón, que poseían frutos parcialmente maduros (algunos frutos con zonas de coloración verde en su superficie). Pero dado que sta era la primera caracterización de los frutos de Argentina, con el principal fin de la identificación de los compuestos, el sitio fue también incluido. Se tomaron frutos de distintas partes de cada arbusto, para que el muestreo sea más representativo de todo el individuo. Los frutos fueron depositados en una bolsa adecuadamente rotulada. El número de individuos promedio por sitio fue de 10 para *B. microphylla* y 5 para *B. darwinii*. Luego, se tomó la misma cantidad de frutos de cada bolsa, para conformar una única muestra representativa de un sitio (100 gramos de fruto fresco total). Para la recolección de los frutos de frutilla nativa, que se corresponde a la forma roja (*Fragaria chiloensis* ssp. *chiloensis f. patagonica*), se siguieron los mismos pasos, pero con algunas diferencias dadas las

características de esta hierba. Para esta especie se seleccionó un área dentro del sitio de muestreo con suficiente cantidad de plantas y se recolectaron los frutos homogéneamente de toda el área. Dado el tamaño y peso de los frutos, se buscó llegar a los 50-100 gramos en la recolección de todo el sitio. Las muestras limpias fueron transportadas al laboratorio del INIBIOMA y congeladas a -80 °C.

#### Reactivos

Se utilizaron los siguientes reactivos, de Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EE. UU.): Amberlita XAD7®, α-amilasa de páncreas porcino (A3176; EC 3.2.1.1), α-glucosidasa de *Saccharomyces cerevisiae* (G5003; EC 3.2.1.20), DPPH (radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil), ácido 3,5-dinitrosalicílico, catequina, CuCl2, lipasa de páncreas porcino tipo II (L-3126; EC 3.1.1.3), 4-nitrofenil-α-D-glucopiranosido, p-nitrofenil palmitato, quercetina, acetato de sodio, almidón, TPTZ (2,4,6-tri (2-piridil) 1,3,5-triazina) y triton X-100. De Merck (Darmstadt, Alemania): ABTS (ácido 2,2-azino-bis (ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico), Trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico), FeCl<sub>3</sub>×6H<sub>2</sub>O, neocuproína, tartrato de sodio y potasio y metanol grado HPLC. El acetato de amonio fue de JT Baker (Xalostoc, México). Los siguientes estándares fueron de PhytoLab (Vestenbergsgreuth, Alemania): cloruro de malvidina-3-glucósido (89728, 99,3% de pureza), quercetina-3-glucósido (89230, 99,1% de pureza) y ácido clorogénico (89175, 98,9% de pureza). Orlistat proveniente del Laboratorio Chile (Santiago, Chile).

#### Obtención del extracto enriquecido en fenoles para cada muestra

Las muestras de frutos congelados se secaron por liofilización (Biobase Bk FD 10, Biobase Biodustry, Shandong, China), y el contenido de agua se determinó por diferencia de peso. Los frutos liofilizados se pulverizaron en una licuadora Waring (Thomas TH-501V, Thomas Elektrogeräte, Shanghai, China), para lograr la disrupción de las membranas celulares y el aumento de la superficie expuesta (Haminiuk et al., 2012). Luego se extrajeron cuatro veces usando metanol (MeOH): ácido fórmico (99: 1 v/v) en una relación 1:5 p/v. Este solvente mejora el rendimiento de compuestos fenólicos en los extractos (Ignat et al., 2011). La extracción de compuestos fenólicos se optimizó usando un baño sonicador a 35 kHz (Elma Transsonic 700, Elma GmbH & Co. KG, Singen, Alemania) durante 15 minutos cada vez. Los extractos se llevaron a sequedad a presión reducida a 35 °C en un evaporador rotativo (Laborota 4001, Heildolph, Schwabach, Alemania). Cada extracto de metanol se disolvió en 1 l de agua y se sonicó para aumentar la solubilidad. Para separar compuestos no fenólicos de los berries, como los azúcares, un paso de pre tratamiento como la separación de fase sólida y

mediante el uso de resinas es comúnmente utilizada (Jiménez-Aspee et al., 2016c). Por lo que se pasó la solución acuosa por una columna con amberlita XAD7, que posteriormente se lavó con 2 l de agua. Luego los compuestos se desorbieron con 2 l de MeOH: ácido fórmico (99:1, v/v). El EEF (extracto enriquecido en fenoles) obtenido se evaporó a presión reducida en evaporador rotativo y luego se liofilizó. El rendimiento de extracción se calculó como el porcentaje de EEF obtenido de 100 g de fruta fresca.

### Fraccionamiento de antocianinas y otros polifenoles

El fraccionamiento de antocianinas y polifenoles no antociánicos se realizó utilizando una columna de extracción de fase sólida (SPE) Bond Elut Plexa PCX 6mL (Agilent, Santa Clara, CA, EE. UU.) (Fevre et al., 2018). La columna se acondicionó previamente con 5 ml de MeOH y 5 ml de agua ultrapura. Las muestras fueron disueltas en metanol:agua:ácido fórmico (50:48.5:1.5) a una concentración de 1 mg/ml, sonicadas durante 6 minutos a 30 °C y filtradas. Luego, se redujeron 3 ml de esta solución a 1,5 ml en un evaporador rotatorio y se añadieron 1,5 ml de ácido clorhídrico (HCl) 0,1N. Después de esto, las muestras se pasaron a través de la columna a una tasa de flujo de 0,2 ml/min. La columna de PCX se lavó con 5 ml de HCl 0,1 N, y 5 ml de agua ultrapura y luego se secó completamente. Los polifenoles no antociánicos se recuperaron con 6 ml de etanol (EtOH) 96%. Las antocianinas se desorbieron con HCl al 2% en metanol:agua (8:2, v/v). Las antocianinas y los restantes polifenoles se secaron a presión reducida a 30 °C y se liofilizaron para posteriores análisis por HPLC.

### Análisis HPLC-DAD-ESI-MS<sup>n</sup>

La separación e identificación de los compuestos fenólicos implica el uso de cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC, por sus siglas en inglés), mediante la cual la muestra pasa a través de una columna y los compuestos son retenidos con distintos tiempos según su polaridad (Skoog et al., 2001). Un detector de arreglo de diodos UV-visible es frecuentemente usado para la caracterización de los compuestos (Burgos-Edwards et al., 2017; Jiménez-Aspee et al., 2015b; Schmeda-Hirschmann et al., 2015). Finalmente, es muy utilizada la ionización por electroespray (ESI, por sus siglas en inglés) que posibilita la evaporación del solvente y el posterior acoplamiento del sistema al espectrómetro de masas (Kähkönen et al., 2003). Así, el patrón de fragmentación obtenido, junto con la información de los espectros iniciales son utilizados para reconstruir la identidad de las moléculas (Burgos-Edwards et al., 2017; Jiménez-Aspee et al., 2015b; Schmeda-Hirschmann et al., 2015).

Los análisis de HPLC se realizaron en un sistema HPLC Agilent Serie 1100, equipado con una bomba cuaternaria G1311, un detector de arreglo de diodos G1315B, un desgasificador G1322A, un inyector automático G1313A y un detector selectivo de masas para cromatografía líquida LC/MSD Trap G-2445 VL con interfaz de ionización por electropulverización o *electrospray* (ESI-MS¹). El control del sistema y el análisis de datos se logró utilizando el Software ChemStation (Agilent Technologies, Waldbronn, Alemania). La separación se llevó a cabo utilizando una columna Zorbax Eclipse XDB C18 (3,5 µm, 150 mm × 2,1 mm) (Agilent, Alemania). Los solventes empleados en el sistema cromatográfico fueron solvente A: agua-ácido fórmico-acetonitrilo, (88.5: 8.5: 3), (v/v/v); solvente B: agua-ácido fórmico-acetonitrilo (41,5: 8,5: 50) (v/v/v); y solvente C: (agua-ácido fórmico-metanol, (1.5: 8.5: 90), (v/v/v). Se usó un flujo de 0,19 ml/min y la temperatura se ajustó a 40 °C, con un tiempo de equilibrio de 8 min para acondicionamiento de la columna entre cada inyección. Los picos fueron enumerados según tiempo de retención creciente y seguidos por la letra "a" para antocianinas, y ninguna letra para otros compuestos.

Las antocianinas se analizaron utilizando únicamente los solventes A y B, según el siguiente gradiente: t=0 min, 94% de A, 6% de B; t=10 min, 70% de A, 30% de B; t=34 min, 0% de A, 100% de B; t=36 min, 0% de A, 100% de B; t=42 min, 94% A, 6% B. Para el análisis ESI-MS<sup>n</sup> de antocianinas en el modo positivo, se utilizó nitrógeno como gas nebulizador a 50 psi, 325 °C, y con un flujo de 8 l/min. Aguja de electropulverización, -2500 V; skimmer 1, 19,2 V; skimmer 2, 5,7 V; salida capilar offset 1, 33.0 V; salida capilar offset 2, 52.1 V. El modo de exploración fue realizado a una velocidad de 13,000 m/z/s, en el rango de 50–1200 m/z.

El análisis de polifenoles no antocianínicos, se realizó utilizando el siguiente gradiente de solventes: t=0 min, 98% de A, 2% de B y 0% de C; t=8 min, 96% de A, 4% de B y 0% de C; t=37 min, 70% de A, 17% de B y 13% de C; t=51 min, 50% de A, 30% de B y 20% de C; t=51.5 min, 30% A, 40% B y 30% C, t=56 min, 0% A, 50% B y 50% de C; t=57 min, 0% de A, 50% de B y 50% de C; t=64 min, 98% A 2% B y 0% C. Para el análisis ESI-MS<sup>n</sup> en modo negativo, se utilizó nitrógeno como gas nebulizador a 40 psi, 350 °C, y con un flujo de 8 ml/min. Aguja de electropulverización, 3500 V; skimmer 1, 20,3 V; skimmer 2, 6.0 V; salida capilar offset 1, 68,2 V; salida capilar offset 2, 88,5 V. El modo de exploración se realizó a una velocidad de 13,000 *m/z/s*, en el rango de 50–1000 *m/z*.

La cuantificación se realizó utilizando curvas de calibración externas. Los parámetros analíticos se calcularon de acuerdo con los lineamientos de la Conferencia Internacional sobre armonización de requisitos técnicos para el registro de productos farmacéuticos para uso humano (o ICH, por sus siglas en inglés) (ICH). Se emplearon curvas de calibración con cinco puntos, preparadas por triplicado y se emplearon estándares comerciales de: malvidina-3-glucósido (8–420 mg/l, R²:

0.9989) para antocianinas, quercetina-3-glucósido (10–100 mg/l, R²: 0.9996) para flavonoles y ácido clorogénico (1–100 mg/l, R²: 0.9996) para ácidos hidroxicinámicos (AHCs). Se determinó el área bajo la curva (AUC) para los picos observados a 520 nm, 360 nm y 320 nm para antocianinas, flavonoles y AHCs, respectivamente. Los resultados se expresaron en mg/100 g de fruta fresca.

#### Ensayos de capacidad antioxidante

El estudio de los posibles efectos antioxidantes de los productos naturales exige el uso de varios ensayos (Jiménez-Aspee et al., 2016c, 2018). Esto puede considerarse como un primer acercamiento a una situación in vivo, ya que diferentes especies reactivas y mecanismos están involucrados en el estrés oxidativo.

La capacidad antioxidante de las muestras se evaluó mediante los siguientes ensayos: decoloración de los radicales DPPH y ABTS \*+ (TEAC), poder antioxidante reductor férrico y cúprico (FRAP y CUPRAC), y la capacidad de absorbancia de radicales de oxígeno (ORAC). Se utilizó quercetina como el compuesto de referencia en todos los ensayos de capacidad antioxidante.

El ensayo DPPH se realizó de acuerdo con Bondet et al. (1997), con ligeras modificaciones. Se preparó una solución madre de radical DPPH (20 mg/l) en MeOH y se almacenó en la oscuridad. Las muestras se prepararon en MeOH a concentraciones finales que varían de 0 a 100 µg de EEF/ml. Se midió la decoloración del radical después de 5 minutos de incubación a 517 nm, en un lector de microplacas (BioTek ELX800, Winooski, VT, EE. UU.). Los resultados se expresaron como la concentración de extracto que eliminó el radical libre en un 50% (SC<sub>50</sub>, μg EEF/ml). Los ensayos FRAP y CUPRAC se llevaron a cabo siguiendo a (Jiménez-Aspee et al., 2016c). La solución FRAP se preparó mezclando un tampón de acetato 300 mM (pH 3,6) con TPTZ 10 mM preparado en HCl 40 mM y cloruro férrico (FeCl3) 20 mM en una proporción 10:1:1 v/v/v. La muestra se preparó en MeOH a concentraciones finales que variaron entre 0 a 100 μg de EEF/ml. La reducción del complejo de iones férricos se leyó después de 30 minutos de incubación a 593 nm, en un espectrofotómetro Genesys 10UV (Thermo Spectronic, Waltham, MA, EE.UU.). El ensayo CUPRAC se realizó mezclando acetato de amonio 1 M (pH 7,0) con cloruro cúprico (CuCl2) 0,01 M y solución de neocuproína 7,5 mM en una proporción 1:1:1. Luego, se agregó la muestra (0–100 μg EEF/ml) y la reducción del ion cúprico se midió a 450 nm después 30 minutos de incubación en la oscuridad. En los ensayos FRAP y CUPRAC, los resultados se expresaron como μmol equivalentes de Trolox (ET)/g de EEF. Se llevó a cabo la eliminación del radical ABTS\*+ (TEAC) de acuerdo con Nenadis et al. (2014), para lo cual, el radical ABTS\*+ se preparó mezclando 88 µl de Persulfato de sodio 140 mM con 5 ml de solución ABTS 7,5 mM. La mezcla se incubó durante la noche a temperatura ambiente. Al día siguiente, la solución radical ABTS\*+ se diluyó con MeOH hasta absorbancia final de 0,700  $\pm$  0,005 a 734 nm. Las muestras se prepararon en MeOH a concentraciones que varían de 50–300 µg de EEF/ml. Treinta µl de cada dilución se mezclaron con 2,870 ml de solución del radical ABTS\* y se incubaron durante 6 min. Se midió la absorbancia final y los resultados se expresaron como µM ET/g de EEF. El ensayo ORAC se realizó de acuerdo con Ou et al. (2001). La solución de trabajo de fluoresceína se preparó en tampón de fosfato de sodio 75 mM. a 152,6 mM 2,2'-azobis. Se preparó una solución de diclorhidrato de (2-metilpropionamidina) (AAPH) en el mismo tampón y fue incubado durante 30 minutos a 37 °C justo antes de mezclar con las muestras. Las muestras (5–25 µg de EEF/mL) y la solución Trolox (0–50 µM) se prepararon en el mismo tampón. La mezcla de ensayo consistió en 150 µL de fluoresceína + 25 µL de muestra o estándar + 25 µL de AAPH. La fluorescencia se leyó a  $\lambda_{ex}$  485/ $\lambda_{em}$  528 nm, a cada minuto durante 90 min en un lector de multidetección de microplacas Synergy HT (Bio-Tek Instruments Inc., Winooski, VT, USA). Los resultados se expresaron como µmol ET/g EEF. Todas las muestras se analizaron por triplicado y los resultados se presentaron como valores medios  $\pm$  desvío estándar.

#### Inhibición de enzimas asociadas al síndrome metabólico

La inhibición de la  $\alpha$ -amilasa y la  $\alpha$ -glucosidasa es una estrategia terapéutica para el control de la hiperglucemia posprandial. Los polifenoles presentes en alimentos y bebidas pueden alcanzar fácilmente concentraciones milimolares en el intestino, incluso cuando se diluyen con otros alimentos y líquidos digestivos. De esta manera, los polifenoles pueden interactuar con las enzimas digestivas, cambiando las respuestas glucémicas al inhibir la digestión de carbohidratos (Williamson et al., 2015). Por su parte, la lipasa pancreática divide los triglicéridos en glicerol y ácidos grasos absorbibles. Su inhibición por drogas como Orlistat se ha empleado para tratar la obesidad. Varios estudios han demostrado que los polifenoles presentes en bebidas y frutas tienen efectos inhibitorios en la lipasa, que podrían ser relevantes para regular la digestión de grasas y, por lo tanto, importantes en la ingesta de energía y el control de la obesidad (McDougall, 2009).

La capacidad de las muestras para inhibir in vitro el metabolismo de carbohidratos y lípidos se evaluó mediante los siguientes ensayos: inhibición de  $\alpha$ -glucosidasa,  $\alpha$ -amilasa y lipasa pancreática. El ensayo de inhibición de la  $\alpha$ -glucosidasa se realizó según lo descripto por Jiménez-Aspee et al. (2017). La mezcla de reacción contenía una solución buffer de fosfato de sodio (200 mM, pH 6,6), muestra (0,1-100  $\mu$ g de EEF/ml) y  $\alpha$ -glucosidasa (0,25 U/L). Después de 15 minutos de preincubación a 37 °C, la reacción se inició mediante la adición de p-nitrofenil- $\alpha$ -D-glucopiranósido (5 mM). La mezcla se incubó adicionalmente durante 15 minutos a 37 °C. La reacción se detuvo

agregando carbonato de sodio 0,2 M. La absorbancia se leyó a 415 nm en un lector de microplacas (ELx800, Biotek, Winooski, VT, EE. UU.). Todas las muestras se analizaron por triplicado y los resultados se expresaron como valores de CI<sub>50</sub> (μg de EEF/ml). Se utilizó acarbosa como control positivo (Jiménez-Aspee et al., 2017).

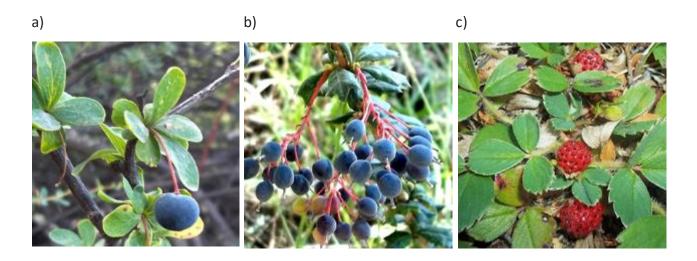
El ensayo de inhibición de la α-amilasa se realizó según lo descripto por Jiménez-Aspee et al. (2017). Brevemente, las muestras (0,1-100 μg/ml) se incubaron con una solución al 1% de almidón durante 5 minutos a 37 °C. Luego se añadió la solución de α-amilasa (8 U/ml) y se incubó durante 20 minutos más. Después de la incubación se añadieron 400 µl del reactivo de color (ácido 3,5-dinitrosalicílico 96 mM, tartrato de sodio y potasio 5,31 M en hidróxido de sodio 2 M), y la mezcla se hirvió durante 15 minutos. La absorbancia se midió en un lector de microplacas a 550 nm (Biotek Elx800). Se utilizó acarbosa como control positivo (Jiménez-Aspee et al., 2017). Todas las muestras se analizaron por cuadruplicado y los resultados se expresaron como valores de CI<sub>50</sub> (µg de EEF/ml). El ensayo de inhibición de la lipasa se realizó según lo descripto por McDougall et al. (2009). Brevemente, la enzima se resuspendió en agua ultrapura (20 mg/ml) y se centrifugó a 8000 x G a 4 °C durante 10 minutos para recuperar el sobrenadante para el ensayo. El sustrato se preparó con palmitato de pnitrofenilo (0,08% p/v), buffer de acetato de sodio 5 mM (pH 5,0) y Triton X-100 al 1%. La mezcla de ensayo fue buffer Tris 100 mM (pH 8,2), extractos, lipasa y solución de sustrato. La mezcla se incubó durante 2 hs a 37 °C y se leyó la absorbancia a 400 nm en un lector de microplacas (Biotek ELx800). Todas las muestras se analizaron en sextuplicado a 50 μg/ml como la concentración máxima. Se usó Orlistat como compuesto de referencia (Jiménez-Aspee et al., 2017). Los resultados se expresan como valores CI<sub>50</sub> (µg EEF/ml).

#### Análisis de datos

Los análisis estadísticos se llevaron a cabo utilizando el software SPSS 20.0 (IBM, Armonk, NY, EE.UU.). Las diferencias significativas entre las muestras de *Berberis microphylla* se determinaron mediante análisis de la varianza (ANOVA), seguido de la prueba de comparación múltiple de Tukey (p < 0.05). Este análisis no es posible realizarlo con menos de tres muestras, como es el caso de las otras especies estudiadas. Se calcularon los coeficientes de correlación de Pearson (p < 0.05) para determinar la relación entre la actividad antioxidante y el contenido de los compuestos principales.

### **RESULTADOS**

La Figura 3.1 muestra los frutos de las especies nativas seleccionadas, que fueron parte del muestreo. La humedad y el rendimiento de extracción se muestran en la Tabla 3.4.



**Figura 3.1** Frutos de berries nativos de la Patagonia argentina a) *Berberis microphylla* b) *Berberis darwinii* y c) *Fragaria chiloensis* ssp. *chiloensis f. patagonica*.

**Tabla 3.4** Especies, sitios de muestreo, localización geo-referenciada, Número de Voucher, rendimiento de extracción y humedad de las muestras de berries nativos analizadas.

Especie y sitio de	Localización	Voucher	Rendimiento de	Humedad
muestreo	(GPS)		extracción con XAD-7	(%p/p)
			(%p/p)	
Berberis microphylla				
Brazo Rincón	40°72'07"S;	700-707MC	9,2	72,1
	71°79'76''W			
Aeropuerto	41°14'51"S;	625-634MC	8,4	54,5
	71°17'67''W			
Villa La Angostura	40°49'50''S;	720-726MC	9,9	58,4
	71°64'31''W			

Cuyín Manzano	40°76'57''S;	680-687MC	7,3	53,0
	71°17'37''W			
Llanquín	40°76'57''S;	660-669MC	8,7	57,5
	71°17'37''W			
Berberis darwinii				
Brazo Rincón	40°72'17''S;	710-718MC	11,4	74,6
	71°80'20''W			
Villa La Angostura	40°50'51"S;	730-735MC	12,3	72,8
	71°64'93''W			
Fragaria chiloensis				
ssp. chiloensis f.				
patagonica				
Arroyo Llodconto	41°14'41"S;	600MC	6,1	83,1
	71°31'38''W			
Frey	41°17'80''S;	640MC	5,3	82,0
	71°44'17''W			

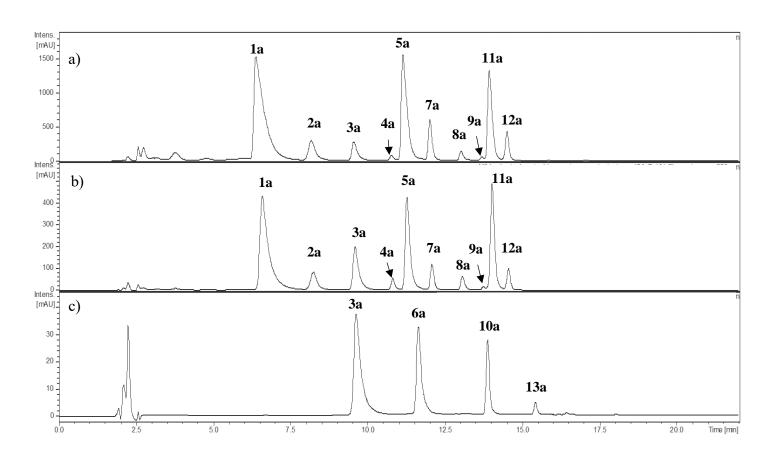
1. Caracterización de componentes individuales por HPLC acoplada a detector de arreglo de diodos y espectrometría de masas por ionización por electrospray (HPLC-DAD-ESI-MSn).

#### 1.1 Antocianinas

Los perfiles cromatográficos de antocianinas de *Berberis microphylla*, *B. darwinii* y *Fragaria chiloensis* ssp. *chiloensis f. patagonica* se muestran en la Figura 3.2. Los datos de HPLC-DAD-ESI-MS<sup>+</sup> de antocianinas se resumen en la Tabla 3.5. La mayoría de las antocianinas detectadas mostraron una pérdida neutra de 162 uma, lo que apoya la ocurrencia de un hexósido, o una pérdida neutra de 308 uma, de acuerdo con rutinósido. Los compuestos 1a y 2a mostraron un fragmento de ion común (MS<sup>2</sup>) a *m/z* 302,9 uma de acuerdo con la delfinidina. Los compuestos 3a y 4a mostraron un fragmento de iones MS<sup>2</sup> a *m/z* 286,9 uma, y los compuestos 5a y 7a un fragmento de ion común MS<sup>2</sup> a *m/z* 316,9 uma, de acuerdo con cianidina y petunidina, respectivamente. Los compuestos 8a y 9a mostraron la presencia de un fragmento de ion MS<sup>2</sup> a *m/z* 300,9 uma, y compuestos 11a y 12a

presentaron un fragmento de ion común MS<sup>2</sup> a *m/z* 331,03 uma, característico de peonidina y malvidina, respectivamente. Todas las antocianinas enumeradas se detectaron en *B. microphylla* y *B. darwinii* (Tabla 3.5).

Los EEFs de *F. chiloensis* mostraron la presencia de cianidina hexósido (3a) y la señal adicional del compuesto 6a con un ion molecular [M-H]<sup>-</sup> a m/z 433,3 uma, con el fragmento de iones MS<sup>2</sup> a m/z 271,2 uma y  $\lambda_{max}$  a 502 nm, característico de la pelargonidina (Lopes da Silva et al., 2007). El compuesto fue identificado como pelargonidina hexósido. Se detectaron otras dos antocianinas, compuestos 10a y 13a, en esta especie. Estos compuestos mostraron la pérdida neutra de 248 uma, lo que condujo a un fragmento de iones MS<sup>2</sup> a m/z 286,9 y 271,1 uma, respectivamente, y se identificaron tentativamente como cianidina malonil hexaóxido y pelargonidina, respectivamente.



**Figura 3.2** Cromatograma HPLC-DAD (520 nm) de antocianinas de a) *Berberis microphylla*, b) *Berberis darwinii* y c) *Fragaria chiloensis* ssp. *chiloensis f. patagonica*. Los números corresponden a la Tabla 3.5.

**Tabla 3.5** Caracterización y distribución de antocianinas en frutos de *Berberis micropylla*, *B. darwinii* y *F. chiloensis* de la Patagonia argentina por HPLC-DAD-ESI-MS<sup>n</sup>. \* Identidad confirmada por coinyección con estándar auténtico. MS<sup>2</sup>: espectrometría de masas en tándem.

							Detectado	o en
Pico	Rt (min)	[M+H] <sup>+</sup>	MS <sup>2</sup>	λ <sub>max</sub> (nm)	Identificación tentative	B. microphylla	B. darwinii	F. chiloensis
1a	6,7	465,3	302,9 (100)	523	Delfinidina-3-O-glucósido*	Х	Х	
<b>2</b> a	8,2	611,4	302,9 (100)	525	Delfinidina rutinósido	X	x	
<b>3</b> a	9,7	449,1	286,9 (100)	516	Cianidina-3-O-glucósido*	x	X	x
4a	10,9	595,4	286,9 (100)	521	Cianidina-3-O-rutinósido*	x	x	
5a	11,3	479,3	316,8 (100)	525	Petunidina hexósido	x	X	
6a	11,6	433,3	271,1 (100)	502	Pelargonidina hexósido			x
7a	12,1	625,5	316,9 (100)	527	Petunidina rutinósido	x	x	
8a	13,1	463,3	300,9 (100)	518	Peonidina hexósido	x	x	
9a	13,8	609,6	300,9 (100)	526	Peonidina rutinósido	x	x	
<b>10</b> a	13,9	535,1	286,9 (100)	517	Cianidin manlonil hexósido			Х
11a	14,1	493,3	331,0 (100)	527	Malvidina-3-O-glucósido*	x	x	
<b>12</b> a	14,6	639,4	331,0 (100)	530	Malvidina rutinósido	х	х	
<b>13</b> a	15,5	519,1	271,1 (100)	505	Pelargonidina-malonil hexósido			X

### 1.2 Ácidos hidroxicinámicos (AHCs)

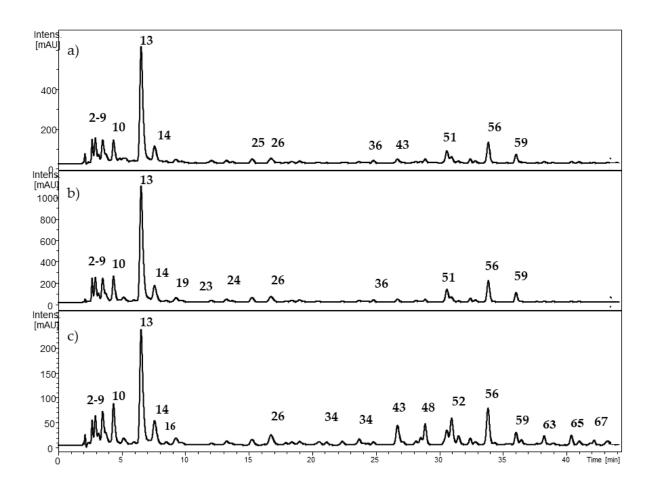
El perfil de los polifenoles no antociánicos se representa en la Figura 3.3 para *Berberis microphylla*, Figura 3.4 para *B. darwinii*, y en la Figura 3.5 para *Fragaria chiloensis* ssp. *chiloensis* f. patagonica y la información está resumida en la Tabla 3.6. La identificación de AHCs fue llevada a cabo en el extracto de polifenoles no antociánico mediante el análisis del perfil UV-VIS, fragmentación del patrón MS<sup>n</sup> en el modo de iones negativos [M-H]<sup>-</sup> y el esquema jerárquico propuesto por Clifford et al. (2003). El tiempo de retención se usó para comparar cuando los estándares comerciales estaban disponibles. La Tabla 3.6 muestra los tiempos de retención y los datos espectrales de los AHCs encontrados en las muestras. Un total de 27 AHCs con  $\lambda_{max}$  a 320 nm, se detectaron en los extractos de *Berberis* de la Patagonia argentina. La mayoría de ellos fueron encontrados en ambas especies de *Berberis*. Sin embargo, no se detectaron AHCs en las muestras de *F. chiloensis* ssp. *chiloensis* f. patagonica.

Los compuestos 2 y 5 mostraron un ion molecular común [M-H] a m/z 370,9 uma, con fragmentos de iones MS<sup>2</sup> a m/z 209 y 191 uma, lo que indica la presencia de un núcleo de ácido hexárico (ácidos glucárico, manárico o galactárico) (Jiménez-Aspee et al., 2018). La pérdida neutra de 162 uma coincidió con un resto cafeoil. Por lo tanto, los compuestos 2 y 5 se asignaron como isómeros de ácido cafeoil hexárico 1 y 2, respectivamente. Los compuestos 14, 19, 24, 29, 33, 36, 44 y 49 mostraron un ion molecular común [M-H] a m/z 533,0 uma. Dos pérdidas consecutivas de 162 uma indicaron la presencia de dos restos cafeoílicos, lo que condujo a un fragmento de iones MS<sup>2</sup> a m/z 209 y 191 uma. Los compuestos se identificaron como isómeros de ácido dicafeoil hexárico. Los compuestos 3 y 8 mostraron un ion molecular común [M-H]- a m/z 352,9 uma, lo que lleva a un fragmento de iones MS<sup>2</sup> a 190,6. Siguiendo el esquema jerárquico propuesto por Clifford et al. (2003), los compuestos se identificaron como ácidos 5 y 3-cafeoilquínicos respectivamente. La identidad de ambos compuestos se confirmó con estándares comerciales. Además, los compuestos 10, 13, 16 y 23 mostraron un patrón de fragmentación similar y se identificaron provisoriamente como isómeros de ácido cafeoilquínico. Los compuestos 26, 37, 51 y 59 mostraron un ion molecular común [M-H]<sup>-</sup> a m/z 514,9 uma, seguido de dos pérdidas consecutivas de 162 uma, lo que lleva al fragmento de ion MS<sup>2</sup> a m/z 190,68 uma. Los compuestos fueron identificados tentativamente como isómeros de ácido dicafeoilquínico (Clifford et al., 2003). Los compuestos 11 y 22 presentaron un ion molecular [M-H] a m/z 337,2 uma, lo que lleva al fragmento de iones MS<sup>2</sup> a 190,6 uma. Los compuestos se identificaron como ácido 3-p-coumaroilquínico (11) y ácido 5-p-coumaroilquínico (22), respectivamente (Clifford et al., 2003). Los compuestos 18, 21, 28, 35 y 38 presentaron un ion

molecular común  $[M-H]^-$  a m/z 367,3 uma. La pérdida neutra de un resto feruloil en el fragmento ion  $MS^2$  a 191 uma, permitió la identificación tentativa de ambos compuestos como isómeros del ácido feruloilquínico.

# 1.3 Elagitaninos

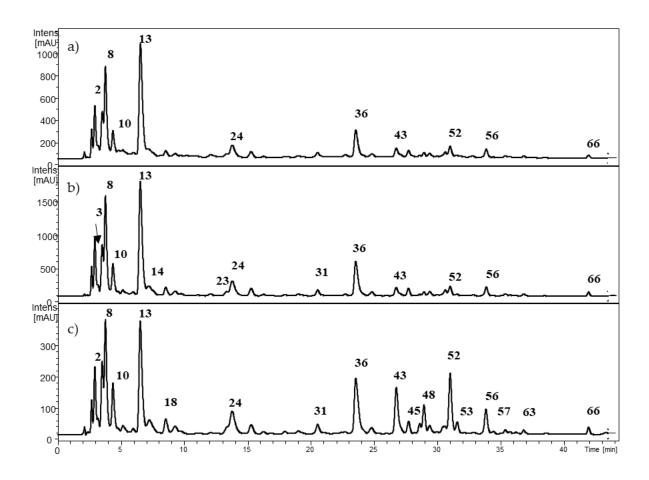
Las elagitaninos solo se detectaron en la fracción no antociánica de F. chiloensis ssp. chiloensis f. patagonica (Tabla 3.6). Los derivados del ácido elágico fueron identificados por el ion molecular común [M-H]<sup>-</sup> a m/z 300,5 uma. El compuesto 27 mostró la pérdida neutral de 162 uma, de acuerdo con ácido elágico hexósido. El compuesto 39 mostró un ion molecular [M-H]<sup>-</sup> a m/z 435,0 uma seguido por la pérdida neutra de 132 uma, de acuerdo con el ácido elágico pentósido. El compuesto 46 mostró una pérdida neutral de 146 uma de acuerdo con el ácido elágico ramnósido. Los compuestos 15, 17, 25 y 32 presentaron un ion molecular común [M-H] a m/z 935,3 uma. La pérdida neutral de 302 uma señaló un grupo hexahidroxidifenoil (HHDP) y la pérdida de 170 uma a una unidad de galato. Los compuestos mostraron un patrón de fragmentación que indicaba la presencia de dos unidades de HHDP y una unidad de galato vinculada al núcleo de hexosa. Los compuestos se identificaron tentativamente como isómeros de casuarictina/potentilina (Jiménez-Aspee et al., 2016b). El compuesto 1 mostró el patrón de fragmentación característico de un elagitanino con dos unidades HHDP. El ion molecular [M-H]<sup>-</sup> a m/z 783,3 uma, y los fragmentos de iones MS<sup>2</sup> a m/z 480,7 y 300,6 permitieron la identificación tentativa de este compuesto como un isómero de pedunculagina (Quatrin et al., 2019). El compuesto 6 mostró un ion molecular [M-H]<sup>-</sup> en m/z 633,9 uma y fragmentos de iones MS<sup>2</sup> en m/z 462,7 [M-H-galloyl]<sup>-</sup> y 300,8 uma [M-H-galloil hexosa]<sup>-</sup>. El compuesto se identificó como HHDP-galoil-hexósido (Quatrin et al., 2019).



**Figura 3.3** Cromatograma HPLC-DAD de *Berberis microphylla* a a) 280 nm; b) 320 nm; y c) 360 nm. Los números corresponden a la Tabla 3.6.

# 1.4 Flavan-3-oles y proantocianidinas

Se detectaron flavan-3-oles y proantocianidinas en el extracto no antociánico de las tres especies investigadas de berries de la Patagonia argentina (Tabla 3.6). El compuesto 9 mostró un ion molecular  $[M-H]^-$  a m/z 289,3 uma y  $UV_{max}$  a 280 nm, de acuerdo con (epi)-catequina. Los compuestos 4, 7, 12, 20 y 40 mostraron un ion molecular común  $[M-H]^-$  a m/z 577,3 uma y un fragmento de ion  $MS^2$  a m/z 289,1 uma. Este patrón de fragmentación coincidió con un dímero de procianidina de tipo B (Lin et al., 2014).



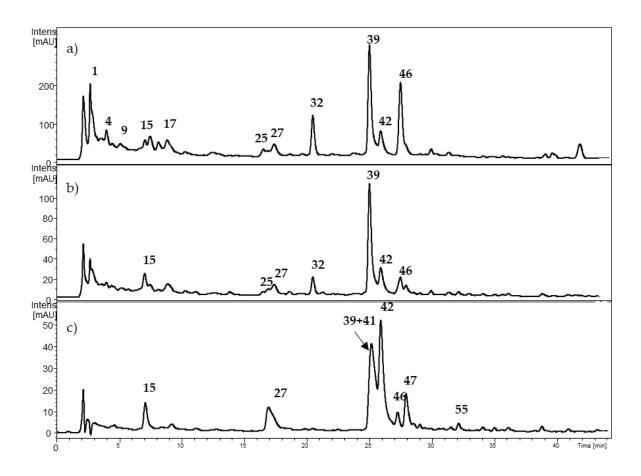
**Figura 3.4** Cromatograma HPLC-DAD de *Berberis darwinii* a a) 280 nm; b) 320 nm; y c) 360 nm. Los números corresponden a la Tabla 3.6.

#### 1.5 Flavonoles

La composición de flavonoles de las tres especies estudiadas se muestra en la Tabla 3.6. La presencia de derivados de miricetina fue confirmado por el fragmento iónico  $MS^2$  a m/z 316,5 uma y  $UV_{max}$  a 365 nm. Los compuestos 30 y 31 fueron asignados como miricetina hexósidos por la pérdida neutral de 162 uma, mientras que el compuesto 34 se identificó como miricetina rutinósido por la pérdida neutra de 308 uma. Además, la presencia de dimetilmiricetina hexósido (siringetina hexósido, 61) fue sugerida por los fragmentos del ion  $MS^2$  a m/z 344,6 uma (Jiménez-Aspee et al., 2018).

Los compuestos 41, 42, 43, 45, 47, 48, 50, 52, 53, 55 y 56 mostraron fragmentos del ion MS<sup>2</sup> a *m/z* 300,6 uma coincidiendo con quercetina. La pérdida neutra de 132 uma para los compuestos 41, 42 y 55 indicó la presencia de un pentósido. Los compuestos 43 y 47 mostraron una pérdida neutra de 162 uma de acuerdo con hexósido y el compuesto 45 mostró una pérdida neutra de 176 uma, característica de un glucurónido. La pérdida neutra de 146 uma para el compuesto 56 indicó una ramnosa (desoxihexosa) y la pérdida neutra de 308 uma para el compuesto 48 indicó un rutinósido.

Los compuestos 50, 52 y 53 presentaron un ion molecular común [MH]<sup>-</sup> a *m/z* 505,3 uma, seguido de la pérdida neutra de 204 uma, lo que sugiere la presencia de un acetilhexósido. Los compuestos se asignaron tentativamente como quercetina acetilhexósidos.



**Figura 3.5** Cromatograma HPLC-DAD de *Fragaria chiloensis* ssp. *chiloensis f. patagonica* a a) 280 nm; b) 320 nm; y c) 360 nm. Los números se corresponden a la Tabla 3.6.

Se asignaron seis derivados de kaempferol en base al ion  $MS^2$  a m/z 285 uma. Los hexósidos (54 y 64), el rutinósido (57), el ramnósido (66) y los acetilhexósidos (60 y 68) se identificaron por las pérdidas neutrales de 162, 308, 146 y 204 uma, respectivamente. El ion  $MS^2$  de los compuestos 58, 62, 63, 65 y 67 a m / z 314,7 uma coincidió con un núcleo de isoramnetina. La identidad de los compuestos fue establecida por las pérdidas neutrales de hexósido (62), rutinósido (63), dihexósido rhamnosido (58) y acetilhexósidos (65 y 67), respectivamente.

**Tabla 3.6** Caracterización y distribución de compuestos fenólicos no antociánicos en berries nativos de *Berberis microphylla*, *B. darwinii* y *F. chiloensis* de la Patagonia argentina por HPLC-DAD-ESI-MS<sup>n</sup>. \* Identidad confirmada por coinyección con estándar. MS<sup>2</sup>: espectrometría de masas en tándem.

						Detectado en			
Pico	tr (min)	[M-H] <sup>-</sup>	MS <sup>2</sup>	λ <sub>max</sub> (nm)	Identificación tentativa	B. microphylla	B. darwinii	F. chiloensis	
1	2,8	783,3	480,8 (41), 300,7 (100)	280	Di-HHDP-glucosa (Pedunculagina)			х	
2	3,0	371,0	208,6 (100), 190,7 (100)	326	Isómero de ácido cafeoilhexárico 1	х	x		
3	3,6	353,3	190,6 (100), 178,9 (26), 134,9 (7)	328	Ácido 5-cafeoilquínico *	х	x		
4	3,7	577,3	558,7 (18), 450,7 (43) 424,8 (100), 289,1 (16)	274	Dímero de procianidina tipo B 1			x	
5	3,8	370,9	208,6 (100), 190,7 (26)	327	Isómero de ácido cafeoilhexárico 2	х	x		
6	4,0	633,9	450,7 (6), 300,7 (100)	270	HHDP-galloil-hexosa 1			х	
7	4,2	577,4	450,6 (41), 424,7 (100), 288,7 (36)	280	Dímero de procianidina tipo B 2			x	
8	4,5	353,2	190,6 (100), 178,8 (5), 128,7 (3)	329	Ácido 3-cafeoilquínico *	х	x		
9	5,1	289,3	244,7 (100), 204,7 (41), 124,7 (7)	282	( <i>epi</i> )-catequina		x	х	
10	5,3	353,3	190,6 (100)	320	Isómero de ácido cafeoilquínico 1	х	x		
11	5,7	337,3	162,6 (100), 118,8 (5)	330	Ácido 3-p-coumaroilquinico		x		
12	6,1	577,2	558,8 (14), 450,7 (35), 424,9 (100), 407,4 (58), 289,2 (11)	281	Dímero de procianidina tipo B3	x	x		
13	6,5-6,9	352,9	190,6 (100)	324	Isómero de ácido cafeoilquínico 2	х	х		

14	7,6	533,1	370,6 (100), 208,7 (12)	324	Isómero de ácido dicafeoilhexárico 1	x		
15	7,7	935,0	632,9 (100), 300,8 (25)	270	Isómero de Casuarictina/Potentilina 1			х
16	8,6	353,3	190,7 (100)	330	Isómero de ácido cafeoilquínico 3	x	x	
17	9,0	934,9	632,7 (100), 450,9 (7), 300,8 (25)	270	Isómero de Casuarictina/Potentilina 2			х
18	9,3	367,3	179,7 (100)	328	Isómero de ácido feruloilquínico 1	x	x	
19	9,4	533,5	370,7 (100), 208,7 (18)	326	Isómero de ácido dicafeoilhexárico 2	x	x	
20	10,5	577,0	558,7 (100), 450,7 (35) 424,7 (100), 406,9 (62) 288,7 (21)	280	Dímero de procianidina tipo B4		x	
21	11,2	367,2	192,6 (22), 178,7 (100) 134,9 (32)	330	Isómero de ácido feruloilquínico 2		x	
22	12,0	337,4	190,7 (100)	330	Ácido 5-p-coumaroilquinico		x	
23	12,2	353,1	190,7 (100)	320	Isómero de ácido cafeoilquínico 4		x	
24	13,9	533,1	370,6 (100), 208,7 (100)	326	Isómero de ácido dicafeoilhexárico 3	x	x	
25	16,7	935,3	632,9 (45), 300,6 (100)	270	Isómero de Casuarictina/Potentilina 3			x
26	16,9	515,1	353,0 (100), 190,6 (41)	325	Isómero de ácido dicafeoilquínico 1	x		
27	17,2	463,0	300,5 (100)	350	Ácido elágico hexósido			x
28	18,1	367,6	178,6 (100), 134,8 (31)	330	Isómero de ácido feruloilquínico 3	x	x	
29	18,6	533,4	370,6 (100), 208,6 (19)	328	Isómero de ácido dicafeoilhexárico 4	x		
30	18,8	479,3	316,7 (100)	360	Isómero de miricetina hexósido 1		x	
31	20,6	479,5	316,7 (100)	365	Isómero de miricetina hexósido 2	x		
32	20,6	934,5	915,0 (68), 632,9 (35), 300,7 (42)	280	Isómero de Casuarictina/Potentilina 4			x
33	20,7	533,1	370,6 (100), 208,7 (17)	330	Isómero de ácido dicafeoilhexárico 5	x	x	

34	21,2	625,3	316,5 (100)	360	Miricetina rutinósido	X	x	
35	23,3	367,2	192,6 (22), 178,7 (100) 134,9 (32)	320	Isómero de ácido feruloilquínico 4		x	
36	23,7	533,1	370,6 (100), 208,7 (42)	332	Isómero de ácido dicafeoilhexárico 6	x	x	
37	24,8	515,1	353,0 (100), 190,6 (42)	330	Isómero de ácido dicafeoilquínico 2		x	
38	25,0	367,1	178,6 (100), 134,7 (31)	326	Isómero de ácido feruloilquínico 5	X	x	
39	25,1	435,0	301,3 (100)	350	Ácido elágico pentósido			X
40	25,2	577,0	424,7 (100), 406,9 (62) 288,7 (21)	280	Dímero de procianidina tipo B3		x	
41	25,4	435,0	301,0 (100)	367	Isómero de quercetina pentósido 1			x
42	26,0	435,1	301,3 (100)	361	Isómero de quercetina pentósido 2			X
43	26,8	463,4	301,2 (100)	351	Isómero de quercetina hexósido 1	x	x	
44	27,1	533,0	370,5 (100)	340	Isómero de ácido dicafeoilhexárico 7		x	
45	27,4	477,3	300,6 (100)	350	Quercetina glucurónido		x	x
46	28,0	447,1	300,6 (100)	367	Ácido elágico rhamnósido			x
47	28,5	463,0	300,6 (100)	354	Isómero de quercetina hexósido 2	x	x	x
48	29,0	609,3	300,6 (100)	352	Quercetina rutinósido	x	x	
49	30,0	533,3	370,6 (100), 208,6 (43)	330	Isómero de ácido dicafeoilhexárico 8		x	
50	30,4	505,6	300,6 (100)	354	Isómero de quercetina acetilhexósido 1	x		
51	30,6	515,4	352,7 (100), 190,7 (22)	327	Isómero de ácido dicafeoilquínico 3	x	x	
52	31,1	505,3	300,6 (100)	353	Isómero de acetilhexósido de quercetina 2	x	x	
53	31,7	505,3	300,6 (100)	352	Isómero de quercetina acetilhexósido 3	x	x	
54	32,2	447,4	284,8 (100)	340	Kaempferol hexósido	x		

55	32,2	433,4	300,6 (100)	350	Isómero de quercetina pentósido 3			X
56	33,8	447,3	300,6 (100)	356	Quercetina ramnósido	X	x	
57	35,4	593,4	284,6 (100)	340	Kaempferol rutinósido	X	x	
58	35,7	785,5	314,6 (100)	354	Isoramnetina rutinósido hexósido	X	x	
59	36,1	515,3	352,7 (100)	326	Isómero de ácido dicafeoilquínico 4	X	x	
60	36,3	489,4	284,6 (100)	340	Kaempferol acetilhexósido		x	
61	36,5	507,1	344,6 (100)	320	Siringetina hexósido		x	
62	36,6	477,3	315,7 (100)	345	Isoramnetina hexósido	x		
63	38,3	623,4	315,7 (100)	355	Isoramnetina rutinósido	x	x	
64	39,5	447,5	284,6 (100)	340	Kaempferol hexósido	X		
65	40,5	519,3	315,6 (100)	355	Isómero de Isoramnetina acetilhexósido 1	x		
66	41,0	431,4	284,7 (100)	340	Kaempferol ramnósido	x	x	
67	42,3	519,6	315,6 (100)	340	Isómero de Isoramnetina acetilhexósido 2	x		
68	44.2	489,7	284,8 (100)	340	Kaempferol acetilhexósido	x		

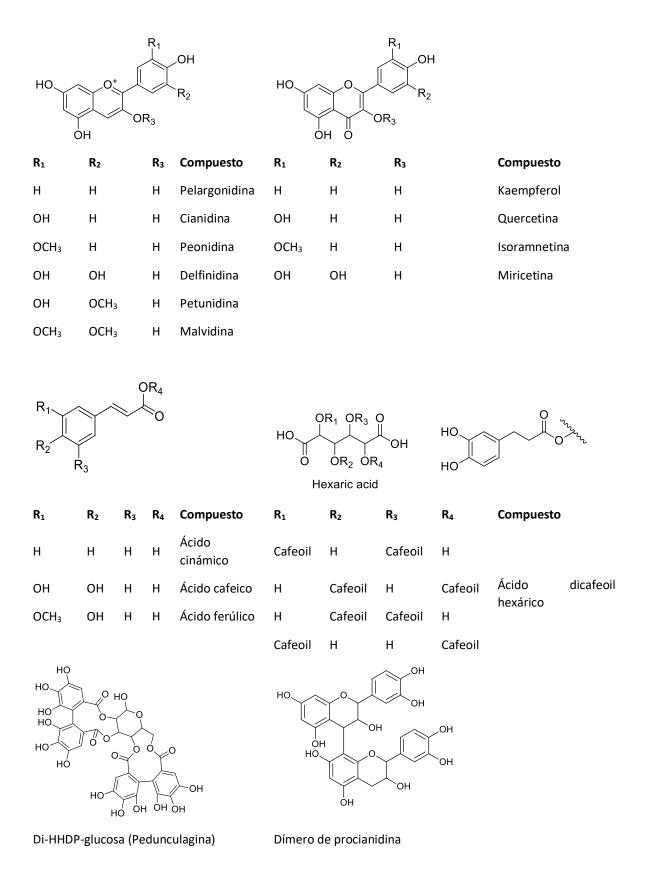
### 1.6 Cuantificación de los principales fenoles

Los principales compuestos fenólicos encontrados en *B. microphylla* y *B. darwinii* se muestran en la Figura 3.6. En la Tabla 3.7 se detalla el contenido de antocianinas individuales de *Fragaria chiloensis* ssp. *chiloensis* f. patagonica, y en la Tabla 3.8 de *Berberis microphylla* y *B. darwinii*. La principal antocianina en la frutilla nativa fue la cianidina-3-glucósido (3a) y osciló entre 0,7-7,1 mg/100g pf, seguida de pelargonidina hexósido (6a), con contenidos que oscilaron entre 1,7-5,8 mg/100g pf. En *B. microphylla*, la antocianina principal fue delfinidina-3-glucósido (1a), con contenidos que oscilaron entre 78,6-621,7 mg/100g pf, seguidos de petunidina hexósido (5a), que oscilaron entre 35,7-363,6 mg/100 g pf.

En *Fragaria chiloensis* ssp. *chiloensis f. patagonica*, el principal flavonol fue el pentósido de quercetina 2 (42) con contenidos que van desde 6,2-7,1 mg / 100 g pf, seguido por el pentósido de quercetina 3 (55), que va desde 2,4-2,8 mg / 100 g pf. En *B. microphylla*, los flavonoles principales fueron quercetina rutinósido (rutina) (48) e isoramnetina rutinósido (63), con contenidos que van desde 14,1-53,5 y 4,2-55,7 mg / 100 g pf, respectivamente. En *B. darwinii*, el flavonol principal fue acetilhexósido de quercetina 1 (52) (25,2-59,8 mg / 100 g pf), seguido de hexósido de quercetina (43) (29,8-56,6 mg / 100 g pf).

El principal AHC en *B. microphylla* fue el ácido cafeoilquínico 3 (13), con contenidos que oscilaron entre 31,6-163,7 mg/100 g pf, seguido por el ácido dicaffeoil glucárico 2 (14), que varió entre 17,7-56,3 mg / 100 g pf. En *B. darwinii*, el AHC principal también fue el ácido cafeoilquínico 3 (13), con contenidos que van desde 100,0-328,3 mg / 100 g pf, seguido por el ácido cafeoilglucárico 2 (5), con contenidos entre 59,2 y 217,6 mg / 100 g pf.

La Tabla 3.6 además muestra la variabilidad encontrada en el contenido fenólico de los distintos sitios de muestreo para las muestras de *B. microphylla*. Específicamente, el contenido de delfinidina hexosido (1a), ácido dicaffeoil glucárico 2 (14), ácido dicaffeoil glucarico 6 (36), ácido dicaffeoilquinico 7 (51), quercetina rutinosido (48), varió significativamente entre los cinco sitios de muestreo (Tabla 3.6, p <0,05, ANOVA y test de Tukey).



**Figura 3.6** Grupos principales de compuestos fenólicos presentes en *Berberis microphylla, B. darwinii* y *Fragaria chiloensis* ssp. *chiloensis f. patagonica*.

**Tabla 3.7** Contenido de antocianinas y flavonoles en frutos de *Fragaria chiloensis* ssp. *chiloensis f. patagonica* provenientes de la Patagonia argentina. Datos expresados en mg/100 g pf.

Compuestos	Fragaria chiloensis ssp. chiloensis f patagónica			
	Arroyo Llodconto	Frey		
Antocianinas				
Cianidina-3-glucósido (3a)	7,1 ± 0,2	0,7 ± 0,1		
Pelargonidina hexósido (6a)	5,8 ± 0,1	1,7 ± 0,0		
Cianidina-malonil hexósido ( <b>10a</b> )	0,8 ± 0,3	LDD		
Flavonoles				
Quercetina pentósido 2 (42)	6,2 ± 0,2	7,1 ± 0,1		
Quercetina glucurónido (45)	2,2 ± 0,3	0,9 ± 0,0		
Quercetina pentósido 3 (55)	2,8 ± 0,0	2,4 ± 0,0		

LDD: límite de detección (para flavonoles: 0,12  $\mu$ g; para antocianinas: 0,33  $\mu$ g). Las antocianinas están expresadas como equivalentes de malvidina-3-O-glucósido y los flavonoles como equivalentes de quercetina-3-O-glucósido /100 g de peso fresco.

**Tabla 3.8** Contenidos de antocianinas, ácidos hidroxicinámicos y flavonoles en frutos de *Berberis microphylla* y *B. darwinii* provenientes de la Patagonia argentina (mg/100 g pf).

	Berberis micro	ohylla	Berberis darwinii				
Componentes	Brazo Rincón	Aeropuerto	Villa La Angostura	Cuyín Manzano	Llanquín	Brazo Rincón	Villa La Angostura
Antocianinas							
Delfinidina-3-glucósido (1a)	78,6 ± 0,9 <sup>a</sup>	621,7 ± 9,1 <sup>b</sup>	459,8 ± 5,8°	397,1 ± 0,9 <sup>d</sup>	301,7 ± 1,6 <sup>e</sup>	115,3 ± 2,7	163,3 ± 4,4
Delfinidina rutinósido (2a)	1,8 ± 0,3°	66,4 ± 3,5 <sup>b</sup>	35,5 ± 1,7°	29,1 ± 1,0 <sup>d</sup>	27,1 ± 0,3 <sup>d</sup>	11,0 ± 0,1	10,9 ± 0,7
Cianidina-3-glucósido (3a)	$1.2 \pm 0.0^{a}$	51,3 ± 3,4 <sup>b</sup>	40,0 ± 1,7°	52,3 ± 1,1 <sup>b</sup>	47,8 ± 2,6 <sup>b</sup>	30,4 ± 0,0	68,2 ± 2,0
Cianidina-3-rutinósido (4a)	LDD	LDD	LDD	LDD	LDD	LDD	2,3 ± 0,0
Petunidina hexósido ( <b>5a</b> )	35,7 ± 1,0 <sup>a</sup>	363,6 ± 6,0 <sup>b</sup>	271,2 ± 1,4°	229,8 ± 0,8 <sup>d</sup>	185,7 ± 9,7 <sup>e</sup>	61,9 ± 0,1	83,7 ± 2,8
Petunidina rutinósido ( <b>7a</b> )	$1.0 \pm 0.0^{a}$	78,5 ± 3,9 <sup>b</sup>	37,2 ± 0,1°	30,3 ± 0,6 <sup>d</sup>	33,5 ± 0,0 <sup>cd</sup>	7,3 ± 0,1	8,7 ± 0,9
Peonidina hexósido (8a)	LDD	11,2 ± 0,9 <sup>a</sup>	6,4 ± 0,8 <sup>b</sup>	15,3 ± 0,2°	16,5 ± 0,8°	1,2 ± 0,0	5,3 ± 0,7
Peonidina rutinósido ( <b>9a</b> )	LDD	LDD	LDD	LDD	1,4 ± 0,1	LDD	LDD
Malvidina-3-glucósido (11a)	11,5 ± 0,4°	247,0 ± 3,6 <sup>b</sup>	172,4 ± 0,2°	163,4 ± 0,3 <sup>d</sup>	181,7 ± 4,8 <sup>e</sup>	59,3 ± 0,8	66,8 ± 1,7
Malvidina rutinósido (12a)	LDD	54,5 ± 4,8ª	21,9 ± 1,1 <sup>b</sup>	17,4 ± 0,4 <sup>b</sup>	35,6 ± 1,2°	4,3 ± 0,8	3,8 ± 0,7
Ácidos Hidroxicinámicos							
Ácido cafeoilglucárico 1 (2)	20,8 ± 0,6 <sup>a</sup>	46,2 ± 1,6 <sup>b</sup>	48,4 ± 0,3°	21,5 ± 0,4 <sup>a</sup>	15,1 ± 0,3 <sup>d</sup>	22,4 ± 0,4	96,3 ± 2,0
Ácido cafeoilglucárico 2 (5)	9,2 ± 0,2°	23,3 ± 0,3 <sup>b</sup>	27,4 ± 0,3°	46,3 ± 1,4 <sup>d</sup>	22,3 ± 0,3 <sup>b</sup>	59,2 ± 0,2	217,6 ± 1,4

Ácido cafeoilquínico 2 (13)	163,7 ± 0,7°	74,1 ± 0,6 <sup>b</sup>	163,4 ± 1,1°	35,2 ± 0,2°	31,6 ± 1,1 <sup>d</sup>	100,0 ± 0,3	328,3 ± 2,2
Ácido dicafeoilhexárico 2 (14)	28,2 ± 0,3°	20,0 ± 0,3 <sup>b</sup>	56,3 ± 0,5°	25,2 ± 0,2 <sup>d</sup>	17,6 ± 0,1 <sup>e</sup>	7,1 ± 0,7	67,4 ± 0,1
Ácido cafeoilquínico 3 (16)	3,2 ± 0,1 <sup>a</sup>	4,9 ± 0,3 <sup>b</sup>	6,2 ± 0,4°	6,8 ± 0,2°	4,2 ± 0,2 <sup>d</sup>	7,6 ± 0,1	28,2 ± 0,2
Ácido feruloilquínico (18)	$6,3 \pm 0,0^{a}$	17,3 ± 0,9 <sup>b</sup>	16,2 ± 0,9 <sup>b</sup>	23,3 ± 0,8°	12,6 ± 0,2 <sup>d</sup>	6,8 ± 0,3	21,6 ± 0,5
Ácido dicafeoilglucárico 3 (24)	$2,1 \pm 0,3^{a}$	1,8 ± 0,2 <sup>a</sup>	2,8 ± 1,2 <sup>a</sup>	5,4 ± 0,0 <sup>b</sup>	7,1 ± 0,0°	27,2 ± 1,2	93,2 ± 0,1
Ácido dicafeoilglucárico 6 ( <b>36</b> )	$2.8 \pm 0.2^{a}$	3,3 ± 0,1 <sup>b</sup>	6,4 ± 0,3°	5,2 ± 0,0 <sup>d</sup>	9,5 ± 0,0 <sup>e</sup>	24,1 ± 1,5	123,6 ± 3,4
Ácido dicafeoilhexárico 3 (51)	16,5 ± 0,3°	11,6 ± 0,3 <sup>b</sup>	20,3 ± 0,2°	9,6 ± 0,1 <sup>d</sup>	4,5 ± 0,8 <sup>e</sup>	10,4 ± 0,8	21,1 ± 0,5
Flavonoles							
Quercetina hexósido (43)	10,5 ± 0,0°	41,5 ± 0,5 <sup>b</sup>	24,6 ± 1,3°	31,2 ± 1,0 <sup>d</sup>	26,2 ± 0,9°	29,8 ± 0,1	56,6 ± 2,5
Quercetina glucurónido (45)	ND	ND	2,8 ± 0,1	ND	ND	$3,0 \pm 0,3$	13,6 ± 0,4
Quercetina rutinósido (48)	14,1 ± 0,0°	53,5 ± 2,7 <sup>b</sup>	34,6 ± 0,5°	40,0 ± 0,9 <sup>d</sup>	18,5 ± 1,2 <sup>e</sup>	25,0 ± 0,7	57,3 ± 5,8
Quercetina acetilhexósido (52)	12,2 ± 0,4°	LDD	20,7 ± 0,1 <sup>b</sup>	7,1 ± 0,1 <sup>c</sup>	5,4 ± 0,2 <sup>d</sup>	25,1 ± 0,5	59,8 ± 1,7
Quercetina ramnósido (56)	18,8 ± 0,6°	0,2 ± 0,3 <sup>b</sup>	ND	4,2 ± 0,2°	1,5 ± 0,3 <sup>d</sup>	28,0 ± 0,3	26,6 ± 1,1
Isoramnetina rutinósido (63)	4,2 ± 0,1 <sup>a</sup>	55,7 ± 2,6 <sup>b</sup>	9,6 ± 0,9 <sup>a</sup>	26,6 ± 3,1°	22,1 ± 2,2°	LDD	LDD
Isoramnetina acetilhexóoide 1 (65)	$3.9 \pm 0.0^{a}$	8,6 ± 0,5 <sup>b</sup>	$6.8 \pm 0.0^{c}$	6,7 ± 0,2°	9,9 ± 0,2 <sup>d</sup>	ND	ND
Isoramnetina acetilhexósido 2 (67)	$2,1 \pm 0,2^{a}$	6,8 ± 0,6 <sup>b</sup>	6,5 ± 0,0 <sup>b</sup>	6,5 ± 0,4 <sup>b</sup>	$3,2 \pm 0,1^{c}$	ND	5,3 ± 0,4

ND: no detectado; LDD: límite de detección (para los flavonoles: 0,12 μg; para antocianinas: 0,33 μg; para ácidos hidroxicinámicos: 0,07 μg). Letras diferentes (a-e) en la misma fila muestran diferencias significativas entre cada determinación, de acuerdo al test de Tukey (*p* < 0,05). Las antocianinas están expresadas como equivalentes de malvidina-3-O-glucósido, los ácidos hidroxicinámicos están expresados como equivalentes de ácido clorogénico, y los flavonoles están expresados como equivalentes de quercetina-3-O-glucósido /100 g pf.

#### 1.7 Actividad antioxidante

En el ensayo de radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) de las muestras de la Patagonia argentina, la mayor capacidad de recaptación se encontró en uno de los EEF de *F. chiloensis* recolectados en Frey, seguido de la muestra de *B. darwinii* de Villa La Angostura (Tabla 3.9). En los ensayos de poder antioxidante reductor férrico (FRAP), actividad antioxidante en equivalentes Trolox (TEAC) y poder antioxidante reductor cúprico (CUPRAC), la mejor actividad antioxidante se encontró en ambos extractos de *B. darwinii*. Sin embargo, en el ensayo de capacidad de absorbancia de radicales de oxígeno (ORAC), las mejores actividades antioxidantes se encontraron en los extractos de frutos de *B. microphylla* (Tabla 3.9).

El coeficiente de correlación de Pearson mostró que las antocianinas individuales cuantificadas presentaron altas correlaciones (p <0,05) con la actividad antioxidante (Tabla 3.10), excepto para los compuestos 8a y 11a. Para los AHCs, el contenido de isómero del ácido cafeoilhexárico 2 (5), isómero del ácido cafeoilquínico 3 (16), y el isómero del ácido feruilquínico 1 (18) también demostró altas correlaciones con todos los ensayos antioxidantes realizados (Tabla 3.10). Con respecto a los flavonoles, el contenido de quercetina hexósido 1 (43), quercetina rutinósido (48) y quercetina ramnósido (56) mostraron altas correlaciones con todos los ensayos de antioxidantes (p <0,01), mientras que el contenido de isómero isoramnetina acetilhexósido 2 (67) presentó una correlación significativa con todos los ensayos, excepto en el método TEAC (Tabla 3.10).

# 1.8 Inhibición de las enzimas asociadas al síndrome metabólico

Todas las muestras de la Patagonia argentina investigadas en este trabajo inhiben la  $\alpha$ -glucosidasa (Tabla 3.6). El control positivo acarbosa mostró un valor de CI50 de 137,73 µg/ml, mientras que los valores de CI50 de las muestras oscilaron entre 0,14 y 1,19 µg de EEF/ml. Los valores CI50 obtenidos para la  $\alpha$ -glucosidasa mostraron una correlación significativa de Pearson con el contenido de cianidina-3-glucósido (3a), isómero del ácido cafeoilglucárico 2 (5), isómero del ácido cafeoilquínico 3 (16), isómero del ácido feruloilquínico 1 (18), e isómero de isoramnetina acetilhexósido 2 (67) (p <0,01) (Tabla 3.9).

En nuestras condiciones experimentales, ninguna de las muestras inhibió la  $\alpha$ -amilasa, mientras que el control positivo acarbosa mostró un valor de CI50 de 28,5  $\mu$ g /ml.

Solo los EEF de *F. chiloensis* inhibieron la lipasa, con valores de IC50 de 38,3  $\pm$  1,6 y 41,4  $\pm$  0,7  $\mu$ g de EEF/ml para las muestras de Frey y Arroyo Llodconto, respectivamente.

**Tabla 3.9** Capacidad antioxidante e inhibición de enzimas asociadas al síndrome metabólico de los extractos fenólicos enriquecidos (EEF) de *Berberis microphylla*, *B. darwinii* y *Fragaria chiloensis* ssp. *chiloensis f. patagonica*.

	DPPH	FRAP	TEAC	CUPRAC	ORAC	α-glucosidasa
Muestras	(SC <sub>50</sub> , μg/mL)	(μmol ET/g EEF)	(μM ET/g EEF)	(µmol ET/ g EEF)	(μmol ET/g EEF)	(Cl <sub>50</sub> , μg/ml)
Berberis microphylla						
Brazo Rincón	16,0 ± 0,4ª	1915,0 ± 61,0°	Inactivo	2876,3 ± 78,7 <sup>a</sup>	843,8 ± 43,0 <sup>a</sup>	0,5 ± 0,0°
Aeropuerto	10,4 ± 0,3 <sup>b</sup>	2656,6 ± 43,7 <sup>b</sup>	1938,8 ± 58,8ª	3355,0 ± 103,7 <sup>b</sup>	3020,0 ± 99,3 <sup>b</sup>	0,4 ± 0,0 <sup>d</sup>
Villa La Angostura	10,4 ± 0,4 <sup>b</sup>	2579,6 ± 45,5 <sup>b</sup>	1565,8 ± 33,3 <sup>b</sup>	3470,7 ± 19,0 <sup>b</sup>	2800,8 ± 90,7 <sup>b</sup>	0,3 ± 0,0 <sup>b</sup>
Cuyín Manzano	10,9 ± 0,4 <sup>b</sup>	2578,0 ± 36,8 <sup>b</sup>	1760,2 ± 44,3°	3318,0 ± 73,2 <sup>b</sup>	3299,8 ± 69,7°	0,1 ± 0,0°
Llanquín	15,3 ± 0,4ª	2009,7 ± 46,3°	1748,3 ± 46,2°	3015,4 ± 96,4°	2928,0 ± 94,1 <sup>b</sup>	0,4 ± 0,0 <sup>d</sup>
Berberis darwinii						
Brazo Rincón	17,3 ± 0,2	2770,6 ± 76,8	2012,5 ± 39,8	4588,9 ± 157,4	3032,3 ± 60,3	0,5 ± 0,0
Villa La Angostura	8,8 ± 0,2	3014,6 ± 63,0	2280,0 ± 44,8	4937,6 ± 89,4	2160,3 ± 164,4	0,8 ± 0,0
Fragaria chiloensis ssp.						
chiloensis f. patagonica	,					
Arroyo Llodconto	10,1 ± 0,3	1064,8 ± 15,4	1484,8 ± 29,1	2292,8 ± 27,3	772,5 ± 0,9	$0.3 \pm 0.0$
Frey	8,4 ± 0,1	1722,4 ± 36,8	1234,8 ± 40,1	2744,4 ± 59,7	811,0 ± 2,6	1,2 ± 0,2

# Compuestos de

# referencia

Quercetina	$7.8 \pm 0.3$	1077,2 ± 16,4	8157,9 ± 22,1	27,526,1 ± 97,5	22,561,6 ± 808,8	-
Acarbosa	-	-	-	-	-	137,7 ± 1,3
Orlistat	-	-	-	-	-	-

<sup>-:</sup> no determinado. Letras diferentes (a-e) en la misma columna muestran diferencias significativas entre cada determinación, según el test de Tukey (p<0,05).

**Tabla 3.10** Coeficiente de correlación de Pearson para el contenido de polifenoles, actividad antioxidante e inhibición de  $\alpha$ -glucosidasa.

Compuestos	DPPH	FRAP	TEAC	CUPRAC	ORAC	α-glucosidasa
Antocianinas						
1 a	-0,866**	0,884**	0,851**	0,832**	0,796**	-0,518 <sup>*</sup>
2 a	-0,736**	0,773**	0,798**	0,702**	0,708**	-0,311
3 a	-0,630*	0,675**	0,991**	0,664**	0,992**	-0,653**
5 a	-0,848**	0,869**	0,873**	0,830**	0,816**	-0,512
7 a	-0,674**	0,709**	0,784**	0,633*	0,682**	-0,240
8 a	0,675*	-0,568	0,446	-0,717**	0,607*	0,104
10 a	-0,678**	0,706**	0,962**	0,687**	0,900**	-0,456
11 a	0,078	0,002	0,774**	-0,127	-0,150	0,765**
Ácidos Hidroxicinámicos						
2	-0,755**	0,734**	0,331	0,759**	0,259	-0,212
5	-0,642**	0,666**	0,665**	0,617*	0,786**	-0,957**
13	0,074	-0,133	- 0,664**	-0,030	- 0,682**	0,436
14	-0,380	0,311	-0,091	0,489	-0,052	-0,285
16	-0,799**	0,825**	0,649**	0,842**	0,755**	-0,952**
18	-0,795**	0,837**	0,790**	0,765**	0,870**	-0,918**
24	0,287	-0,236	0,385	-0,167	0,454	-0,242
36	0,176	-0,178	0,471	0,012	0,482	-0,150
51	-0,265	0,216	-0,439	0,298	-0,428	0,016
Flavonoles						
43	-0,712**	0,768**	0,887**	0,659**	0,839**	-0,476
48	-0,901**	0,938**	0,689**	0,816**	0,665**	-0,564 <sup>*</sup>
52	-0,441	0,383	-0,186	0,498	-0,200	-0,045
56	0,614*	-0,620 <sup>*</sup>	- 0,987**	-0,677 <sup>*</sup>	- 0,944**	0,498

64	-0,496	0,571*	0,668**	0,408	0,586*	-0,167
66	-0,191	0,235	0,842**	0,284	0,766**	-0,138
69	-0,975**	0,992**	0,738	0,948**	0,759**	-0,779**

<sup>\*</sup> p<0,05; \*\* p<0,01, de acuerdo con el coeficiente de correlación de Pearson.

### DISCUSIÓN

Los resultados sugieren que el método de extracción fue adecuado para la obtención de los compuestos polifenólicos. Los rendimientos de extracción obtenidos fueron similares a los reportados por Ruiz et al. (2013a). Estos autores informaron que mediante el uso de metanol al 93% en agua acidificada como solvente, la extracción de los compuestos polifenólicos en berries es óptima.

Este trabajo contribuye al conocimiento de los compuestos fenólicos de especies de *Berberis* y *Fragaria*. Las propiedades fitoquímicas y farmacológicas de muchas especies de *Berberis* fueron revisadas por Srivastava et al. (2015), Mokhber-Dezfuli et al. (2014) y Bober et al. (2019), quienes dan cuenta que distintas partes de la planta de estas especies son ricas en compuestos fenólicos. Del mismo modo, la composición química y los beneficios para la salud de *Fragaria chiloensis* han sido recientemente revisados (Schmeda-Hirschmann et al., 2019). Sin embargo, la información sobre la composición de *B. microphylla* es escasa para la Argentina (Arena et al., 2018, 2012). Análogamente, no se ha encontrado información en la bibliografía sobre *B. darwinii* y *F. chiloensis* de muestras argentinas, por lo que este trabajo contribuye a expandir el conocimiento de estos recursos naturales.

Las antocianinas identificadas en las muestras de *Berberis microphylla, B. darwinii* y *F. chiloensis* muestran muchas similitudes con las muestras chilenas. Ruiz et al. (2010) describieron el perfil de antocianinas de frutos de *B. microphylla* chilenos, informando 18 antocianinas, incluyendo derivados de delfinidina, cianidina, petunidina, peonidina y malvidina al igual que en las muestras de Argentina. Ramírez et al. (2015), si bien describieron la ocurrencia de antocianinas de delfinidina, petunidina, peonidina y malvidina en frutos de *B. microphylla* recolectados en la Región de Ñuble (centro sur de Chile), no detectaron la presencia de cianidina como sí ocurrió para los frutos argentinos. Por otro

lado, Ruiz et al. (2014) informaron el aislamiento y la caracterización de 3,7-β-O-diglucósidos de delfinidina, petunidina y malvidina, y sugirieron la aparición de los mismos derivados de cianidina y peonidina. Sin embargo, los dihexósidos no se detectaron en las muestras argentinas aquí analizadas, y constituyen una diferencia entre las poblaciones de la Patagonia oriental y occidental. En *F. chiloensis ssp. chiloensis* f. patagonica, Simirgiotis et al. (2009) describieron las mismas cuatro antocianinas principales: cianidina-3-O-glucósido, pelargonidina-3-O-glucósido, cianidina-malonil-glucósido y pelargonidina-malonil-glucósido, que coinciden con los hallazgos para las frutillas nativas analizadas en este trabajo.

El análisis de los AHCs muestra interesantes diferencias con lo reportado para los frutos de Chile, especialmente para la frutilla nativa. Para B. microphylla Ruiz et al. (2013) describieron la presencia de 20 AHCs diferentes en frutos de la Patagonia chilena, mientras que en las muestras aquí estudiadas se encontraron 27 AHCs. No se detectaron AHCs en las muestras argentinas de F. chiloensis ssp. chiloensis f. patagonica analizadas en este trabajo. En la frutilla blanca chilena nativa (F. chiloensis ssp. chiloensis f. chiloensis), Cheel et al. (2005) aislaron tres cinamoil hexósidos. En tanto que, la presencia de cafeoil, cumaroil y feruloil hexósidos se ha informado en frutillas comerciales (Schuster et al., 1985). Para este trabajo sólo se alcanzaron a procesar dos muestras de F. chiloensis de la Patagonia argentina, pero para confirmar esta interesante diferencia se requiere un mayor número de poblaciones. La presencia de elagitaninos en las frutillas nativas argentinas, coincide con lo descripto en general para las frutillas y apoya sus posibles beneficios para la salud. Estos compuestos no se detectaron en los frutos de Berberis y tampoco han sido reportados en la bibliografía para este género. En cambio, en F. chiloensis ssp. chiloensis f. patagonica chilena, Simirgiotis et al. (2009) y Thomas-Valdés et al. (2019), informaron la presencia de 10 elagitaninos, así como también ácido elágico pentósido y ácido elágico ramnósido (estos dos últimos también encontrados en las muestras argentinas), y ácido elágico. Los elagitaninos son los componentes principales de las frutillas y se han asociado con sus propiedades promotoras de la salud, como en la prevención de úlcera gástrica (Mc Dougall et al., 2009; Traveira de

Jesus et al., 2012). Por su parte, el ácido elágico sería capaz de inhibir la producción ácida del estómago (Traveira de Jesus et al., 2012).

Los hallazgos de este trabajo también contribuyen a la identificación de otras moléculas de importante rol en la salud como las proantocianidinas, presentes en los berries nativos. Las proantocianidinas, también conocidas como taninos condensados, son moléculas de alto peso molecular y no pueden ser absorbidas por el sistema digestivo (Minker et al., 2015). Su acción antioxidante sería muy importante en los intestinos, ya que estos están expuestos a una gran cantidad de factores oxidantes relacionados con numerosas enfermedades, incluido el prevalente cáncer de colón (Denev et al., 2012; Minker et al., 2015). Estos compuestos han sido descriptos en uvas, arándanos (Beecher, 2004) e inclusive en maqui (Céspedes et al., 2010.) Los resultados aquí expuestos son los primeros antecedentes en la identificación de estos compuestos para las especies de *Berberis* patagónicas. Si bien, ya se había dado cuenta de su presencia como proantocianidinas totales en frutos chilenos, (Lillo et al., 2016), estos no habían sido identificados (tentativamente). Para las frutillas nativas de poblaciones chilenas, Simirgiotis et al. (2009) describieron la presencia de dos tetrámeros de procianidina en *F. chiloensis* ssp. *chiloensis* f. patagónica.

Similitudes y diferencias se encontraron con respecto a los flavonoles de las muestras argentinas con lo encontrado para los frutos chilenos. En *B. microphylla*, Ruiz et al. (2010) describieron la presencia de derivados de miricetina, quercetina e isoramnetina de forma similar a los resultados aquí expuestos. La mayoría de los compuestos eran hexósidos, rutinósidos, acetil hexósidos (al igual que en lo encontrado para las muestras argentinas) o derivados de rutinósido-hexósido. En las muestras de *Berberis* de la Patagonia argentina descriptas en este Capítulo, además se describieron derivados del kaempferol. Por otro lado, mientras que Ruiz et al. (2010) no detectaron la presencia de isoramnetina-3-rutinosido e isoramnetina-3-galactósido en *B. darwinii*, estos compuestos si fueron encontrados en la misma especie para las muestras argentinas. En *F. chiloensis* ssp. *chiloensis* f. patagónica chilena, fueron descriptos derivados de la quercetina y del kaempferol, al igual que en las muestras de la Patagonia argentina (Simirgiotis et al., 2009).

Los resultados dan cuenta del contenido similar en los principales compuestos fenólicos para B. mirophylla de Argentina y Chile. En muestras chilenas estudiadas por Ruiz et al. (2013), las principales antocianinas de B. microphylla fueron delfinidina-3-glucósido y petunidina-3-glucósido, con contenidos de 410,6 y 225,6 mg/100g pf, respectivamente. Estos resultados son similares a los obtenidos en este trabajo, en cuanto a las mismas antocianinas mayoritarias, aunque aquí con un rango mayor (78,6-621,7 mg/100g pf). El valor inferior, probablemente, se deba al estado de maduración de los frutos de la muestra de Brazo Rincón. El contenido total de antocianinas de otros berries ha demostrado aumentar durante el período de maduración visualizado por el color de la piel de la fruta que se vuelve más oscuro (Chung et al., 2016). De igual manera, los flavonoles principales de B. microphylla coinciden con los reportados para los Berberis de los frutos chilenos: quercetina rutinósido (rutina) e isoramnetina rutinósido (Ruiz et al., 2014). También Arena et al. (2018) documentaron contenidos de rutina (0,5-1,0 mg/100 g pf) en frutos de B. microphylla de Argentina, comparativamente menores a los encontrados en el presente trabajo (14,1-53,5 mg/100 g pf). A nivel de los AHCs, tanto en los frutos argentinos como los chilenos, el principal AHC fue el ácido cafeoilquínico, con contenidos similares (31,6-163,7 y 1,4-98,4 mg/100 g pf respectivamente), aunque nuevamente con un rango más grande para Argentina (Ruiz et al., 2013b). En muestras argentinas, Arena et al. (2018) informaron el contenido de ácido clorogénico, ácido gálico (ambos no detectados en este estudio) y ácido ferúlico (si detectado) en las frutas B. microphylla bajo diferentes condiciones de luz y fertilización. El contenido de ácido ferúlico estuvo en el rango de 4,3-4,9 mg/100 g pf, menor a los encontrados en las muestras aquí estudiadas (6,3-23,3 mg/100 g pf).

No se encontró en la literatura información sobre la cuantificación de los compuestos fenólicos de frutos de *B. darwinii*. En cuanto al contenido de antocianinas, no había sido descripto en la bibliografía hasta el momento. Pero otras especies como *Berberis ilicifolia* y *B. empetrifolia* recolectadas en la Patagonia chilena mostraron el mismo patrón aquí expuesto para *B. microphylla* y *B. darwinii*, siendo delfinidina-3-glucósido y petunidina-3-glucósido los componentes principales. El contenido de delfinidina-3-glucósido y petunidina-3-glucósido fue de 132,5 mg/100g pf y 117,3 mg/100g pf en *B. ilicifolia* y 234,8

mg/100g pf y 150,9 mg/100g pf en *B. empetrifolia*, respectivamente (Ruiz et al., 2013b). Para las muestras aquí reportadas de *B. darwinii* los valores son menores a los antes citados, conformando los primeros antecedentes para la especie. Si bien Ruiz et al. (2014), dan cuenta que la rutina es el flavonol principal para *B. microphylla* y otros *Berberis* incluído *B. darwinii*, solo se informa la cuantificación para *B. microphylla*. Tampoco se encontró información sobre el contenido de AHCs para *B. darwinii*.

Los resultados aquí expuestos para los frutos de B. microphylla, dan indicios de la existencia de variación en los compuestos fenólicos entre sitios. Se detectaron diferencias significativas en compuestos de los tres grupos de fenoles cuantificados: antocianinas, ácidos hidroxicinámicos y flavonoles. Esta variabilidad podría estar relacionada con factores ambientales (altitud, latitud, entre otros) y/o genéticos de las poblaciones de plantas (Xu et al., 2011) y de maduración especialmente para el caso de los frutos de Brazo Rincón. En este sentido, Arena et al. (2016, 2018) demostraron que, en condiciones de campo, la intensidad de la luz y la fertilización de las plantas aumentaron la tasa fotosintética, los sólidos solubles, los azúcares y las antocianinas en bayas de B. microphylla de Argentina (Arena et al., 2016, 2018). Los compuestos en los que se detectó la variabilidad podrían ser tenidos en cuenta como marcadores en estudios más detallados en el campo de la ecología química. Dado que en este estudio se detectaron diferencias, su cuantificación en un mayor número de poblaciones también podría ser sensible a la variación por sitio y brindar así más información. En ese caso, se podría estandarizar el momento de recolección, ya sea por el empleo de escalas colorimétricas o contenido de sólidos solubles, para así disminuir la variabilidad debido al estado de maduración de los frutos.

Para *F. chiloensis* los resultados sugieren diferencias con lo reportado para los frutos chilenos. En las muestras de Argentina, teniendo en cuenta el rango para los dos sitios analizados, la principal antocianina fue cianidina-2-glucósido, seguida de un derivado de pelargonidina. En las muestras chilenas el orden se invierte y las principales antocianinas son derivados de pelargonidina, seguidos de derivados de cianidina. Esta misma tendencia se observó en *F. x ananassa* cv. comercial *Chandler* (Cheel et al., 2007). Los flavonoles principales para las frutillas argentinas son pentósidos de la quercetina. Por su lado, para las

muestras chilenas, también se describió el contenido de quercetina y de kaempferol después de la hidrólisis ácida (0,6 y 1,1 mg/100 g pf, respectivamente) (Simirgiotis et al., 2009). Por lo tanto, una primera diferencia parecería ser la ausencia de kaempferol en las frutillas silvestres argentinas. No se detectaron AHCs en las muestras de *Fragaria chiloensis* ssp. *chiloensis f. patagónica* de la Patagonia argentina. Sin embargo, en las frutillas nativas provenientes de Chile, Parra-Palma et al. (2018) describieron la presencia de ácidos 4-cumárico, ferúlico y cinámico, con concentraciones en el rango de mg/kg. Se necesitarían más muestras de Argentina para corroborar estas diferencias.

Los resultados obtenidos para B. microphylla respaldan su posicionamiento como frutos de gran capacidad antioxidante en concordancia con la literatura. Ramirez et al. (2015) describieron la capacidad antioxidante de seis berries, incluyendo muestras de B. microphylla recolectadas en el centro sur de Chile. Sus resultados mostraron la mejor capacidad de eliminación de radicales en el ensayo DPPH y el mejor poder de reducción en el ensayo FRAP para B. microphylla. En el estudio de Ruiz et al. (2013) también con berries patagónicos chilenos, la mejor capacidad antioxidante en el ensayo TEAC se encontró en muestras de B. microphylla. Ruiz et al. (2010) compararon la capacidad antioxidante de B. microphylla con la popular baya del maqui (Aristotelia chilensis), entre otros frutos, y encontraron que el maqui tenía la mayor capacidad antioxidante mediante el ensayo TEAC. Por otro lado, los resultados aquí expuestos para los frutos argentinos están en línea con los hallados por Speisky et al., (2012), en el que B. microphylla obtuvo los valores ORAC más altos entre 120 especies de frutas chilenas. Con respecto a las frutillas nativas, Thomas-Valdés et al. (2019), describieron la actividad antioxidante de los frutos chilenos de Fragaria chiloensis por DPPH, FRAP, TEAC y eliminación de aniones superóxido. En comparación se observaron valores similares en el ensayo DPPH, mientras que en los ensayos FRAP y TEAC las muestras chilenas presentaron valores más altos que las muestras argentinas.

La inhibición de las enzimas  $\alpha$ -glucosidasa y lipasa, ejercida por los frutos investigados, pueden contribuir a la comprensión de mecanismos que podrían ser beneficiosos en la prevención y/o tratamiento de desórdenes metabólicos. Reyes-Farias et al. (2016) mostraron que los extractos de *B. microphylla* mejoraron la absorción de glucosa en

adipocitos 3T3-L1 de ratón pre-tratados con lipopolisacáridos (LPS). Esto fue explicado por los autores como una característica de sensibilización a la insulina del extracto de *B. microphylla* y se asoció al alto contenido de antocianinas de esta fruta. Naseri et al. (2018) describen el efecto sinérgico que mostró la cianidina-3-glucósido con la acarbosa en la inhibición de la α-glucosidasa. En este sentido, los resultados de las correlaciones de este trabajo con frutos de Argentina muestran una acción directa de la antocianina. Sin embargo, no se encontró en la literatura información sobre la inhibición enzimática para las especies de *Berberis*.

Las frutillas nativas podrían ser consideradas frutos claves, principalmente por sus implicancias en el metabolismo de los lípidos. Con respecto a la inhibición de la  $\alpha$ glucosidasa, los valores reportados para la frutilla nativa blanca (0,44 µg/mL de EEF) por Thomas-Valdés et al. (2018) están dentro del rango reportado en este trabajo para las frutillas silvestres rojas (0,3-1,2 µg/mL de EEF). El mismo trabajo no detectó actividad inhibitoria de la  $\alpha$ -amilasa en estos frutos, al igual que lo encontrado para las muestras argentinas. En cuanto a la frutilla comercial F. x ananassa, el extracto en acetona inhibió la lipasa pancreática, la  $\alpha$ -amilasa y la  $\alpha$ -glucosidasa (Podsedek et al., 2014). Giampieri et al. (2012) mencionan una inhibición moderada a baja para la α-amilasa, por lo que podría ser que la actividad en las frutillas nativas se encuentre por debajo del límite de detección de los equipos utilizados. Por otro lado, los EEF de las frutillas patagónicas chilenas F. chiloensis ssp. chiloensis f. chiloensis y F. chiloensis ssp. chiloensis f. patagónica inhiben la lipasa pancreática a 50 μg/ml en un 70% y 41%, respectivamente (Lin et al., 2014; Simirgiotis et al., 2009), por lo que las muestras provenientes de Argentina en principio serían más activas (0,3-1,2 µg /ml de EEF inhiben en un 50%). Además, Thomas-Valdés et al. (2018, 2019) evidenciaron que la capacidad inhibitoria de los EEF de ambas formas de la frutilla nativa resiste, en cierta medida, un modelo simulado de digestión gastrointestinal. Adicionalmente, McDougall et al. (2009) mostraron que la actividad de la lipasa fue inhibida efectivamente por los elagitaninos presentes en la mora, la frambuesa y extractos de frutilla, con un aporte parcial de las proantocianidinas. Considerando los resultados de este trabajo y de la literatura, podemos plantear la hipótesis de que la presencia de elagitaninos en F.

chiloensis puede ser la responsable de esta actividad inhibitoria. Sin embargo, la cuantificación de estos compuestos no fue posible en las muestras aquí analizadas debido a la falta de estándares. Se necesitan estudios futuros para determinar el coeficiente de Pearson de elagitaninos con esta actividad inhibitoria y así poner a prueba la hipótesis planteada.

Los hallazgos sugieren que ciertos compuestos fenólicos presentan una destacada bioactividad. La actividad antioxidante está correlacionada con un gran número de antocianinas (siete), y un menor número de flavonoles (cuatro) y AHCs (cuatro), para todos los ensayos probados. Pero además, seis compuestos mostraron relacionarse también con la inhibición de la α-glucosidasa, por lo que poseerían gran bio-actividad: delfinidina-3-glucósido, cianidina-3-glucósido, ácido cafeoilglucárico 1, ácido cafeoilquínico, ácido feruloilquínico y la rutina. Numerosos estudios fueron recientemente revisados por Naseri et al. (2018) para evaluar el rol de las antocianinas en el síndrome metabólico. Los autores mostraron una diversidad de mecanismos de acción a nivel de las células β del páncreas, el músculo y el corazón, donde también se menciona el rol de las antocianinas como antioxidantes celulares e inhibidores de la α-glucosidasa, que apoyan los resultados aquí presentados. Particularmente derivados de delfinidina y cianidina también han sido estudiados por sus implicancias en la prevención de patologías cardiovasculares (Cassidy et al., 2013; Ojeda et al., 2010). Por su parte, los AHCs parecen ser biomoléculas de importancia en el tratamiento y la prevención del síndrome metabólico, en la diabetes y la resistencia a la insulina (Alam et al., 2016). Se encontró que el ácido cafeico y el ácido ferúlico disminuyeron los niveles de glucosa en ratones a los que se les indujo diabetes (Alam et al., 2016). Además, los derivados de la guercetina están siendo intensamente estudiados por sus propiedades antioxidantes, antivirales, anibacterianas, anticancerígenas y antiinflamatorias (Koval'skii et al., 2014; Wang et al., 2016). Estos antecedentes en conjunto con los hallados en la bibliografía, coinciden en que estas moléculas son compuestos que merecen especial atención para el tratamiento del síndrome metabólico y especialmente en la regulación del metabolismo de la glucosa.

Este trabajo presenta algunos puntos que pueden ser mejorados en futuras investigaciones. Por un lado, el pequeño número de muestras de *B. darwinii* y *F. chiloensis* (dado por limitaciones presupuestarias y de capacidad de procesamiento) que lo hace menos representativo. Por otro lado, debido a la baja cantidad de material de partida, el aislamiento de los compuestos no fue posible y la identificación solo se basó en la asignación tentativa por espectrometría de masas. Además, para comprobar los efectos beneficiosos del consumo de estos berries son necesarios estudios que evalúen la biodisponibilidad de estos compuestos. A pesar de esto, los resultados presentados representan una primera aproximación a la química y la actividad biológica de los berries nativos de Argentina.

#### CONCLUSIONES

Los resultados permitieron caracterizar la composición fenólica y la bio-actividad de muestras de berries de Argentina, que además posibilitaron su contraste con los resultados hallados en la literatura para los frutos de Chile. En este trabajo, en las muestras de Berberis, se encontró un perfil complejo de polifenoles con 10 antocianinas, 27 AHCs, 3 proantocianidinas, 2 flavan-3-oles y 22 flavonoles. Fragaria chiloensis ssp. chiloensis f. patagonica presenta un perfil más simple, que incluye 4 antocianinas, 9 elagitaninos, 2 dímeros de proantocianidina, 1 flavan-3-ol y 5 flavonoles. En la composición de las muestras de la Patagonia argentina se evidencia que los compuestos principales son los mismos que en las muestras de la Patagonia occidental, pero difieren en metabolitos menores, que muestran diferentes patrones de oxidación y/o glicosilación. Las muestras de Berberis mostraron la mejor capacidad antioxidante (según la técnica ORAC, considerada gold standard), en concordancia con los resultados reportados para las muestras chilenas. En cuanto a la inhibición de las enzimas asociadas al síndrome metabólico, las muestras de Fragaria chiloensis ssp. chiloensis f. patagonica mostraron potencial para modular el metabolismo de carbohidratos y grasas, como se observó para las muestras de la Patagonia chilena.

Los resultados, además de apoyar en gran parte lo reportado en la literatura para las especies estudiadas, dan cuenta de la presencia e identificación tentativa de compuestos

que podrían ser muy beneficios para la salud como las proantocianidinas en los frutos de *Berberis*. Estas moléculas no habían sido identificadas (tentativamente) hasta el momento. Además, son los primeros aportes sobre el contenido de compuestos fenólicos y la composición de antocianinas y ácidos hidroxicinámicos de frutos de *B. darwinii*. Por lo tanto, este trabajo también amplía el conocimiento de la química del género *Berberis*. Finalmente, los resultados contribuyen a evidenciar que estos frutos nativos, ampliamente usados por las comunidades locales de la Patagonia y de gran valor cultural (Capítulo I y II), podrían ser muy beneficiosos para la salud.

# Capítulo IV

Prácticas de manejo sobre especies con frutos comestibles en una comunidad rural del NO de la Patagonia

## INTRODUCCIÓN

El rol de las prácticas de manejo locales sobre plantas útiles tendientes a mejorar la subsistencia humana ha sido ampliamente documentado, especialmente en comunidades rurales y/o indígenas que dependen directamente de su entorno (Capparelli et al., 2011; Casas et al., 2007; Parra et al., 2012a; Reis et al., 2018). Podemos definir a las prácticas de manejo como la aplicación del conocimiento ecológico local (CEL) por parte de las sociedades con el objetivo de mantener o mejorar la abundancia, diversidad y/o disponibilidad de recursos naturales de interés en un ecosistema (Fowler y Lepofsky, 2011). Están conformadas por las intervenciones, transformaciones, estrategias o decisiones deliberadas llevadas a cabo sobre el ecosistema vegetal, sus componentes, funciones y hasta sus propiedades emergentes, con el fin de hacer uso y a la vez, conservar o recuperar a los recursos a diferentes escalas temporales, espaciales y sociales (Casas et al., 1996; Casas et al., 1997).

Varios autores han llamado la atención sobre la significancia de tener en cuenta a estas prácticas dado que son actividades transformadoras concientes, que además conducen a un proceso de domesticación del paisaje (Clements 1999). Se considera como paisaje domesticado a aquel que ha sido construido a la medida y a la manera de las sociedades que lo habitan (Ladio y Molares, 2014). Implica moldear los componentes físicos y biológicos, sus interrelaciones y procesos, con la intención de atender necesidades materiales y espirituales de las culturas. En cambio, la domesticación a nivel de las poblaciones vegetales implica procesos de diferenciación morfológica y/o fisiológica de las especies, en donde intervienen procesos de selección artificial, deriva génica, flujo génico, endogamia, en manos de los seres humanos (Casas et al., 2017).

Las evidencias de domesticación de paisaje en el registro arqueológico son muy antiguas, inclusive previas a la agricultura. Existen distintas formas de humanización del paisaje consideradas en la literatura, como el manejo sucesional para la mayor provisión de alimentos de caza o de recursos para la recolección, ya sea por incendios intencionales (Berkes y Davidson-Hunt, 2006), o por medio del pastoreo de ganado domesticado o semi

domesticado (Capparelli et al., 2011; Ladio, 2013). La horticultura, la rotación de cultivos, hasta los monocultivos son las formas de mayor intensidad de transformación del paisaje para la provisión de alimentos (Berkes et al., 2000, Berkes y Davidson-Hunt, 2006).

Particularmente, a escala local, varios estudios han mostrado que las sociedades despliegan un abanico de distintas prácticas de manejo para la mejor provisión de recursos útiles, especialmente para el caso de las especies que brindan frutos comestibles (Casas et al., 2017). Desde hace un tiempo, se ha puesto especial esfuerzo en el desarrollo de formas de clasificar y así describir dichas prácticas que van desde la recolección hasta las practicas hortícolas con especies domesticadas (Blancas et al., 2010; Casas et al., 2017, 1997; Lins Neto et al., 2014). Dentro de los distintos tipos de prácticas de manejo se distinguen prácticas in situ como la recolección, la tolerancia por la cual se preserva una planta dentro de los espacios peri-domésticos, la protección de agentes externos ya sea de factores climáticos, pestes o por eliminación de competidores, la promoción dirigida principalmente a incrementar la densidad poblacional y la disponibilidad de una especie útil, y el cultivo; entre las prácticas ex situ: el cultivo ya sea por siembra, reproducción por propágulos, o el trasplante de la planta entera desde sus hábitats naturales a áreas manejadas (Blancas et al., 2010). Estas diferentes categorías de manejo que implican un gradiente diferencial de intervención humana, han resultado ser útiles como modelos heurísticos para comprender no solo los procesos de domesticación de las especies y los paisajes, sino también entender los vínculos únicos que se establecen entre las sociedades y las plantas comestibles (Aguirre-Dugua et al., 2012; Blancas et al., 2013; Lins Neto et al., 2014; Parra et al., 2010).

El estudio de las prácticas de manejo sobre especies focales es muy importante, ya que puede evidenciar cambios a nivel fenotípico e inclusive genotípico (Casas et al., 2007; Cruse-Sanders y Casas, 2017; Parra et al., 2010). Una especie útil puede ser objeto de diferentes prácticas de manejo en una misma comunidad, las que pueden ser semejantes o distintas con respecto a otras sociedades. Parra et al. (2012), mostraron que para el cactus nativo *Stenocereus pruinosus*, las prácticas de recolección y posterior cultivo de propágulos en huertos familiares favorecen procesos de selección hacia frutos más dulces y de pulpa roja, anaranjada y amarilla. Además, en dichos huertos se encontró mayor diversidad fenotípica

y genética que en los espacios naturales silvestres donde crece el cactus, mostrando que los campesinos resguardan la diversidad en sus predios (Parra et al., 2010). Mediante estas prácticas los sitios manejados actúan como "corredores biológicos" sensu Parra et al. (2012), en el que se da un constante flujo génico, tanto debido a la acción de los polinizadores y aves dispersoras de semillas, como a la facilitación humana.

Las principales prácticas de manejo documentadas para la obtención de plantas comestibles en Patagonia, han sido la recolección, la tolerancia y el cultivo. Se ha documentado que las prácticas de recolección en áreas silvestres, de frutos y otras partes comestibles de las plantas, han tenido un rol muy significativo en la soberanía alimentaria de las comunidades aborígenes Mapuches, cuyo territorio tradicional se extiende al este y al oeste de la Cordillera de los Andes patagónicos (Ciampagna y Capparelli, 2012; Ladio y Lozada, 2004; Ladio y Lozada, 2009; Molares y Ladio, 2012; Ochoa y Ladio, 2011; Rapoport y Ladio, 1999). Asociadas a prácticas simbólicas de agradecimiento y reciprocidad, la recolección se realiza bajo modelos relacionales de cuidado mutuo, en donde las personas utilizan solo las cantidades que necesitan, cuidando la renovación del recurso (Ladio y Molares, 2014). La tolerancia de especies nativas como el caso de los maitenes (Maytenus boaria) como un agente de protección espiritual de los ámbitos domésticos, ha sido también registrado (Ladio y Molares, 2017). Por otro lado, el cultivo en huertos familiares de plantas con frutos comestibles, principalmente exóticos, tiene una larga tradición en la zona tanto en comunidades Mapuches como no Mapuches, que parece extenderse hasta el día de hoy (Eyssartier et al., 2011b; Eyssartier et al., 2015).

Varias especies exóticas con frutos comestibles se han vuelto parte de los paisajes patagónicos dentro y fuera de los espacios domésticos. Estas especies no se encuentran sólo en los cultivos (muchas veces promovido por organismos de extensión rural), sino también fuera de ellos debido a procesos de invasiones biológicas. Es el caso de la planta invasora rosa mosqueta (*Rosa rubiginosa*) que fue introducida por colonos europeos a principios del siglo XIX, y que en el presente, posee un rol significativo en la economía regional (Ladio, 2005; Ladio y Molares, 2014). O el caso de la manzana silvestre (*Malus sylvestris*) que traída por jesuitas en el siglo XVII representa un elemento sustancial de la

cultura Mapuche en la alimentación y en la elaboración de bebidas de connotación sagrada (Ladio y Lozada, 2001). Los manzanos cultivados y/o asilvestrados ocupan un lugar relevante en el paisaje del Norte de la Patagonia actual, no solo en los ámbitos domésticos rurales y urbanos, también en bordes de caminos, plazas urbanas y jardines (Betancurt et al., 2017; Ladio, 2017). Estos ejemplos dan cuenta de la importancia del estudio de las prácticas de manejo sobre dichas especies exóticas dado que las mismas podrían exacerbar o controlar los procesos invasivos. Este aspecto resulta prioritario dado que las invasiones biológicas, según el IPBES 2019 (Viña et al., 2019), están contribuyendo directamente a la pérdida de biodiversidad y a la reducción del bienestar humano.

La comprensión integral del abanico de prácticas de manejo local que se llevan a cabo tanto para las plantas nativas como para las exóticas, no ha sido hasta el momento abordado en Patagonia, y todavía escasamente en el mundo (Casas et al., 2017). Esta situación invisibiliza prácticas locales realizadas por pueblos originarios y comunidades locales en pos de la mantención de sus recursos de subsistencia (Reis et al., 2014), prácticas sumamente sensibles a los cambios socioambientales y a la influencia de la sociedad de mercado (Reyes-García et al., 2013). Por ende, en concordancia con Díaz et al., (2018), la evaluación y puesta a prueba de modelos heurísticos que puedan ser usados para repensar las distintas prácticas y valores humanos sobre la naturaleza resultan imperativas. Particularmente, este caso de estudio se llevó a cabo en la comunidad rural de Cuyín Manzano, parte de un área protegida y reserva de la biosfera UNESCO, en donde existen tensiones entre las autoridades de control y los pobladores en el entendimiento de la gestión del paisaje que ellos realizan.

Según Clements (1999) la domesticación de los paisajes está directamente relacionada con la intensidad del manejo realizada por las sociedades sobre las especies. Se reconoce la existencia de un gradiente en la intensidad de manejo de plantas comestibles, el cual depende de diversos factores biológicos, ecológicos y socioculturales. En ese gradiente, la productividad y la disponibilidad de las plantas seleccionadas es fundamental, así como su importancia cultural desde la mirada local. Otros factores determinantes en la intensidad de manejo son, la cantidad de energía invertida en la gestión, el uso de herramientas o

maquinarias, y/o la aplicación de normas de organización comunitaria, entre otras que han sido distinguidas por diversos autores (González-Insuasti et al., 2008; González-Insuasti y Caballero, 2007; Blancas et al., 2013). Particularmente, Furlan et al. (2017) han señalado que el número acumulado de diferentes prácticas de manejo que se realizan sobre una especie es indicativo de una mayor intensidad de gestión, por ende, dichas especies sufren de mayores presiones co-evolutivas que podrían redundar en procesos de domesticación incipiente, y de un paisaje cada vez más domesticado.

En este Capítulo se busca indagar, a nivel de microescala, en las prácticas de manejo que se realizan sobre las especies con frutos comestibles. Dado que, en el trabajo de campo en la comunidad de Cuyín Manzano, se evidenció la importancia que tienen las especies con frutos carnosos en general, no solo de los berries, sino también de otros de mayor tamaño (como los pomos y otras drupas), en este Capítulo se decidió incluirlos a todos bajo la denominación general de: especies con frutos comestibles. El estudio integral de estas especies y sus diferentes prácticas de manejo, constituye un elemento relevante para comprender las distintas instancias de interacción entre personas y plantas, así como el rol social de los frutos en la vida de la gente. Además, el análisis de la existencia de patrones diferenciales según sea el origen biogeográfico, tendría importantes implicancias como herramientas diagnósticas del manejo de la flora, así como para la preservación bio-cultural del patrimonio tangible e intangible de la comunidad.

#### **OBJETIVOS**

- 1) Describir de forma general las prácticas de manejo llevadas a cabo con las especies de frutos comestibles en una comunidad rural de la Patagonia.
- 2) Establecer y caracterizar la existencia de patrones diferenciales de manejo entre especies nativas y exóticas.
- 3) Describir la riqueza y la importancia cultural de cada una de las especies e indagar la relación entre el consenso y el origen de las especies.

- 4) Caracterizar las prácticas de manejo que se le realizan a cada una de las especies.

  Además, evaluar si el manejo de una especie está determinado por su origen biogeográfico y la importancia cultural de la misma.
- 5) Indagar si la intensidad de manejo realizada sobre las especies es igual para especies nativas y exóticas.

#### HIPÓTESIS

- 1. Dada la distintiva historia de uso entre plantas nativas y exóticas (Capítulo I), el patrón de manejo, es diferente según sea el origen biogeográfico de la especie.
- Las especies nativas con frutos comestibles tendrán mayor consenso de uso que las exóticas.
- 3. Las especies nativas y las especies de mayor consenso, al ser las más conocidas en la población, estarán asociadas a un mayor número de prácticas de manejo.
- 4. Especies nativas y exóticas serán manejadas con distinta intensidad de manejo.

#### **ÁREA DE ESTUDIO**

Este estudio fue llevado a cabo en la comunidad rural de Cuyín Manzano, provincia de Neuquén, PNNH, Reserva de la Biosfera andino-norpatagónica, Argentina. Las características generales del sitio, de su población y el mapa de ubicación, se describen en el Capítulo II.

## **METODOLOGÍA**

La metodología etnobotánica utilizada en este Capítulo, se encuentra descripta en el Capítulo II. Similarmente, este trabajo fue realizado mediante entrevistas semiestructuradas y observación participante. Además, en este Capítulo se registró el total de especies comestibles conocidas y usadas por los habitantes, de este modo se consideraron el número de especies con frutos comestibles que no son sólo berries, sino también que incluyen otros tipos de frutos carnosos como los pomos y drupas de mayor tamaño (Hurrell et al., 2010). Dichas informaciones recibieron el mismo tratamiento para

su identificación, nomenclatura y depósito que el descripto en el Capítulo II. Los números de voucher se encuentran en la Tabla 1.1.

Se detalla en esta sección cómo se realizó la evaluación de las prácticas de manejo sobre las especies con frutos comestibles. Considerando los testimonios locales y con el objeto de visibilizar las prácticas propias del lugar, las mismas fueron categorizadas utilizando una modificación de la clasificación de Casas et al. (1996) y Blancas et al. (2010) como: Recolección: Práctica de colecta de frutos directamente de las poblaciones naturales, sin antecedentes claros de domesticación por parte de los pobladores. Tolerancia: Ante acciones de aclaramiento del espacio de vivienda o lindantes, se mantienen en pie especies con frutos comestibles. Protección: Cuidado de factores externos, bióticos y abióticos específicos sobre ciertas plantas. Siembra: Siembra de semilla o de partes vegetativas. Trasplante: Traslado de un renoval a un nuevo lugar o bien, cuando se adquiere un plantín a través de la compra. La principal modificación realizada a esta clasificación fue el agregado del grupo Cuidado de plantas heredadas: que hace referencia a la acción de preservar plantas frutales que fueron inicialmente cultivadas por padres o abuelos. Según nuestro criterio y el de los informantes, esta categoría evidencia una forma de manejo diferencial que las anteriores.

Se consideró como patrón de manejo, a aquellos tipos de prácticas que se llevan a cabo sobre las especies nativas y exóticas, considerando la frecuencia con la que se llevan a cabo.

La determinación de los tipos de prácticas de manejo realizadas con cada una de las especies con frutos comestibles en Cuyín Manzano, se basó en la distinción émica (desde la visión del poblador), así como también desde las observaciones participativas de campo.

#### Análisis de datos

Para analizar los datos con variable respuesta del tipo conteo (NPM, NPMe) se utilizaron GLMs con distribución Poisson, (como se describió en el Capítulo I) y binomial negativa (cuando no se cumplía el supuesto de dispersión) (Zuur et al., 2009). Para el análisis de datos del tipo proporción, como son los índices, se emplearon GLMs con distribución binomial (Zuur et al., 2009). Como test *a posteriori* se usó el test de Tuckey de comparación de medias

(Crawley, 2013). Los análisis se llevaron a cabo con los paquetes: "MASS", "nlme", "pscl", "multcomp" e "emmeans", del software R versión 3.6.0 (R Core Team, 2019). Los modelos, sus parámetros y errores se encuentran detallados en el Apéndice 1. Las Figuras 4.1,4.2 y 4.9 se realizaron en Excel 2016, de Microsoft Office y la Figura 4.10 se realizó mediante el uso del paquete "ggplot2" de R.

Se calcularon los siguientes índices:

Número de prácticas de manejo: NPM= ∑ citas para cada tipo de práctica de manejo.

Número de prácticas de manejo por especie: NPMe=∑citas (de todos los tipos de prácticas de manejo) para una especie. Esta variable muestra cuan manejada es una especie (Furlan et al., 2017).

Intensidad de manejo de las especies: IM = $\sum$  MF × n/ N. Este índice fue adaptado de González-Insuasti et al. (2007), en el cual MF es la forma de manejo a la cual se le asigna los siguientes valores: 1 para recolección; 2 para tolerancia; 3 para protección; 4 para cuidado de plantas heredadas; 5 para siembra y 6 para trasplante. n es el número de pobladores que realizan algún tipo de manejo. Y N es el número total de pobladores. Este índice pondera subjetivamente al trasplante como la práctica de manejo de mayor intensidad con el coeficiente 6.

Las variables analizadas fueron:

- NPM (cuantitativa, discreta).
- Práctica de manejo (categórica): recolección, tolerancia, protección, cuidado de plantas heredadas, siembra, trasplante.
- FC (cuantitativa, discreta). Definida por el número de citas para cada práctica de manejo.
- CU (consenso de uso, ya definida en el Capítulo I) (cuantitativa, discreta).
- NPMe (cuantitativa, discreta).
- IM (continua).
- Origen (categórica) (Como fue definida en el Capítulo I).

Se emplearon los siguientes análisis estadísticos y no-estadísticos según el orden de los objetivos e hipótesis:

- o Para caracterizar las frecuencias de manejo, se llevó a cabo un modelo para las especies nativas y otro para las especies exóticas. En cada modelo, NPM fue la variable respuesta y el tipo de práctica la covariable. En este caso, se emplearon GLMs con distribución binomial negativa y Poisson. Además, para comparar la frecuencia de citas entre especies nativas y exóticas para cada uno de los tipos de prácticas que se comparten, se empleó un modelo para cada tipo. Cada modelo incluyó el NPM como variable respuesta y el origen como covariable. Se usaron GLMs con distribución binomial negativa, para recolección y protección, y un GLM con distribución Poisson para trasplante.
- La riqueza de etnoespecies se describe en total, y según su origen biogeográfico, también si se las encuentra en los ámbitos silvestres o no, y según el tipo de práctica de manejo que reciben. Además, se calculó el CU (consenso de uso) de toda la riqueza de frutos comestibles (en adición a las ya calculadas en el Capítulo II de las especies de berries). Por otro lado, para probar si la importancia cultural de las nativas es mayor al de las exóticas, se evaluó el CU en función del origen mediante un GLM con distribución binomial.
- Para evaluar si las especies nativas y las de mayor importancia cultural son más manejadas, se empleó un GLM con distribución Poisson. NPMe fue la variable respuesta, mientras que origen y CU fueron las covariables.
- Por último, para probar si la intensidad de manejo es diferencial entre especies nativas y exóticas, se empleó un GLM con distribución binomial. IM se usó como variable respuesta y origen como covariable.

#### **RESULTADOS**

- 1. Manejo de especies con frutos comestibles
- 1.1 Prácticas de manejo totales

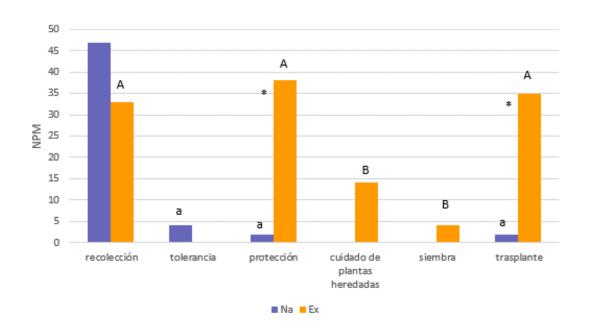
La recolección (45% de las citas), la protección (22%) y el trasplante (21%) son las prácticas de manejo sobre plantas con frutos comestibles más frecuentes en Cuyín Manzano, seguidas por el cuidado de plantas heredadas (8%), la siembra (2%) y la tolerancia (2%).

#### 1.2 Patrones de manejo

En concordancia con la hipótesis 1, las frecuencias de los distintos tipos de prácticas de manejo entre nativas y exóticas son diferentes. Para las especies nativas, la recolección es la práctica más frecuente (86% de las citas), pero también se toleran (7%), protegen y trasplantan (4%) (Fig. 4.1, GLM y test de Tukey, p<0,05, Apéndice 1). Las exóticas dependen de igual manera de la protección (31%), el trasplante (28%), y la recolección (27%). En menor medida se cuidan las plantas heredadas (11%) y se siembran especies exóticas (3%), sin diferencias significativas (Fig. 4.1, GLM y test de Tukey, p<0,05, Apéndice 1).

Además, se encontró que la recolección de especies nativas tiene la misma probabilidad de ocurrir que para las especies exóticas (Fig. 4.1, GLM, p<0,05, Apéndice 1). Con respecto a la tolerancia, sólo se tolera una especie nativa (*Berberis microphylla*). En el caso de la protección, se encontró que es 12 veces menos probable que se proteja una especie nativa que una exótica (Fig. 4.1, GLM, p<0,05, Apéndice 1). De igual manera, el trasplante de una especie nativa es 11 veces menos probable que de una exótica (Fig. 4.1, GLM, p<0,05, Apéndice 1). No se registró el cuidado de plantas heredadas, ni la siembra de plantas nativas.

**Figura 4.1** Número (NPM) y tipo de prácticas de manejo para las especies nativas y exóticas con frutos comestibles. Mismas letras ("a" para nativas, "A" y "B" para exóticas) expresan que no hay diferencias significativas entre prácticas, test de Tukey (p<0.05). "\*" significa que se encontraron diferencias entre nativas y exóticas para una práctica en particular, GLM (p<0,05).



### 1.3 Riqueza de especies con frutos comestibles

Las especies citadas, con su nombre científico, nombre local, familia, número de voucher, tipo de fruto y CU, están detalladas en la Tabla 4.1 (las especies de berries ya han sido descriptas en la Tabla 2.1 del Capítulo II, pero en esta tabla se repiten para facilitar la lectura y se adicionan el resto de especies con frutos comestibles). La riqueza total (R) es de 27 especies, que se corresponden a 28 etnoespecies (esto significa que para una de las especies: *Berberis microphylla*, se mencionaron a dos etnoespecies: michay y calafate), que forma parte del paisaje local y de las cuales 11 son nativas y 17 son exóticas. La identidad de todas las especies encontrada en este capítulo también fue corroborada en una instancia posterior, en un taller participativo de validación y devolución de resultados (Capítulo V).

De las especies exóticas, 8 crecen sólo bajo cultivo, 4 crecen sólo silvestres, y 5 son cultivadas y también se las encuentra en los espacios silvestres. Los frutos de estas especies, se consumen principalmente en estado fresco, y en algunos casos también como dulces, postres o como bebidas refrescantes y/o infusiones.

Las especies con mayor CU son *Berberis microphylla, Fragaria chiloensis, Aristotelia chilensis,* seguido de las exóticas *Rosa rubiginosa, Malus domestica, Prunus cerasus,* entre otras. En contraposición a la hipótesis 2, el CU de las nativas no difiere al CU de las exóticas (GLM, p>0,05, Apéndice 1).

Tabla 4.1 Especies con frutos comestibles de Cuyín Manzano ordenadas según el valor de CU (Consenso de uso).

Especie	Nombre local	Familia	Voucher	Tipo de fruto	CU
Berberis microphylla G.Forst.	Michay	Berberidaceae	284 MC	baya	100
Fragaria chiloensis (L.) Mill.	Frutilla de campo	Rosaceae	519 MC	conocarpo	100
Aristotelia chilensis (Molina) Stuntz	Maqui	Elaeocarpaceae	500 MC	baya	91
Rosa rubiginosa L.	Mosqueta	Rosaceae	Ladio 136	cinorrodon	91
Malus domestica Borkh.	Manzano	Rosaceae	542MC	pomo	82
Prunus cerasus L.	Guindo	Rosaceae	507 MC	drupa	82
Berberis empetrifolia Lam.	Michay de la costa	Berberidaceae	501 MC	baya	73
Sambucus nigra L.	Sauco	Adoxaceae	516 MC	baya	73
Berberis serratodentata Lechl.	Michay de la cordillera	Berberidaceae	528 MC	baya	64
Gaultheria mucronata (L.f.) Hook. & Arn.	Mutilla	Ericaceae	505 MC	baya	64
Prunus avium (L.) L.	Cerezo	Rosaceae	506 MC	drupa	64
Malus sylvestris (L.) Mill.	Manzana de campo	Rosaceae	543MC	pomo	55
Prunus domestica L.	Ciruelo	Rosaceae	508 MC	drupa	55

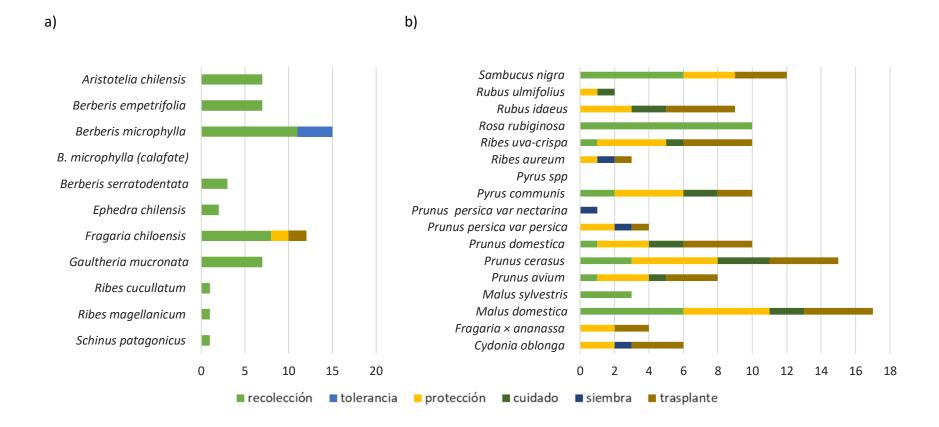
Rubus idaeus L.	Frambuesa	Rosaceae	Ladio 154	multidrupa	55
Cydonia oblonga Mill.	Membrillo	Rosaceae	541MC	pomo	45
Pyrus communis L.	Pera	Rosaceae	546 MC	pomo	45
Ribes uva-crispa L.	Grosella	Grosulariaceae	512 MC	baya	45
Berberis microphylla G.Forst.	Calafate	Berberidaceae	547 MC	baya	36
Ephedra chilensis C.Presl	Cola de caballo	Ephedraceae	503 MC	baya	36
Ribes magellanicum Poir.	Zarzaparrilla, parrilla de campo	Grosulariaceae	511 MC	baya	36
Fragaria × ananassa (Duchesne ex Weston) Duchesne	Frutilla cultivada	Rosaceae	504 MC	conocarpo	18
ex Rozier					
Prunus persica (L.) Batsch var. Pérsica	Durazno	Rosaceae	544 MC	drupa	18
Ribes cucullatum Hook. & Arn.	Parrilla, zarzaparrilla	Grosulariaceae	510 MC	baya	18
Rubus ulmifolius Schott	Murra	Rosaceae	Ladio 137	multidrupa	18
Prunus persica var. nectarina (Sol.) Maxim	Pelón	Rosaceae	545 MC	drupa	9
Pyrus spp.	Pera que no madura	Rosaceae		pomo	9
Ribes aureum Pursh	Parrilla cultivada	Grosulariaceae	BCRUE113	baya	9

Schinus patagonicus (Phil.) I.M. Johnst.	Laura	Anacardiaceae	Ladio 104	drupa	9

# 1.4 Manejo de la riqueza de especies con frutos comestibles

#### 1.4.1 Descripción general

Los valores de NPMe y las formas de manejo que se realizan para cada especie se encuentran detallas en la Figura 4.2. Las especies de mayor NPMe son *Malus domestica*, *Berberis microphylla*, *Prunus cerasus*, *Fragaria chiloensis*, *Sambucus nigra*. A nivel general, gran parte de la riqueza es recolectada, incluyendo a 19 especies, 10 nativas y 9 exóticas. Sólo una especie nativa (*B. microphylla*) es además tolerada. Mientras que un total de 13 especies exóticas y 1 nativa son protegidas. Se cuidan 8 especies de plantas que han sido heredadas y se siembran 4 especies, todas ellas exóticas. Además, se registró el trasplante de 14 especies, 13 exóticas y 1 nativa. Las especies nativas (Fig. 4.2 a) son principalmente recolectadas, y las especies exóticas (Fig. 4.2 b) están asociadas a una mayor diversidad de prácticas de manejo.



**Figura 4.2** Número de prácticas de manejo por especie (NPMe), de especies con frutos comestibles. a) Especies nativas b) Especies exóticas.

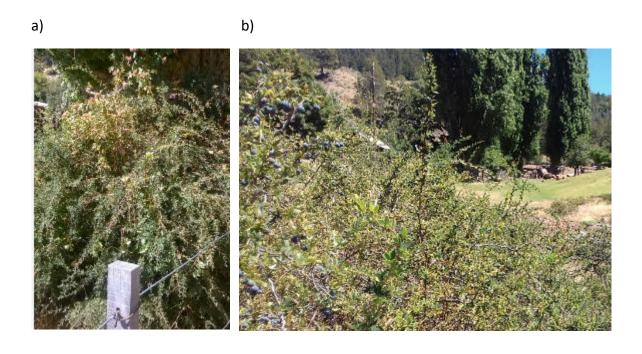
#### 1.4.2 Prácticas de manejo con especies nativas

La recolección de especies nativas está directamente asociada con recorridos a pie, aprovechando la disponibilidad local de las especies como ocurre con *Berberis microphylla*, que constituye un elemento común del paisaje de Cuyín Manzano (Fig. 4.3). Una de las informantes relató: "Cuando veo un michay, paro y me quedo comiendo los frutos, me encantan y a mis hijas también" (LR). Según las entrevistas, esta práctica está vinculada a momentos de recreación, actividades que se llevan a cabo con la familia como en el caso del "michay de la costa" (*Berberis empetrifolia*), o de la chaura (*Gaultheria mucronata*) que se comen cuando van al río a nadar. Lo mismo ocurre con las frutillas silvestres (*Fragaria chiloensis*) que se las encuentra en los recorridos de la gente al costado de los senderos, o en caminos de la montaña.

Otras tres prácticas completan el repertorio de prácticas documentadas para las especies nativas. *Berberis microphylla* es tolerada en muchos de los espacios domésticos y peridomésticos debido principalmente al valor asignado a sus frutos (Fig. 4.4 a y b). Además, se documentó para el caso de la frutilla silvestre, su protección y trasplante. Una de las familias relató y mostró sus registros fotográficos de una experiencia en el cultivo de esta especie. Según los relatos, las plantas fueron traídas de un cerro cercano al hogar y se las cultivó bajo la protección de un invernadero, con resultados que los pobladores consideran muy buenos en cuanto al tamaño y sabor de los frutos, experiencia que además fue compartida oralmente con los vecinos. Otro de los pobladores también compartió una experiencia similar: *"Los chicos trajeron una planta para probar y anduvo bien"* (SC).



Figura 4.3 Planta de Berberis microphylla al costado del camino



**Figura 4.4** a) y b) Plantas de *Berberis microphylla* toleradas dentro de las propiedades de dos pobladores.

#### 1.4.3 Prácticas de manejo con especies exóticas

La práctica de trasplante de especies exóticas es común en esta comunidad (Fig. 4.5). En esta acción, los pobladores toman un renoval, en su mayoría de árboles frutales, de lugares como las "taperas" (sitios que previamente fueron habitados pero que actualmente se encuentran deshabitados) y lo llevan a sus ambientes domésticos. Otra forma de obtención de plantines, es a través de la compra en viveros de ciudades cercanas y en menor medida por suministro de programas provinciales de producción agrícola. Esta práctica se realiza con *Malus domestica*, *Prunus cerasus*, *Ribes uva-crispa*, *Rubus idaeus*, le siguen *Pyrus comunis*, *Cydonia oblonga*, *Prunus avium*, *Sambucus nigra*, entre otras.

La protección de especies exóticas se basa en la colocación de alambrados para aislar las plantas de herbívoros domésticos y del ciervo (Fig. 4.6 a). Incluye también, el uso de pesticidas y el riego, entre otras. Se protegen especies como *Prunus cerasus, Malus domestica, Pyrus comunis, Rubus uva-crispa y Cydonia oblonga*. Los pobladores, por ejemplo, refieren que los ciervos son "*muy golosos*" (MC) y les gustan las manzanas, por lo que tuvieron que poner alambrados (y de gran altura porque saltan) para evitar el acceso. Otro ejemplo que señalan es que guindas y cerezas son afectadas por una peste, (que probablemente se trate de la avispa *Caliroa cerasi* conocida como "babosa de lo frutales", de gran incidencia en la zona), por eso la necesidad de utilizar pesticidas, principalmente naturales como las cenizas de los fogones o cocinas económicas. También, los pobladores llevan a cabo acciones para disminuir el efecto de factores climáticos como los vientos y las heladas. Con este fin seleccionan lugares cerca de la casa o bajo un techo al momento de la plantación.

Las especies exóticas más recolectadas, son principalmente *Rosa rubiginosa*, *Sambucus nigra* y *Malus domestica*. *Rosa rubiginosa*, es una especie invasora que además se observó en el lugar y se registró a través de los discursos, está generando verdaderos cambios en el paisaje de Cuyín Manzano (Fig 4.6 b) (Capítulo V). Este carácter hace que esté disponible en sitios cercanos al hogar. *Sambucus nigra* en cambio, es recolectada de "taperas", lugares que son señalados con gran disponibilidad de frutos. A diferencia del resto de las especies

que se recolectan, estos son casos en que los frutos no se consumen en el momento, sino que son llevados al hogar para realizar preparaciones culinarias y medicinales, como el té de rosa mosqueta y el jarabe de sauco (detallado en el Capítulo II). *Malus domestica* en cambio, tiene un patrón mixto de recolección. Sus frutos son consumidos en el momento de la colecta, cuando las personas están en el campo realizando tareas de pastoreo del ganado. Son muy preciadas para aliviar la sed, o paliar el hambre, pero también son llevadas al hogar. Las manzanas son especialmente valoradas como alimento, con ellas se elabora la bebida fermentada tradicional "chicha". Esta bebida se sigue haciendo como una tradición del pasado, actividad que involucra a todo el grupo familiar principalmente en la recolección, pero también en la elaboración (Capítulo V).

La categoría de cuidado de plantas heredadas es una categoría de particular interés, dado que se pudo interpretar su importancia como una forma distinta de manejo a través de los relatos. Los árboles que han sido objeto de dicha práctica son principalmente *Prunus cerasus*, *Malus domestica*, *Prunus domestica* y *Pyrus comunis*, que fueron originariamente cultivados por padres o abuelos. Uno de los pobladores (SQ, de 65 años), refiere que sus árboles de guinda fueron plantados por sus abuelos, lo que da idea de la longevidad de las plantas (Fig. 4.7) (Capítulo V). Según los testimonios, estos árboles producían una gran cantidad de frutos en el pasado. Eran aprovechados por los habitantes de la comunidad para abastecer a las chocolaterías y dulcerías de la ciudad de Bariloche. Esta actividad fue recordada por gran parte de los pobladores, que vendían cajones de estos berries. Además, coincidieron en referir: *"Las guindas de Cuyín Manzano tienen un ácido especial"* (TC, MC, DR, SQ) (Capítulo V).

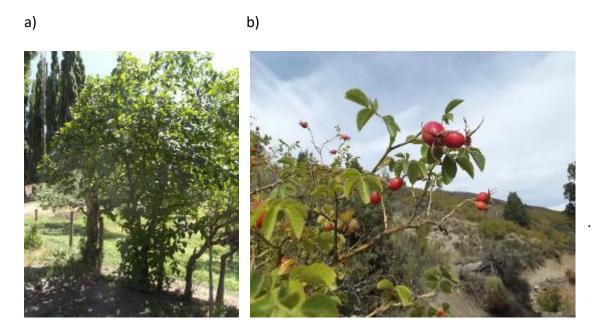
Otro caso de importancia del cuidado de plantas heredadas son los manzanos (Fig. 4.8 a y b). En los alrededores de los hogares se pueden ver individuos de *Malus domestica* de gran tamaño, se trata de árboles añosos pero que aún mantienen una buena productividad de frutos. Esta especie tiene además pocos requerimientos de cuidados, principalmente en ocasiones se la riega, ya que algunos individuos "se empezaron a secar", según varios entrevistados. Por otro lado, estas especies aportan gran cantidad de frutos a la dieta y toda esta significancia es expresada por los pobladores: "Nosotros hoy comemos los frutos de los

árboles que nos dejaron nuestros padres y nosotros le vamos a dejar plantas para que tengan para comer nuestros hijos" (MC) (Capítulo V).

La siembra de semillas parece poco desarrollada en Cuyín Manzano, y representa sólo el 10% de las prácticas de cultivo. Específicamente, se siembran semillas de frutos previamente ingeridos e involucran a tres especies: *Prunus persica*, *P. persica* var. Nectarina y *Cydonia oblonga*. También, se registró que ante la presencia de especies animales como el ciervo, que constituye una invasión biológica en la zona, o de las cabras que son recursos productivos, los pobladores ven cada vez más dificultoso realizar nuevas plantaciones, *"Lo que plantas te come todo la chiva"* (DR).



**Figura 4.5** Rama con frutos de una planta de *Pyrus comunis* originalmente trasplantada.



**Figura 4.6** a) Planta de *Cydonia oblonga* protegida b) Ramas con frutos de *Rosa rubiginosa,* frecuentemente recolectados en Cuyín Manzano.



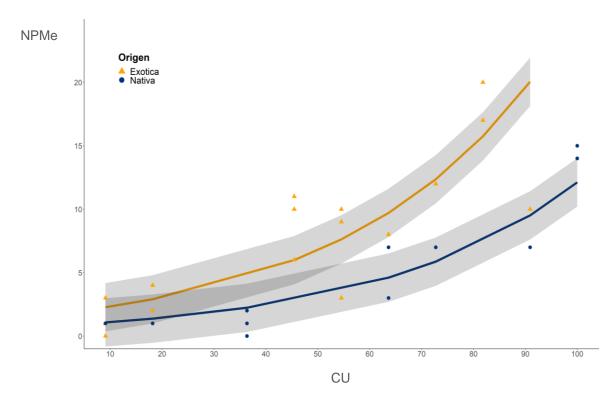
Figura 4.7 Árbol de *Prunus cerasus* plantado originalmente por los abuelos de un poblador.

a) b)

**Figura 4.8** a) Árbol de *Malus domestica* plantado por abuelos de un poblador. b) Vista ampliada de los frutos.

# 2. Relación entre el origen y el consenso de uso (CU) en el manejo de una especie

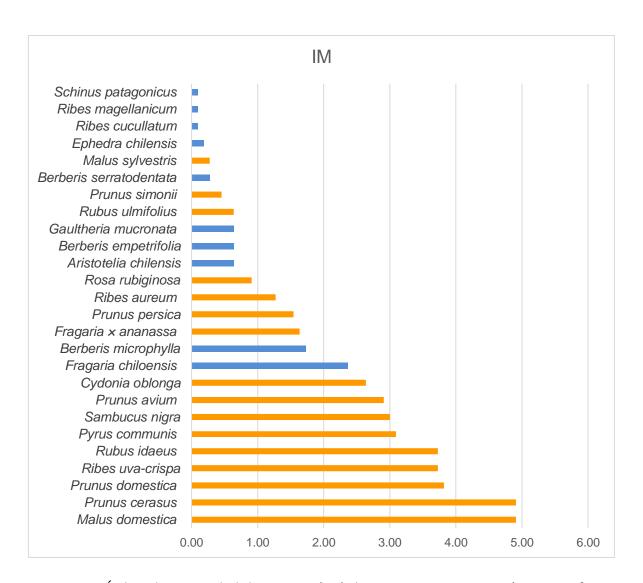
Se encontró que el NPMe varía con el origen de las especies, pero a diferencia de lo planteado en la hipótesis 3, las especies nativas tienen un menor NPMe (Fig. 4.9, GLM, p<0,05, Apéndice 1). Además, el NPMe aumenta con el CU (Fig. 4.9, GLM, p<0,05, Apéndice 1). Es decir, una mayor cantidad de prácticas se realizan sobre las especies más consensuadas en la comunidad, en concordancia con la hipótesis 4.



**Figura 4.9** Número de prácticas de manejo por especie (NPMe) en función del consenso de de uso (CU) de especies nativas y exóticas. (GLM, p<0,05).

# 3. Intensidad de Manejo

Malus domestica, Prunus cerasus y Prunus domestica, son algunas de las especies de mayor IM (Fig. 4.10). Mientras que, Fragaria chiloensis y Berberis microphylla se destacan como las especies nativas que están experimentando mayor intensidad de manejo (Fig. 4.10). Por otro lado, se encontró que el IM varia con el origen como fue planteado en la hipótesis 5. Específicamente el IM es mayor para una especie introducida que para una nativa (GLM, p<0,05, Apéndice 1).



**Figura 4.10** Índice de intensidad de manejo (IM) de especies nativas y exóticas con frutos comestibles. Azul: especies nativas, Anaranjado: especies exóticas.

#### DISCUSIÓN

En este trabajo fue posible caracterizar las diversas prácticas de manejo que están siendo realizadas sobre plantas nativas y exóticas de frutos comestibles. La recolección como forma de obtención de frutos comestibles ya había sido descripta en la zona tanto en comunidades rurales como urbanas, con raigambre originaria o no (Ladio, 2001; Ladio y Lozada, 2004; Lozada et al., 2006). También se ha descripto el cultivo de especies de frutos con importancia hortícola como manzanas, peras, damasco, cerezas, entre otras en

localidades de la Provincia de Río Negro como Pilcaniyeu, Comallo, y Bariloche (Eyssartier et al., 2011). En tanto que, otros estudios mostraron que la complementación de la horticultura y la recolección es muy relevante para la alimentación local y ha sido distinguida como una estrategia de adaptación de vida en ambientes limitantes (Eyssartier et al., 2011; 2015 b). Este Capítulo da cuenta, además, de la tolerancia, la protección y el cuidado de plantas heredadas, como otras estrategias para el manejo de especies con frutos comestibles, las cuales también según los dichos de la gente, constituyen acciones tendientes a garantizar la disponibilidad de alimentos a lo largo del año. Estos resultados están en coincidencias con Blancas et al. (2010), que muestran la existencia de un abanico de prácticas, tanto in situ como ex situ para 610 especies útiles del Valle de Tehuacán-Cuicatlán (México). El trabajo aquí presentado, conforma uno de los primeros aportes al análisis de prácticas de manejo para todo el conjunto de especies con fruto comestibles de una comunidad rural de Argentina. Se suma así a los trabajos etnobotánicos llevados a cabo para los cítricos y duraznos en el norte del país (Lambaré et al., 2015; Stampella et al., 2013). La recolección por igual de especies nativas y exóticas, podría estar relacionada con la disponibilidad de especies exóticas en los espacios silvestres. Si bien no se han hecho relevamientos de la abundancia de las especies de frutos comestibles, los pobladores han indicado que tanto nativas como exóticas están disponibles en el "campo". Diversos trabajos ecológicos dan cuenta de la prevalencia de especies exóticas e invasoras en el PNNH (Ezcurra y Brion, 2005; Fernández, 2007). Por ejemplo, Rosa rubiginosa como Malus domestica, crecen en espacios silvestres producto de la dispersión por aves y otros animales, mostrando el estado de constante cambio de los ámbitos rurales patagónicos (Damascos et al., 2005; Fernández, 2007; Ladio y Damascos, 2000). Por otro lado, González-Insuasti et al. (2008) realizaron un trabajo en Oaxaca, México, en el que estudiaron la relación entre sitios de obtención de especies comestibles y las prácticas de manejo. Los autores encontraron que cuando las personas tienen disponibles diferentes ambientes naturales o antrópicos (bosques secundarios, lotes cultivados abandonados) en los que el recurso comestible es abundante, se desarrollan prácticas de recolección en lugar del cultivo de las especies.

Las especies nativas y exóticas están asociadas a distintos patrones de manejo, que pueden ser explicados por una diversidad de factores bioculturales. En concordancia con otros estudios realizados en Patagonia (Ladio y Lozada, 2004) y en otras partes del mundo (Abbasi et al., 2013; Avocèvou-Ayisso et al., 2009; Łuczaj y Pieroni, 2016; Łuczaj y Szymański, 2007; Milanesi et al., 2013; Sansanelli et al., 2017; Wadt et al., 2008), la recolección es la principal forma de obtención de frutos comestibles nativos. Pero también, los resultados muestran que se están dando (aunque con pocas especies) prácticas de domesticación incipiente y cultivo de plantas nativas, que habían sido escasamente registradas hasta el momento para la región, pero que han sido ampliamente descriptas en comunidades rurales de México (Blancas et al., 2009; González-Soberanis y Casas, 2004; Parra et al., 2012) y Brasil (Lins Neto et al., 2014; Sousa Júnior et al., 2016). Aquí documentamos las acciones llevadas a cabo sobre dos especies de gran importancia cultural no sólo para Cuyín Manzano, sino también para la Patagonia argentino-chilena (Chamorro et al., 2018; de Mösbach, 1992; Ladio, 2001; Ladio y Lozada, 2004): B. microphylla y F. chiloensis. Mientras que las prácticas realizadas con las especies exóticas, están vinculadas principalmente al cultivo, ya que son casi todas especies domesticadas. Pero, llamativamente, los resultados muestran que la recolección es una práctica igualmente importante, lo que da cuenta del aprovechamiento de estas especies también en los espacios silvestres y su importancia con respecto a las otras formas de manejo.

Las prácticas de manejo llevadas a cabo con las especies nativas y exóticas son distintas también en cómo se hacen y qué implican. Siguiendo la clasificación propuesta por Blancas et al. (2013), la recolección de especies nativas es principalmente "oportunista", mientras que en las exóticas además es de tipo: "recolección dedicada". Los frutos nativos se consumen ocasionalmente, cuando se transita un camino o en momentos de recreación en los que se encuentran las plantas. En cambio, para muchas de las exóticas hay planificación de su recolección para la elaboración de alimentos locales (detallados en su mayoría en el Capítulo II).

Este abanico de prácticas ejercido sobre la riqueza de especies, posibilita una diversidad de formas de relacionarse con la naturaleza, con ciertas características dependiendo del origen biogeográfico de la especie. En las descripciones de la práctica de recolección de especies nativas, se destaca que está muy fuertemente vinculada a la vida cotidiana, como parte de transitar, buscar momentos de recreación, y vivir en un área rural. Pero a diferencia de otros casos, en los que la actividad de recolección ha sido citada como actividad de recreación en sí misma (Grasser et al., 2012; Schunko et al., 2015), en Cuyín Manzano la recolección de especies nativas parece ser una actividad complementaria a otra, como ir al río o hacer caminatas. En cambio, para las especies exóticas la recolección tiene el fin concreto de abastecerse de alimento, que a su vez es el objetivo más frecuentemente documentado para esta práctica (Blancas et al., 2013; Pardo-De-Santayana et al., 2005; Sansanelli et al., 2017). Principalmente se recolectan especies exóticas para elaborar alimentos locales o paliar la sed en situaciones de trabajo en el campo. Todas estas actividades, tanto con especies nativas como con exóticas, se caracterizan por involucrar entretenimiento (las salidas al río), intimidad (van caminando solos y se encuentran con una planta con frutos), actividad física (caminar o andar a caballo), involucran los sentidos (el gusto principalmente), entre otras. Estas cualidades son propias de "situaciones significativas con la naturaleza", sensu Giusti et al. (2018), es decir las especies con frutos comestibles propician múltiples experiencias de conexión con el entorno en las que se establecen vínculos únicos con las especies y el paisaje todo.

En particular, la práctica de protección evidencia diferencias entre especies nativas y exóticas. La protección ha sido descripta en otras comunidades de la Patagonia para especies nativas como el pehuén (*Araucaria araucana*) e inclusive para *B. microphylla* (Ladio y Molares, 2017). En Cuyín Manzano, la protección de especies nativas tiene una baja frecuencia y sólo ha sido detectada para la frutilla silvestre. Sin embargo, es una práctica común con las especies exóticas cultivadas, como se ve en este trabajo y también en huertos de la provincia de Misiones (Furlan et al., 2017). La descripción de las prácticas de protección, además, permite visibilizar las problemáticas actuales de los pobladores de estas zonas rurales. Por un lado el clima carcaterísticos del lugar (fuertes vientos y heladas),

y por otro las pestes y los herbívoros que se acrecentaron en los últimos años, como también sucede en México según Blancas et al. (2010).

El cultivo de especies con frutos comestibles, además de ser una práctica casi exclusiva de las especies exóticas, muestra rasgos distintivos del lugar. Hasta el momento, según la bibliografía existente, la excepción es el *cultivo ex situ* (por trasplante) de la frutilla silvestre, que se suma a los casos ya descriptos del cultivo *in situ* y *ex situ* de las semillas de Pehuén (*Araucaria araucana*), y otras plantas medicinales de la Patagonia (Ladio, 2001; Ladio y Molares, 2017). El trasplante de especies exóticas que ya han sido mejoradas agronómicamente, es la práctica más frecuente. Teniendo en cuenta el esfuerzo que implica cuidar de una planta pequeña y buscar renovales, o comprarlos, se trata de especies especialmente valoradas en la comunidad. Esta información resume criterios de selección de especies y años de experimentación de los pobladores. Por otro lado, en la actualidad la siembra de frutales es escasa, en contraposición a lo que ocurre en huertos de la ciudad de Puerto Iguazú (Misiones) donde es la principal práctica (Furlan et al., 2017). La presencia de herbívoros exóticos, producto de los modelos ganaderos que se impusieron en la región (Ladio y Molares, 2017), podría ser un factor explicativo de la baja siembra en Cuyín Manzano.

El cuidado de plantas heredadas es muy importante, es un claro ejemplo de herencia cultural (Maffi, 2005) y de cómo el paisaje es socialmente construido a lo largo del tiempo. De acuerdo a Giusti et al. (2018), las prácticas que involucran cuidado muestran una fuerte conexión con la naturaleza, en donde las personas se sienten actores responsables de la conservación de las especies. En este caso, se da mayormente con árboles exóticos cuyo valor cultural trasciende el valor material y se vincula fuertemente con el plano afectivo. La importancia de las plantas locales, que por procesos de selección o características particulares del ambiente (climáticas, edáficas, entre otras) o genéticas de las plantas que se introdujeron en el lugar, podrían haber adquirido características organolépticas propias. Ésto queda claro en el discurso de los pobladores: "...las guindas de Cuyín Manzano", y por lo tanto forman parte de la identidad local. Casos como estos se han documentado en detalle, cuando se describieron una amplia cantidad de etnoespecies y etnovariedades de

frutales exóticos en el norte de Argentina, probablemente resultado de largos procesos de selección cultural (Hilgert et al., 2014; Lambaré et al., 2015). Adicionalmente, la idea de que estas prácticas se perpetúen en el tiempo, como el trasplante de árboles frutales, dan sentido a una idea de seguridad y soberanía alimentaria para el presente y para las generaciones futuras.

Las especies exóticas están asociadas no sólo a un mayor número de prácticas de manejo, sino también a un manejo más intenso. Especies como *M. domestica, P. cerasus* y *P. domestica*, están adaptadas especialmente a las circunstancias ambientales locales y son vigorosas, pero también requieren ciertos cuidados culturales. Otras plantas necesitan más atención y cuidado, dado que algunas de ellas sin la acción humana difícilmente puedan sobrevivir, como por ejemplo *R. uva-crispa*. En su conjunto, el manejo de estas especies tiene gran importancia en el abastecimiento de frutos en esta comunidad de clima frío, y hacen que los pobladores empleen más estrategias para manejarlas que pueden explicar que sean más intensamente manejadas.

Los resultados evidencian que en Cuyín Manzano las plantas nativas silvestres se manejan con poca intensidad. *B. microphylla* y *F. chiloensis* son las únicas plantas nativas que poseen marcados indicios de domesticación incipiente según los resultados obtenidos. Las especies nativas son, en general, de frutos pequeños y algunas tienen espinas como los *Berberis*. Estas características podrían influir en las decisiones de utilizarlas menos, por ejemplo, en la elaboración de dulces, y por eso se ejerce una menor intensidad de manejo sobre ellas. A diferencia de estos hallazgos, en otras localidades de comunidades Mapuches se ha encontrado que ciertas plantas nativas, como el caso de la *Araucaria araucana*, son manejadas intensamente de manera diversa, por medio del cultivo *in situ* y *ex situ*, la protección y la tolerancia, dando cuenta de la importancia de los estudios particulares para cada especie y cada comunidad (Ladio y Molares, 2017; Reis et al., 2014).

Los resultados aquí expuestos pueden contribuir a un mayor entendimiento de aquellos factores que influyen en la intensidad de manejo ejercida sobre una especie. La literatura ha mostrado cómo la intensidad de manejo está directamente vinculada con factores

sociales, culturales y tecnológicos (Blancas et al., 2013; González-Insuasti et al., 2008; González-Insuasti y Caballero, 2007). Sin embargo, este trabajo pone de manifiesto que el origen biogeográfico es una variable o atributo que genera patrones diferenciales. Para este caso de estudio, esta condición implica que, en su mayoría, son especies domesticadas que han pasado por procesos de mejoramiento genético para aumentar la producción y el tamaño de los frutos. Se puede decir, que las especies exóticas poseen ventajas en aspectos biológicos frente a las nativas. Esto último, estaría en línea con lo propuesto por Casas et al. (2017) que proponen que los aspectos biológicos de las plantas, como por ejemplo los ciclos productivos, son factores determinantes en la intensidad de manejo de una especie.

En su conjunto, estos hallazgos dan cuenta que las plantas exóticas en la comunidad de Cuyín Manzano son las especies que mayormente se estarían proyectando en el paisaje mediante las prácticas de manejo actuales, cobrando gran importancia como patrimonio biocultural local. Varios autores han destacado el rol de las plantas introducidas luego de la colonización europea en las sociedades locales (Furlan et al., 2017; Hilgert et al., 2014; Lambaré et al., 2015; Stampella et al., 2013). El manejo ejercido sobre estas especies, permitió incrementar la diversidad de recursos útiles de las comunidades, contribuyendo de múltiples maneras en la vida cotidiana de las personas (Lambaré et al., 2015; Stampella et al., 2013). Los resultados encontrados en Cuyín Manzano son contrarios a los encontrados por Furlan et al. (2017) en huertos de Puerto Iguazú (Misiones), en donde las prácticas de manejo en Patagonia son similares para nativas y exóticas, pero estas últimas también tienen un importante rol en el abastecimiento de recursos alimenticios.

En este estudio se pueden visibilizar aspectos que podrían ser incluidos en el diagnóstico del manejo actual de la diversidad vegetal en comunidades rurales. El incremento del aprovechamiento de plantas exóticas y de mayores prácticas de manejo sobre ellas, ha sido señalado por algunos autores como un proceso tendiente a la disminución de la presión de uso sobre las especies nativas (Medeiros et al., 2017; Richeri et al., 2013). *R. rubiginosa* y *P. cerasus* son consideradas especies invasoras del área protegida (Fernández et al, 2007), y el aprovechamiento observado en Cuyín Manzano muestra cómo las personas se ajustan a las circunstancias y aprovechan la disponibilidad local, que a su vez fue en parte propiciada por

ellos mismos o sus familiares. Este trabajo no ha establecido si estas acciones humanas fomentan o controlan procesos de invasión, pero el uso continuo de frutos podría ser un indicador de un tipo de control (si la tasa de remoción de frutos fuera completa). Además, la recolección de los frutos al actuar en competencia con sus dispersores naturales, también favorecería tasas de reproducción más bajas de las especies. Por otro lado, el uso de gran cantidad de especies exóticas cultivadas hace que las especies nativas cobren una importancia menor en la obtención de estos recursos, debido a su menor rendimiento comparativo, y por ende hayan sido parcialmente sustituidas. Cuando se evalua el potencial invasor de especies exóticas (Lockwood et al., 2013), se debería tener en cuenta todas las prácticas humanas en conjunto y así poder establecer si es necesario implementar acciones de control en unión con las personas que habitan áreas protegidas, como en este caso.

En particular, la recolección de especies nativas merece especial atención para repensar sus futuras implicancias a nivel ecológico. Se sabe que la recolección de productos forestales no maderables (PFNM) puede afectar tanto la dinámica poblacional de la especie recolectada, como al ecosistema todo (Ticktin, 2004). Por ejemplo, en una revisión Ticktin (2015) explica que la recolección tradicional de frutos, en general, afecta poco a los individuos de especies de larga vida como árboles y arbustos, como es el caso del árbol de castaña (*Bertholletia excelsa*) que crece en la región amazónica. Si bien, actualmente en Cuyín Manzano la recolección de especies nativas no está asociada a la comercialización, en otras localidades de la región los frutos de *A. chilensis* y *B. microphylla* están siendo demandados por el mercado local, nacional e inclusive internacional (Ochoa et al., 2019). En consecuencia, ante la mayor presencia del mercado, estudios ecológicos que contribuyan a establecer normas de colecta resultan imprescindibles.

Todas las prácticas de manejo sobre la flora nativa deben ser tenidas en cuenta, ya que pueden tener distinto nivel de significancia en término de conservación. Si bien en Cuyín Manzano no se pudieron obtener testimonios que den cuenta de pautas culturales tendientes a la recolección sustentable, estas reglas si se encontraron en otros lugares de ascendencia Mapuche-Tehuelche (Ladio y Molares, 2014). Sin embargo, no podemos

asegurar que no existan dado que el proceso de entrevista pudo no hacer fácilmente evidente dichas acciones entre los pobladores.

Quizás, como en algunos casos la recolección es una práctica vivenciada como "un asunto de pobre" en comunidades rurales y suburbanas (Ladio et al., 2013; Ladio y Rapoport, 1999), los informantes hayan minimizado sus reglas culturales de recolección en las entrevistas. En muchas zonas rurales, es ampliamente conocido que los pobladores realizan rezos y agradecimientos antes de recolectar plantas medicinales y comestibles, así como establecen cantidades de colecta que no afecte la disponibilidad futura del recurso (Ladio y Molares, 2014; Reis et al., 2014). Estas normas culturales tendientes a la conservación de las plantas llevadas a cabo por las poblaciones campesinas, han sido descriptas para comunidades de México y Brasil, y tienden al mantenimiento de las poblaciones silvestres y la continuidad del recurso (Blancas et al., 2010; Casas et al., 1996; Casas et al., 1997; Lins Neto et al., 2014; Sousa Júnior et al., 2016).

Por otro lado, la tolerancia y el trasplante para las que sí se documentaron casos en este trabajo, incrementan la densidad poblacional de plantas nativas. Estas acciones muestran cómo el ser humano y plantas "silvestres" coexisten en el espacio doméstico y peridoméstico, y de esta forma, las personas están asegurando la supervivencia de esas plantas y de su progenie (Casas et al., 1997). Por lo que el incentivo de este tipo de prácticas que están siendo llevadas a cabo actualmente con la flora nativa, serían excelentes estrategias para la conservación de la biodiversidad.

El manejo de la flora nativa no sólo tiene implicancias a nivel ecológico, sino que también, posee un altísimo valor cultural. En particular, la recolección de especies nativas permite la conservación de conocimientos locales producto de años de experimentación con las especies. Durante esta práctica, se pone en acción el reconocimiento de las plantas, los nombres locales, pautas de recolección si las hubiera, formas de uso y otros tantos conocimientos y experiencias. Asimismo, ha sido fuertemente destacado que esto es especialmente importante en lugares que, como Cuyín Manzano, forman parte de una reserva de la biosfera (Bridgewater, 2002; Grasser et al., 2012; Schunko et al., 2012). La

conservación de estas áreas caracterizadas por su patrimonio biológico y cultural es esencial ante los escenarios de cambio socioambiental, dado que la pérdida del conocimiento local también implica la perdida de prácticas culturales sobre el ambiente (Bvenura y Sivakumar, 2017; Grasser et al., 2012; Ladio, 2001).

Acciones que contribuyan a re-valorizar especies nativas desde un plano cultural, también podrían ser muy efectivas en la conservación tanto del patrimonio tangible como del intangible. Los resultados aquí expuestos, así como los presentados por González Insuasti y Caballero (2007) y Blancas et al., (2013), muestran cómo la importancia cultural de una especie dentro de un grupo humano determina si es más o menos manejada. Blancas et al. (2013) destacan que las prácticas de mayor intensidad (como la siembra y el trasplante), se llevan a cabo para incrementar la disponibilidad de las especies, con motivo de asegurar recursos de gran valor como alimento. Por lo tanto, proyectos que contribuyan a revalorizar a las especies nativas dentro de una comunidad, podrían favorecer prácticas que redunden positivamente en el número de individuos de las mismas.

#### **CONCLUSIONES**

En este trabajo encontramos que las prácticas de manejo desarrolladas con plantas nativas y exóticas con frutos comestibles son muy diferentes, que reflejan procesos de herencia cultural que favorecen el cultivo de plantas exóticas principalmente domesticadas y el uso por recolección de plantas nativas y exóticas. Las plantas exóticas poseen más probabilidades de ser manejadas y con mayor intensidad que las nativas en la actualidad, aunque estas últimas poseen una historia de utilización local mucho más larga. La construcción de un paisaje cada vez más humanizado está siendo orientado hacia el uso de las especies exóticas que poseen gran importancia cultural. Cuyín Manzano es un claro ejemplo de cómo las prácticas de manejo construyen paulatinamente una biodiversidad humanizada local a través del mantenimiento de situaciones significativas con la naturaleza. Estas situaciones significativas están fuertemente arraigadas emotivamente con las plantas

nativas, asociadas al placer y el bienestar. Mientras que se evidencia una apropiación local de especies introducidas, también en términos significativos y emotivos.

En este contexto, las especies de árboles exóticos que son cultivos heredados, son representativos de la herencia viva de sus antepasados, se han establecido vínculos inseparables que llevan a las personas a destinar especiales cuidados. Esta categoría diferencial de práctica de manejo, que no fue propuesta anteriormente por otros autores, resulta ser muy útil para describir los procesos de construcción de paisajes culturales. El cuidado de árboles heredados asegura la memoria viviente de los antepasados hasta el día de hoy. Esta información, da cuenta de la importancia de utilizar marcos heurísticos flexibles que permitan incluir y analizar categorías adaptadas a las circunstancias locales. Por otra parte, las categorías de prácticas de manejo podrían ser herramientas útiles de monitoreo para registrar y cuantificar analíticamente los cambios de prácticas a lo largo del tiempo.

# Capítulo V

Taller de validación e intercambio de saberes con la comunidad de Cuyín Manzano

#### INTRODUCCIÓN

Las instancias conocidas como de "devolución" de resultados son fundamentales en etnobiología. Son parte del Código de Ética de la Sociedad Internacional de Etnobiología (ISE, 2006) en donde se establece que "constituye una responsabilidad ineludible de los etnocientíficos/as, durante el desarrollo de su investigación, proporcionar información constante y entendible (con base en el principio de consentimiento), sobre los avances y cada una de las etapas del estudio o investigación. Todas las formas de divulgación de la información etnocientífica obtenida, deberán formar parte de acuerdos previos y consensuados con la población involucrada. Tales acuerdos serán tomados en los espacios de participación colectiva, establecidos en consenso por la población local y los investigadores/as".

Las metodologías participativas incluyen técnicas de facilitación que ayudan a solventar dificultades de comunicación de manera colectiva. Son técnicas llamadas horizontales que se contraponen con las llamadas verticales, como las entrevistas, donde hay una persona (el investigador/a) que direcciona unilateralmente las preguntas. Son herramientas que generan colaboraciones y sinergias, dando voz a todos los implicados, disipando posibles conflictos y recordándonos que todo proceso colectivo tiene una gran enseñanza (Cunningham, 2001).

Con estas técnicas se procura captar la expresión comunitaria y consensuada acerca de un tema. Estomba et al. (2005) estudiaron el uso de plantas medicinales en la comunidad Mapuche Painefilú, utilizando dos técnicas, las de entrevistas y la del taller participativo, y encontraron que las plantas citadas se parecían solo en un 41%. Esto muestra, según los autores, la importancia de complementar distintas metodologías para arribar a resultados más certeros.

La idea de triangular distintos métodos ha sido ampliamente destacada por los etnobiológos y etnobiólogas (Albuquerque et al., 2014; Sampaio Sieber et al., 2014). Según Sampaio Sieber et al. (2014), los métodos participativos se caracterizan por la participación activa de los actores sociales y permiten un verdadero diálogo con la comunidad. Actualmente están en creciente desarrollo, y pueden enriquecer la investigación

aportando nuevos hallazgos (Grasser et al., 2016; Schunko et al., 2015). A través de los mismo, además, los resultados de etapas anteriores pueden ser validados, y propician el surgimiento de reflexiones colectivas que de otra manera no son elaboradas (Sampaio Sieber et al., 2014). Los talleres de intercambio pueden ser concebidos como una forma de compartir los resultados de la investigación y de hacer visible todos los saberes que posee una comunidad.

#### **OBJETIVOS**

- Validar y compartir los resultados del trabajo de campo etnobotánico mediante el desarrollo de un taller comunitario.
- 2) Estimular el intercambio y la reflexión sobre el tema de estudio, entre los participantes.

#### **METODOLOGÍA**

Para el desarrollo del taller comunitario se llevaron a cabo métodos participativos según lo descripto por Sampaio Sieber et al. (2014). Los mismos siguieron las siguientes etapas:

- En instancias previas durante el trabajo de campo con las entrevistas individuales, se propició la generación de vínculos de confianza con los pobladores. La construcción del "rapport" con los participantes está asociada a respuestas más completas y clarificadas y mayor compromiso con la investigación.
- Organización del taller: La preparación del evento debe ser cuidadosamente abordada. Es importante que para el desarrollo de estos métodos se elijan lugares comunes, con el fin de estimular la participación de todos los integrantes. El taller se llevó a cabo en el salón de usos múltiples de la asociación de fomento de Cuyín Manzano. Previamente se hicieron visitas a las casas de los pobladores para acordar el lugar y día del evento.
- La propuesta de trabajo: Fue una evaluación rural participativa (en inglés: PRA, participatory rural appraisal) en donde se pueda articular una visión comprensiva y crítica de todos los participantes acerca de los berries. El objetivo principal es

fomentar el diálogo, como herramienta no sólo para generar, o en este caso validar datos, sino también para proporcionar un aprendizaje mutuo entre los actores sociales. Para ello se propició que sean los pobladores quienes relaten y cuenten características de las plantas. En esos momentos, las investigadoras participantes (Melina Chamorro y Ana Ladio) se desenvolvieron como facilitadoras. También, se hicieron preguntas para estimular la reflexión sobre los temas tratados.

- Recursos: Video (proyector), fotografías (impresas). Durante el desarrollo del taller, se presentaron imágenes de todas las especies citadas en las entrevistas (Capítulos II y IV). En aquellas especies de menos consenso se incluyeron varias imágenes por lámina, tanto de la planta entera como de los frutos para facilitar su reconocimiento. Además, en lo posible se intentó usar fotos del lugar. Estos recursos visuales, también han sido descriptos por facilitar el diálogo y por lo tanto procurar el buen desenvolvimiento del encuentro.
- Registro: Se procedió al registro fotográfico y escrito de los aspectos más salientes del taller. Se registraron especialmente los relatos más significativos y algunos de los momentos de intercambio.

#### **RESULTADOS**

El taller comunitario se llevó a cabo en diciembre de 2018 y participaron 32 personas (Fig. 5.1). Estuvieron presentes gran parte de los entrevistados que formaron parte de la investigación (Capítulos II y IV) con sus familias. También asistieron otros niños y niñas de la escuela de la comunidad, tres maestros, el médico y odontólogo que recurren regularmente al lugar.



Figura 5.1 Desarrollo del taller comunitario en Cuyín Manzano.

Durante el taller se mostraron las imágenes de las especies comenzando por las más consensuadas hasta llegar a las de menor consenso según etapas previas de la investigación (Fig. 5.2). Se empezó preguntando: ¿Cuál planta creen ustedes que fue la que más veces se citó en Cuyín Manzano? Al unísono contestaron que era el michay (*Berberis microphylla*), coincidentemente con los resultados del procesamiento de las entrevistas individuales (Capítulos II y IV). Y así se mostraron las fotos que fueron todas reconocidas con bastante rapidez, excepto por las parrillas (*Ribes magellanicum* y *R. cucullatum*). Las especies menos consensuadas (Capítulos II y IV), efectivamente fueron las que menos participantes reconocieron durante el taller. Entre las personas que sí las conocían, se encontraban los pobladores de mayor edad. Por lo que, niños y el resto de la comunidad escucharon atentos las descripciones y relatos de los mayores como se ve en la Figura 5.2. De esta manera, la totalidad de las especies fueron validadas (Capítulos II y IV).



Figura 5.2 Validación de las especies por parte de los pobladores de Cuyín Manzano.

Ribes magellanicum (Capítulos II y IV) fue una de las especies que más tardaron en reconocer, luego la reconocieron como zarzaparrilla. Los asistentes dijeron que no se la ve mucho. Y cuando se preguntó porque, comentaron: "Se la comen los animales" (en simultáneo varios participantes). Esta información fue coincidente con los relatos de las entrevistas (Capítulo IV).

En el caso de *Ribes cucullatum* (Capítulo II y IV) no fue reconocida por los presentes, salvo un señor luego de un tiempo de observar las fotografías y con mayor descripción verbal dice haberla visto cerca del río. Y justamente fue una especie citada por una pobladora que no se encontraba en el taller.

Los participantes recordaron la forma de conservar las manzanas en el pasado (frutos de *Malus domestica*) (Capítulo IV), en un pozo bajo tierra. También surgió la importancia de hacer chicha (descripta en el Capítulo IV), como una actividad familiar. Y espontáneamente se nombró al guindado como otra bebida de elaboración hogareña (Capítulo II).

Otra de las especies que generó mayor intercambio fue la mosqueta (*Rosa rubiginosa*) (Capítulos II y IV). Se habló sobre las infusiones que se hacen con sus frutos (Capítulo II) y en esta instancia se agregó que se pueden usar los frutos crudos o secos o tostados en el

horno. Acerca de la mosqueta y su gran presencia en el paisaje de Cuyín Manzano (Capítulo IV), se preguntó cómo llegó hasta el lugar. MC dijo: "A un poblador le gustó para cerco y la plantó, después se hizo plaga".

Cuando se mostró la imagen de los frutos de la laura (*Schinus patagonicus*) (Capítulos II y IV), uno de los chicos presentes dijo que él la comía. Una de las maestras preguntó cómo eran los frutos, y TC comentó que eran *"menos carnosos, secos"*. Por otro lado, ER dijo que había escuchado que un chico se murió, cerca de Esquel, por comer estos frutos. A lo que el niño le dijo: *"yo como y estoy bien"*.

Con respecto a los *Berberis*, todos reconocieron el michay de río o de la costa (*B. empetrifolia*), pero sólo tres personas el michay de la montaña (*B. serratodentata*) (Capítulos II y IV). A lo que MC, describió con mayor precisión que tiene una hoja grande, pero con muchas espinas y frutos igual que el michay (haciendo referencia a *B. microphylla*). Los maestros presentes decían que no la conocían.

También se compartió el caso de las frutillas de campo (frutos de *Fragaria chiloensis*), en el que LR comentó que cuando las pusieron en invernadero crecieron frutillas de mayor tamaño (Capítulo IV). En el caso de *Gaultheria mucronata* (Capítulos II y IV), fue reconocida rápidamente por los entrevistados a lo que MC agregó que: "hay de color blanco, la de la foto (rosada, tomada en Cuyín Manzano), y más oscura". Algunos de los chicos de la escuela que provienen de la ciudad de Bariloche, acotaron: "no la conocíamos, pero ahora vamos a comer un montón".

Otro momento muy importante para la validación de las especies, fue cuando se presentó la foto de *Ephedra chilensis* (Capítulo II). Una especie que durante las entrevistas fue difícil identificar ya que se encontraba en lugares más alejados. La fotografía fue reconocida rápidamente por los entrevistados por su nombre común, "cola de caballo" y sus frutos fueron nuevamente valorados por su sabor dulce. Además, TC y MC mencionaron que crece cerca de las piedras.

También los niños citaron como frutos comestibles los "digüeñes" (Cyttaria spp), hongos que tienen como hospedero a los árboles de Nothofagus spp.

Cuando se mencionó a las guindas (*Prunus cerasus*), recordaron que se vendían a las dulcerías de Bariloche (Capítulos II y IV). MC resaltó que no todas son iguales: "Plantaron en Bolsón y no tienen el mismo ácido". Entre los participantes se consensuó que es distinto el ácido según el lugar, y donde hace más frío mejor, por eso las guindas de Cuyín Manzano son mejor para hacer dulces. Reafimaron que efectivamente, hay árboles en la comunidad que pueden tener 100 años, como los de la casa de SQ.

Cuando se comentó, que uno de los pobladores (ahí presente), había dicho que tenía más de 10 plantas de guinda, el poblador al que se hacía referencia dijo: "Y sí, porque nosotros estamos dejando para nuestros hijos, para nuestros nietos" (Capítulo IV); TC agregó: "Es decir, nosotros estamos cosechando lo que nos dejaron nuestros padres, nuestros abuelos, y nosotros vamos a plantar para dejarles a ellos (haciendo referencia a los chicos que estaban presentes)".

Todos los asistentes participaron, compartieron relatos o hicieron algún comentario. Los maestros estuvieron muy interesados porque había muchas plantas que no conocían. Una de las maestras comentó: "Me interesa mucho que se traten estos temas, porque veo que se van perdiendo conocimientos que la gente tiene de su lugar".

Durante el taller también se compartieron resultados de otra instancia de la investigación. Cuando se comentó que las especies de mayor consenso en Cuyín Manzano eran muy similares a las encontradas para otras localidades de la Patagonia argentina (Capítulo I), la gente se mostró muy interesada. El taller finalizó con la entrega a cada familia de un calendario con las especies de berries patagónicos de mayor consenso a las que se hizo referencia, como forma de intercambiar conocimientos. La Figura 5.3 muestra a todos los participantes del taller comunitario.



Figura 5.3 Participantes al finalizar el Taller comunitario en Cuyín Manzano.

## **DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES**

Del taller participativo se pueden desprender tres ideas principales:

Primeramente, este taller fue útil no solo para validar el 100% de las especies documentadas en las entrevistas sino también tuvo para los asistentes y las participantes una fuerte connotación simbólica y emotiva. El lazo construido a lo largo de los años con los pobladores generó una alta participación, con muestras de cariño y compromiso con la tarea. Fue un espacio de escucha atenta donde los mayores ocuparon un rol especial frente a los niños y demás asistentes. La gente se sintió alegre disfrutando de las historias que se contaban, hubo buen humor e interés por aprender. Inclusive, entre algunos se deslizó la necesidad de registrar la historia y todos estos conocimientos en forma de un libro del paraje, objetivo que se espera cumplimentar en un corto plazo junto con los pobladores. De esta manera, estas instancias pueden servir como espacios de empoderamiento cultural en donde las personas sienten que sus saberes son importantes.

En segundo término, los testimonios de los pobladores dieron cuenta de una visión sobre los berries profundamente localizada, nacida de la práctica diaria, enraizada en la historia del lugar, siguiendo los presupuestos de herencia biocultural de Maffi (2005). Los conocimientos se basan en el hecho que tanto la obtención, producción, consumo y conservación de los berries están en manos de las familias. Esta visión es muy diferente a la concepción abstracta y globalizada de la biodiversidad como objeto de estudio científico. Tampoco es común entre los integrantes de la sociedad moderna que basen sus saberes sobre los berries en todos estos aspectos, simplemente sus conocimientos se apoyan en el consumo. Esta vivencia de taller permitió reflexionar sobre el rol de la etnobotánica como práctica académica que actúa como puente frente a visiones tan diversas (Ladio, 2017). Denota también, la importancia de la incorporación de los diálogos locales sobre la biodiversidad para encontrar verdaderas alternativas de desarrollo local.

Del taller se desprende que los niños parecen ser importantes recolectores de berries y grandes experimentadores con la flora de los alrededores. Este aspecto no fue indagado en esta tesis, pero surgió como un elemento de relevancia. Futuros trabajos podrían ser planteados con el objeto de dilucidar sus conocimientos y reflexionar sobre las experiencias significativas con la naturaleza (SNS) (sensu, Giusti et al. 2018) que deben ser incentivadas para que no pierdan el interés por las plantas con berries. Esto es sumamente importante, porque la conservación biocultural del futuro dependerá de las generaciones jóvenes.

Finalmente, al igual que en otros trabajos en la zona, se observó, muy indirectamente, que los maestros del lugar conocen poco sobre plantas del lugar, aunque muestran deseos de aprender y conocer más a los berries nativos (Ladio y Molares, 2013). Esto habla de la enorme importancia de la integración de estos conocimientos en el ámbito escolar y de la necesidad de mayores capacitaciones con los mismos.

Por ende, esta experiencia permitió la corroboración de los resultados encontrados y también el entendimiento de los complejos factores y procesos que forman parte de la relación comunidad-planta, y por qué no, con los etnobiólogos/as también.

## CONCLUSIONES GENERALES Y PERSPECTIVAS

- Esta tesis da cuenta de la existencia de un valioso patrimonio biocultural asociado a los berries patagónicos de Argentina. Parte de ese patrimonio, en Cuyín Manzano como probablemente en otras localidades de la región, está siendo activamente vivenciado mediante la reproducción del CEL, incluyendo conocimientos, usos y prácticas de manejo sobre el ambiente.
- Fundamentalmente, los resultados de esta tesis muestran que la reproducción del CEL genera diversificación de la dieta, y en este sentido, cobra relevancia en la soberanía alimentaria local y en la necesidad de reflexionar sobre acciones colectivas para revalorizarlo.
- El uso de las distintas especies nativas y exóticas implica patrones de uso y prácticas de manejo diferentes, desempeñando múltiples roles en los contextos de alimentación y salud de la población local.
- Los berries nativos en el patrimonio regional de la Patagonia son los más consensuados, contribuyen con una gran riqueza de especies, en la que cada una aporta un gran número de alimentos locales y medicinas, pero parecen ser usados de manera marginal en la actualidad.
- Desde el punto de vista etnofarmacológico, los berries nativos tienen gran potencialidad de estudio, y en este sentido los estudios preliminares con el michay y la frutilla de campo muestran una diversidad de moléculas muy interesante, incluidas antocianinas, acídos hidroxicinámicos y flavonoles de gran bioactividad.
- Especialmente las bayas de *Berberis microphylla* y *B. darwinii* son una gran fuente de polifenoles, especialmente antocianinas. Estas sustancias han sido vinculadas con numerosos beneficios para la salud, por lo que una mayor diversidad de ensayos es necesaria para evaluar estas posibles propiedades.
- A nivel biológico esta tesis también da cuenta que los frutos nativos analizados poseen la capacidad de actuar como antioxidantes e inhibidores enzimáticos. Esto apoya su utilización como alimentos funcionales, suplementos dietarios o inclusive en cosmética.

- Los berries exóticos ocupan un rol alimentario cada vez más importante en el patrimonio regional, evidenciado también empíricamente en el estudio de caso de Cuyín Manzano, principalmente aportando mayor cantidad de alimentos locales por especie que los nativos.
- A pesar de las diferencias en la escala temporal, espacial y el tipo de estudio conducido en los Capítulos I y II, es posible encontrar similitudes y diferencias en la información recabada. En ambos estudios, hay un fuerte consumo de los frutos frescos (43% en la Patagonia argentina y 45% en Cuyín Manzano), que permitiría un máximo aprovechamiento de los nutrientes y sustancias activas para las personas.
- Los resultados del Capítulo III, así como la literatura existente sugieren que el consumo de berries aporta compuestos que podrían estar impactando positivamente en la salud de la comunidad. Lo que lleva a preguntarse cómo y en qué magnitud, todo el universo de compuestos presentes en estas especies está contribuyendo (y ha contribuido) a la salud de las personas que hacen uso frecuente de ellas, tanto en su alimentación como en su etnofarmacopea.
- Múltiples diferencias fueron halladas en las formas de uso comestible de los berries. En cuanto a las bebidas con berries, se podría pensar en un cambio en el patrón de uso. En la bibliografía analizada es frecuente la cita de jugos y refrescos, en tanto que en Cuyín Manzano las infusiones calientes son las bebidas principales elaboradas a partir de frutos. Otro rasgo distintivo es la ausencia de la elaboración de chicha en el caso de estudio. Lo que puede llevar a pensar que, en algún momento de la historia de esta comunidad, esta práctica culinaria se perdió. El mayor acceso a los mercados y a los procesos de globalización parece que ha propiciado fuertemente procesos de hibridación del conocimiento sobre berries.
- También, en el registro a macro y micro escala se encontraron diferencias en el uso medicinal de los berries. En Cuyín Manzano, las dolencias tratadas con berries y sus distintas partes son acotadas y el uso funcional se concentra en mayor medida en los frutos, a diferencia de lo expuesto en el Capítulo I en el que el espectro medicinal es amplio y las partes de la planta son todas aprovechadas. Estos posibles cambios,

- pueden estar relacionados con la introducción de la biomedicina en los sistemas de salud locales, junto con los procesos de cambio arriba señalados.
- Esta tesis apoya la idea de que la separación alimento-medicina es una construcción social de las sociedades urbanizadas que, en general, poco se corrobora en la literatura de pueblos originarios patagónicos y de las comunidades rurales. La idea de un alimento funcional que brinda bienestar parece ser la base del patrimonio alimentario regional.
- Las prácticas de manejo asociadas al uso de berries distinguidas en esta tesis, dan cuenta de la importancia de considerar cómo las acciones humanas son claves en la trasformación del paisaje, y que las sociedades dependientes de los recursos naturales tienden a orientarse hacia paisajes útiles para la gente.
- Este trabajo amplía el conocimiento de alimentos culturalmente importantes, a los cuales las comunidades locales deberían tener fácil acceso como requisito de alcanzar una mayor seguridad alimentaria regional (FAO, 2013). Las especies aquí registradas son parte de la identidad local, y son la base para futuras innovaciones culinarias que también serán parte de este patrimonio flexible y cambiante.
- Las especies claves destacadas en esta tesis pueden ser foco de iniciativas posteriores que promuevan la disponibilidad de estos alimentos, que es otro ítem fundamental en la seguridad alimentaria (FAO, 2013) y que debe ser estudiado en mayor detalle.
- Muchas de las especies aquí señaladas tienen grandes posibilidades de éxito como recurso productivo, ya que son especies adaptadas a las condiciones ambientales y con las que la mayoría de los agricultores ya han interactuado a lo largo de su vida. Por esto, representan una gran oportunidad en la búsqueda de alternativas a la ganadería, que tanto impacto negativo parece generar en los ecosistemas patagónicos (Franzese et al., 2016; Tadey, 2006; Tadey y Farji-Brener, 2007).
- Las especies exóticas asilvestradas también merecen ser estudiadas desde un punto de vista ecológico, para determinar por ejemplo el número de individuos que puedan ser cultivados sin contribuir a su potencial invasor.

- El cultivo o recolección sustentable de especies nativas, pero también de aquellas exóticas, podría propiciar el desarrollo de un mercado local, y por ende ser parte, de propuestas de desarrollo regional. Por ejemplo, la producción en ambientes boscosos o de transición (ecotono) como Cuyín Manzano, podrían abastecer de frutos a las ciudades como ha sucedido en el pasado o bien a zonas más áridas lindantes. Este tipo de comercio a pequeña escala, tendría asociado menores costos en la distribución del producto y menor emisión de gases contaminantes. Otros emprendimientos como las ferias y el turismo rural podrían ser formas de desarrollo económico y cultural (Berkes y Davidson-Hunt, 2006; Bessière, 1998).
- El CEL sobre los berries y otros frutos comestibles de la Patagonia argentina, analizado en sus diferentes escalas, deja grandes enseñanzas para la salud. La biodiversidad de berries y las distintas transformaciones humanas para su consumo, son reservorio de compuestos saludables. A la ciencia todavía le resta dilucidar todo los posibles blancos (targets) terapéuticos para los que pueden ser empleados. Pero probablemente la clave, no esté sólo en las especies ni en los compuestos químicos, sino en "recrear prácticas saludables". Esta tesis da cuenta de múltiples prácticas que se llevan a cabo con las especies de frutos comestibles que además adquieren una dimensión única. Esto se debe a que implican la elaboración de alimentos sin aditivos (si bien son inocuos no se deben exceder concentraciones establecidas (CAA, 1996). También, estimula el desarrollo social al compartir el alimento con otras personas (Aguirre, 2005). Por último, generan situaciones de contacto significactivo con la naturaleza (que a su vez comprende el desarrollo de actividad física durante la recolección o cosecha de frutos). Todos los puntos arriba señalados se encuentran contemplados dentro de las definiciones de salud más clásicas, e inclusive las más modernas y holísticas
- Finalmente, este trabajo resalta la importancia del patrimonio tangible e intangible y su construcción a lo largo del tiempo. El caso de los árboles de berries heredados y cuidados por los pobladores de Cuyín Manzano, nos da el ejemplo de una herencia biocultural conectada con la vida, la memoria y la salud. Estos valores relacionales

y prácticas asociadas son los que tienen que ser incentivados para cualquier modelo de desarrollo local.

# **BIBLIOGRAFÍA**

Aaby, K., Mazur, S., Nes, A., Skrede, G., 2012. Phenolic compounds in strawberry (Fragaria x ananassa Duch) fruits: Composition in 27 cultivars and changes during ripening. Food Chem. 132, 86–97.

Abbasi, A.M., Khan, M.A., Khan, N., Shah, M.H., 2013. Ethnobotanical survey of medicinally important wild edible fruits species used by tribal communities of Lesser Himalayas-Pakistan. J. Ethnopharmacol. 148, 528–536.

Abbès, F., Bouaziz, M.A., Blecker, C., Masmoudi, M., Attia, H., Besbes, S., 2011. Date syrup: Effect of hydrolytic enzymes (pectinase/cellulase) on physico-chemical characteristics, sensory and functional properties. LWT - Food Sci. Technol. 44, 1827–1834.

Agresti, A., 2007. An introduction to categorical data analysis, Second. ed. Jhon Wiley and Sons, New Jersey.

Agresti, A., 2015. Foundations of linear and generalized linear models. Jhon Wiley and Sons, New Jersey.

Aguirre, P., 2017. Una historia social de la comida. Lugar Editorial, Buenos Aires.

Aguirre-Dugua, X., Eguiarte, L.E., González-Rodrgíuez, A., Casas, A., 2012. Round and large: Morphological and genetic consequences of artificial selection on the gourd tree Crescentia cujete by the Maya of the Yucatan Peninsula, Mexico. Ann. Bot. 109, 1297–1306.

Aisen, S., Werenkraut, V., Márquez, M.E.G., Ramírez, M.J., Ruggiero, A., 2017. Environmental heterogeneity, not distance, structures montane epigaeic spider assemblages in north-western Patagonia (Argentina). J. Insect Conserv. 21, 951–962.

Aizen, M.A., Ezcurra, C., 1998. High incidence of plant-animal mutualisms in the woody flora of the temperate forest of southern South America: Biogeographical origin and present ecological significance. Ecol. Austral 8, 217–236.

Alam, M.A., Subhan, N., Hossain, H., Hossain, M., Reza, H.M., Rahman, M.M., Ullah, M.O., 2016. Hydroxycinnamic acid derivatives: a potential class of natural compounds for the management of lipid metabolism and obesity. Nutr. Metab. 13, 1–13.

Alarcón, R., Pardo-De-Santayana, M., Priestley, C., Morales, R., Heinrich, M., 2015. Medicinal and local food plants in the south of Alava (Basque Country, Spain). J. Ethnopharmacol. 176, 207–224.

Albuquerque, U.P., de Medeiros, P.M., Ferreira Júnior, W.S., da Silva, T.C., da Silva, R.R.V., Gonçalves-Souza, T., 2019a. Social-Ecological Theory of Maximization: Basic Concepts and Two Initial Models. Biol. Theory 1–13.

Albuquerque, U.P., do Nascimento, A.L.B., da Silva Chaves, L., Feitosa, I.S., de Moura, J.M.B., Gonçalves, P.H.S., da Silva, R.H., da Silva, T.C., Ferreira, W.S., 2019b. A brief introduction to niche construction theory for ecologists and conservationists. Biol. Conserv. 237, 50–56.

Albuquerque, U.P., Fernandes Cruz da Cunha, L. V., Paiva de Lucena, R.F., Nóbrega Alves, R.R. (Eds.), 2014. Methods and Techniques in Ethnobiology and. Springer, New York.

Albuquerque, U.P., Lucena, R.F.P., Monteiro, J.M., Florentino, A.T.N., Almeida, C. de F.C.B.R., 2006. Evaluating Two Quantitative Ethnobotanical Techniques. Ethnobot. Res. Appl. 4, 51–60.

Albuquerque, U.P., Medeiros, P.M. de, 2012. Systematic Reviews and Meta-Analysis Applied to Ethnobiological Research. Ethnobiol. Conserv. 1-8.

Albuquerque, U.P., Paiva de Lucena, R.F., Cruz da Cunha, L.V.F. (Eds.), 2010. Métodos e técnicas na pesquisa Etnobiológica y Etnoecológica. NUPEEA, Recife.

Anton, A.M., Biurrun, E., Biurrun, F., Galetto, L., 2007. Plantas silvestres comestibles utilizadas en poblaciones rurales de la Provincia de La Rioja (Argentina). Kurtziana 33, 121–140.

Anton, A.M., Biurrun, E., Biurrun, F., Galetto, L., 2007. Plantas silvestres comestibles utilizadas en poblaciones rurales de la Provincia de La Rioja (Argentina). Kurtziana 33, 121–140.

Arena, M.E., 2016. Estudio de algunos fenómenos morfofisiológicos y cambios bioquímicos en Berberis microphylla G. Forst (sinónimo B. buxifolia) asociados a la formación y maduración de frutos en Tierra del Fuego y su relación con la producción de metabolitos útiles. Tesis de doctorado en Agronomía, Universidad Nacional del Sur, Argentina.

Arena, M.E., Coronel, L.J., 2011. Fruit growth and chemical properties of Ribes magellanicum "parrilla." Sci. Hortic. (Amsterdam). 127, 325–329.

Arena, M.E., Lencinas, M.V., Radice, S., 2018. Variability in floral traits and reproductive success among and within populations of Berberis microphylla G. Forst., an underutilized fruit species. Sci. Hortic. (Amsterdam). 241, 65–73.

Arena, M.E., Postemsky, P., Curvetto, N.R., 2012. Accumulation patterns of phenolic compounds during fruit growth and ripening of Berberis buxifolia, a native Patagonian species. New Zeal. J. Bot. 50, 15–28.

Arena, M.E., Postemsky, P., Curvetto, N.R., 2017. Changes in the phenolic compounds and antioxidant capacity of Berberis microphylla G. Forst. berries in relation to light intensity and fertilization. Sci. Hortic. 218, 63–71.

Arena, M.E., Radice, S., 2014. Shoot growth and development of Berberis buxifolia Lam. in Tierra del Fuego (Patagonia). Sci. Hortic.165, 5–12.

Arenas, P., 2003. Etnografía y alimentación entre los Toba-Ñachilamole#ek y Wichí-Lhuku'tas del Chaco Central (Argentina). Consejo Nacional de Investigaciones científicas y técnicas, Buenos Aires.

Arranz, S., Chiva-Blanch, G., Valderas-Martínez, P., Medina-Remón, A., Lamuela-Raventós, R.M., Estruch, R., 2012. Wine, beer, alcohol and polyphenols on cardiovascular disease and cancer. Nutrients 4, 759–781.

Asgary, S., Rastqar, A., Keshvari, M., 2018. Functional Food and Cardiovascular Disease Prevention and Treatment: A Review. J. Am. Coll. Nutr. 0, 1–27.

Atoui, A.K., Mansouri, A., Boskou, G., Kefalas, P., 2005. Tea and herbal infusions: Their antioxidant activity and phenolic profile. Food Chem. 89, 27–36.

Avocèvou-Ayisso, C., Sinsin, B., Adégbidi, A., Dossou, G., Van Damme, P., 2009. Sustainable use of non-timber forest products: Impact of fruit harvesting on Pentadesma butyracea regeneration and financial analysis of its products trade in Benin. For. Ecol. Manage. 257, 1930–1938.

Basu, A., Wilkinson, M., Penugonda, K., Simmons, B., Betts, N.M., Lyons, T.J., 2009. Freeze-dried strawberry powder improves lipid profile and lipid peroxidation in women with metabolic syndrome: Baseline and post intervention effects. Nutr. J. 8, 1–7.

Beecher, G.R., 2004. Proanthocyanidins: Biological activities associated with human health. Pharm. Biol. 42, 2–20.

Bérard, L., Marchenay, P., 2006. Local products and geographical indications: Taking account of local knowledge and biodiversity. Int. Soc. Sci. J. 58, 109–116.

Berkes, F., Colding, J., Folke, C., 2000. Rediscovery of Traditional Ecological Knowledge as Adaptive Managementthor. Ecol. Appl. 10, 1251–1262.

Berkes, F., Davidson-Hunt, I.J., 2006. Biodiversity, traditional management systems, and cultural landscapes: Examples from the boreal forest of Canada. Int. Soc. Sci. J. 58, 35–47.

Bessière, 1998. Local Development and Heritage: Traditional Food and Cuisine as Tourist Attractions in Rural Areas. Sociol. Ruralis 38, 34.

Betancurt, R., Rovere, A.E., Ladio, A.H., 2017. Incipient Domestication Processes in Multicultural Contexts: A Case Study of Urban Parks in San Carlos de Bariloche (Argentina). Front. Ecol. Evol. 5, 1–14.

Blancas, J., Casas, A., D., Caballero, J., Vega, E., 2013a. Ecological and socio-cultural factors influencing plant management in Náhuatl communities of the Tehuacán Valley, Mexico. J. Ethnobiol. Ethnomed. 9, 1–22.

Blancas, J., Casas, A., Lira, R., Caballero, J., 2009. Traditional Management and Morphological Patterns of Myrtillocactus schenckii (Cactaceae) in the Tehuacán Valley, Central Mexico. Econ. Bot. 63, 375–387.

Blancas, J., Casas, A., Rangel-Landa, S., Moreno-Calles, A., Torres, I., Pérez-Negrón, E., Solís, L., Delgado-Lemus, A., Parra, F., Arellanes, Y., Caballero, J., Cortés, L., Lira, R., Dávila, P., 2010. Plant Management in the Tehuacán-Cuicatlán Valley, Mexico. Econ. Bot. 64, 287–302.

Bober, Z., Stępień, A., Aebisher, D., Ożóg, Ł., Bartusik-Aebisher, D., 2018. Fundamentals of the use of Berberis as a medicinal plant. Eur. J. Clin. Exp. Med. 16, 41–46.

Bondet, V., Brand-Williams, W., Berset, C., 1997. Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH free radical method. LWT - Food Sci. Technol. 30, 609-615.

Borrero, L.A., 2015. Moving: Hunter-gatherers and the cultural geography of South America. Quat. Int. 363, 126–133.

Borrero, L.A., Nuevo Delaunay, A., Méndez, C., 2019. Ethnographical and historical accounts for understanding the exploration of new lands: The case of Central Western Patagonia, Southernmost South America. J. Anthropol. Archaeol. 54, 1–16.

Brauch, J.E., Buchweitz, M., Schweiggert, R.M., Carle, R., 2016. Detailed analyses of fresh and dried maqui (Aristotelia chilensis (Mol.) Stuntz) berries and juice. Food Chem. 190, 308–316.

Bridgewater, P.B., 2002. Biosphere reserves: Special places for people and nature. Environ. Sci. Policy 5, 9–12.

Burgos-Edwards, A., Jiménez-Aspee, F., Thomas-Valdés, S., Schmeda-Hirschmann, G., Theoduloz, C., 2017. Qualitative and quantitative changes in polyphenol composition and bioactivity of Ribes magellanicum and R. punctatum after in vitro gastrointestinal digestion. Food Chem. 237, 1073–1082.

Bussmann, R.W., Paniagua Zambrana, N.Y., Sikharulidze, S., Kikvidze, Z., Kikodze, D., Tchelidze, D., Batsatsashvili, K., Hart, R., 2016. Medicinal and Food Plants of Svaneti and Lechkhumi, Sakartvelo (Republic of Georgia), Caucasus. Med. Aromat. Plants 5, 1–18.

Bvenura, C., Sivakumar, D., 2017. The role of wild fruits and vegetables in delivering a balanced and healthy diet. Food Res. Int. 99, 15–30.

CAA, 1996. Código Alimentario Argentino. Buenos Aires, Argentina.

Calfío, C., Huidobro-Toro, J.P., 2019. Potent Vasodilator and Cellular Antioxidant Activity of Endemic Patagonian Calafate Berries (Berberis microphylla) with Nutraceutical Potential. Molecules 24, 2700.

Capparelli, A., Hilgert, N., Ladio, A., Lema, V.S., Llano, C., Molares, S., Pochettino, M.L., Stampella, P.-, 2011. Paisajes culturales de Argentina: Pasado y presente desde las perspectivas etnobotánica y paleoetnobotánica. Rev. la Asoc. Argent. Ecol. Paisajes 2, 67–79.

Carabajal, M.P.A., Isla, M.I., Zampini, I.C., 2017. Evaluation of antioxidant and antimutagenic activity of herbal teas from native plants used in traditional medicine in Argentina. South African J. Bot. 110, 258–265.

Caruso Fermé, L., Velázquez, N.J., Martínez Tosto, A.C., Yagueddú, C., Burry, L.S., Civalero, M.T., 2018. Multiproxy study of plant remains from Cerro Casa de Piedra 7 (Patagonia, Argentina). Quat. Int. 7, 327–336.

Casas, A., Caballero, J., Mapes, C., Zárate, S., 1997. Manejo de la vegetación y domesticación de plantas y origen de la agricultura en Mesoamerica. Boletín la Soc. Botánica México 61, 31–47.

Casas, A., Otero-Arnaiz, A., Pérez-Negrón, E., Valiente-Banuet, A., 2007. In situ management and domestication of plants in Mesoamerica. Ann. Bot. 100, 1101–1115.

Casas, A., Torres-Guevara, J., Parra, F. (Eds.), 2017. Domesticación en el continente americano. Volumen 2. Editorial Morevalladolid, Morelia.

Casas, A., Vásquez, M.C., Viveros, J.L., Caballero, J., 1996. Plant management among Nahua na the Mixtec from the Balsas River Basin: and ethnobotanical approach to the study of plant domestication. Hum. Ecol. 24, 455–478.

Cassidy, A., Mukamal, K.J., Liu, L., Franz, M., Eliassen, a. H., Rimm, E.B., 2013. High anthocyanin intake is associated with a reduced risk of myocardial infarction in young and middle-aged women. Circulation 127, 188–196.

Caveney, S., Charlet, D.A., Freitag, H., Maier-Stolte, M., Starratt, A.N., 2001. New observations on the secondary chemistry of world Ephedra (Ephedraceae). Am. J. Bot. 88, 1199–1208.

Cespedes, C.L., Pavon, N., Dominguez, M., Alarcon, J., Balbontin, C., Kubo, I., El-Hafidi, M., Avila, J.G., 2017. The Chilean superfruit black-berry Aristotelia chilensis (Elaeocarpaceae), Maqui as mediator in inflammation-associated disorders. Food Chem. Toxicol. 108, 438–450.

Chamorro, M.F., Ladio, A.H., Molares, S., 2018. Patagonian Berries: An ethnobotanical approach to exploration of their nutraceutical potential, in: Martínez, J., Muñoz-Acevedo, A., Rai, M. (Eds.), Ethnobotany: Local Knowledge and Traditions. CRC Press, Boca Raton, pp. 50–69.

Cheel, J., Theoduloz, C., Rodríguez, J. a., Caligari, P.D.S., Schmeda-Hirschmann, G., 2007a. Free radical scavenging activity and phenolic content in achenes and thalamus from Fragaria chiloensis ssp. chiloensis, F. vesca and F. x ananassa cv. Chandler. Food Chem. 102, 36–44.

Cheel, J., Theoduloz, C., Rodríguez, J., Saud, G., Caligari, P.D.S., Schmeda-Hirschmann, G., 2005. E-cinnamic acid derivatives and phenolics from chilean strawberry fruits, Fragaria chiloensis ssp. chiloensis. J. Agric. Food Chem. 53, 8512–8518.

Cheynier, V., Comte, G., Davies, K.M., Lattanzio, V., Martens, S., 2013. Plant phenolics: recent advances on their biosynthesis, genetics, and ecophysiology. Plant Physiol. Bioch. 72, 1–20.

Chrubasik, C., Roufogalis, B.D., Ulf, M.-L., Chrubasik, S., 2008. A Systematic Review on the Rosa canina Effect and Efficacy Profile. Phyther. Res. 22, 725–733.

Chung, S.W, Yu, D.K., Lee, H.J., 2016. Changes in anthocyanidin and anthocyanin pigments in highbush blueberry (Vaccinium corymbosum cv. Bluecrop) fruits during ripening. Hort. Environ. Biotechnol. 57, 424-430.

Ciampagna, M.L., Capparelli, A., 2012. Historia del uso de las plantas por parte de las poblaciones que habitaron la Patagonia Continental Argentina. Cazadores-recolectores del cono sur 6, 44–75.

Clifford, M.N., Johnston, K.L., Knight, S., Kuhnert, N., 2003. Hierarchical scheme for the LC-MS<sup>n</sup> identification of chlorogenic acids. J. Agric. Food Chem. 51, 2900-2911.

Conover, W.J., 1971. Practical Nonparametric Statics. Jhon Wiley and Sons, New York.

Cornara, L., La Rocca, A., Terrizzano, L., Dente, F., Mariotti, M.G., 2014. Ethnobotanical and phytomedical knowledge in the North-Western Ligurian Alps. J. Ethnopharmacol. 155, 463–484.

Correa, M.N., 1971. Flora Patagónica. Compositae. Colecciones Científicas del INTA, Buenos Aires.

Correa, M.N., 1984. Flora Patagónica. Dicotiledoneas dialipétalas (Droseraceae a Leguminosae). Instituto nacional de Tecnología Agropecuaria., Buenos Aires.

Correa, M.N., 1984. Flora Patagónica. Dicotiledóneas, dialipétalas (Salicaceae a Cruciferae). Colecciones Científicas del INTA, Buenos Aires.

Correa, M.N., 1988. Flora Patagónica. Dicotiledóneas, dialipétalas (Oxalidaceae a Cornaceae). Colecciones Científicas del INTA, Buenos Aires.

Correa, M.N., 1998. Flora Patagónica. Introducción. Colecciones Científicas del INTA, Buenos Aires.

Cortes Sánchez-Mata, M., Tardío, J. (Eds.), 2016. Mediterranean wild edible plants. Springer science, New York, USA.

Crawley, M.J., 2013. Second Edition, First. ed. Jhon Wiley and Sons, Chichester.

Cruse-Sanders, J., Casas, A., 2017. Impactos evolutivos de las actividades humanas sobre las plantas: manejo, domesticación y conservación in situ y ex situ, in: Casas, A., Torres-Guevara, J., Parra, F. (Eds.), Domesticación En El Continente Americano. Editorial Morellavalladolid, Morelia, pp. 451–473.

Cunningham, A.B., 2001. Etnobotánica aplicada: Pueblos, uso de plantas silvestres y conservación. Nordan comunidad, Montevideo.

Damascos, M., Ladio, A., Rovere, A., Ghermandi, L., 2005. Semillas de rosa mosqueta: dispersión y germinación en diferentes bosques nativos andino-patagónicos. Patagon. For. 2–6.

Damascos, M.A., Arribere, M., Svriz, M., Bran, D., 2008. Fruit mineral contents of six wild species of the North Andean Patagonia, Argentina. Biol. Trace Elem. Res. 125, 72–80.

Davinelli, S., Bertoglio, J.C., Zarrelli, A., Pina, R., Scapagnini, G., 2015. A Randomized Clinical Trial Evaluating the Efficacy of an Anthocyanin–Maqui Berry Extract (Delphinol®) on Oxidative Stress Biomarkers. J. Am. Coll. Nutr. 34, 28–33

De Medeiros, P.M., Ladio, A.H., Melo Santos, A. mauricio, Albuquerque, U.P., 2013. Does the selection of medicinal plants by Brazilian local populations suffer taxonomic influence? J. Ethnopharmacol.

de Mösbach, E.W., 1992. Botánica indígena de Chile. Ed. Andrés Bello, Santiago de Chile.

Del Rio, D., Borges, G., Crozier, A., 2010. Berry flavonoids and phenolics: bioavailability and evidence of protective effects. Br. J. Nutr. 104 Suppl, S67–S90.

Denev, P.N., Kratchanov, C.G., Ciz, M., Lojek, A., Kratchanova, M.G., 2012. Bioavailability and Antioxidant Activity of Black Chokeberry (Aronia melanocarpa) Polyphenols: In vitro and in vivo Evidences and Possible Mechanisms of Action: A Review. Compr. Rev. Food Sci. Food Saf. 11, 471–489.

Devereux, E., 2006. Flora del Archipiélago Fueguino y Patagonia, Segunda. ed. El autor, Buenos Aires.

Díaz, S., Pascual, U., Stenseke, M., Martín-López, B., Watson, R.T., Molnár, Z., Hill, R., Chan, K.M.A., Baste, I.A., Brauman, K.A., Polasky, S., Church, A., Lonsdale, M., Larigauderie, A., Leadley, P.W., van Oudenhoven, A.P.E., van der Plaat, F., Schröter, M., Lavorel, S., Aumeeruddy-Thomas, Y., Bukvareva, E., Davies, K., Demissew, S., Erpul, G., Failler, P., Guerra, C.A., Hewitt, C.L., Keune, H., Lindley, S., Shirayama, Y., 2018. Assessing nature's contributions to people. Science 359, 270–272.

Duymuş, H.G., Göger, F., Başer, K.H.C., 2014. In vitro antioxidant properties and anthocyanin compositions of elderberry extracts. Food Chem. 155, 112–119.

Elisabetsky, E., 2002. Traditional medicines and the new paradigm of psychotropic drug action, in: Iwu, M.M., Wooton, J. (Eds.), Ethnomedicine and Drug Discovery. Elsevier Science, Amsterdam, pp. 133–144.

Ersoy, N., Kupe, M., Sagbas, H.I., Ercisli, S., 2018. Physicochemical diversity among barberry (Berberis vulgaris L.) fruits from Eastern Anatolia. Not. Bot. Horti Agrobot. Clui-Napoca 46, 336–342.

Escribano-Bailón, M.T., Alcalde-Eon, C., Muñoz, O., Rivas-Gonzalo, J.C., Santos-Buelga, C., 2006. Anthocyanins in berries of Maqui (Aristotelia chilensis (Mol.) Stuntz). Phytochem. Anal. 17, 8–14.

Estomba, D., Ladio, A., Lozada, M., 2005. Plantas medicinales utilizadas por una comunidad Mapuche en las cercanías de Junín de los Andes, Neuquén. Bol. Latinoam. y del Caribe Plantas Med. y Aromat.

Etkin, N.L., 2001. Perspectives in ethnopharmacology: forging a closer link between bioscience and traditional empirical knowledge. J. Ethnopharmacol. 76, 177–82.

Etkin, N.L., Elisabetsky, E., 2005. Seeking a transdisciplinary and culturally germane science: The future of ethnopharmacology. J. Ethnopharmacol. 100, 23–26.

Etkin, N.L., Ross, P.J., 1982. Food As Medicine and Medicine As Food: An adaptative framework for the interperetation of plant utilization among the hausa of northern Nigeria. Soc. Sci. Med. 16, 1559–1573.

Etkin, N.L., Ross, P.J., 1991. Should we set a place for diet in ethnopharmacology? J. Ethnopharmacol. 32, 25–36.

Eyssartier, C., Ladio, A.H., Lozada, M., 2008. Transmisión de conocimientos tradicionales en dos poblaciones rurales del noroeste patagónico, in: ler Reunión Latinoamericana de Análisis de Redes Sociales. La Plata, pp. 1–21.

Eyssartier, C., Ladio, A.H., Lozada, M., 2011a. Traditional horticultural knowledge change in a rural population of the Patagonian steppe. J. Arid Environ. 75, 78–86.

Eyssartier, C., Ladio, A.H., Lozada, M., 2011b. Horticultural and gathering practices complement each other: a case study in a rural population of northwestern patagonia. Ecol. Food Nutr. 50, 429–451.

Eyssartier, C., Ladio, A.H., Lozada, M., 2015. Horticultural practice and germplasm conservation: a case study in a rural population of the Patagonian steppe. Food Secur. 7, 1259–1271.

Ezcurra, C., Brion, C., 2005. Plantas del Nahuel Huapi. Catálogo de la flora vascular del Parque Nacional Nahuel Huapi, Argentina. Universidad Nacional del Comahue- Red Latinoamericana de Botánica, Bariloche.

Fang, J., 2015. Classification of fruits based on anthocyanin types and relevance to their health effects. Nutrition 31, 1301–1306.

FAO, 2013. El estado de la inseguridad alimentaria en el mundo 2013. Roma.

Favre, G., González-Neves, G., Piccardo, D., Gómez-Alonso, S., Pérez-Navarro, J., Hermosín-Gutierrez, I., 2018. New acylated flavonols identified in Vitis vinifera grapes and wines. Food Res. Int. 112, 98-107.

Fernández, N., 2007. Plantas exóticas invasoras de los parques nacionales de patagonia. Administración de Parques Nacionales, Delegación regional Patagonia-Universidad Nacional del Comahue.

Finn, C.E., Retamales, J.B., Lobos, G. a., Hancock, J.F., 2013. The Chilean strawberry (Fragaria chiloensis): Over 1000 years of domestication. HortScience 48, 418–421.

Forouhi, N.G., Unwin, N., 2019. Global diet and health: old questions, fresh evidence, and new horizons. Lancet 6736, 3–4.

Fowler, C., Lepofsky, D., 2011. Traditional Resource and Environmental Management, in: Anderson, E., Pearsall, D., Hunn, E., Turner, N. (Eds.), Ethnobiology. Wiley-Blackwell, Chichester, p. 400.

Franzese, J., Ghermandi, L., Gonzalez, S.L., 2016. Historical land use by domestic grazing revealed by the soil seed bank: A case study from a natural semi-arid grassland of NW Patagonia. Grass Forage Sci. 71, 315–327.

Furlan, V., Pochettino, M.L., Hilgert, N.I., 2017. Management of Fruit Species in Urban Home Gardens of Argentina Atlantic Forest as an Influence for Landscape Domestication. Front. Plant Sci.

García Canclini, N., 1990. Culturas híbridas, Culturas híbridas, estrategias para entrar y salir de la modernidad. Grijalbo, México D. F.

García-Diaz, D.F., Jiménez, P., Reyes-Farias, M., Soto-Covasich, J., Costa, A.G.V., 2019. A Review of the Potential of Chilean Native Berries in the Treatment of Obesity and its Related Features. Plant Foods Hum. Nutr. 74(3), 277-286.

Gavin, M.C., McCarter, J., Mead, A., Berkes, F., Stepp, J.R., Peterson, D., Tang, R., 2015. Defining biocultural approaches to conservation. Trends Ecol. Evol. 3, 140-145.

GBD 2017, D.C., 2019. Health effects of dietary risks in 195 countries, 1990–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. Lancet 6736.

Giampieri, F., Alvarez-Suarez, J.M., Battino, M., 2014. Strawberry and human health: effects beyond antioxidant activity. J. Agric. Food Chem. 64, 3867–3876.

Giampieri, F., Tulipani, S., Alvarez-Suarez, J.M., Quiles, J.L., Mezzetti, B., Battino, M., 2012. The strawberry: composition, nutritional quality, and impact on human health. Nutrition 28, 9–19.

Giusti, M., Svane, U., Raymond, C.M., Beery, T.H., 2018. A framework to assess where and how children connect to nature. Front. Psychol. 8, 1–21.

González, G., Moya, M., Sandoval, C., Herrera, R., 2009 a. Diversidad genética en frutilla Chilena (Fragaria Chiloensis): Respuesta diferencial a la infección con Botrytis cinerea. Spanish J. Agric. Res. 7, 886–895.

González, M., Gaete-Eastman, C., Valdenegro, M., Figueroa, C.R., Fuentes, L., Herrera, R., Moya-León, M.A., 2009 b. Aroma development during ripening of Fragaria chiloensis fruit and participation of an alcohol acyltransferase (FcAAT1) gene. J. Agric. Food Chem. 57, 9123–9132.

González-Insuasti, M.S., Caballero, J., 2007. Managing plant resources: How intensive can it be? Hum. Ecol. 35, 303–314

González-Insuasti, M.S., Martorell, C., Caballero, J., 2008. Factors that influence the intensity of non-agricultural management of plant resources. Agrofor. Syst. 74, 1–15.

González-Soberanis, C., Casas, A., 2004. Traditional management and domestication of tempesquistle, Sideroxylon palmeri (Sapotaceae) in the Tehuacán-Cuicatlán Valley, Central Mexico. J. Arid Environ. 59, 245–258.

Gowda, J., Garibladi, L., Pirk, G., Blackhall, M., Chaneton, E., de Paz, M., Diaz, S., Galende, G., Mazía, N., Paritsis, J., Raffaele, E., Relva, M.A., Sasal, Y., 2014. Herbívoros: actores clave, in: Raffaele, E., de Torres Curth, M., Morales, C., Kitzberger, T. (Eds.), Ecología e Historia Natural de La Patagonia Andina: Un Cuarto de Siglo de Investigación En Biogeografía, Ecología y Conservación. Fundación de Historia Natural Félix de Azara, Buenos Aires, pp. 91–112.

Grasser, S., Schunko, C., Vogl, C.R., 2012. Gathering "tea" - from necessity to connectedness with nature. Local knowledge about wild plant gathering in the Biosphere Reserve Grosses Walsertal (Austria). J. Ethnobiol. Ethnomed. 8, 1–23.

Grasser, S., Schunko, C., Vogl, C.R., 2016. Children as ethnobotanists: Methods and local impact of a participatory research project with children on wild plant gathering in the Grosses Walsertal Biosphere Reserve, Austria. J. Ethnobiol. Ethnomed. 12.

Guber, R., 2001. La Etnografia, método, campo y reflexibilidad. Grupo editorial Norma, Bogotá.

Gundogdu, M., 2013. Determination of antioxidant capacities and biochemical compounds of Berberis vulgaris L. Fruits. Adv. Environ. Biol. 7, 344–348.

Gutiérrez Santillán, T., Valenzuela Galván, V., Albuquerque, U.P., Reyes Zepeda, F., Arellano Méndez, L.U., Mora-Olivo, A., Vázquez, L.B., 2019. The Spatiotemporal Scale of Ethnobiology: A Conceptual Contribution in the Application of Meta-Analysis and the Development of the Macro-Ethnobiological Approach, in: Albuquerque, U.P., Lucena, R.F.P. de, Fernandes Cruz da Cunha, L.V., Alves, R.R.N. (Eds.), Methods and Techniques in Ethnobiology and Ethnoecology. Springer Science+Business Media, New York, pp. 127–147.

Hajduk, A., Albornoz, A.M., Lezcano, M.J., 2008. Arqueología del Parque Nacional Nahuel Huapi (Provincia de Río Negro y Neuquén). Las ocupaciones tempranas de la transición Pleistoceno-Holoceno al Holoceno Medio en el área boscosa-lacustre "1., in: Cuartas Jornadas de Historia de La Patagonia. Bariloche, pp. 1–17.

Hannum, S.M., 2004. Potential Impact of Strawberries on Human Health: A Review of the Science. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 44, 1–17.

Hassanpour, H., Alizadeh, S., 2016. Evaluation of phenolic compound, antioxidant activities and antioxidant enzymes of barberry genotypes in Iran. Sci. Hortic. (Amsterdam). 200, 125–130.

Heinrich, M., 2015. Food-Herbal Medicine Interface, in: Caballero, B., Finglas, P., Trugo, L. (Eds.), Encyclopedia of Food and Health. pp. 94–98.

Heinrich, M., Barnes, J., 2015. Importance of plants in modern pharmacy and medicine, in: Fundamentals of Pharmacognosy and Phytotherapy. pp. 1–10.

Heinrich, M., Kerrouche, S., Bharij, K.S., 2016. Recent advances in research on wild food plants and their biological pharmacological activity, In: Sánchez Mata, M. de C., Tardío, J. (Eds.), Mediterranean Wild Edible Plants. Springer, New York, 253-269.

Heinrich, M., Lardos, A., Leonti, M., Weckerle, C., Willcox, M., Applequist, W., Ladio, A., Lin Long, C., Mukherjee, P., Stafford, G., 2018. Best practice in research: Consensus Statement on Ethnopharmacological Field Studies – ConSEFS. J. Ethnopharmacol. 211, 329–339.

Heinrich, M., Müller, W.E., Galli, C. (Eds.), 2006. Local Mediterranean Food Plants and Nutraceuticals. Karger, Basel.

Heinrich, M., Nebel, S., Leonti, M., Rivera, D., Obón, C., 2006. Local Food-Nutraceuticals: Bridging the gap between local knowledge and global needs, in: Heinrich, M., Müller, W.E., Galli, C. (Eds.), Local Mediterranean Food Plants and Nutraceuticals. Forum of Nutrition, Karger., Basel, pp. 1–17.

Heywood, V.H., 2011. Ethnopharmacology, food production, nutrition and biodiversity conservation: Towards a sustainable future for indigenous peoples. J. Ethnopharmacol. 137, 1–15.

Hilgert, N.I., Lambaré, D.A., Vignale, N.D., Stampella, P.C., Pochettino, M.L., 2014. ¿Especies naturalizadas o antropizadas? Apropiación local y la construcción de saberes sobre los frutales introducidos en época histórica en el norte de Argentina. Rev. Biodivers. Neotrópica 4, 69–87.

Hoffman, B., Gallaher, T., 2007. Importance indices in ethnobotany. Ethnobot. Res. Appl. 5, 201–218.

Höft, M., Barik, S.K., Lykke, A.M., 1999. Quantitative ethnobotany: Applications of multivariate and statistical analyses in ethnobotany. People plants Work. Pap. 6, 45 p.

Houghton, P.J., Manby, J., 1985. Medicinal plants of the Mapuche. J. Ethnopharmacol. 13, 89–103.

Howlett, J., 2008. Functional foods from science to health and claims, ILSI Europe concise monograph series. Intenational Life Sciences Institute, Brussels.

Huang, H., Chen, G., Liao, D., Zhu, Y., Xue, X., 2016. Effects of Berries Consumption on Cardiovascular Risk Factors: A Meta-analysis with Trial Sequential Analysis of Randomized Controlled Trials. Sci. Rep. 6, 1–11.

Hunn, E., 1982. The Utilitarian Factor in Folk Biological Classification. Am. Anthropol. 84, 830–847.

Hurrell, J.A., Ulibarri, E.A., Delucchi, G., Pochettino, M.L., 2010. Frutas: frescas, secas y preservadas. Ed. LOLA, Buenos Aires.

ICH. Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology. 2005. Disponible en: https://www.ich.org/fileadmin/Public\_Web\_Site/ICH\_Products/Guidelines/Quality/Q2\_R1/Step4/Q2\_R1\_\_ Guideline.pdf (acceso el 21 de Julio de 2019).

Ignat, I., Volf, I., Popa, V.I., 2011. A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. Food Chem. 126, 1821–1835.

Jennings, H.M., Merrell, J., Thompson, J.L., Heinrich, M., 2015. Food or medicine? The food–medicine interface in households in Sylhet. J. Ethnopharmacol. 167, 97–104.

Jiménez-Aspee, F., Theoduloz, C., Ávila, F., Thomas-Valdés, S., Mardones, C., von Baer, D., Schmeda-Hirschmann, G., 2016a. The Chilean wild raspberry (Rubus geoides Sm.) increases intracellular GSH content and protects against H2O2 and methylglyoxal-induced damage in AGS cells. Food Chem. 194, 908–919.

Jiménez-Aspee, F., Theoduloz, C., Gómez-Alonso, S., Hermosín-Gutiérrez, I., Reyes, M., Schmeda-Hirschmann, G., 2018. Polyphenolic profile and antioxidant activity of meristem and leaves from "chagual" (Puya chilensis Mol.), a salad from central Chile. Food Res. Int. 114, 90–96.

Jiménez-Aspee, F., Theoduloz, C., Soriano, M. del P.C., Ugalde-Arbizu, M., Alberto, M.R., Zampini, I.C., Isla, M.I., Simirigiotis, M.J., Schmeda-Hirschmann, G., 2017. The native fruit Geoffroea decorticans from arid Northern Chile: Phenolic composition, antioxidant activities and in vitro inhibition of pro-inflammatory and metabolic syndrome-associated enzymes. Molecules 22, 1–18.

Jiménez-Aspee, F., Theoduloz, C., Vieira, M.N., Rodríguez-Werner, M. a., Schmalfuss, E., Winterhalter, P., Schmeda-Hirschmann, G., 2016b. Phenolics from the Patagonian currants Ribes spp.: Isolation, characterization and cytoprotective effect in human AGS cells. J. Funct. Foods 26, 11–26.

Jiménez-Aspee, F., Thomas-Valdés, S., Schulz, A., Ladio, A., Theoduloz, C., Schmeda-Hirschmann, G., 2015a. Antioxidant activity and phenolic profiles of the wild currant Ribes magellanicum from Chilean and Argentinean Patagonia. Food Sci. Nutr. 4, 595-610.

Jiménez-García, S.N., Guevara-González, R.G., Miranda-López, R., Feregrino-Perez, A.A., Torres-Pacheco, I., Vazquez-Cruz, M.A., 2013. Functional properties and quality characteristics of bioactive compounds in berries: Biochemistry, biotechnology, and genomics. Food Res. Int. 54, 1195–1207.

Jiménez-López, J., Ruiz-Medina, A., Ortega-Barrales, P., Llorent-Martínez, E.J., 2017. Rosa rubiginosa and Fraxinus oxycarpa herbal teas: Characterization of phytochemical profiles by liquid chromatography-mass spectrometry, and evaluation of the antioxidant activity. New J. Chem. 41, 7681–7688.

Ju, R.S., Machado, E., Lins, F., Nivaldo, N., 2016. Traditional management affects the phenotypic diversity of fruits with economic and cultural importance in the Brazilian Savanna.

Junqueira-Gonçalves, M.P., Yáñez, L., Morales, C., Navarro, M., Contreras, R. a., Zúñiga, G.E., 2015. Isolation and characterization of phenolic compounds and anthocyanins from murta (Ugni molinae Turcz.) fruits. Assessment of antioxidant and antibacterial activity. Molecules 20, 5698–5713.

Kähkönen, M.P., Heinämäki, J., Ollilainen, V., Heinonen, M., 2003. Berry anthocyanins: Isolation, identification and antioxidant activities. J. Sci. Food Agric. 83, 1403–1411.

Kalle, R., Sõukand, R., 2013. Wild plants eaten in childhood: A retrospective of Estonia in the 1970s-1990s. Bot. J. Linn. Soc. 172, 239–253.

Kalle, R., Sõukand, R., 2016. Current and Remembered Past Uses of Wild Food Plants in Saaremaa, Estonia: Changes in the Context of Unlearning Debt. Econ. Bot. 70, 235–253.

Khan, I., Najeebullah, S., Ali, M., Shinwari, Z., 2016. Phytopharmacological and ethnomedicinal uses of the Genus Berberis (Berberidaceae): A review. Trop. J. Pharm. Res. 15, 2047–2057.

Kim, H.S., Quon, M.J., Kim, J., 2014. New insights into the mechanisms of polyphenols beyond antioxidant properties; lessons from the green tea polyphenol, epigallocatechin 3-gallate. Redox Biol. 2, 187–195.

Klopotek, Y., Otto, K., Böhm, V., 2005. Processing strawberries to different products alters contents of vitamin C, total phenolics, total anthocyanins, and antioxidant capacity. J. Agric. Food Chem. 53, 5640–5646.

Koval'skii, I.V., Krasnyuk, I.I., Krasnyuk-Jr, I.I., Nikulina, O.I., Belyatskaya, A.V., Kharitonov, Y.Y., Feldman, N.B., Lutsenko, S.V., 2014. Molecular-biological problems of drug design and mechanism of drug action: mechanisms of rutin pharmacological action (Review). Pharm. Chem. J. 48 (2), 73–76.

Kujawska, M., Łuczaj, Ł., 2015. Wild edible plants used by the Polish community in Misiones, Argentina. Hum. Ecol. 43, 855–869.

Kujawska, M., Pieroni, A., 2015. Plants Used as Food and Medicine by Polish Migrants in Misiones, Argentina. Ecol. Food Nutr. 54, 255–279.

Ladio, A.H, 2006. Gathering of wild plant foods with medicinal use in a Mapuche community of Northwest Patagonia., in: Pieroni, A., Price, L. (Eds.), Eating and Healing: Traditional Food as Medicine. The Haworth Press, New York, USA, pp. 297–321.

Ladio, A.H, Molares, S., 2014. The Dynamics of Use of Nontraditional Ethnobiological Products: Some Aspects of Study, in: Methods and Techniques in Ethnobiology and Ethnoecology. Springer Science+Business Media.

Ladio, A.H., 2001. The Maintenance of Wild Edible Plant Gathering in a Mapuche Community of Patagonia. Econ. Bot. 55, 243–254.

Ladio, A.H., 2005. Malezas exóticas comestibles y medicinales utilizadas en poblaciones del NO patagónico: aspectos etnobotánicos y ecológicos. Boletín Latinoam. y del Caribe Plantas Med. y Aromáticas 4, 75–80.

Ladio, A.H., 2013. Continuity and Change in Cultural Adaptation to Mountain Environments, in: Lozny, L.R. (Ed.), Continuity and Change in Cultural Adaptation to Mountain Environments, Studies in Human Ecology and Adaptation. Springer Science+Business Media, New York, pp. 361–378.

Ladio, A.H., 2017. Ethnobiology and research on Global Environmental Change: what distinctive contribution can we make? Ethnobiol. Conserv. 6, 1–8.

Ladio, A.H., 2017. Panorama etnoecológico de la pequeña horticultura familiar en enclaves rurales y urbanos del centronorte de a Patagonia, in: Duarte Almada, E., Olveira e Souza, M. (Eds.), Quintais, Memória, Resistência e Patrimônio Biocultural. EdUMEG, Belo Horizonte, pp. 139–157.

Ladio, A.H., Acosta, M., 2019. Urban medicinal plant use: Do migrant and non-migrant populations have similar hybridisation processes? J. Ethnopharmacol. 234, 290–305.

Ladio, A.H., Albuquerque, U.P., 2014. The concept of hybridization and its contribution to urban ethnobiology. Ethnobiol. Conserv. 6, 1–9.

Ladio, A.H., Damascos, M.A., 2000. La invasión de plantas exóticas y la conservación de plantas nativas en baldíos suburbanos. Medio Ambient. 27-33.

Ladio, A.H., Lozada, M., 2000. Edible wild plant use in a Mapuche Community of Northwestern Patagonia. Hum. Ecol.

Ladio, A.H., Lozada, M., 2001. Non-timber forest product use in two human populations from NW Patagonia: A quantitative approach. Hum. Ecol. 29, 367–380.

Ladio, A.H., Lozada, M., 2004. Patterns of use and knowledge of wild edible plants in distinct ecological environments: A case study of a Mapuche community from northwestern Patagonia. Biodivers. Conserv. 13, 1153–1173.

Ladio, A.H., Lozada, M., 2004. Summer Cattle Transhumance and Wild Edible Plant Gathering in a Mapuche Community of Northwestern Patagonia. Hum. Ecol. 32, 225–241.

Ladio, A.H., Lozada, M., 2009. Human ecology, ethnobotany and traditional practices in rural populations inhabiting the Monte region: Resilience and ecological knowledge. J. Arid Environ. 73, 222–227.

Ladio, A.H., Molares, S., 2013. Evaluating traditional wild edible plant knowledge among teachers of Patagonia: Patterns and prospects. Learn. Individ. Differ. 27, 241–249.

Ladio, A.H., Molares, S., 2014. El paisaje patagónico y su gente, in: Raffaele, E., de Torres Curth, M., Morales, C., Kitzberger, T. (Eds.), Ecología e Historia Natural de La Patagonia Andina: Un Cuarto de Siglo de Investigación En Biogeografía, Ecología y Conservación. Fundación de Historia Natural Félix de Azara, Buenos Aires, pp. 205–223.

Ladio, A.H., Molares, S., 2014. The dynamics of use of nontraditional ethnobiological products: Some aspects of study, in: Albuquerque, U.P., Fernandes Cruz da Cunha, L. V., Paiva de Lucena, R.F., Alves, R.R.N. (Eds.), Methods and Techniques in Ethnobiology and Ethnoecology. Springer, New York, pp. 311–319.

Ladio, A.H., Molares, S., 2017. Etnoconservacionismo y prácticas locales en Patagonia: avances y perspectivas, in: Casas, A., Torres-Guevara, J., Parra Rondinel, F. (Eds.), Domesticación En El Continente Americano: Investigación Para El Manejo Sustentable de Recursos Genéticos En El Nuevo Mundo. Editorial Morellavalladolid, Morelia, México., pp. 391–411.

Ladio, A.H., Molares, S., Ochoa, J., Cardoso, B., 2013. Etnobotánica aplicada en patagonia: La comercialización de malezas de uso comestible y medicinal en una feria urbana de san carlos de bariloche (Río Negro, Argentina). Bol. Latinoam. y del Caribe Plantas Med. y Aromat. 12, 24–37.

Ladio, A.H., Pieroni, A., Price, L., 2006. Gathering of wild plant foods with medicinal use in a Mapuche community of Northwest Patagonia. Eat. Heal. Tradit. Food. 297–321.

Ladio, A.H., Rapoport, E., 1999. El uso de plantas silvestres comestibles en una población suburbana del noroeste de la Patagonia. Parodiana 11, 49–62.

Laland, K., Matthews, B., Feldman, M.W., 2016. An introduction to niche construction theory. Evol. Ecol. 30, 191–202.

Lambaré, D.A., Vignale, N.D., Pochettino, M.L., 2015. Las ferias y festivales regionales como instancia de reafirmación del patrimonio biocultural en la quebrada de Humahuaca (Jujuy, Argentina): el intercambio de duraznos (Prunus Persica). Gaia Sci. 9, 7–16.

Lampe, J.W. 1999. Health effects of vegetables and fruits: assessing mechanisms of action in human experimental studies1-3. Am. J. Clin. Nutr. 70, 475s–490s.

Landrum, L.R., 2007. Revision of Berberis (Berberidaceae) in Chile and Adjacent Southern Argentina. Ann. Of the Missouri Bot. Gard. 86, 793–834.

Lattanzio, V., 2013. Phenolic Compounds: Introduction. In: K. G. Ramawat, J.-M. Mérillon (Eds.), Natural products: phytochemistry, botany and metabolism of alkaloids, phenolics and terpenes, 1543–1580.

Leonti, M., Casu, L., Efferth, T., Williamson, E.M., 2013. Traditional medicines and globalization: current and future perspectives in ethnopharmacology 723, 4–1.

Lillo, A., Carvajal-Caiconte, F., Nuñez, D., Balboa, N., Alvear Zamora, M., 2016. Spectrophotometric quantification of phenolic compounds and antioxidant activity in different berries native to the Southern Cone of America | Cuantificación espectrofotométrica de compuestos fenólicos y actividad antioxidante en distintos berries nativos. Rev. Investig. Agropecu. 42, 168–174.

Lin, L.Z., Sun, J., Chen, P., Monagas, M.J., Harnly, J.M., 2014. UHPLC-PDA-ESI/HRMS<sup>n</sup> profiling method to identify and quantify oligomeric proanthocyanidins in plant products. J. Agric. Food Chem. 62, 9387-9400.

Lins Neto, E.M.D.F., Peroni, N., Casas, A., Parra, F., Aguirre, X., Guillén, S., Albuquerque, U.P., 2014. Brazilian and Mexican experiences in the study of incipient domestication. J. Ethnobiol. Ethnomed. 10, 33, 1-12.

Liu, R.H., 2004a. Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action. J. Nutr. 134, 3479S–3485S.

Llano, C., Barberena, R., 2013. Explotación de especies vegetales en la Patagonia septentrional: El registro arqueobotánico de Cueva Huenul 1 (Provincia de Neuquén, Argentina). Darwiniana 1, 5–19.

Lockwood, J.L., Hoopes, M., Marchetti, M., 2013. Invasion ecology, Second. ed. Wiley-Blackwell, Chichester.

Lopes da Silva, F., Escribano-Bailón, M.T., Pérez Alonso, J.J., Rivas-Gonzalo, J.C., Santos-Buelga, C., 2007. Anthocyanin pigments in strawberry. LWT - Food Sci. Technol. 40, 374–382.

López de Dicastillo, C., Bustos, F., Valenzuela, X., López-Carballo, G., Vilariño, J.M., Galotto, M.J., 2017. Chilean berry Ugni molinae Turcz. fruit and leaves extracts with interesting antioxidant, antimicrobial and tyrosinase inhibitory properties. Food Res. Int. 102, 119–128.

Lozada, M., Ladio, A., Weigandt, M., 2006. Cultural Transmission of Ethnobotanical Knowledge in a Rural Community of Northwestern Patagonia, Argentina. Econ. Bot. 60, 374–385.

Łuczaj, Ł., Pieroni, A., 2016. Nutritional Ethnobotany in Europe: From Emergency Foods to Healthy Folk Cuisines and Contemporary Foraging Trends, in: Sánchez Mata, M., Tardío, J. (Eds.), Mediterranean Wild Edible Plants: Ethnobotany and Food Composition Tables. Springer Science+Business Media, New York, pp. 33–56.

Łuczaj, Ł., Szymański, W.M., 2007a. Wild vascular plants gathered for consumption in the Polish countryside: A review. J. Ethnobiol. Ethnomed. 3, 1–22.

Maffi, L., 2005. Linguistic, Cultural, and Biological Diversity. Annu. Rev. Anthropol. 34, 343–361.

Mariangel, E., Reyes-Diaz, M., Lobos, W., Bensch, E., Schalchli, H., Ibarra, P., 2013. The antioxidant properties of calafate (Berberis microphylla) fruits from four different locations in southern Chile. Cienc. E Investig. Agrar. 40, 161–170.

Martinez Crovetto, R., 1968. Nombres de plantas y su utilidad, según los indios ONAS de Tierra del Fuego. Etnobiologica.

Martínez Crovetto, R., 1968. Nombres de plantas y su utilidad, según los indios ONAS de Tierra del Fuego. Etnobiológica.

Martinez Crovetto, R., 1980. Apuntes sobre la vegetación de los alrededores del Lago Cholila (Noroeste de la Provincia de Chubut). Publicación técnica, Univ. Nac. del Nord. Fac. Ciencias Agrar. Corrientes, Argentina. 1.

Martínez Crovetto, R., 1982. Breve panorama de las plantas utilizadas por los indios de Patagonia y Tierra del Fuego. Supl. Antropológico XVII.

Martínez Tosto, A.C., Burry, L.S., Arriaga, M.O., Civalero, M.T., 2016. Archaeobotanical study of Patagonian Holocene coprolites, indicators of diet, cultural practices and space use. J. Archaeol. Sci. Reports 10, 204–211.

Martinez-Reyes, J., 2012. Biocultural Diversity Conservation: A Global Sourcebook. Ethnobiol. Lett. 3, 61-62

McDougall, G.J., Kulkarni, N.N., Stewart, D., 2009. Berry polyphenols inhibit pancreatic lipase activity in vitro. Food Chem. 115, 193-199.

Medeiros, P.M. de, Ladio, A.H., Albuquerque, U.P. De, 2013. Critérios locais de seleção e uso diferencial de plantas medicinais: porque nós escolhemos o que escolhemos ?, in: Albuquerque, U.P. de (Ed.), Etnobiologia. Bases Ecológicas e Evolutivas. NUPEEA, Recife, pp. 147–165.

Medeiros, P.M., Ferreira, W.S., Ramos, M.A., Da Silva, T.C., Ladio, A.H., Albuquerque, U.P., 2017. Why do people use exotic plants in their local medical systems? A systematic review based on Brazilian local communities. PLoS One 12, 1–14.

Medeiros, P.M., Ladio, A.H., Albuquerque, U.P., 2013. Patterns of medicinal plant use by inhabitants of Brazilian urban and rural areas: A macroscale investigation based on available literature. J. Ethnopharmacol. 150, 729–746.

Menéndez-Baceta, G., Aceituno-Mata, L., Tardío, J., Reyes-García, V., Pardo-de-Santayana, M., 2012. Wild edible plants traditionally gathered in Gorbeialdea (Biscay, Basque Country). Genet. Resour. Crop Evol. 59, 1329–1347.

Milanesi, L.D.S., Peroni, N., dos Reis, M.S., 2013. Use of the palm Euterpe edulis martius in landscape units managed by migrants of German origin in Southern Brazil. J. Ethnobiol. Ethnomed. 9, 1–11.

Minker, C., Duban, L., Karas, D., Järvinen, P., Lobstein, A., Muller, C.D., 2015. Impact of procyanidins from different berries on caspase 8 activation in colon cancer. Oxid. Med. Cell. Longev. 2015. 1-13.

Młynarczyk, K., Walkowiak-Tomczak, D., Łysiak, G.P., 2018. Bioactive properties of Sambucus nigra L. As a functional ingredient for food and pharmaceutical industry. J. Funct. Foods 40, 377–390.

Moerman, D.E., 1991. The medicinal flora of native North America: An analysis. J. Ethnopharmacol. 31, 1–42.

Moerman, D.E., 2013. The global flora; Descriptive statistics with a commentary, and an ethnobotanical example. Ethnobot. Res. Appl. 11, 109–120.

Mokhber-Dezfuli, N., Saeidnia, S., Gohari, A., Kurepaz-Mahmoodabadi, M., 2014. Phytochemistry and pharmacology of berberis species. Pharmacogn. Rev. 8, 8–15.

Molares, S., Ladio, A., 2009. Ethnobotanical review of the Mapuche medicinal flora: Use patterns on a regional scale. J. Ethnopharmacol. 122, 251–260.

Molares, S., Ladio, A., 2012. The usefulness of edible and medicinal Fabaceae in argentine and Chilean Patagonia: Environmental availability and other sources of supply. Evidence-based Complement. Altern. Med. 2012, 1–12.

Molares, S., Ladio, A., 2014. Medicinal plants in the cultural landscape of a Mapuche-Tehuelche community in arid Argentine Patagonia: an eco-sensorial approach. J. Ethnobiol. Ethnomed. 10, 1–14.

Molares, S., Ladio, A.H., 2012. Plantas aromáticas con órganos subterráneos de importancia cultural en la patagonia argentina: Una aproximación a sus usos desde la etnobotánica, la percepción sensorial y la anatomía. Darwiniana 50, 7–24.

Moreno-Calles, A.I., Toledo, V.M., Casas, A., 2013. Los sistemas agroforestales tradicionales de México: una aproximación biocultural. Bot. Sci. 91, 375–398.

Muiño, W.A., 2012. Estudio etnobotánico de plantas usadas en la alimentación de los campesinos del noroeste de La Pampa Argentina. Chungara, Rev. Antropol. Chil. 44, 389–400.

Muñoz, M.S., Barrera, E.M., Meza, I.P., 1981. El uso medicinal y alimenticio de plantas nativas y naturalizadas en Chile. Publicación Ocas. N° 33 del Mus. Hist. Nat. Chile 33, 3–89.

Muradian, R., Pascual, U., 2018. A typology of elementary forms of human-nature relations: a contribution to the valuation debate. Curr. Opin. Environ. Sustain. 35, 8–14.

Naseri, R., Farzaei, F., Haratipour, P., Nabavi, S.F., Habtemariam, S., Farzaei, M.H., Khodarahmi, R., Tewari, D., Momtaz, S., 2018. Anthocyanins in the Management of Metabolic Syndrome: A Pharmacological and Biopharmaceutical Review. Front. Pharmacol. 9, 1–19.

Nenadis, N., Wang, L.F., Tsimidou, M., Zhang, H.Y., 2014. Estimation of scavenging activity of phenolic compounds using the ABTS(\*+) assay. J. Agric. Food Chem. 5, 4669-4674.

Neri-Numa, I.A., Soriano Sancho, R.A., Pereira, A.P.A., Pastore, G.M., 2018. Small Brazilian wild fruits: Nutrients, bioactive compounds, health-promotion properties and commercial interest. Food Res. Int. 103, 345–360.

Nile, S.H., Park, S.W., 2014. Edible berries: Bioactive components and their effect on human health. Nutrition 30, 134–144.

Ochoa, J.J., Ladio, A.H., 2011. Pasado y presente del uso de plantas silvestres con órganos de almacenamiento subterráneos comestibles en la patagonia. Bonplandia 20, 265–284.

Ochoa, J.J., Ladio, A.H., 2015. Plantas silvestres con órganos subterráneos comestibles: transmisión cultural sobre recursos subutilizados en la Patagonia (Argentina). Bol. Latinoam. y del Caribe Plantas Med. y Aromat. 14, 287–300.

Ochoa, J.J., Moncunill, E.L.N., Puntieri, J., Güenuleo, B.S., Stefe, S.E., Cardozo, M.L., Neranzi Barriga, F., Martinez, E.E., Torrego, S., Naon, S., 2019. Saberes locales y frutos comestibles de plantas nativas en la comarca andina del paralelo 42° (patagonia, argentina). Ethnoscientia 4, 1–9.

Ojeda, D., Jiménez-Ferrer, E., Zamilpa, A., Herrera-Arellano, A., Tortoriello, J., Alvarez, L., 2010. Inhibition of angiotensin convertin enzyme (ACE) activity by the anthocyanins delphinidin- and cyanidin-3-O-sambubiosides from Hibiscus sabdariffa. J. Ethnopharmacol. 127, 7–10.

Otaola, C., Llano, C.L., 2015. Floral and faunal consumption in Southern Mendoza: The case of cueva palulo site | Consumo de vegetales y animales en el sur de Mendoza: el caso del sitio Cueva Palulo. Intersecc. en Antropol. 16, 221–235.

Ou, B., Hampsch-Woodill, M., Prior, R.L., 2001. Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. J. Agric. Food Chem. 49, 4619-4626.

Overall, J., Bonney, S.A., Wilson, M., Beermann, A., Grace, M.H., Esposito, D., Lila, M.A., Komarnytsky, S., 2017. Metabolic effects of berries with structurally diverse anthocyanins. Int. J. Mol. Sci. 18. 1-16

Oyarzabal, M., Clavijo, J., Oakley, L., Biganzoli, F., Tognetti, P., Barberis, I., Maturo, H.M., Aragón, R., Campanello, P.I., Prado, D., Oesterheld, M., León, R.J.C., 2018. Unidades de vegetación de la Argentina. Ecol. Austral 28, 40–63.

Pardo-De-Santayana, M., Tardío, J., Morales, R., 2005. The gathering and consumption of wild edible plants in the Campoo (Cantabria, Spain). Int. J. Food Sci. Nutr. 56, 529–542.

Paredes-López, O., Cervantes-Ceja, M.L., Vigna-Pérez, M., Hernández-Pérez, T., 2010. Berries: Improving Human Health and Healthy Aging, and Promoting Quality Life-A Review. Plant Foods Hum. Nutr. 65, 299–308.

Parra, F., Blancas, J.J., Casas, A., 2012a. Landscape management and domestication of Stenocereus pruinosus (Cactaceae) in the Tehuacan Valley: human guided selection and gene flow. J. Ethnobiol. Ethnomed. 8, 32.

Parra, F., Casas, A., Peñaloza-Ramírez, J.M., Cortés-Palomec, A.C., Rocha-Ramírez, V., González-Rodríguez, A., 2010. Evolution under domestication: Ongoing artificial selection and divergence of wild and managed Stenocereus pruinosus (Cactaceae) populations in the Tehuacán Valley, Mexico. Ann. Bot. 106, 483–496.

Parra-Palma, C., Fuentes, E., Palomo, I., Torres, CA., Moya-León, M.A., Ramos, P., 2018. Linking the platelet anti-aggregation effect of different strawberries species with antioxidants: Metabolomic and transcript profiling of polyphenols. BLACPMA 17, 36-52.

Paruelo, J.M., Jobbágy, E.G., Sala, O., 1998. Biozone of Patagonia (Argentina). Ecol. Austral 8, 145–153.

Phillips, O., Gentry, A.H., 1993. The useful plants of Tambopata, Peru: I. Statistical hypotheses tests with a new quantitative technique. Econ. Bot. 47, 15–32.

Pieroni, A., Giusti, M.E., 2009. Alpine ethnobotany in Italy: Traditional knowledge of gastronomic and medicinal plants among the Occitans of the upper Varaita valley, Piedmont. J. Ethnobiol. Ethnomed. 5, 1–13.

Pieroni, A., Pawera, L., Shah, M., 2016. Gastronomic ethnobiology, in: Albuquerque, U.P., Alves, R. (Eds.), Introduction to Ethnobiology. Springer International, Switzerland, pp. 53–63.

Pieroni, A., Price, L., 2006. Eating and healing, Traditional Food as Medicine. The Haworth Press, New York.

Pieroni, A., Quave, C.L., 2006. Functional foods or food medicines? On the consumption of wild plant among Albanians and Southern Italians in Lucania, in: Pieroni, A., Price, L. (Eds.), Eating and Healing: Traditional Food as Medicine. The Haworth Press, New York, pp. 101–129.

Pirondo, A., Keller, H.A., 2012. Raúl N. Martínez Crovetto: Los albores de la etnobotánica en la Argentina. Introducción a Estudios Etnobotánicos V. Bonplandia 21, 101–107.

Pita, S., P., 2001. Investigación: Estadística descriptiva de los datos. Fisterra 1–5.

Podsędek, A., Majewska, I., Redzynia, M., Sosnowska, D.; Koziołkiewicz, M., 2014. In vitro inhibitory effect on digestive enzymes and antioxidant potential of commonly consumed fruits. J. Agric. Food Chem. 62, 4610-4617.

Pretty, J., Adams, B., Berkes, F., de Athayde, S.F., Dudley, N., Hunn, E., Maffi, L., Milton, K., Rapport, D., Robbins, P., Sterling, E., Stolton, S., Tsing, A., Vintinnerk, E., Pilgrim, S., 2009. The Intersections of Biological Diversity and Cultural Diversity: Towards Integration. Conserv. Soc. 7, 100-112.

Quatrin, A., Pauletto, R., Maurer, L.H., Minuzzi, N., Nichelle, S.M., Carvalho, J.F.C., Maróstica Junior, M.R., Rodrigues, E., Bochi, V.C., Emanuelli, T., 2019. Characterization and quantification of tannins, flavonols, anthocyains and matrix-bound polyphenols from jaboticaba fruit peel: a comparison between Myrciaria trunciflora and M. jaboticaba. J. Food Compos. Anal. 78, 59-74.

Quave, C.L., Pardo-De-Santayana, M., Pieroni, A., 2012. Medical ethnobotany in Europe: From field ethnography to a more culturally sensitive evidence-based cam? Evidence-based Complement. Altern. Med. 2012. 1-17.

Quispe, C., Petroll, K., Theoduloz, C., Schmeda-Hirschmann, G., 2014. Antioxidant effect and characterization of South American Prosopis pods syrup. Food Res. Int. 56, 174–181.

Ragonese, A.E., Martinez Crovetto, R., 1947. Plantas indígenas de la Argentina con Frutos o Semillas comestibles. Rev. Investig. Agrícola I, 147–216.

Rahmatullah, M., Mollik, M.A.H., Islam, M.K., Islam, M.R., Jahan, F.I., Khatun, Z., Seraj, S., Chowdhury, M.H., Islam, F., Emdadullah Miajee, Z.U.M., Jahan, R., 2010. A survey of medicinal and functional food plants used by the folk medicinal practitioners of three villages in Sreepur Upazilla, Magura district, Bangladesh. Am. J. Sustain. Agric. 4, 363–373.

Ramirez, J.E., Zambrano, R., Sepúlveda, B., Kennelly, E.J., Simirgiotis, M.J., 2015. Anthocyanins and antioxidant capacities of six Chilean berries by HPLC-HR-ESI-ToF-MS. Food Chem. 176, 106–114.

Rapoport, E.H., Ladio, A.H., 1999. Los bosques andino-patagónicos como fuentes de alimento. Bosque 20, 55–64.

Reis, M.S., Montagna, T., Mattos, A.G., Filippon, S., Ladio, A.H., Marques, A.D.C., Zechini, A. a., Peroni, N., Mantovani, A., 2018. Domesticated Landscapes in Araucaria Forests, Southern Brazil: A Multispecies Local Conservation-by-Use System. Front. Ecol. Evol. 6, 1–14.

Reyes-Farias, M., Vasquez, K., Fuentes, F., Ovalle-Marin, a., Parra-Ruiz, C., Zamora, O., Pino, M.T., Quitral, V., Jimenez, P., Garcia, L., Garcia-Diaz, D.F., 2016. Extracts of Chilean native fruits inhibit oxidative stress, inflammation and insulin-resistance linked to the pathogenic interaction between adipocytes and macrophages. J. Funct. Foods 27, 69–83.

Reyes-García, V., 2010. The relevance of traditional knowledge systems for ethnopharmacological research: Theoretical and methodological contributions. J. Ethnobiol. Ethnomed. 6, 32.

Reyes-García, V., Guèze, M., Luz, A.C., Paneque-Gálvez, J., Macía, M.J., Orta-Martínez, M., Pino, J., Rubio-Campillo, X., 2013. Evidence of traditional knowledge loss among a contemporary indigenous society. Evol. Hum. Behav. 34, 249–257.

Ricco, R.A., Vai, V.M., Sena, G.A., Wagner, M.L., Gurni, A.A., 2003. Condensed tannins from Ephedra ochreata miers (ephedraceae). Acta Farm. Bonaer. 22, 33–38.

Richeri, M., Cardoso, M.B., Ladio, A.H., Cardoso, B., Ladio, A.H., 2013. Soluciones locales y flexibilidad en el conocimiento ecológico tradicional frente a procesos de cambio ambiental: estudios de caso en Patagonia. Ecol. Austral 23, 184–193.

Romanucci, V., D'Alonzo, D., Guaragna, A., Di Marino, C., Davinelli, S., Scapagnini, G., Di Fabio, G., Zarrelli, A., 2016. Bioactive compounds of Aristotelia chilensis Stuntz and their pharmacological effects. Curr. Pharm. Biotechnol. 17, 513–523.

Rossi-Santos, B., de Oliveira Jacintho, J., Milliken, W., Messias, M.C.T.B., 2018. The Role of Exotic Species in Traditional Pharmacopeias of the Cerrado: a Case Study in Southeast Brazil. Econ. Bot. 72, 38–55.

Roulette, C.J., Njau, E.-F.A., Quinlan, M.B., Quinlan, R.J., Call, D.R., 2018. Medicinal foods and beverages among Maasai agro-pastoralists in northern Tanzania. J. Ethnopharmacol. 216, 191–202.

Ruiz, A., Hermosín-Gutiérrez, I., Mardones, C., Vergara, C., Herlitz, E., Vega, M., Dorau, C., Winterhalter, P., Von Baer, D., 2010. Polyphenols and antioxidant activity of calafate (Berberis microphylla) fruits and other native berries from Southern Chile. J. Agric. Food Chem. 58, 6081–6089.

Ruiz, A., Hermosín-Gutiérrez, I., Vergara, C., von Baer, D., Zapata, M., Hitschfeld, A., Obando, L., Mardones, C., 2013a. Anthocyanin profiles in south Patagonian wild berries by HPLC-DAD-ESI-MS/MS. Food Res. Int. 51, 706–713.

Ruiz, A., Mardones, C., Vergara, C., Hermosín-Gutiérrez, I., von Baer, D., Hinrichsen, P., Rodriguez, R., Arribillaga, D., Dominguez, E., 2013b. Analysis of hydroxycinnamic acids derivatives in calafate (Berberis microphylla G. Forst) berries by liquid chromatography with photodiode array and mass spectrometry detection. J. Chromatogr. A 1281, 38–45.

Ruiz, A., Mardones, C., Vergara, C., Von Baer, D., Gómez-Alonso, S., Gómez, M.V., Hermosín-Gutiérrez, I., 2014a. Isolation and structural elucidation of anthocyanidin 3,7-β-O- diglucosides and caffeoyl-glucaric acids from calafate berries. J. Agric. Food Chem. 62, 6918–6925.

Ruiz, A., Zapata, M., Sabando, C., Bustamante, L., von Baer, D., Vergara, C., Mardones, C., 2014b. Flavonols, alkaloids, and antioxidant capacity of edible wild Berberis species from Patagonia. J. Agric. Food Chem. 62, 12407–12417.

Ruiz, A., Bustamante, L., Vergara, C., Von Baer, D., Hermosín-Gutiérrez, I., Obando, L., Mardones, C., 2015. Hydroxycinnamic acids and flavonols in native edible berries of South Patagonia. Food Chem. 167, 84–90.

Salvatierra, A., Pimentel, P., Moya-León, M.A., Herrera, R., 2013. Increased accumulation of anthocyanins in Fragaria chiloensis fruits by transient suppression of FcMYB1 gene. Phytochemistry 90, 25–36.

Sampaio Sieber, S., da Silva, T.C., Zenóbia de Oliveira Campos, L., Zank, S., Albuquerque, U.P., 2014. Participatory Methods in Ethnobiological and Ethnoecological Research, in: Albuquerque, U.P. (Ed.), Methods and Techniques in Ethnobiology and Ethnoecology. Springer, New York, pp. 39–58.

Sánchez-Salcedo, E.M., Mena, P., García-Viguera, C., Hernández, F., Martínez, J.J., 2015. (Poly)phenolic compounds and antioxidant activity of white (Morus alba) and black (Morus nigra) mulberry leaves: Their potential for new products rich in phytochemicals. J. Funct. Foods 18, 1039–1046.

Sansanelli, S., Ferri, M., Salinitro, M., Tassoni, A., 2017. Ethnobotanical survey of wild food plants traditionally collected and consumed in the Middle Agri Valley (Basilicata region, southern Italy). J. Ethnobiol. Ethnomed. 13, 1–10.

Schmeda-Hirschmann, G., Feresin, G., Tapia, A., Hilgert, N., Theoduloz, C., 2005. Proximate composition and free radical scavenging activity of edible fruits from the Argentinian Yungas. J. Sci. Food Agric. 85, 1357–1364.

Schmeda-Hirschmann, G., Jiménez-Aspee, F., Theoduloz, C., Ladio, A., 2019. Patagonian berries as native food and medicine. J. Ethnopharmacol. 241.

Schmeda-Hirschmann, G., Quispe, C., Soriano, M., Theoduloz, C., Jiménez-Aspée, F., Pérez, M., Cuello, A., Isla, M., 2015. Chilean Prosopis Mesocarp Flour: Phenolic Profiling and Antioxidant Activity. Molecules 20, 7017–7033.

Schreckinger, M.E., Lotton, J., Lila, M.A., de Mejia, E.G., 2010. Berries from South America: a comprehensive review on chemistry, health potential, and commercialization. J. Med. Food 13, 233–246.

Schunko, C., Grasser, S., Vogl, C.R., 2012. Intracultural variation of knowledge about wild plant uses in the Biosphere Reserve Grosses Walsertal (Austria). J. Ethnobiol. Ethnomed. 8, 1–11.

Schunko, C., Grasser, S., Vogl, C.R., 2015. Explaining the resurgent popularity of the wild: Motivations for wild plant gathering in the Biosphere Reserve Grosses Walsertal, Austria. J. Ethnobiol. Ethnomed. 11.

Schuster, B., Herrmann, K., 1985. Hydroxybenzoic and hydroxycinnamic acid derivatives in soft fruits. Phytochemistry 24, 2761-2764.

Sedrez dos Reis, M., Ladio, A., Peroni, N., 2014. Landscapes with Araucaria in South America: Evidence for a cultural dimension. Ecol. Soc. 19.

Seeram, N.P., Adams, L.S., Henning, S.M., Niu, Y., Zhang, Y., Nair, M.G., Heber, D., 2005. In vitro antiproliferative, apoptotic and antioxidant activities of punical agin, ellagic acid and a total pomegranate tannin extract are enhanced in combination with other polyphenols as found in pomegranate juice. J. Nutr. Biochem. 16, 360–367.

Seglina, D., Karklina, D., Ruisa, S., Krasnova, I., 2006. The effect of processing on the composition of sea buckthorn juice. J. Fruit Ornam. Plant Res. 14, 257–264.

Segura, S., Fresnedo, J., Mathuriau, C., López, J., Andrés, J., Muratalla, A., 2018. The edible fruit species in Mexico. Genet. Resour. Crop Evol. 65, 1767–1793.

Simirgiotis, M.J., Theoduloz, C., Caligari, P.D.S., Schmeda-Hirschmann, G., 2009. Comparison of phenolic composition and antioxidant properties of two native Chilean and one domestic strawberry genotypes. Food Chem. 113, 377–385.

Skoog, D.A., Holler, F.J., Nieman, T.A., 2001. Principios de análisis instrumental, Fifth. ed. McGraw-Hill, Madrid.

Skrovankova, S., Sumczynski, D., Mlcek, J., Jurikova, T., Sochor, J., 2015. Bioactive compounds and antioxidant activity in different types of berries. Int. J. Mol. Sci.

Slavin, J.L., Lloyd, B., 2012. Health Benefits of Fruits and Vegetables. Adv. Exp. Med. Biol. 3, 506–516.

Sõukand, R., Hrynevich, Y., Vasilyeva, I., Prakofjewa, J., Vnukovich, Y., Paciupa, J., Hlushko, A., Knureva, Y., Litvinava, Y., Vyskvarka, S., Silivonchyk, H., Paulava, A., Kõiva, M., Kalle, R., 2017a. Multi-functionality of the few: Current and past uses of wild plants for food and healing in Liubań region, Belarus. J. Ethnobiol. Ethnomed. 13, 1–42.

Sõukand, R., Pieroni, A., Biró, M., Dénes, A., Dogan, Y., Hajdari, A., Kalle, R., Reade, B., Mustafa, B., Nedelcheva, A., Quave, C.L., Łuczaj, Ł., 2015. An ethnobotanical perspective on traditional fermented plant foods and beverages in Eastern Europe. J. Ethnopharmacol. 170, 284–296.

Sousa Júnior, J.R., Collevatti, R.G., Lins Neto, E.M.F., Peroni, N., Albuquerque, U.P., 2016. Traditional management affects the phenotypic diversity of fruits with economic and cultural importance in the Brazilian Savanna. Agrofor. Syst. 92, 11–21.

Speisky, H., López-Alarcón, C., Gómez, M., Fuentes, J., Sandoval-Acuña, C., 2012. First web-based database on total phenolics and oxygen radical absorbance capacity (ORAC) of fruits produced and consumed within the south andes region of South America. J. Agric. Food Chem. 60, 8851–8859.

Srivastava, S., Srivastava, M., Misra, A., Pandey, G., Rawat, A., 2015. A review on biological and chemical diversity in Berberis (Berberidaceae). EXCLI J. 14, 247–267.

Stampella, P.C., Lambaré, D.A., Hilgert, N.I., Pochettino, M.L., 2013. What the Iberian conquest bequeathed to us: The fruit trees introduced in argentine subtropic - Their history and importance in present traditional medicine. Evidence-based Complement. Altern. Med. 2013, 1–17.

Suárez, M.E., 2014. Etnobotánica Wichí del bosque xerófito en el Chaco semiárido salteño. Autores de Argentina, Buenos Aires.

Sun, L.L., Gao, W., Zhang, M.M., Li, C., Wang, A.G., Su, Y.L., Ji, T.F., 2014. Composition and antioxidant activit y of the anthocyanins of the fruit of Berberis heteropoda Schrenk. Molecules 19, 19078–19096.

Szajdek, A., Borowska, E.J., 2008. Bioactive compounds and health-promoting properties of Berry fruits: A review. Plant Foods Hum. Nutr. 63, 147–153.

Tadey, M., 2006. Grazing without grasses: Effects of introduced livestock on plant community composition in an arid environment in northern Patagonia. Appl. Veg. Sci. 9, 109–116.

Tadey, M., Farji-Brener, A.G., 2007. Discriminating direct and indirect effects of exotic grazers on native plant cover in the Monte desert of Argentina. J. Arid Environ. 69, 526–536.

Tardío, J., Pardo-de-Santayana, M., 2008. Cultural Importance Indices: A Comparative Analysis Based on the Useful Wild Plants of Southern Cantabria (Northern Spain)1. Econ. Bot. 62, 24–39.

Tardío, J., Pardo-De-Santayana, M., Morales, R., 2006. Ethnobotanical review of wild edible plants in Spain. Bot. J. Linn. Soc. 152, 27–71.

Thomas-Valdés, S., Theoduloz, C., Jiménez-Aspee, F., Burgos-Edwards, A., Schmeda-Hirschmann, G., 2018. Changes in polyphenol composition and bioactivity of the native Chilean white strawberry (Fragaria chiloensis spp. chiloensis f. chiloensis) after in vitro gastrointestinal digestion. Food Res. Int. 105, 10-18.

Thomas-Valdés, S., Theoduloz, C., Jiménez-Aspee, F., Schmeda-Hirschmann, G., 2019. Effect of simulated gastrointestinal digestion on polyphenols and bioactivity of the native Chilean red strawberry (Fragaria chiloensis ssp. chiloensis f. patagonica). Food Res. Int. 23, 106-114.

Ticktin, T., 2004. The ecological implications of harvesting non-timber forest products. J. Appl. Ecol. 41, 11–21.

Ticktin, T., 2015. The ecological sustainability of non-timber forest product harvest: principles and methods. Ecol. Sustain. Non-timber For. Prod. 31–53.

Toledo, B.A., Galetto, L., Colantonio, S., 2007. Uso de plantas medicinales y alimenticias según características socioculturales en Villa Los Aromos. Kurtziana 33, 79–88.

Törrönen, R., Kolehmainen, M., Sarkkinen, E., Mykkänen, H., Niskanen, L., 2012. Postprandial glucose, insulin, and free fatty acid responses to sucrose consumed with blackcurrants and lingonberries in healthy women. Am. J. Clin. Nutr. 96, 527-533.

Touwaide, A., Appetiti, E., 2015. Food and medicines in the Mediterranean tradition. A systematic analysis of the earliest extant body of textual evidence. J. Ethnopharmacol. 167, 11–29.

Traveira de Jesus, N.Z., de Souza Falcão, H., Gomes, I.F., de Almeida Leite, T.J., de Morais Lima, G.R., Barbosa-Filho, J.M., Tavares, J.F., da Silva, M.S., de Athayde-Filho, P.F., Batista, L.M., 2012. Tannins, peptic ulcers and related mechanisms. Int. J. Mol. Sci. 13, 3203–3228.

Valles, M., 1999. La investigación documental: técnicas de lectura y documentación, Reflexión Metodológica y Práctica Profesional. Ed. síntesis, España.

Vauzour, D., Rodriguez-Mateos, A., Corona, G., Oruna-Concha, M.J., Spencer, J.P.E., 2010. Polyphenols and human health: Prevention of disease and mechanisms of action. Nutrients 2, 1106–1131.

Vendrame, S., Klimis-Zacas, D., 2019. Potential Factors Influencing the Effects of Anthocyanins on Blood Pressure Regulation in Humans: A Review. Nutrients 11, 1431. 1-19.

Viña, A., García Frapolli, E., Hussain, S., Merino, L., Akong Minang, P., Nagabhatla, N., Bavanera, P., Pfaff, A., 2019. Status and trends; indirect and direct drivers of change, in: The IPBES Global Assessment on Biodiversity and Ecosystem Services. pp. 1–245.

Vitalini, S., Iriti, M., Puricelli, C., Ciuchi, D., Segale, A., Fico, G., 2013. Traditional knowledge on medicinal and food plants used in Val San Giacomo (Sondrio , Italy ) — An alpine ethnobotanical study. J. Ethnopharmacol. 145, 517–529.

Wadt, L.H.O., Kainer, K. a., Staudhammer, C.L., Serrano, R.O.P., 2008. Sustainable forest use in Brazilian extractive reserves: Natural regeneration of Brazil nut in exploited populations. Biol. Conserv. 141, 332–346.

Wang, W., Sun, C., Mao, L., Ma, P., Liu, F., Yang, J., Gao, Y., 2016. The biological activities, chemical stability, metabolism and delivery systems of quercetin: A review. Trends Food Sci. Technol. 56, 21–38.

WHO, 2013. Estrategia de la WHO sobre medicina tradicional 2014-2023.

Williamson, G., 2013. Possible effects of dietary polyphenols on sugar absorption and digestion. Mol. Nutr. Food Res. 57, 48-57.

Xu, C., Zhang, Y., Zhu, L., Huang, Y., Lu, J., 2011. Influence of growing season on phenolic compounds and antioxidant properties of grape berries from vines grown in subtropical climate. J. Agric. Food Chem. 59, 1078–1086.

Yao, R., Heinrich, M., Zou, Y., Reich, E., Zhang, X., Chen, Y., Weckerle, C.S., 2018. Quality variation of Goji (Fruits of Lycium spp.) in China: A comparative morphological and metabolomic analysis. Front. Pharmacol. 9, 1–12.

Yeung, A.W.K., Heinrich, M., Atanasov, A.G., 2018. Ethnopharmacology-A bibliometric analysis of a field of research meandering between medicine and food science? Front. Pharmacol. 9. 1-15.

Zimmermann, H., Von Wehrden, H., Damascos, M.A., Bran, D., Welk, E., Renison, D., Hensen, I., 2011. Habitat invasion risk assessment based on Landsat 5 data, exemplified by the shrub Rosa rubiginosa in southern Argentina. Austral Ecol. 36, 870–880.

Zuloaga, F., Morrone, O., Belgrano, M.J. 2009. Flora del Cono Sur. Catálogo de las Plantas Vasculares. Instituto de Botánica "Darwinion", Buenos Aires. Disponible en: http://www2.darwin.edu.ar/Proyectos/FloraArgentina/FA.asp.

Zuur, A.F., Ieno, E.N., Walker, N.J., Saveliev, A.A., Smith, G.M., 2009. Mixed effects models and extensions in ecology with R. Springer Science+Business Media, New York.

# **APÉNDICE 1**

Modelos y tablas resumen de los modelos con sus parámetros. Código de significancia: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 '' 1. Los coeficientes aparecen con los valores sin transformar.

#### Capítulo I

1. Modelos para evaluar la riqueza en función del año de publicación de las fuentes bibliográficas Modelo para la riqueza total

> m3nb= glm.nb (Rtotal~anio, data=rirb, link = "log")

	Coeficiente (β)	Error estándar	Valor Z	p valor	
(Intercepto)	23.969.212	8.496.277	2.821	0.00479 **	
año	-0.010904	0.004251	-2.565	0.01032 *	

#### Modelo para la riqueza de especies nativas

>m1nb= glm.nb (Rna~anio, data=rirb, link = "log")

	Coeficiente (β)	Error estándar	Valor Z	p valor
(Intercepto)	36.113.240	10.153.878	3.557	0.000376 ***
	-0.017070	0.005081	-3.360	0.000781 ***

## Modelo para la riqueza de especies exóticas

> m2nb= glm.nb (Rex~anio, data=rirb, link = "log")

	Coeficiente (β)	Error estándar	Valor Z	p valor
(Intercepto)	-14.538.674	7.458.171	-1.949	0.0513 .
año	0.07260	0.03718	1.953	0.0508 .

## **Capítulo IV**

1.Modelos para evaluar cada práctica de manejo

Modelo para recolección

> pb3= glm.nb (NPMrecoleccion~origen, data=r2, link="log")

	Coeficiente (β)	Error estándar	Valor Z	p valor
(Intercept)	0.6931	0.3165	2.19	0.0285*
origennat	0.7591	0.4805	1.58	0.1142

## Modelo para Protección

> pdnb= glm.nb (NPMproteccion~origen, data=r2, link = "log")

	Coeficiente (β)	Error estándar	Valor Z	p valor
(Intercept)	0.8044	0.1982	4.057	4.96e-05***
origennat	-25.091	0.7479	-3.355	0.000794***

## Modelo para Trasplante

> pg3= glm.nb (NPMtrasplante~origen, data=r2, link="log")

	Coeficiente Error (β) estándar		Valor Z	p valor	
(Intercept)	0.7221	0.2220	3.253	0.00114**	
origennat	-24.269	0.7624	-3.183	0.00146**	

## <u>2.Modelos para caracterizar los patrones de prácticas de manejo</u> <u>Modelo para especies nativas</u>

> pna.nb= glm.nb (FC~practica, data=r1nat2)

	Coeficiente (β)	Error estándar	Valor Z	p valor
(Intercepto)	-1,71E+03	7,82E+02	-2.179	0.029310*
Practica				
Recolección	3,16E+03	8,63E+02	3.657	0.000255***
Practica Tolerancia	6,93E+02	9,87E+02	0.702	0.482429
Practica Trasplante	6,14E-14	1,11E+03	0.000	1.000.000

## Modelo para especies exóticas

> pi= glm (FC~practica, data=r1ex, family= poisson)

	Coeficiente (β)	Error estándar	Valor Z	p valor
(Intercept)	-0.3483	0.2887	-1.207	0.22760
Practica				
Protección	10.704	0.3345	3.200	0.00137**
Practica				
Recolección	0.9808	0.3385	2.898	0.00376**
Practica Siembra	-10.986	0.5774	-1.903	0.05706 .
Practica Trasplante	0.9491	0.3400	2.792	0.00525**

## 3.Modelo para CU

> CIEp2q=glm(cbind(frecuencia,frefra)~origen, family=quasibinomial,data=sumainten\_CIE)

	Coeficiente (β)	Error estándar	Valor Z	p valor
(Intercepto)	-0.1823	0.2885	-0.632	0.533
origennat	0.4652	0.4619	1.007	0.323

## 4.Modelo para NPMe

> NPM2=glm(NPM ~ CU + origen, family= poisson, data=NPM)

	Coeficiente (β)	Error estándar	Valor Z	p valor
(Intercepto)	0.582050	0.209879	2.773	0.00555**
CU	0.026576	0.003022	8.793	< 2e-16***
origennat	-0.745014	0.165049	-4.514	6.36e-06***

## 5.Modelo para IM

> IM2=glm(cbind(IM2, IM2fra)~ origen, family=binomial, data=IM2)

	Coeficiente (β)	Error estándar	Valor Z	p valor
(Intercepto)	-20.855	0.1688	-12.354	< 2e-16***
Origennat	-14.212	0.4261	-3.335	0.000853***





Article

# Polyphenol Composition and (Bio)Activity of Berberis Species and Wild Strawberry from the Argentinean Patagonia

Melina F. Chamorro <sup>1</sup>, Gabriela Reiner <sup>1</sup>, Cristina Theoduloz <sup>2</sup>, Ana Ladio <sup>1</sup>, Guillermo Schmeda-Hirschmann <sup>3</sup>, Sergio Gómez-Alonso <sup>4</sup> and Felipe Jiménez-Aspee <sup>5,\*</sup>

- Laboratorio Ecotono, INIBIOMA (CONICET-Universidad Nacional del Comahue), Bariloche 8400, Río Negro, Argentina
- Laboratorio de Cultivo Celular, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Talca, Talca 3460000, Region del Maule, Chile
- Laboratorio de Química de Productos Naturales, Instituto de Química de Recursos Naturales, Universidad de Talca, Talca 3460000, Region del Maule, Chile
- Instituto Regional de Investigación Científica Aplicada, Departamento de Química Analítica y Tecnología de Alimentos, Universidad Castilla-La Mancha, 13005 Ciudad Real, Spain
- Departamento de Ciencias Básicas Biomédicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Talca, Talca 346000, Región del Maule, Chile
- \* Correspondence: fjimenez@utalca.cl; Tel.: +56-71-2200-291

Received: 5 August 2019; Accepted: 2 September 2019; Published: 12 September 2019



**Abstract:** The Argentinean Patagonia berries *Berberis microphylla, Berberis darwinii,* and *Fragaria chiloensis* ssp. *chiloensis* f. patagonica were investigated for their polyphenol content and composition by means of liquid chromatography coupled to diode array detection and electrospray ionization tandem mass spectrometry. The in vitro antioxidant activity and inhibition of metabolic syndrome-associated enzymes (α-glucosidase, α-amylase, and lipase) of the fruit extracts was assessed. The most complex polyphenol profile was found in the *Berberis* samples, with 10 anthocyanins, 27 hydroxycinnamic acids, 3 proanthocyanidins, 2 flavan-3-ol, and 22 flavonols. *Fragaria* presented four anthocyanins, nine ellagitannins, two proanthocyanidin dimers, one flavan-3-ol, and five flavonols. The *Berberis* samples showed the best antioxidant capacity, while *Fragaria* displayed better activity against α-glucosidase and lipase. The phenolic content and composition of the Argentinean Patagonia berries was similar to that reported for Chilean samples but with some chemical differences between Eastern (Argentina) and Western (Chile) Patagonia. The data obtained supports the consumption of these berries as sources of beneficial polyphenols.

**Keywords:** *Berberis microphylla; Berberis darwinii; Fragaria chiloensis* ssp. *chiloensis* f. patagonica; HPLC-DAD-ESI-MS<sup>n</sup>; anthocyanins; phenolic compounds; antioxidant capacity; Patagonia

#### 1. Introduction

Edible wild plants play a relevant role in rural and indigenous communities around the world and have been used as food and medicine since ancient times [1]. Among them, wild berries are recognized worldwide as healthy foods, contributing to the prevention of several diseases [2]. Their beneficial health properties are linked to their antioxidant properties and their ability to protect from the oxidative effects of free radicals [3]. The use of wild berries in the Argentinean and Chilean Patagonia has been recently reviewed [4]. Among them, the "calafates or michays" *Berberis microphylla G. Forst* (Berberidaceae), *Berberis darwinii* Hook. (Berberidaceae), and the wild strawberry *Fragaria chiloensis* ssp. *chiloensis* f. patagonica (L.) Mill. (Rosaceae) are relevant for their widespread use (Figure 1) [5].

Molecules **2019**, 24, 3331 2 of 24

Most of the Patagonian territory is located from the Eastern Andean slopes to the Atlantic Ocean in Argentina. However, little is known on the chemical profiles of Argentinean Patagonia berries, in spite of them being integrated into the culture and traditional cuisine of Southern Argentina [4]. The fruits of B. microphylla sampled in Chile show a high content of polyphenols and a high antioxidant capacity [6]. At present, the Patagonian native berries are still underutilized fruit species and their development into new crops has been pointed out as relevant for the diversification of agricultural production of Argentina [7]. The fruits of calafate and native strawberry can be consumed fresh or processed into preserves, jams, and ice-creams, as well as to prepare alcoholic and non-alcoholic beverages. Berberis is a relevant genus for several cultures because of its medicinal and food value [8]. It includes almost 500 species distributed worldwide [8,9]. In the last decades, the studies on chemical composition of its species have been focused on berberine and other alkaloids, mostly reported in roots and bark [9,10]. There is an increasing interest in *Berberis* fruits, as they are a rich source of phenolic compounds [11-13]. The main phenolic compounds in fruits of Chilean Berberis species are anthocyanins, mainly delphinidin, cyanidin, petunidin, peonidin, and malvidin glycosides [14]. Berberis fruits showed higher antioxidant capacity than other Chilean wild berries [15]. The strong antioxidant capacity has been associated with their high anthocyanin content [14]. The fruits from Fragaria chiloensis ssp. chiloensis f. patagonica are consumed in Argentinean Patagonia and have been used in human and veterinary medicine [16]. The antioxidant activity of Chilean F. chiloensis samples has been related to the anthocyanin and ellagitannin content of the fruits [17].

The (bio)activity and chemical profiles of Patagonian wild berries have been carried out mainly for Chilean collections [18–22]. Differences in the composition and bioactivity of Patagonian berries occurring in both sides of the Andes Mountains have been described [18,23], and additional differences should be expected. The aim of the present work was to describe the polyphenol content and composition, antioxidant, and inhibitory activity towards metabolic syndrome-associated enzymes of different populations from Argentinean Patagonia berries ("calafates" and wild strawberry), and to compare the results with those reported for the Chilean samples.



**Figure 1.** Fruits from Argentinean Patagonia berries: (a) *Berberis darwinii*, (b) *Berberis microphylla*, and (c) *Fragaria chiloensis*.

#### 2. Results and Discussion

Five samples from *Berberis microphylla*, two from *B. darwinii*, and two from *Fragaria chiloensis* were studied. Figure 1 shows the wild fruits from the selected species. Amberlite XAD-7<sup>®</sup> is a non-ionic macroreticular resin that adsorbs and releases ionic species through hydrophobic and polar interactions. The clean-up steps allow for the removal of sugars, salts, and small organic acids, and thus enriches the extract in polyphenols. The moisture and yield of extraction are shown in Table 1. The extraction yields obtained are similar to those reported by Ruiz et al. [21]. These authors reported that the extraction of polyphenolic compounds was optimal when 93% methanol (MeOH) in acidified water was used as the solvent. Interestingly, the sonication time and washing steps showed no significant influence in the extraction yield.

**Table 1.** Antioxidant capacity and inhibition of metabolic syndrome-associated enzymes by the phenolic enriched extracts (PEE) of wild berries from Argentinean Patagonia. DPPH = 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical, FRAP = ferric-reducing antioxidant power, CUPRAC = cupric-reducing antioxidant power, ORAC = oxygen radical absorbance capacity, TEAC = Trolox equivalent antioxidant capacity.

Samples	Yield of Extraction (%w/w)	Moisture (%w/w)	DPPH (SC <sub>50</sub> , μg/mL)	FRAP (µmol TE/g PEE)	TEAC (μΜ TE/g PEE)	CUPRAC (μmol TE/g PEE)	ORAC (µmol TE/g PEE)	$\alpha$ -glucosidase (IC <sub>50</sub> , $\mu$ g/mL)
Berberis microphylla								
Brazo Rincón	9.2	72.1	$16.0 \pm 0.4$ a	$1915.0 \pm 61.0$ a	Inactive	$2876.3 \pm 78.7$ a	$843.8 \pm 43.0^{\text{ a}}$	$0.5 \pm 0.0^{a}$
Aeropuerto	8.4	54.5	$10.4 \pm 0.3$ b	$2656.6 \pm 43.7$ b	$1938.8 \pm 58.8 \text{ a}$	$3355.0 \pm 103.7^{\text{ b}}$	$3020.0 \pm 99.3$ b	$0.4 \pm 0.0^{d}$
Villa La Angostura	9.9	58.4	$10.4 \pm 0.4$ b	$2579.6 \pm 45.5$ b	$1565.8 \pm 33.3^{\text{ b}}$	$3470.7 \pm 19.0^{\text{ b}}$	$2800.8 \pm 90.7^{\text{ b}}$	$0.3 \pm 0.0^{b}$
Cuyín Manzano	7.3	53.0	$10.9 \pm 0.4$ b	$2578.0 \pm 36.8$ b	$1760.2 \pm 44.3$ <sup>c</sup>	$3318.0 \pm 73.2^{b}$	$3299.8 \pm 69.7$ °	$0.1 \pm 0.0^{\circ}$
Llanguín	8.7	57.5	$15.3 \pm 0.4$ a	$2009.7 \pm 46.3$ a	$1748.3 \pm 46.2$ <sup>c</sup>	$3015.4 \pm 96.4$ a	$2928.0 \pm 94.1^{\text{ b}}$	$0.4 \pm 0.0^{d}$
Berberis darwinii								
Brazo Rincón	11.4	74.6	$17.3 \pm 0.2$	$2770.6 \pm 76.8$	$2012.5 \pm 39.8$	$4588.9 \pm 157.4$	$3032.3 \pm 60.3$	$0.5 \pm 0.0$
Villa La Angostura	12.3	72.8	$8.8 \pm 0.2$	$3014.6 \pm 63.0$	$2280.0 \pm 44.8$	$4937.6 \pm 89.4$	$2160.3 \pm 164.4$	$0.8 \pm 0.0$
Fragaria chiloensis								
Arroyo Llodcondo	6.1	83.1	$10.1 \pm 0.3$	$1064.8 \pm 15.4$	$1484.8 \pm 29.1$	$2292.8 \pm 27.3$	$772.5 \pm 0.9$	$0.3 \pm 0.0$
Frey	5.3	82.0	$8.4 \pm 0.1$	$1722.4 \pm 36.8$	$1234.8 \pm 40.1$	$2744.4 \pm 59.7$	$811.0 \pm 2.6$	$1.2 \pm 0.2$
Reference compounds								
Quercetin	-	-	$7.8 \pm 0.3$	$1077.2 \pm 16.4$	$8157.9 \pm 22.1$	$27,526.1 \pm 97.5$	$22,561.6 \pm 808.8$	-
Acarbose	-	-	-	-	-	-	-	$137.7 \pm 1.3$
Orlistat	-	-	-	-	-	-	-	-

<sup>-:</sup> not determined. Different letters (a-e) in the same column show significant differences among each determination according to Tukey's test (p < 0.05).

Molecules **2019**, 24, 3331 4 of 24

2.1. Characterization of Individual Components by High Performance Liquid Chromatography Coupled to Diode Array Detector and Electrospray Ionization Mass Spectrometry (HPLC-DAD-ESI-MS<sup>n</sup>)

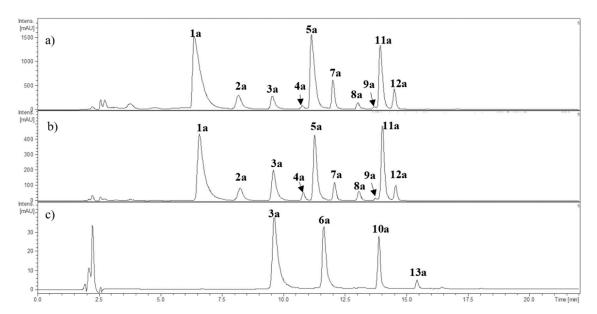
Patagonian berries are an important source of phytochemicals with potential health-promoting properties [4], in particular the genus *Berberis*. The phytochemistry and pharmacological properties of several *Berberis* species was reviewed by Srivastava et al. [9] and Mokhber-Dezfuli et al. [10]. In the same way, the chemical composition and health benefits of *Fragaria chiloensis* have been recently reviewed [4]. However, little is known on the chemical profiles of *Berberis* and *Fragaria* species growing in the Argentinean Patagonia. The phenolics occurring in the different samples were identified by the UV spectra, retention time, and mass spectrometry by HPLC-DAD-ESI-MS<sup>n</sup> analysis. The results are presented below.

#### 2.1.1. Anthocyanins

The anthocyanin obtained by solid phase extraction (SPE) fractionation was analyzed at 500–520 nm and the MS<sup>n</sup> fragmentation pattern in the positive ion mode  $[M + H]^+$ . The SPE cartridge PCX<sup>®</sup> (Agilent Bond Elut Plexa, Agilent, Santa Clara, CA, USA) combines cationic exchange with reverse-phase adsorption of polyphenolic compounds in order to retain anthocyanins and recover non-charged polyphenols. Anthocyanins can then be recovered from the cartridge for further analyses. The retention time of the compounds was used for matching and comparison when commercial standards were available. The chromatographic anthocyanin profiles of Berberis microphylla, B. darwinii, and Fragaria chiloensis are shown in Figure 2. The HPLC-DAD-ESI-MS<sup>+</sup> data on anthocyanins is summarized in Table 2. Most of the anthocyanins detected showed the neutral loss of 162 amu, supporting the occurrence of a hexoside, or a neutral loss of 308 amu, in agreement with rutinoside. Compounds 1a and 2a showed a common fragment ion (MS<sup>2</sup>) at m/z 302.9 amu in agreement with delphinidin. Compounds 3a and 4a showed a  $MS^2$  fragment ion at m/z 286.9 amu, and compounds 5a and 7a a common  $MS^2$  fragment ion at m/z 316.9 amu, in agreement with cyanidin and petunidin, respectively. Compounds 8a and 9a showed the presence of a  $MS^2$  fragment ion at m/z 300.9 amu, and compounds 11a and 12a presented a common  $MS^2$  fragment ion at m/z 331.03 amu, characteristic of peonidin and malvidin, respectively. All the listed anthocyanins were detected in B. microphylla and B. darwinii (Table 2).

Ruiz et al. [14] described the anthocyanin profile of Chilean B. microphylla, reporting 18 anthocyanins, including delphinidin, cyanidin, petunidin, peonidin, and malvidin derivatives. The sugar moieties were glucose, rutinose, and dihexose. Ramirez et al. [15] described the occurrence of delphinidin, petunidin, peonidin, and malvidin anthocyanins in B. microphylla samples collected in the Región de Nuble (central southern Chile), but not the presence of cyanidin. Ruiz et al. [24] reported the isolation and characterization of 3,7-β-O-diglucosides of delphinidin, petunidin, and malvidin, and suggested the occurrence of the same derivatives of cyanidin and peonidin. The dihexosides, however, were not detected in our Argentinean samples, and are so far a difference between the eastern and western Patagonia population of the species. The F. chiloensis phenolic enriched extracts (PEEs) showed the presence of cyanidin hexoside (3a) and the additional signal of compound 6a with a  $[M - H]^-$  molecular ion at m/z 433.3 amu, with MS<sup>2</sup> fragment ion at m/z271.2 amu and  $\lambda_{max}$  at 502 nm, characteristic of pelargonidin [25]. The compound was identified as pelargonidin hexoside. Two other anthocyanins, compounds 10a and 13a, were detected in this species. These compounds showed the neutral loss of 248 amu, leading to a  $MS^2$  fragment ion at m/z 286.9 and 271.1 amu, respectively, and were tentatively identified as malonyl hexosides of cyanidin and pelargonidin, respectively. In F. chiloensis ssp. chiloensis f. patagonica, Simirgiotis et al. [26] described the same four main anthocyanins, namely: cyanidin-3-O-glucoside, pelargonidin-3-O-glucoside, cyanidin-malonyl-glucoside, and pelargonidin-malonyl-glucoside. Overall, the profile of anthocyanins in Argentinean samples is similar to that found in the Chilean (western Patagonia) collections.

Molecules **2019**, 24, 3331 5 of 24



**Figure 2.** HPLC-DAD chromatogram (520 nm) of the anthocyanins from (a) *Berberis microphylla*, (b) *Berberis darwinii*, and (c) *Fragaria chiloensis*. The numbers correspond to Table 2.

#### 2.1.2. Hydroxycinnamic Acids (HCAs)

The profile of non-anthocyanin polyphenols is depicted in Figure 3 for *Berberis microphylla*, Figure 4 for *B. darwinii*, and Figure 5 for *Fragaria chiloensis*. The HCA identity assignment was carried out in the non-anthocyanin polyphenol extract by the analysis of the UV-VIS profile, MS<sup>n</sup> fragmentation pattern in the negative ion mode [M – H]<sup>-</sup>, and the hierarchical scheme proposed by Clifford et al. [27]. The retention time was used for matching when commercial standards were available. Table 3 shows the retention time and spectral data of HCAs found in the samples. A total of 27 HCAs with  $\lambda_{max}$  at 320 nm were detected in the Argentinean Patagonia samples. Most of them were found in both *Berberis* species. HCAs were not detected in our samples of *F. chiloensis* ssp. *chiloensis* f. patagonica. In the native Chilean white strawberry (*F. chiloensis* ssp. *chiloensis* f. chiloensis), Cheel et al. [28] isolated three cinnamoyl hexosides. The presence of caffeoyl, coumaroyl, and feruloyl hexosides have been reported in commercial strawberries [29]. More samples of *F. chiloensis* from the Argentinean Patagonia are needed to confirm this interesting difference.

Compounds 2 and 5 showed a common  $[M - H]^-$  molecular ion at m/z 370.9 amu, with  $MS^2$ fragment ions at m/z 209 and 191 amu, indicating the presence of a hexaric acid core (glucaric, mannaric, or galactaric acids) [30]. The neutral loss of 162 amu agreed with a caffeoyl moiety. Thus, the compounds 2 and 5 were assigned as caffeoyl hexaric acid isomers 1 and 2, respectively. The compounds 14, 19, 24, **29**, **33**, **36**, **44**, and **49** showed a common  $[M - H]^-$  molecular ion at m/z 533.0 amu. Two consecutive losses of 162 amu indicated the presence of two caffeoyl moieties, leading to a MS<sup>2</sup> fragment ions at m/z 209 and 191 amu. The compounds were identified as dicaffeoyl hexaric acid isomers. Compounds 3 and 8 showed a common  $[M - H]^-$  molecular ion at m/z 352.9 amu, leading to a MS<sup>2</sup> fragment ion at 190.6. Following the hierarchical scheme proposed by Clifford et al. [27] the compounds were identified as 5- and 3-caffeoylquinic acids, respectively. The identity of both compounds was confirmed with commercial standards. In addition, compounds 10, 13, 16, and 23 showed a similar fragmentation pattern and were tentatively identified as caffeoylquinic acid isomers. Compounds 26, 37, 51, and 59 showed a common [M - H]<sup>-</sup> molecular ion at m/z 514.9 amu, followed by two consecutive losses of 162 amu, leading to the  $MS^2$  fragment ion at m/z 190.68 amu. The compounds were tentatively identified as dicaffeoylquinic acid isomers [27]. Compounds 11 and 22 presented a  $[M-H]^-$  molecular ion at m/z 337.2 amu, leading to a MS<sup>2</sup> fragment ion at 190.6 amu. The compounds were identified as 3-p-coumaroylquinic acid (11) and 5-p-coumaroylquinic acid (22), respectively [27]. Compounds 18, 21, 28, 35, and 38 presented a common  $[M - H]^-$  molecular ion at m/z 367.3 amu. The neutral loss

Molecules **2019**, 24, 3331 6 of 24

of a feruloyl moiety to the MS<sup>2</sup> fragment ion at 191 amu allowed the tentative identification of both compounds as feruloylquinic acid isomers.

**Table 2.** Characterization and distribution of anthocyanins in Argentinean Patagonia *Berberis micropylla*, *B. darwinii*, and *F. chiloensis* berries by HPLC-DAD-ESI-MS<sup>n</sup>.

						Detected in		
Peak	Rt (min)	[M + H] <sup>+</sup>	MS <sup>2</sup>	λ <sub>max</sub> (nm)	Tentative Identification	B. microphylla	B. darwinii	F. chiloensis
1a	6.7	465.3	302.9 (100)	523	Delphinidin-3-O-glucoside *	х	х	
2a	8.2	611.4	302.9 (100)	525	Delphinidin rutinoside	X	x	
3a	9.7	449.1	286.9 (100)	516	Cyanidin-3-O-glucoside *	X	x	X
<b>4a</b>	10.9	595.4	286.9 (100)	521	Cyanidin-3-O-rutinoside *	X	x	
5a	11.3	479.3	316.8 (100)	525	Petunidin hexoside	X	x	
6a	11.6	433.3	271.1 (100)	502	Pelargonidin hexoside			X
7a	12.1	625.5	316.9 (100)	527	Petunidin rutinoside	X	x	
8a	13.1	463.3	300.9 (100)	518	Peonidin hexoside	X	x	
9a	13.8	609.6	300.9 (100)	526	Peonidin rutinoside	X	x	
10a	13.9	535.1	286.9 (100)	517	Cyanidin manlonyl hexoside			X
11a	14.1	493.3	331.0 (100)	527	Malvidin-3-O-glucoside *	X	x	
12a	14.6	639.4	331.0 (100)	530	Malvidin rutinoside	X	x	
13a	15.5	519.1	271.1 (100)	505	Pelargonidin-malonyl hexoside			X

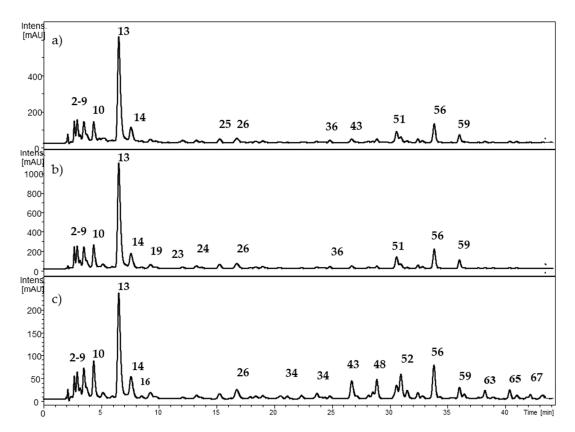
<sup>\*</sup> Identity confirmed by co-injection with authentic standard. MS<sup>2</sup>: tandem mass spectrometry.

Ruiz et al. [21] described the presence of 20 different HCAs in ripe fruits of *Berberis microphylla* collected in the Chilean Patagonia. The identity of the compounds was determined by HPLC-MS, including: four caffeoylglucaric acid isomers, seven caffeoylquinic acid isomers, two dicaffeoylglucaric acid isomers, one coumaroylquinic acid, two feruloylquinic acid isomers, three dicaffeoylquinic isomers, and one feruloylcaffeoylquinic acid.

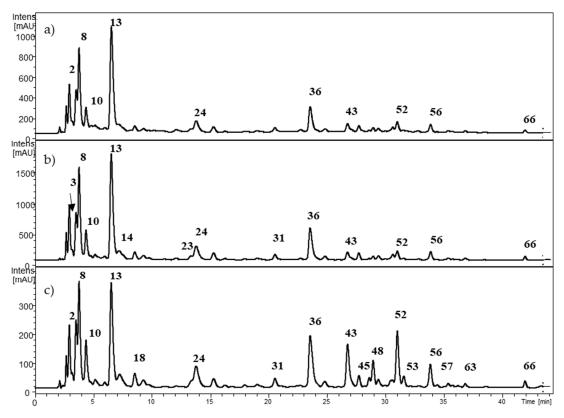
#### 2.1.3. Ellagitannins

Ellagitannins were only detected in the non-anthocyanin fraction of *F. chiloensis* ssp. *chiloensis* f. patagonica (Table 3). The ellagic acid derivatives were identified by the common  $[M - H]^-$  molecular ion at m/z 300.5 amu. Compound 27 showed the neutral loss of 162 amu, in agreement with ellagic acid hexoside. Compound 39 showed a [M – H]<sup>-</sup> molecular ion at m/z 435.0 amu followed by the neutral loss of 132 amu, in agreement with ellagic acid pentoside. Compound 46 showed a neutral loss of 146 amu in agreement with ellagic acid rhamnoside. Compounds 15, 17, 25, and 32 presented a common  $[M - H]^-$  molecular ion at m/z 935.3 amu. The neutral loss of 302 amu pointed out to a hexahydroxydiphenoyl (HHDP) group and the loss of 170 amu to a gallate unit. The compounds showed a fragmentation pattern that indicated the presence of two HHDP units and a gallate unit linked to the hexose core. The compounds were tentatively identified as casuarictin/potentillin isomers [19]. Compound 1 showed the characteristic fragmentation pattern of an ellagitannin with two HHDP units. The  $[M - H]^-$  molecular ion at m/z 783.3 amu, and MS<sup>2</sup> fragment ions at m/z 480.7 and 300.6 allowed the tentative identification of this compound as a pedunculagin isomer [31]. Compound 6 showed a  $[M - H]^-$  molecular ion at m/z 633.9 amu and  $MS^2$  fragment ions at m/z 462.7  $[M - H - galloyl]^-$  and 300.8 amu [M – H – galloyl hexose]. The compound was identified as HHDP-galloyl-hexoside [31]. In Chilean F. chiloensis ssp. chiloensis f. patagonica, Simirgiotis et al. [26] and Thomas-Valdés et al. [32] reported the presence of 10 ellagitannins, ellagic acid pentoside, ellagic acid rhamnoside, and ellagic acid. Ellagitannins are the main components of strawberries and have been associated with their health-promoting properties [33].

Molecules **2019**, 24, 3331 7 of 24



**Figure 3.** HPLC-DAD chromatogram from *Berberis microphylla* at (a) 280 nm; (b) 320 nm; and (c) 360 nm. The numbers correspond to Table 3.



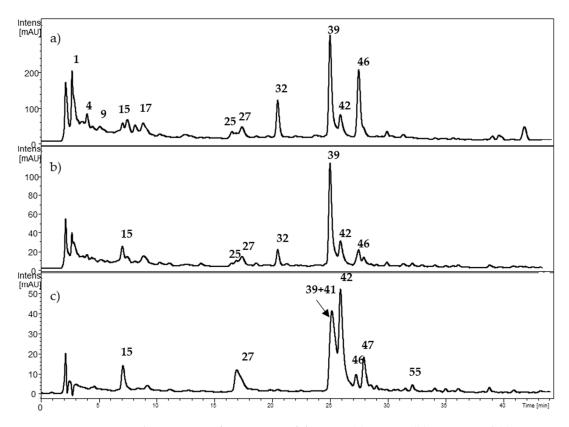
**Figure 4.** HPLC-DAD chromatogram from *Berberis darwinii* at **(a)** 280 nm; **(b)** 320 nm; and **(c)** 360 nm. The numbers correspond to Table 3.

Molecules **2019**, 24, 3331 8 of 24

#### 2.1.4. Flavan-3-ols and Proanthocyanidins

#### 2.1.5. Flavonols

The flavonol composition of the three studied species is depicted in Table 3. The presence of myricetin derivatives was confirmed by the  $MS^2$  fragment ion at m/z 316.5 amu and  $UV_{max}$  at 365 nm. Compounds 30 and 31 were assigned as myricetin hexosides by the neutral loss of 162 amu, while compound 34 was identified as myricetin rutinoside by the neutral loss of 308 amu. In addition, the presence of dimethylmyricetin hexoside (siringetin hexoside, 61) was suggested by the  $MS^2$  fragment ion at m/z 344.6 amu [30].



**Figure 5.** HPLC-DAD chromatogram from *Fragaria chiloensis* at **(a)** 280 nm; **(b)** 320 nm; and **(c)** 360 nm. The numbers correspond to Table 3.

Compounds **41**, **42**, **43**, **45**, **47**, **48**, **50**, **52**, **53**, **55**, and **56** showed a MS<sup>2</sup> fragment ion at m/z 300.6 amu in agreement with quercetin. The neutral loss of 132 amu for compounds **41**, **42**, and **55** indicated the presence of a pentoside. Compounds **43** and **47** showed a neutral loss of 162 amu in agreement with hexoside, and compound **45** showed a neutral loss of 176 amu, characteristic of a glucuronide. The neutral loss of 146 amu for compound **56** indicated a rhamnose (deoxyhexose), and the neutral loss of 308 amu for compound **48** supported a rutinoside. Compounds **50**, **52**, and **53** presented a common  $[M-H]^-$  molecular ion at m/z 505.3 amu, followed by the neutral loss of 204 amu, suggesting the

Molecules **2019**, 24, 3331 9 of 24

presence of an acetylhexoside, as previously reported in *Berberis* species from the Chilean Patagonia [14]. The compounds were tentatively assigned as quercetin acetylhexosides.

Six kaempferol derivatives were assigned based on the MS<sup>2</sup> ion at *m*/*z* 285 amu. The hexosides (54 and 64), rutinoside (57), rhamnoside (66), and acetylhexosides (60 and 68) were identified by the neutral losses of 162, 308, 146, and 204 amu, respectively. The MS<sup>2</sup> ion of compounds 58, 62, 63, 65, and 67 at *m*/*z* 314.7 amu agreed with an isorhamnetin core. The identity of the compounds was established by the neutral losses of hexoside (62), rutinoside (63), dihexoside rhamnoside (58), and acetylhexosides (65 and 67), respectively. In Chilean *Berberis microphylla*, Ruiz et al. [14] described the presence of three myricetin, seven quercetin, and five isorhamnetin derivatives. Most of the compounds were hexosides, rutinosides, acetyl hexosides, or rutinoside-hexoside derivatives. A difference of the Argentinean Patagonia *Berberis* samples described in this article with the western Patagonia collections of the same species is the occurrence of the kaempferol derivatives in the eastern Andes populations of Argentina. In Chilean *F. chiloensis* ssp. *chiloensis* f. patagonica, quercetin glucuronide, quercetin pentoside, kaempferol glucuronide, and two kaempferol coumaroyl-hexosides were described by Simirgiotis et al. [26].

**Table 3.** Characterization and distribution of phenolic compounds in wild Argentinean Patagonia *Berberis microphylla, B. darwinii,* and *F. chiloensis* berries by HPLC-DAD-ESI-MS<sup>n</sup>.

						Detected in		
Peak	Rt (min)	[M – H] <sup>–</sup>	$\mathrm{MS}^2$	λ <sub>max</sub> (nm)	Tentative Identification	B. microphylla	B. darwinii	F. chiloensis
1	2.8	783.3	480.8 (41), 300.7 (100)	280	Di-HHDP-glucose (Pedunculagin)			х
2	3.0	371.0	208.6 (100), 190.7 (100)	326	Caffeoylhexaric acid isomer1	x	X	
3	3.6	353.3	190.6 (100), 178.9 (26), 134.9 (7)	328 5-Caffeoylquinic acid *		х	x	
4	3.7	577.3	558.7 (18), 450.7 (43) 424.8 (100), 289.1 (16)	450.7 (43) 424.8 (100), 274 Procyanidin B-type				x
5	3.8	370.9	208.6 (100), 190.7 (26)	208.6 (100), 327 Caffeovlheyaric acid		x	x	
6	4.0	633.9	450.7 (6), 300.7 (100)	270	70 HHDP-galloyl-hexose 1			X
7	4.2	577.4	450.6 (41), 424.7 (100), 288.7 (36)	280	Procyanidin B-type dimer 2			x
8	4.5	353.2	190.6 (100), 178.8 (5), 128.7 (3)	329 3-Caffeoylquinic acid *		x	x	
9	5.1	289.3	244.7 (100), 204.7 (41), 124.7 (7)	), 282 ( <i>epi</i> )-catechin			x	x
10	5.3	353.3	190.6 (100)	320	Caffeoylquinic acid isomer 1	x	X	
11	5.7	337.3	162.6 (100), 118.8 (5)	330	3- <i>p</i> -Coumaroylquinic acid		x	

Table 3. Cont.

		[M – H] <sup>–</sup>				Detected in		
Peak	Rt (min)		$MS^2$	λ <sub>max</sub> (nm)	Tentative Identification	B. microphylla	B. darwinii	E chiloensis
<b>12</b> 6.1		577.2	558.8 (14), 450.7 (35), 424.9 (100), 407.4 (58),	281	Procyanidin B-type dimer 3	х	x	
13	6.5-6.9	352.9	289.2 (11) 190.6 (100)	324	4 Caffeoylquinic acid isomer 2		x	
14	7.6	533.1	370.6 (100), 208.7 (12)	324	324 Dicaffeoylhexaric acid isomer 1			
15	7.7	935.0	632.9 (100), 300.8 (25)	270	Casuarictin/Potentillin isomer 1			x
16	8.6	353.3	190.7 (100)	330	Caffeoylquinic acid isomer 3	x	x	
17	9.0	934.9	632.7 (100), 450.9 (7),	270	Casuarictin/Potentillin isomer 2			х
18	9.3	367.3	300.8 (25) 179.7 (100)	328	Feruloylquinic acid isomer 1	x	x	
19	9.4	533.5	370.7 (100), 208.7 (18)	326 Dicaffeoylhexaric acid isomer 2		X	X	
20	10.5	577.0	558.7 (100), 450.7 (35) 424.7 (100), 406.9 (62) 288.7 (21)	280	Procyanidin B-type dimer 4		x	
21	11.2	367.2	192.6 (22), 178.7 (100)	(22), (100) 330 Feruloylquinic acid isomer 2			x	
22	12.0	337.4	134.9 (32) 190.7 (100)	330	5- <i>p</i> -Coumaroylquinic acid		x	
23 24	12.2 13.9	353.1 533.1	190.7 (100) 370.6 (100),	320 326	Caffeoylquinic acid isomer 4 Dicaffeoylhexaric acid isomer 3	x	x x	
25	16.7	935.3	208.7 (100) 632.9 (45), 300.6 (100)	270	Casuarictin/Potentillin isomer 3			х
26	16.9	515.1	353.0 (100), 190.6 (41)	325	Dicaffeoylquinic acid isomer 1	x		
27	17.2	463.0	300.5 (100)	350	Ellagic acid hexoside			х
28	18.1	367.6	178.6 (100), 134.8 (31)	330	Feruloylquinic acid isomer 3	x	x	
29	18.6	533.4	370.6 (100), 208.6 (19)	328	Dicaffeoylhexaric acid isomer 4	x		
30	18.8	479.3	316.7 (100)	360	Myricetin hexoside isomer 1		x	
31	20.6	479.5	316.7 (100) 915.0 (68),	365	Myricetin hexoside isomer 2	х		
32	20.6	934.5	632.9 (35), 300.7 (42)	280	Casuarictin/Potentillin isomer 4			х
33	20.7	533.1	370.6 (100), 208.7 (17)	330	Dicaffeoylhexaric acid isomer 5	x	x	
34	21.2	625.3	316.5 (100)	360	Myricetin rutinoside	x	x	
35	23.3	367.2	192.6 (22), 178.7 (100) 134.9 (32)	320	Feruloylquinic acid isomer 4		x	

 Table 3. Cont.

						Detected in		
Peak	Rt (min)	[M – H] <sup>–</sup>	$\mathrm{MS}^2$	λ <sub>max</sub> (nm)	Tentative Identification	B. microphylla	B. darwinii	E. chiloensis
36	23.7	3.7 533.1 370.6 (100), 208.7 (42) 332 Dicaffeoylhexaric acid isomer 6		x	х			
37	24.8	515.1	353.0 (100), 190.6 (42)	330	Dicaffeoylquinic acid isomer 2		x	
38	25.0	367.1	178.6 (100), 134.7 (31)	326	Feruloylquinic acid isomer 5	x	x	
39	25.1	435.0	301.3 (100) 424.7 (100),	350	Ellagic acid pentoside			X
40	25.2	577.0	406.9 (62) 288.7 (21)	280	Procyanidin B-type dimer 3		x	
41	25.4	435.0	301.0 (100)	367	Quercetin pentoside isomer 1			х
42	26.0	435.1	301.3 (100)	361	Quercetin pentoside isomer 2			х
43	26.8	463.4	301.2 (100)	351	Quercetin hexoside isomer 1	х	х	
44	27.1	533.0	370.5 (100)	340	Dicaffeoylhexaric acid isomer 7	,,	X	
45	27.4	477.3	300.6 (100)	350	Quercetin glucuronide		x	X
46	28.0	447.1	300.6 (100)	367	Ellagic acid rhamnoside		^	X
47	28.5	463.0		354	Quercetin hexoside isomer 2		v	
48	29.0		300.6 (100)	352	=		X	X
40	29.0	609.3	300.6 (100)	332	Quercetin rutinoside	X	X	
49	30.0	533.3	370.6 (100), 208.6 (43)	330	Dicaffeoylhexaric acid isomer 8		X	
50	30.4	505.6	300.6 (100)	354	Ouercetin acetylhexoside isomer 1			
51	30.6	515.4	352.7 (100), 190.7 (22)	327	Dicaffeoylquinic acid isomer 3		x	
52	31.1	505.3	300.6 (100)	353	Quercetin acetylhexoside isomer 2	x	x	
53	31.7	505.3	300.6 (100)	352	Quercetin acetylhexoside isomer 3	x	x	
54	32.2	447.4	284.8 (100)	340	Kampferol hexoside	х		
55	32.2	433.4	300.6 (100)	350	Quercetin pentoside isomer 3			х
56	33.8	447.3	300.6 (100)	356	Quercetin rhamnoside	х	х	
57	35.4	593.4	284.6 (100)	340	Kaempferol rutinoside	x	x	
58	35.7	785.5	314.6 (100)	354	Isorhamnetin rutinoside hexoside	x	x	
59	36.1	515.3	352.7 (100)	326	Dicaffeoylquinic acid isomer 4	х	х	
60	36.3	489.4	284.6 (100)	340	Kaempferol acetylhexoside	^	X	
61	36.5	507.1	344.6 (100)	320	Siringetin hexoside		X	
62	36.6	477.3	315.7 (100)	345	Isorhamnetin hexoside	х	^	
63	38.3	623.4	315.7 (100)	355	Isorhamnetin rutinoside	X	х	
64	39.5	447.5	284.6 (100)	340	Kaempferol hexoside	X	^	
65	40.5	519.3	315.6 (100)	355	Isorhamnetin acetylhexoside	X		
					isomer 1			
66 67	41.0 42.3	431.4 519.6	284.7 (100) 315.6 (100)	340 340	Kaempferol rhamnoside Isorhamnetin acetylhexoside	x x	Х	
68	44.2	489.7	284.8 (100)	340	isomer 2 Kaempferol acetylhexoside	X		

<sup>\*</sup> Identity confirmed by co-injection with authentic standard.

#### 2.2. Quantification of Main Phenolics

Main group of phenolic compounds occurring in *Berberis* and *Fragaria chiloensis* are shown in Figure 6. The content of individual anthocyanins of the Argentinean Patagonia berries is depicted in Table 4 for *Fragaria chiloensis* sp. *chiloensis* f. patagonica, and in in Table 5 for *Berberis microphylla* and *B. darwinii*. The main anthocyanin in *F. chiloensis* was cyanidin-3-glucoside (**3a**) and ranged from 0.7–7.1 mg/100 g fresh weight (fw), followed by pelargonidin hexoside (**6a**), with contents ranging from 1.7–5.8 mg/100 g fw. In Chilean samples, the main anthocyanins were pelargonidin derivatives, followed by cyanidin derivatives, and the same trend was observed in the commercial *Fragaria* x *ananassa* cv. Chandler [17].

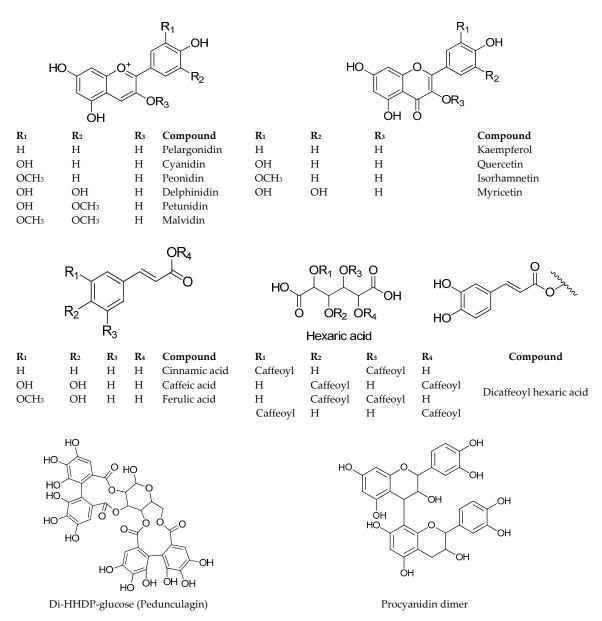


Figure 6. Main group of phenolic compounds occurring in Berberis and Fragaria chiloensis.

In the Argentinean Patagonia *Berberis microphylla*, the main anthocyanin was delphinidin-3-glucoside (**1a**), with contents ranging from 78.6–621.7 mg/100 g fw, followed by petunidin hexoside (**5a**), ranging from 35.7–363.6 mg/100 g fw. From all the five collection places, the sample from Brazo Rincon showed the lowest content of anthocyanins. This might be explained by the ripening stage of the fruits collected in this location. The total anthocyanin content of other berries has shown to

Molecules **2019**, 24, 3331 13 of 24

increase during the ripening period, visualized as the fruit skin color becomes darker [35]. In the Chilean samples studied by Ruiz et al. [20], the main anthocyanins of *B. microphylla* were delphinidin-3-glucoside and petunidin-3-glucoside, with contents of 410.6 and 225.6 mg/100 g fw, respectively. In *B. darwinii* the main anthocyanins were also delphinidin-3-glucoside and petunidin hexoside, with contents ranging from 115.3–163.3 and 61.9–83.7 mg/100 g fw, respectively. No information regarding *B. darwinii* fruits from Chile could be found in the literature. Other species, such as *Berberis ilicifolia* and *Berberis empetrifolia*, collected in the Chilean Patagonia, showed the same pattern, with delphinidin-3-glucoside and petunidin-3-glucoside being the main components. The content of delphinidin-3-glucoside and petunidin-3-glucoside was 132.5 mg/100 g fw and 117.3 mg/100 g fw in *B. ilicifolia*, and 234.8 mg/100 g fw and 150.9 mg/100 g fw in *B. empetrifolia*, respectively [20].

**Table 4.** Anthocyanins and flavonols content of wild *Fragaria chiloensis* from the Argentinean Patagonia. Data are expressed as mg/100 g fw.

Compounds	Fragaria chiloensis				
	Arroyo Llodcondo	Frey			
Anthocyanins					
Cyanidin-3-glucoside (3a)	$7.1 \pm 0.2$	$0.7 \pm 0.1$			
Pelargonidin hexoside (6a)	$5.8 \pm 0.1$	$1.7 \pm 0.0$			
Cyanidin-malonyl hexoside (10a)	$0.8 \pm 0.3$	BQL			
Flavonols					
Quercetin pentoside 2 (42)	$6.2 \pm 0.2$	$7.1 \pm 0.1$			
Quercetin glucuronide (45)	$2.2 \pm 0.3$	$0.9 \pm 0.0$			
Quercetin pentoside 3 (55)	$2.8 \pm 0.0$	$2.4 \pm 0.0$			

BQL: below quantification limit (for flavonols:  $0.12~\mu g$ ; for anthocyanins:  $0.33~\mu g$ ). Anthocyanins are expressed as equivalents of malvidin-3-O-glucoside and flavonols are expressed as equivalents of quercetin-3-O-glucoside/100~g fw.

In *Fragaria chiloensis*, the main flavonol was quercetin pentoside 2 (**42**) with contents ranging from 6.2–7.1 mg/100 g fw, followed by quercetin pentoside 3 (**55**), ranging from 2.4–2.8 mg/100 g fw. In Chilean *Fragaria* samples, the content of quercetin and kaempferol after acid hydrolysis were reported as 0.6 and 1.1 mg/100 g fw, respectively [26].

In *B. microphylla*, the main flavonols were quercetin rutinoside (rutin) (48) and isorhamnetin rutinoside (63), with contents ranging from 14.1–53.5 and 4.2–55.7 mg/100 g fw, respectively. In *B. darwinii*, the main flavonol was quercetin acetylhexoside 1 (52) (25.2–59.8 mg/100 g fw), followed by quercetin hexoside (43) (29.8–56.6 mg/100 g fw). In the Argentinean samples, Arena et al. [7] reported contents of rutin in the range of 0.5–1.0 mg/100 g fw and quercetin 1.9–2.6 mg/100 g fw. The concentration of these flavonols did not show variation in response to the light intensity or fertilization level of the plants [7].

Hydroxycinnamic acids (HCAs) were not detected in the Argentinean Patagonia *Fragaria* samples. However, in Chilean *Fragaria* species, Parra-Palma et al. [36] described the presence of 4-coumaric, ferulic, and cinnamic acids, with concentrations in the mg/kg range. The main HCA in *B. microphylla* was caffeoylquinic acid 3 (13), with contents ranging from 31.6–163.7 mg/100 g fw, followed by dicaffeoyl glucaric acid 2 (14), ranging from 17.7–56.3 mg/100 g fw. In Chilean *B. microphylla*, the main HCA was 5-caffeoylquinic acid, with contents ranging from 1.4–98.4 mg/100 g fw [21]. In addition, the same authors reported that caffeoylglucaric acids were about 50% of the total HCA content. In *B. darwinii*, the main HCA was also caffeoylquinic acid 3 (13), with contents ranging from 100.0–328.3 mg/100 g fw, followed by caffeoylglucaric acid 2 (5), with contents between 59.2 and 217.6 mg/100 g fw (Table 5). In Argentinean collections, Arena et al. [7] reported the content of chlorogenic acid, ferulic acid, and gallic acid in *Berberis microphylla* fruits under different light and fertilization conditions. The chlorogenic and ferulic acid contents were in the range of 113.9–130.3 mg/100 g fw, and 4.3–4.9 mg/100 g fw, respectively.

Our results with the Argentinean Patagonia samples showed variation in the phenolic content of *B. microphylla*. The content of delphinidin hexoside (1a), dicaffeoyl glucaric acid 2 (14), dicaffeoyl

Molecules **2019**, 24, 3331 14 of 24

glucaric acid 6 (36), dicaffeoylquinic acid 7 (51), and quercetin rutinoside (48) significantly varied among the five collection places (Table 5, p < 0.05). This variation could be related to environmental and/or genetic factors of the plant populations [37]. In Argentinean *Berberis* fruits, Arena et al. showed that under field conditions, the light intensity and fertilization of plants increased the photosynthetic rate, soluble solids, sugars, and anthocyanins [7,38].

#### 2.3. Antioxidant Activity

The study of the potential antioxidant effects of natural products demands the use of several antioxidant assays. This can be considered as a first approach to an in vivo situation, since different reactive species and mechanisms are involved in oxidative stress.

In the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH) assay of the Argentinean Patagonia samples, the highest scavenging capacity was found in one of the PEEs from F. chiloensis collected in Frey, followed by the B. darwinii sample from Villa La Angostura (Table 1). In the ferric-reducing antioxidant power (FRAP), trolox equivalent antioxidant activity (TEAC), and cupric-reducing antioxidant power (CUPRAC) assays, the best antioxidant activity was found in both extracts of B. darwinii. However, in the oxygen radical absorbance capacity (ORAC) assay, the best antioxidant activities were found in B. microphylla fruit extracts (Table 1). Ramirez et al. [15] described the antioxidant capacity of six berries, including B. microphylla samples collected in central southern Chile. Their results showed the best radical scavenging capacity in the DPPH assay, and the best reduction power in the FRAP assay for B. microphylla. In the study of Ruiz et al. [20] with Chilean Patagonian berries, the best antioxidant capacity in the TEAC assay was found in B. microphylla samples. Ruiz et al. [14] compared the antioxidant capacity of B. microphylla with the popular maqui berry (Aristotelia chilensis) and showed that the maqui berry had the highest antioxidant capacity by means of TEAC assay. The highest ORAC values among 120 Chilean fruit species analyzed were found for B. microphylla, A. chilensis, and Ugni molinae [6]. Thomas-Valdés et al. [32] described the antioxidant activity of Chilean Fragaria chiloensis fruits by means of DPPH, FRAP, TEAC, and superoxide anion scavenging. Similar values were observed in the DPPH assay, while in the FRAP and TEAC assays, the Chilean samples presented higher values than the Argentinean collections. Arena et al. [7] showed that the exposure of Berberis microphylla plants to high light intensity was related to higher antioxidant capacities of the fruits, measured by DPPH and FRAP assay. The use of fertilization also increased the antioxidant power of *B. microphylla* fruits by 5% [7].

The Pearson's correlation coefficient showed that the individual anthocyanins quantified presented strong correlations (p < 0.05) with the antioxidant activity (Table 6), except for compounds 8a and 11a. For the HCAs, the content of caffeoyl hexaric acid isomer 2 (5), caffeoylquinic acid isomer 3 (16), and feruloylquinic acid isomer 1 (18) also demonstrated strong correlations with all the antioxidant assays carried out (Table 6). Regarding flavonols, the content of quercetin hexoside 1 (43), quercetin rutinoside (48), and quercetin rhamnoside (56) showed strong correlations with all the antioxidant assays (p < 0.01), while the content of isorhamnetin acetylhexoside isomer 2 (67) presented significant correlations with all the assays, except in the TEAC method (Table 6).

**Table 5.** Anthocyanins, hydroxycinnamic acids and flavonols content of wild *Berberis* fruits from the Argentinean Patagonia (mg/100 g fw).

Compounds		В	erberis microphyl	la		Berberis darwinii		
Compounds	Brazo Rincón	Aeropuerto	Villa La Angostura	Cuyín Manzano	Llanquín	Brazo Rincón	Villa La Angostura	
Anthocyanins								
Delphinidin-3-glucoside (1a)	$78.6 \pm 0.9^{a}$	$621.7 \pm 9.1$ b	$459.8 \pm 5.8^{\circ}$	$397.1 \pm 0.9 ^{d}$	$301.7 \pm 1.6^{\text{ e}}$	$115.3 \pm 2.7$	$163.3 \pm 4.4$	
Delphinidin rutinoside (2a)	$1.8 \pm 0.3^{a}$	$66.4 \pm 3.5$ b	$35.5 \pm 1.7^{\circ}$	$29.1 \pm 1.0^{d}$	$27.1 \pm 0.3$ d	$11.0 \pm 0.1$	$10.9 \pm 0.7$	
Cyanidin-3-glucoside (3a)	$1.2 \pm 0.0^{a}$	$51.3 \pm 3.4^{\text{ b}}$	$40.0 \pm 1.7^{\text{ c}}$	$52.3 \pm 1.1^{b}$	$47.8 \pm 2.6$ b	$30.4 \pm 0.0$	$68.2 \pm 2.0$	
Cyanidin-3-rutinoside (4a)	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	$2.3 \pm 0.0$	
Petunidin hexoside (5a)	$35.7 \pm 1.0^{a}$	$363.6 \pm 6.0^{b}$	$271.2 \pm 1.4^{\circ}$	$229.8 \pm 0.8 ^{\mathrm{d}}$	$185.7 \pm 9.7^{\text{ e}}$	$61.9 \pm 0.1$	$83.7 \pm 2.8$	
Petunidin rutinoside (7a)	$1.0 \pm 0.0^{a}$	$78.5 \pm 3.9^{b}$	$37.2 \pm 0.1^{\circ}$	$30.3 \pm 0.6$ d	$33.5 \pm 0.0$ c,d	$7.3 \pm 0.1$	$8.7 \pm 0.9$	
Peonidin hexoside (8a)	BQL	$11.2 \pm 0.9^{a}$	$6.4 \pm 0.8$ b	$15.3 \pm 0.2^{c}$	$16.5 \pm 0.8$ °	$1.2 \pm 0.0$	$5.3 \pm 0.7$	
Peonidin rutinoside (9a)	BQL	BQL	BQL	BQL	$1.4 \pm 0.1$	BQL	BQL	
Malvidin-3-glucoside (11a)	$11.5 \pm 0.4^{a}$	$247.0 \pm 3.6^{b}$	$172.4 \pm 0.2$ <sup>c</sup>	$163.4 \pm 0.3$ d	$181.7 \pm 4.8^{\text{ e}}$	$59.3 \pm 0.8$	$66.8 \pm 1.7$	
Malvidin rutinoside (12a)	BQL	$54.5 \pm 4.8$ a	$21.9 \pm 1.1^{b}$	$17.4 \pm 0.4$ b	$35.6 \pm 1.2^{\circ}$	$4.3 \pm 0.8$	$3.8 \pm 0.7$	
Hydroxycinnamic acids								
Caffeoylglucaric acid 1 (2)	$20.8 \pm 0.6^{a}$	$46.2 \pm 1.6^{b}$	$48.4 \pm 0.3^{\text{ c}}$	$21.5 \pm 0.4^{a}$	$15.1 \pm 0.3$ d	$22.4 \pm 0.4$	$96.3 \pm 2.0$	
Caffeoylglucaric acid 2 (5)	$9.2 \pm 0.2^{a}$	$23.3 \pm 0.3^{b}$	$27.4 \pm 0.3^{\circ}$	$46.3 \pm 1.4^{d}$	$22.3 \pm 0.3^{b}$	$59.2 \pm 0.2$	$217.6 \pm 1.4$	
Caffeoylquinic acid 3 (13)	$163.7 \pm 0.7^{a}$	$74.1 \pm 0.6^{\ b}$	$163.4 \pm 1.1^{a}$	$35.2 \pm 0.2^{\circ}$	$31.6 \pm 1.1^{d}$	$100.0 \pm 0.3$	$328.3 \pm 2.2$	
Dicaffeoyl glucaric acid 2 (14)	$28.2 \pm 0.3^{a}$	$20.0 \pm 0.3^{b}$	$56.3 \pm 0.5$ <sup>c</sup>	$25.2 \pm 0.2^{d}$	$17.6 \pm 0.1^{e}$	$7.1 \pm 0.7$	$67.4 \pm 0.1$	
Caffeoylquinic acid 3 (16)	$3.2 \pm 0.1^{a}$	$4.9 \pm 0.3^{b}$	$6.2 \pm 0.4^{\circ}$	$6.8 \pm 0.2^{\text{ c}}$	$4.2 \pm 0.2^{d}$	$7.6 \pm 0.1$	$28.2 \pm 0.2$	
Feruloylquinic acid (18)	$6.3 \pm 0.0^{a}$	$17.3 \pm 0.9$ b	$16.2 \pm 0.9$ b	$23.3 \pm 0.8$ <sup>c</sup>	$12.6 \pm 0.2^{d}$	$6.8 \pm 0.3$	$21.6 \pm 0.5$	
Dicaffeoyl glucaric acid 3 (24)	$2.1 \pm 0.3^{a}$	$1.8 \pm 0.2^{a}$	$2.8 \pm 1.2^{a}$	$5.4 \pm 0.0^{\text{ b}}$	$7.1 \pm 0.0^{\text{ c}}$	$27.2 \pm 1.2$	$93.2 \pm 0.1$	
Dicaffeoyl glucaric acid 6 (36)	$2.8 \pm 0.2^{a}$	$3.3 \pm 0.1^{b}$	$6.4 \pm 0.3^{\text{ c}}$	$5.2 \pm 0.0^{\text{ d}}$	$9.5 \pm 0.0^{\text{ e}}$	$24.1 \pm 1.5$	$123.6 \pm 3.4$	
Dicaffeoylquinic acid 7 (51)	$16.5 \pm 0.3^{a}$	$11.6 \pm 0.3^{b}$	$20.3 \pm 0.2^{\circ}$	$9.6 \pm 0.1^{d}$	$4.5 \pm 0.8^{\text{ e}}$	$10.4 \pm 0.8$	$21.1 \pm 0.5$	
Flavonols								
Quercetin hexoside (43)	$10.5 \pm 0.0^{a}$	$41.5 \pm 0.5$ b	$24.6 \pm 1.3^{\circ}$	$31.2 \pm 1.0^{d}$	$26.2 \pm 0.9^{\circ}$	$29.8 \pm 0.1$	$56.6 \pm 2.5$	
Quercetin glucuronide (45)	ND	ND	$2.8 \pm 0.1$	ND	ND	$3.0 \pm 0.3$	$13.6 \pm 0.4$	
Quercetin rutinoside (48)	$14.1 \pm 0.0^{a}$	$53.5 \pm 2.7^{\text{ b}}$	$34.6 \pm 0.5$ <sup>c</sup>	$40.0 \pm 0.9$ d	$18.5 \pm 1.2^{\text{ e}}$	$25.0 \pm 0.7$	$57.3 \pm 5.8$	
Quercetin acetylhexoside 1 (52)	$12.2 \pm 0.4^{a}$	BQL	$20.7 \pm 0.1^{\text{ b}}$	$7.1 \pm 0.1^{\text{ c}}$	$5.4 \pm 0.2^{d}$	$25.1 \pm 0.5$	$59.8 \pm 1.7$	
Quercetin rhamnoside (56)	$18.8 \pm 0.6^{a}$	$0.2 \pm 0.3$ b	ND	$4.2 \pm 0.2^{\text{ c}}$	$1.5 \pm 0.3$ d	$28.0 \pm 0.3$	$26.6 \pm 1.1$	
Isorhamnetin rutinoside (63)	$4.2 \pm 0.1^{a}$	$55.7 \pm 2.6$ b	$9.6 \pm 0.9^{a}$	$26.6 \pm 3.1^{\circ}$	$22.1 \pm 2.2^{\circ}$	BQL	BQL	
sorhamnetin acetylhexoside 1 (65)	$3.9 \pm 0.0^{a}$	$8.6 \pm 0.5$ b	$6.8 \pm 0.0^{\circ}$	$6.7 \pm 0.2^{\text{ c}}$	$9.9 \pm 0.2^{d}$	ND	ND	
sorhamnetin acetylhexoside 2 (67)	$2.1 \pm 0.2^{a}$	$6.8 \pm 0.6^{\text{ b}}$	$6.5 \pm 0.0^{\text{ b}}$	$6.5 \pm 0.4^{\text{ b}}$	$3.2 \pm 0.1^{c}$	ND	$5.3 \pm 0.4$	

ND: not detected; BQL: below quantification limit (for flavonols:  $0.12 \mu g$ ; for anthocyanins:  $0.33 \mu g$ ; for hydroxycinnamic acids:  $0.07 \mu g$ ). Different letters ( $^{a-e}$ ) in the same row show significant differences among each determination, according to Tukey's test (p < 0.05). Anthocyanins are expressed as equivalents of malvidin-3-*O*-glucoside, hydroxycinnamic acids are expressed as equivalents of chlorogenic acid, and flavonols are expressed as equivalents of quercetin-3-*O*-glucoside/100 g fw.

#### 2.4. Inhibition of Metabolic Syndrome-Associated Enzymes

The inhibition of  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase is a therapeutic strategy for the control of post-prandial hyperglycemia. Polyphenols present in food and beverages can easily reach mM concentrations in the gut, even when diluted with other foods and digestive fluids. They can interact with these digestive enzymes, changing the glycemic responses by inhibiting digestion of carbohydrates [39]. All the Argentinean Patagonia samples investigated in this work are  $\alpha$ -glucosidase inhibitors (Table 1). The positive control acarbose showed an IC50 value of 137.73 µg/mL, while the IC50 values of the samples ranged from 0.14–1.19 µg PEE/mL. The IC50 values obtained against  $\alpha$ -glucosidase showed a significant Pearson's correlation with the content of cyanidin-3-glucoside (3a), caffeoylglucaric acid isomer 2 (5), caffeoylquinic acid isomer 3 (16), feruloylquinic acid isomer 1 (18), and isorhamnetin acetylhexoside isomer 2 (67) (p < 0.01) (Table 6).

Under our experimental conditions, none of the samples inhibited  $\alpha$ -amylase, while the positive control acarbose showed an IC $_{50}$  value of 28.5 µg/mL. In vivo studies have demonstrated the preventive role of berries against metabolic syndrome and type 2 diabetes. For example, the supplementation of the human diet with two cups (150 g) of lingonberries (*Vaccinum vitis-idea*) or blackcurrants (*Ribes nigrum*) reduced the postprandial glucose and insulin levels in the first 30 min after the intake [40]. Reyes-Farias et al. [41] showed that *Berberis microphylla* extracts improved glucose uptake in 3T3-L1 mouse adipocytes pre-treated with lipopolysaccharides (LPS). This was explained by the authors as an insulin-sensitization feature of the *B. microphylla* extract and was associated to the high content of anthocyanins of this fruit.

Pancreatic lipase splits triglycerides into absorbable glycerol and fatty acids. Its inhibition by drugs such as Orlistat has been employed to treat obesity. Several studies have shown that the polyphenols present in beverages and fruits have inhibitory effects in lipase that could be relevant to regulate fat digestion, and thus the energy intake and obesity [33]. Under our experimental conditions, only the PEEs from F. chiloensis inhibited this enzyme, with IC<sub>50</sub> values of  $38.3 \pm 1.6$  and  $41.4 \pm 0.7$  µg PEE/mL for the Frey and Arroyo Llodcondo samples, respectively. The PEEs of the Chilean strawberries F. chiloensis ssp. chiloensis f. chiloensis and F. chiloensis ssp. chiloensis f. patagonica inhibited pancreatic lipase by 70% and 41% at 50 μg/mL, respectively [26,34]. The inhibitory capacity of both fruits' PEEs withstands in some extent a simulated gastrointestinal digestion model [32,42]. The acetone fruit extract from the commercial strawberry F. x ananassa inhibited pancreatic lipase,  $\alpha$ -amylase, and  $\alpha$ -glucosidase with IC<sub>50</sub> values of 73.04, 18.18, and 156.36 mg fresh fruit/mL, respectively [43]. McDougall et al. [33] showed that lipase activity was effectively inhibited by the ellagitannins present in cloudberry, raspberry, and strawberry extracts, with a partial contribution of proanthocyanidins. Considering our results, we can also hypothesize that the presence of ellagitannins in *F. chiloensis* may be responsible for this inhibitory activity. However, the quantification of these compounds was not possible in our samples because of the lack of authentic standards. Future studies are needed to determine the Pearson's coefficient of ellagitannins with this inhibitory activity.

Molecules **2019**, 24, 3331 17 of 24

**Table 6.** Pearson's correlation coefficient for the content of polyphenols, antioxidant activity, and  $\alpha$ -glucosidase inhibition.

Compound	DPPH	FRAP	TEAC	CUPRAC	ORAC	α-glucosidas
Anthocyanins						
1a	-0.866 **	0.884 **	0.851 **	0.832 **	0.796 **	-0.518 *
2a	-0.736 **	0.773 **	0.798 **	0.702 **	0.708 **	-0.311
3a	-0.630 *	0.675 **	0.991 **	0.664 **	0.992 **	-0.653 **
5a	-0.848 **	0.869 **	0.873 **	0.830 **	0.816 **	-0.512
7a	-0.674 **	0.709 **	0.784 **	0.633 *	0.682 **	-0.240
8a	0.675 *	-0.568	0.446	-0.717 **	0.607 *	0.104
10a	-0.678 **	0.706 **	0.962 **	0.687 **	0.900 **	-0.456
11a	0.078	0.002	0.774 **	-0.127	-0.150	0.765 **
Hydroxycinnamic						
acids						
2	-0.755 **	0.734 **	0.331	0.759 **	0.259	-0.212
5	-0.642 **	0.666 **	0.665 **	0.617 *	0.786 **	-0.957 **
13	0.074	-0.133	-0.664 **	-0.030	-0.682 **	0.436
14	-0.380	0.311	-0.091	0.489	-0.052	-0.285
16	-0.799**	0.825 **	0.649 **	0.842 **	0.755 **	-0.952 **
18	-0.795 **	0.837 **	0.790 **	0.765 **	0.870 **	-0.918 **
24	0.287	-0.236	0.385	-0.167	0.454	-0.242
36	0.176	-0.178	0.471	0.012	0.482	-0.150
51	-0.265	0.216	-0.439	0.298	-0.428	0.016
Flavonols						
43	-0.712 **	0.768 **	0.887 **	0.659 **	0.839 **	-0.476
48	-0.901 **	0.938 **	0.689 **	0.816 **	0.665 **	-0.564 *
52	-0.441	0.383	-0.186	0.498	-0.200	-0.045
56	0.614 *	-0.620 *	-0.987 **	-0.677 *	-0.944 **	0.498
64	-0.496	0.571 *	0.668 **	0.408	0.586 *	-0.167
66	-0.191	0.235	0.842 **	0.284	0.766 **	-0.138
69	-0.975 **	0.992 **	0.738	0.948 **	0.759 **	-0.779 **

<sup>\*</sup> p < 0.05; \*\* p < 0.01, according to Pearson's correlation coefficient.

#### 3. Materials and Methods

#### 3.1. Chemicals

From Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA): Amberlite XAD7<sup>®</sup>,  $\alpha$ -amylase from porcine pancreas (A3176; EC 3.2.1.1),  $\alpha$ -glucosidase from *Saccharomyces cerevisiae* (G5003; EC 3.2.1.20), DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical), 3,5-dinitrosalicylic acid, catechin, CuCl<sub>2</sub>, lipase from porcine pancreas type II (L-3126; EC 3.1.1.3), 4-nitrophenyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside, p-nitrophenyl palmitate, quercetin, sodium acetate, starch, TPTZ (2,4,6-tri(2-pyridyl)1,3,5-triazine), and triton X-100. From Merck (Darmstadt, Germany): ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid), trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid), FeCl<sub>3</sub> × 6H<sub>2</sub>O, neocuproin, potassium sodium tartrate, and HPLC-grade methanol. Ammonium acetate was from JT Baker (Xalostoc, Mexico). The following standards were from PhytoLab (Vestenbergsgreuth, Germany): malvidin-3-glucoside chloride (89728, 99.3% purity), quercetin-3-glucoside (89230, 99.1% purity), and chlorogenic acid (89175, 98.9% purity). Orlistat was from Laboratorio Chile (Santiago, Chile).

## 3.2. Sample Collection

Ripe fruits from the selected species were collected during the summer season (December–February) of 2016–2017 in the Argentinean Patagonia, at the Nahuel Huapi National Park and surroundings. Fruits from *Berberis microphylla* were from: (1) Brazo Rincón (40°72′07″ S; 71°79′76″ W, voucher specimen: 700–708MC), (2) Aeropuerto (41°14′51″ S; 71°17′67″ W, voucher specimen 620–636MC), (3) Villa La Angostura (40°49′50″ S; 71°64′31″ W, voucher specimen 720–727MC),

Molecules **2019**, 24, 3331 18 of 24

(4) Cuyín Manzano (40°76′57″ S; 71°17′37″ W, voucher specimen 680–688MC), and (5) Llanquín (40°76′57″ S; 71°17′37″ W, voucher specimen 660–671MC). *Berberis darwinii* fruits were collected at: (1) Brazo Rincón (40°72′17″ S; 71°80′20″ W, voucher specimen 710–718MC) and (2) Villa La Angostura (40°50′51″ S; 71°64′93″ W, voucher specimen 730–735MC). The fruits from *Fragaria chiloensis* ssp. *chiloensis* f. patagonica were collected at (1) Arroyo Llodcondo (41°14′41″ S; 71°31′38″ W, voucher specimen 600MC) and (2) Frey (41°17′80″ S; 71°44′17″ W, voucher specimen 640MC). The plant material was identified by Dr. Ana Ladio and Dr. Melina Chamorro. Voucher herbarium specimens were deposited at the Herbario del Grupo de Etnobiología del INIBIOMA, Laboratorio Ecotono, Bariloche, Argentina.

Fruits were transported to the laboratory and frozen at  $-80\,^{\circ}$ C. Samples were then freeze-dried (Biobase Bk FD 10, Biobase Biodustry, Shandong, China), and the water content was determined by weight difference (Table 1). The weight of the freeze-dried fruits varied from 11–56 g. The fruits were powdered in a Waring blender (Thomas TH-501V, Thomas Elektrogeräte, Shanghai, China) to a final particle size of 0.35 mm (45 mesh) and extracted four times using MeOH:formic acid (99:1 v/v) in a 1:5 w/v ratio (total volume of extraction ranged from 55–250 mL). Extraction of phenolic compounds was enhanced using a sonicator bath at 35 kHz (Elma Transsonic 700, Elma GmbH & Co. KG, Singen, Germany) for 15 min each time. The extracts were dried under reduced pressure at 35 °C in a rotary evaporator (Laborota 4001, Heildolph, Schwabach, Germany). Then, the methanol extract was dissolved in 1 L of water, sonicated to increase the solubility, and phenolics were retained in an Amberlite XAD7 column. The column was washed with 2 L of water and then compounds were desorbed with 2 L of MeOH:formic acid (99:1, v/v). The polyphenol-enriched extract (PEE) obtained was evaporated under reduced pressure in the rotary evaporator and then freeze dried. The yield of extraction was calculated as the percent of PEE obtained from 100 g of fresh fruit.

#### 3.3. Anthocyanin and Non-Anthocyanin Polyphenol Fractionation

The fractionation of anthocyanins and non-anthocyanin polyphenols was carried out using a solid phase extraction (SPE) cartridge Bond Elut Plexa PCX 6mL (Agilent, Santa Clara, CA, USA) [44]. Briefly, the cartridge was preconditioned with 5 mL of MeOH and 5 mL of ultrapure water. Samples were dissolved in MeOH:H<sub>2</sub>O:formic acid (50:48.5:1.5) at a concentration of 1 mg/mL, sonicated for 6 min at 30 °C, and filtered. Then, 3 mL of this solution was reduced to 1.5 mL in a rotary evaporator and 1.5 mL of HCl 0.1N was added. After this, the samples were passed through the cartridge at a flow rate of 0.2 mL/min. The PCX cartridge was washed with 5 mL of 0.1 N HCl, 5 mL of ultrapure water, and then completely dried. The non-anthocyanin polyphenols were recovered with 6 mL of 96% ethanol (EtOH). Anthocyanins were desorbed with 2% HCl in MeOH:H<sub>2</sub>O (8:2, *v/v*). Anthocyanins and non-anthocyanin polyphenols were dried under reduced pressure at 30 °C and freeze dried for the subsequent HPLC analyses.

#### 3.4. HPLC-DAD-ESI-MS<sup>n</sup> Analysis

HPLC analyses were performed in an Agilent Series 1100 HPLC system equipped with a G1311 quaternary pump, a G1315B diode array detector, a G1322A degasser, G1313A autosampler, and a liquid chromatography mass selective detector (LC/MSD) Trap VL G-2445 electrospray ionization mass spectrometry (ESI-MS<sup>n</sup>) detector. The control of the system and data analysis was achieved using ChemStation software (Agilent Technologies, Waldbronn, Germany). The separation was carried out using a Zorbax Eclipse XDB C18 column (3.5 $\mu$ m, 150 × 2.1 mm) (Agilent, Germany). The solvent systems were A (H<sub>2</sub>O-formic acid-acetonitrile (ACN), 88.5:8.5:3, v/v/v); B (H<sub>2</sub>O-formic acid-ACN; 41.5:8.5:50, v/v/v); and C (H<sub>2</sub>O-formic acid-MeOH, 1.5:8.5:90, v/v/v). A flow rate of 0.19 mL/min was used and temperature was set at 40 °C, with an equilibration time of 8 min in the initial conditions before the next injection. The peaks were numbered according to the retention time and followed by the letter "a" for anthocyanins, and no letter for other compounds.

Anthocyanins were analyzed using the following gradient only with solvents A and B: t = 0 min, 94% A, 6% B; t = 10 min, 70% A, 30% B; t = 34 min, 0% A, 100% B; t = 36 min, 0% A, 100% B; t = 42 min, 94% A, 6% B. For the ESI-MS<sup>n</sup> analysis of anthocyanins in the positive mode, nitrogen was used as the nebulizer gas at 50 psi, 325 °C, and at a flow rate of 8 L/min. Electrospray needle, -2500 V; skimmer 1, 19.2 V; skimmer 2, 5.7 V; capillary exit offset 1, 33.0 V; capillary exit offset 2, 52.1 V. The scan mode was performed at a speed of 13,000 m/z/s, in the range of 50–1200 m/z.

The non-anthocyanin polyphenol analysis was carried out using the following gradient: t=0 min, 98% A, 2% B and 0% C; t=8 min, 96% A, 4% B and 0% C; t=37 min, 70% A, 17% B and 13% C; t=51 min, 50% A, 30% B and 20% C; t=51.5 min, 30% A, 40% B and 30% C, t=56 min, 0% A, 50% B and 50% C; t=57 min, 0% A, 50% B and 50% C; t=64 min, 98% A 2% B and 0% C. For the ESI-MS<sup>n</sup> analysis in the negative mode, nitrogen was used as the nebulizer gas at 40 psi, 350 °C, and at a flow rate of 8 L/min. Electrospray needle, 3500 V; skimmer 1, 20.3 V; skimmer 2, 6.0 V; capillary exit offset 1, 68.2 V; capillary exit offset 2, 88.5 V. The scan mode was performed at a speed of 13,000 m/z, in the range of 50–1000 m/z.

Quantification was carried out using external calibration curves. The analytical parameters were calculated in agreement to the International Conference on Harmonisation (ICH) guidelines [45]. Five-point calibration curves were prepared in triplicate using the commercial standards: malvidin-3-glucoside (8–420 mg/L,  $r^2$ : 0.9989) for anthocyanins, quercetin-3-glucoside (10–100 mg/L,  $r^2$ : 0.9996) for flavonols, and chlorogenic acid (1–100 mg/L,  $r^2$ : 0.9996) for hydroxycinnamic acids. Integrated area under the curve (AUC) was calculated for peaks observed at 520 nm, 360 nm, and 320 nm for anthocyanins, flavonols, and HCAs, respectively. Results were expressed as mg/100 g fresh fruit.

#### 3.5. Antioxidant Capacity Assays

The antioxidant capacity of the samples was evaluated by means of the following assays: discoloration of the DPPH and ABTS<sup>•+</sup> radical (TEAC), ferric- and cupric-reducing antioxidant power (FRAP and CUPRAC), and the oxygen radical absorbance capacity (ORAC). Quercetin was used as the reference compound in all the antioxidant assays.

The DPPH assay was carried out according to Bondet et al. [46], with slight modifications. Briefly, a stock solution of DPPH radical (20 mg/L) was prepared in MeOH and stored in the dark. Samples were prepared in MeOH at final concentrations ranging from 0–100 μg PEE/mL. The discoloration of the radical after 5 min of incubation was measured at 517 nm in a microplate reader (BioTek ELX800, Winooski, VT, USA). The results were expressed as the concentration of extract that scavenged the free radical by 50% (SC<sub>50</sub>, µg PEE/mL). The FRAP and CUPRAC assays were carried out as previously described [19]. Briefly, the FRAP solution was prepared by mixing 300 mM acetate buffer (pH 3.6) with 10 mM TPTZ prepared in 40 mM HCl and 20 mM FeCl3 in a 10:1:1 v/v/v proportion. The sample was prepared in MeOH at final concentrations ranging from 0–100 μg PEE/mL. The reduction of the ferric ion complex was read after 30 min at 593 nm in a spectrophotometer Genesys 10UV (Thermo Spectronic, Waltham, MA, USA). The CUPRAC assay was carried by mixing 1 M ammonium acetate (pH 7.0) with 0.01 M CuCl2 and 7.5 mM neocuproin solution in a 1:1:1 proportion. Then, the sample (0-100 μg PEE/mL) was added and the reduction of the cupric ion was measured at 450 nm after 30 min incubation in the dark. In the FRAP and CUPRAC assays, the results were expressed as μmol Trolox equivalents (TE)/g of PEE. The scavenging of the ABTS\*+ radical (TEAC) was carried out according to Nenadis et al. [47]. Briefly, the ABTS<sup>•+</sup> radical was prepared by mixing 88 μL of 140 mM sodium persulfate with 5 mL of 7.5 mM ABTS solution. The mixture was incubated overnight at room temperature. The following day, the ABTS<sup>+</sup> radical solution was diluted with MeOH to final absorbance of  $0.700 \pm 0.005$  at 734 nm. Samples were prepared in MeOH at concentrations ranging from 50–300 μg PEE/mL. Thirty μL of each dilution was mixed with 2.870 mL of the ABTS<sup>++</sup> radical solution and incubated for 6 min. Final absorbance was measured and results were expressed as μM TE/g of PEE. The ORAC assay was carried out according to Ou et al. [48]. Briefly, a 110 nM fluorescein working solution was prepared in 75 mM sodium phosphate buffer. A 152.6 mM 2,2'-azobis

Molecules **2019**, 24, 3331 20 of 24

(2-methhylpropionamidine) dihydrochloride (AAPH) solution was prepared in the same buffer and incubated for 30 min at 37 °C right before mixing with the samples. Samples (5–25  $\mu$ g PEE/mL) and Trolox (0–50  $\mu$ M) were prepared in the same buffer. The assay mixture consisted of 150  $\mu$ L fluorescein + 25  $\mu$ L sample or standard + 25  $\mu$ L AAPH. Fluorescence was read at  $\lambda_{ex}$  485/ $\lambda_{em}$  528 nm every min for 90 min in a Synergy HT multidetection microplate reader (Bio-Tek Instruments Inc., Winooski, VT, USA). Results were expressed as  $\mu$ mol TE/g PEE. All samples were assayed in triplicate and results were presented as mean values  $\pm$  SD.

#### 3.6. Inhibition of Metabolic Syndrome-Associated Enzymes

The capacity of the samples to in vitro inhibit carbohydrate and lipid metabolism was evaluated by means of the following assays: inhibition of  $\alpha$ -glucosidase,  $\alpha$ -amylase, and pancreatic lipase.

The  $\alpha$ -glucosidase inhibition assay was carried out as described by Jiménez-Aspee et al. [23]. The reaction mixture contained sodium phosphate buffer (200 mM, pH 6.6), sample (0.1–100  $\mu$ g PEE/mL), and  $\alpha$ -glucosidase (0.25 U/L). After 15 min of pre-incubation at 37 °C, the reaction was started by adding p-nitrophenyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside (5mM). The mixture was further incubated for 15 min at 37 °C. The reaction was stopped by adding 0.2 M sodium carbonate. Absorbance was read at 415 nm in a microplate reader (ELx800, Biotek, Winooski, VT, USA). All samples were assayed in triplicate and the results were expressed as IC50 values ( $\mu$ g PEE/mL). Acarbose was used as the positive control [23].

The  $\alpha$ -amylase inhibition assay was carried out as described by Jiménez-Aspee et al. [23]. Briefly, the samples (0.1–100  $\mu$ g/mL) were incubated with 1% starch for 5 min at 37 °C. Then, the  $\alpha$ -amylase solution (8 U/mL) was added and incubated for a further 20 min. After the incubation, 400  $\mu$ L of the color reagent (96 mM 3,5-dinitrosalicylic acid, 5.31 M sodium potassium tartrate in 2 M NaOH) were added, and the mixture was boiled for 15 min. Absorbance was measured in a microplate reader at 550 nm (Biotek Elx800). Acarbose was used as the positive control [23]. All samples were assayed in quadruplicate and the results were expressed as IC<sub>50</sub> values ( $\mu$ g PEE/mL).

The lipase inhibition assay was carried out as described by McDougall et al. [33]. Briefly, the enzyme was re-suspended in ultrapure water (20 mg/mL) and centrifuged at  $8000 \times g$  at 4 °C for 10 min to recover the supernatant for the assay. The substrate was prepared with p-nitrophenyl palmitate (0.08% w/v), 5mM sodium acetate buffer (pH 5.0), and 1% Triton X-100. The assay mixture was 100 mM Tris buffer (pH 8.2), extracts, lipase, and substrate solution. The mixture was incubated for 2 h at 37 °C and absorbance was read at 400 nm in a microplate reader (Biotek ELx800). All samples were assayed in sextuplicate at 50  $\mu$ g/mL as the maximum concentration. Orlistat<sup>®</sup> was used as the reference compound [23]. Results were expressed as IC<sub>50</sub> values ( $\mu$ g PEE/mL).

#### 3.7. Statistical Analyses

Statistical analyses were carried out using SPSS 14.0 software (IBM, Armonk, NY, USA). Significant differences among the *Berberis microphylla* samples were determined by one-way analysis of variance (ANOVA), followed by Tukey's multiple comparison test (p < 0.05). This analysis is not possible to carry out with less than three samples, which was the case for the other studied species. Pearson's correlation coefficients were calculated to determine the relationship between antioxidant activity and the content of main compounds.

#### 4. Conclusions

The phenolic profiles, antioxidant activity, and inhibitory effect towards the enzymes  $\alpha$ -glucosidase,  $\alpha$ -amylase, and pancreatic lipase of three Argentinean Patagonia berries were investigated. The most complex polyphenol profile among the studied species was found in the *Berberis* samples, with 10 anthocyanins, 27 HCAs, 3 proanthocyanidins, 2 flavan-3-ol, and 22 flavonols. *Fragaria* presented a simpler profile, including four anthocyanins, nine ellagitannins, two proanthocyanidin dimers, one flavan-3-ol, and five flavonols. The composition of the Argentinean Patagonia samples showed as main compounds the same constituents of those in the western Patagonia collections, but differed in

Molecules **2019**, 24, 3331 21 of 24

minor metabolites, showing different oxidation and/or glycosylation patterns. The proanthocyanidin profile of the Argentinean Patagonia *Berberis* species has been not described so far in Chilean collections. The *Berberis* samples showed the best antioxidant capacity, in agreement with the results reported for Chilean collections. Regarding the inhibition of the metabolic syndrome-associated enzymes, the *Fragaria* samples showed potential to modulate carbohydrate and fat metabolism, as observed for the Chilean/western Patagonia samples. The weakness of our work relies on the small sample numbers for *B. darwinii* and *F. chiloensis*. In addition, because of the low amount of starting material, compound isolation was not possible and the identification was only based in the tentative assignment by mass spectrometry. On the other hand, the strength of our work is that this is the first work about the secondary metabolite content and composition of some Argentinean Patagonian berries and contributes to the knowledge of the chemistry of genus *Berberis*. In addition, our results provide evidence on the berry constituents, and highlight some of their potential health-promoting properties. More studies are needed to select high productive individuals for plant-breeding programs and to promote production of these species in the Argentinean and Chilean Patagonia.

**Author Contributions:** Funding acquisition, A.L., G.S.-H. and F.J.-A.; investigation, M.F.C., G.R., C.T., G.S.-H., S.G.-A. and F.J.-A.; methodology, G.S.-H., S.G.-A. and F.J.-A.; writing—original draft, M.F.C., A.L., G.S.-H. and F.J.-A.

**Funding:** This research was funded by Fondo Nacional de Desarrollo Científico y Tecnológico (FONDECYT), grant numbers 1170090 and 11170184, Comisión Nacional de Investigación Científica y Tecnológica (CONICYT), Chile.

**Acknowledgments:** M.F.C., G.R. and A.L. thanks the Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) and Centro de Investigación y Extensión Forestal Andino Patagónico (CIEFAP) for a doctoral grant and financial support (Argentina). F.J.A. gratefully acknowledges Banco Santander for a grant to carry out a research internship at the Universidad de Castilla-La Mancha, Spain. Special thanks to Antonio Bergant for his help in collecting the samples.

**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

#### References

- 1. Bvenura, C.; Sivakumar, D. The role of wild fruits and vegetables in delivering a balanced and healthy diet. *Food Res. Int.* **2017**, *99*, 15–30. [CrossRef] [PubMed]
- 2. Jiménez-Garcia, S.N.; Guevara-Gonzalez, R.G.; Miranda-López, R.; Feregrino-Perez, A.A.; Torres-Pacheco, I.; Vazquez-Cruz, M.A. Functional properties and quality characteristics of bioactive compounds in berries: Biochemistry, biotechnology, and genomics. *Food Res. Int.* **2013**, *54*, 1195–1207. [CrossRef]
- 3. Nile, S.H.; Park, S.W. Edible berries: Bioactive components and their effect on human health. *Nutrition* **2014**, 30, 134–144. [CrossRef] [PubMed]
- 4. Schmeda-Hirschmann, G.; Jiménez-Aspee, F.; Theoduloz, C.; Ladio, A. Patagonian berries as native food and medicine. *J. Ethnopharmacol.* **2019**, 241, 111979. [CrossRef] [PubMed]
- 5. Chamorro, M.F.; Ladio, A.H.; Molares, S. Patagonian Berries: An ethnobotanical approach to exploration of their nutraceutical potential. In *Ethnobotany: Local Knowledge and Traditions*, 1st ed.; Martínez, J., Muñoz-Acevedo, A., Rai, M., Eds.; CRC Press: Boca Raton, FL, USA, 2018; pp. 50–69.
- Speisky, H.; López-Alarcón, C.; Gómez, M.; Fuentes, J.; Sandoval-Acuña, C. First web-based database on total phenolics and oxygen radical absorbance capacity (ORAC) of fruits produced and consumed within the south Andes region of South America. J. Agric. Food Chem. 2012, 60, 8851–8859. [CrossRef] [PubMed]
- 7. Arena, M.E.; Lencinas, M.V.; Radice, S. Variability in floral traits and reproductive success among and within populations of *Berberis microphylla* G. Forst., an underutilized fruit species. *Sci. Hortic.* **2018**, 241, 65–73. [CrossRef]
- 8. Abbasi, A.M.; Shah, M.H.; Li, T.; Fu, X.; Guo, X.; Liu, R.H. Ethnomedicinal values, phenolic contents and antioxidant properties of wild culinary vegetables. *J. Ethnopharmacol.* **2015**, *162*, 333–345. [CrossRef]
- 9. Srivastava, S.; Srivastava, M.; Misra, A.; Pandey, G.; Rawat, A. A review on biological and chemical diversity in *Berberis* (Berberidaceae). *EXCLI J.* **2015**, *14*, 247–267.
- 10. Mokhber-Dezfuli, N.; Saeidnia, S.; Gohari, A.; Kurepaz-Mahmoodabadi, M. Phytochemistry and pharmacology of berberis species. *Pharmacogn. Rev.* **2014**, *8*, 8–15.

Molecules **2019**, 24, 3331 22 of 24

11. Gundogdu, M. Determination of antioxidant capacities and biochemical compounds of *Berberis vulgaris* L. Fruits. *Adv. Environ. Biol.* **2013**, *7*, 344–348.

- 12. Hassanpour, H.; Alizadeh, S. Evaluation of phenolic compound, antioxidant activities and antioxidant enzymes of barberry genotypes in Iran. *Sci. Hortic.* **2016**, *200*, 125–130. [CrossRef]
- 13. Ersoy, N.; Kupe, M.; Sagbas, H.I.; Ercisli, S. Physicochemical diversity among barberry (*Berberis vulgaris* L.) fruits from Eastern Anatolia. *Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj-Napoca.* **2018**, *46*, 336–342. [CrossRef]
- 14. Ruiz, A.; Hermosín-Guitérrez, I.; Mardones, C.; Vergara, C.; Herlitz, E.; Vega, M.; Dorau, C.; Winterhalter, P.; von Baer, D. Polyphenols and antioxidant activity of calafate (*Berberis microphylla*) fruits and other native berries from southern Chile. *J. Agric. Food Chem.* **2010**, *58*, 6081–6089. [CrossRef]
- 15. Ramirez, J.E.; Zambrano, R.; Sepúlveda, B.; Kennelly, E.J.; Simirgiotis, M.J. Anthocyanins and antioxidant capacities of six Chilean berries by HPLC-HR-ESI-ToF-MS. *Food Chem.* **2015**, *176*, 106–114. [CrossRef] [PubMed]
- 16. Ladio, A.H.; Lozada, M. Patterns of use and knowledge of wild edible plants in distinct ecological environments: A case study of a Mapuche community from northwestern Patagonia. *Biodivers. Conserv.* **2004**, *13*, 1153–1173. [CrossRef]
- 17. Cheel, J.; Theoduloz, C.; Rodríguez, J.A.; Caligari, P.D.S.; Schmeda-Hirschmann, G. Free radical scavenging activity and phenolic content in achenes and thalamus from *Fragaria chiloensis* ssp. *chiloensis*, *F. vesca* and *F.* x *ananassa* cv. Chandler. *Food Chem.* **2007**, *102*, 36–44. [CrossRef]
- 18. Jiménez-Aspee, F.; Thomas-Valdés, S.; Schulz, A.; Ladio, A.; Theoduloz, C.; Schmeda-Hirschmann, G. Antioxidant activity and phenolic profiles of the wild currant *Ribes magellanicum* from Chilean and Argentinean Patagonia. *Food Sci. Nutr.* **2016**, *4*, 595–610. [CrossRef] [PubMed]
- 19. Jiménez-Aspee, F.; Theoduloz, C.; Ávila, F.; Thomas-Valdés, S.; Mardones, C.; von Baer, D.; Schmeda-Hirschmann, G. The Chilean wild raspberry (*Rubus geoides* Sm.) increases intracellular GSH content and protects against H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and methylglyoxal-induced damage in AGS cells. *Food Chem.* **2016**, 194, 908–919. [CrossRef]
- Ruiz, A.; Hermosín-Gutiérrez, I.; Vergara, C.; von Baer, D.; Zapata, M.; Hitschfeld, A.; Obando, L.; Mardones, C. Anthocyanin profiles in south Patagonian wild berries by HPLC-DAD-ESI-MS/MS. Food Res. Int. 2013, 51, 706–713. [CrossRef]
- 21. Ruiz, A.; Mardones, C.; Vergara, C.; Hermosín-Gutiérrez, I.; von Baer, D.; Hinrichsen, P.; Rodríguez, R.; Arribillaga, D.; Domínguez, E. Analysis of hydroxycinnamic acids derivatives in calafate (*Berberis microphylla* G. Forst) berries by liquid chromatography with photodiode array and mass spectrometry detection. *J. Chromatogr. A* 2013, 1281, 38–45. [CrossRef] [PubMed]
- Ruiz, A.; Bustamante, L.; Vergara, C.; von Baer, D.; Hermosín-Gutiérrez, I.; Obando, L.; Mardones, C. Hydroxycinnamic acids and flavonols in native edible berries of South Patagonia. *Food Chem.* 2015, 167, 84–90. [CrossRef] [PubMed]
- 23. Jiménez-Aspee, F.; Theoduloz, C.; Soriano, M.D.P.C.; Ugalde-Arbizu, M.; Alberto, M.R.; Zampini, I.C.; Isla, M.I.; Simirgiotis, M.J.; Schmeda-Hirschmann, G. The native fruit *Geoffroea decorticans* from arid northern Chile: Phenolic composition, antioxidant activity and in vitro inhibition of pro-inflammatory and metabolic syndrome-associated enzymes. *Molecules* **2017**, 22, 1565. [CrossRef] [PubMed]
- 24. Ruiz, A.; Mardones, C.; Vergara, C.; von Baer, D.; Gómez-Alonso, S.; Gómez, M.V.; Hermosín-Gutiérrez, I. Isolation and structural elucidation of anthocyanidin 3,7-β-O-diglucosides and caffeoyl-glucaric acids from calafate berries. *J. Agric. Food Chem.* **2014**, *62*, 6918–6925. [CrossRef] [PubMed]
- Lopes da Silva, F.; Escribano-Bailón, M.T.; Pérez Alonso, J.J.; Rivas-Gonzalo, J.C.; Santos-Buelga, C. Anthocyanin pigments in strawberry. LWT-Food Sci. Technol. 2007, 40, 374–382. [CrossRef]
- Simirgiotis, M.J.; Theoduloz, C.; Caligari, P.D.S.; Schmeda-Hirschmann, G. Comparison of phenolic composition and antioxidant properties of two native Chilean and one domestic strawberry genotypes. *Food Chem.* 2009, 113, 377–385. [CrossRef]
- 27. Clifford, M.N.; Johnston, K.L.; Knight, S.; Kuhnert, N. Hierarchical scheme for the LC-MS<sup>n</sup> identification of chlorogenic acids. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 2900–2911. [CrossRef] [PubMed]
- 28. Cheel, J.; Theoduloz, C.; Rodríguez, J.A.; Saud, G.; Caligari, P.D.S.; Schmeda-Hirschmann, G. E-cinnamic acid derivatives and phenolics from Chilean strawberry fruits, *Fragaria chiloensis* ssp. *chiloensis*. *J. Agric. Food Chem.* **2005**, *53*, 8512–8518. [CrossRef]

Molecules **2019**, 24, 3331 23 of 24

29. Schuster, B.; Herrmann, K. Hydroxybenzoic and hydroxycinnamic acid derivatives in soft fruits. *Phytochemistry* **1985**, 24, 2761–2764. [CrossRef]

- 30. Jiménez-Aspee, F.; Theoduloz, C.; Gómez-Alonso, S.; Hermosín-Gutiérrez, I.; Reyes, M.; Schmeda-Hirschmann, G. Polyphenolic profile and antioxidant activity of meristem and leaves from "chagual" (*Puya chilensis* Mol.), a salad from central Chile. *Food Res. Int.* **2018**, *114*, 90–96. [CrossRef] [PubMed]
- 31. Quatrin, A.; Pauletto, R.; Maurer, L.H.; Minuzzi, N.; Nichelle, S.M.; Carvalho, J.F.C.; Maróstica Junior, M.R.; Rodrigues, E.; Bochi, V.C.; Emanuelli, T. Characterization and quantification of tannins, flavonols, anthocyains and matrix-bound polyphenols from jaboticaba fruit peel: A comparison between *Myrciaria trunciflora* and *M. jaboticaba*. *J. Food Compos. Anal.* **2019**, *78*, 59–74. [CrossRef]
- 32. Thomas-Valdés, S.; Theoduloz, C.; Jiménez-Aspee, F.; Schmeda-Hirschmann, G. Effect of simulated gastrointestinal digestion on polyphenols and bioactivity of the native Chilean red strawberry (*Fragaria chiloensis* ssp. *chiloensis* f. patagonica). *Food Res. Int.* **2019**, 23, 106–114.
- 33. McDougall, G.J.; Kulkarni, N.N.; Stewart, D. Berry polyphenols inhibit pancreatic lipase activity in vitro. *Food Chem.* **2009**, *115*, 193–199. [CrossRef]
- 34. Lin, L.Z.; Sun, J.; Chen, P.; Monagas, M.J.; Harnly, J.M. UHPLC-PDA-ESI/HRMS<sup>n</sup> profiling method to identify and quantify oligomeric proanthocyanidins in plant products. *J. Agric. Food Chem.* **2014**, *62*, 9387–9400. [CrossRef] [PubMed]
- 35. Chung, S.W.; Yu, D.K.; Lee, H.J. Changes in anthocyanidin and anthocyanin pigments in highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* cv. Bluecrop) fruits during ripening. *Hort. Environ. Biotechnol.* **2016**, *57*, 424–430. [CrossRef]
- 36. Parra-Palma, C.; Fuentes, E.; Palomo, I.; Torres, C.A.; Moya-León, M.A.; Ramos, P. Linking the platelet anti-aggregation effect of different strawberries species with antioxidants: Metabolomic and transcript profiling of polyphenols. *BLACPMA* **2018**, *17*, 36–52.
- 37. Xu, C.; Zhang, Y.; Zhu, L.; Huang, Y.; Lu, J. Influence of growing season on phenolic compounds and antioxidant properties of grape berries from vines grown in subtropical climate. *J. Agric. Food Chem.* **2011**, 59, 1078–1086. [CrossRef] [PubMed]
- 38. Arena, M.E. Estudio de algunos fenómenos morfofisiológicos y cambios bioquímicos en *Berberis microphylla* G. Forst (sinónimo *B. buxifolia*) asociados a la formación y maduración de frutos en Tierra del Fuego y su relación con la producción de metabolitos útiles. Ph.D. Thesis, Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Argentina, 2016.
- 39. Williamson, G. Possible effects of dietary polyphenols on sugar absorption and digestion. *Mol. Nutr. Food Res.* **2013**, *57*, 48–57. [CrossRef]
- 40. Törrönen, R.; Kolehmainen, M.; Sarkkinen, E.; Mykkänen, H.; Niskanen, L. Postprandial glucose, insulin, and free fatty acid responses to sucrose consumed with blackcurrants and lingonberries in healthy women. *Am. J. Clin. Nutr.* **2012**, *96*, 527–533. [CrossRef]
- 41. Reyes-Farias, M.; Vasquez, K.; Fuentes, F.; Ovalle-Marin, A.; Parra-Ruiz, C.; Zamora, O.; Pino, M.T.; Quitral, V.; Jimenez, P.; Garcia, L.; et al. Extracts of Chilean native fruits inhibit oxidative stress, inflammation and insulin-resistance linked to the pathogenic interaction between adipocytes and macrophages. *J. Funct. Foods* **2016**, *27*, 69–83. [CrossRef]
- 42. Thomas-Valdés, S.; Theoduloz, C.; Jiménez-Aspee, F.; Burgos-Edwards, A.; Schmeda-Hirschmann, G. Changes in polyphenol composition and bioactivity of the native Chilean white strawberry (*Fragaria chiloensis* spp. *chiloensis* f. chiloensis) after in vitro gastrointestinal digestion. *Food Res. Int.* **2018**, *105*, 10–18.
- 43. Podsędek, A.; Majewska, I.; Redzynia, M.; Sosnowska, D.; Koziołkiewicz, M. In vitro inhibitory effect on digestive enzymes and antioxidant potential of commonly consumed fruits. *J. Agric. Food Chem.* **2014**, 62, 4610–4617. [CrossRef] [PubMed]
- 44. Favre, G.; González-Neves, G.; Piccardo, D.; Gómez-Alonso, S.; Pérez-Navarro, J.; Hermosín-Gutierrez, I. New acylated flavonols identified in *Vitis vinifera* grapes and wines. *Food Res. Int.* **2018**, *112*, 98–107. [CrossRef] [PubMed]
- 45. ICH. Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology. 2005. Available online: https://www.ich.org/fileadmin/Public\_Web\_Site/ICH\_Products/Guidelines/Quality/Q2\_R1/Step4/Q2\_R1\_Guideline.pdf (accessed on 21 July 2019).

Molecules **2019**, 24, 3331 24 of 24

46. Bondet, V.; Brand-Williams, W.; Berset, C. Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH free radical method. *LWT-Food Sci. Technol.* **1997**, *30*, 609–615. [CrossRef]

- 47. Nenadis, N.; Wang, L.F.; Tsimidou, M.; Zhang, H.Y. Estimation of scavenging activity of phenolic compounds using the ABTS<sup>-+</sup> assay. *J. Agric. Food Chem.* **2014**, *5*, 4669–4674. [CrossRef] [PubMed]
- 48. Ou, B.; Hampsch-Woodill, M.; Prior, R.L. Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *J. Agric. Food Chem.* **2001**, 49, 4619–4626. [CrossRef] [PubMed]

**Sample Availability:** Samples of the polyphenol-enriched extracts are available from the authors at the Laboratorio de Productos Naturales, Instituto de Quimica de Recursos Naturales, Universidad de Talca, Chile.



© 2019 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).